

EDUCACIÓN

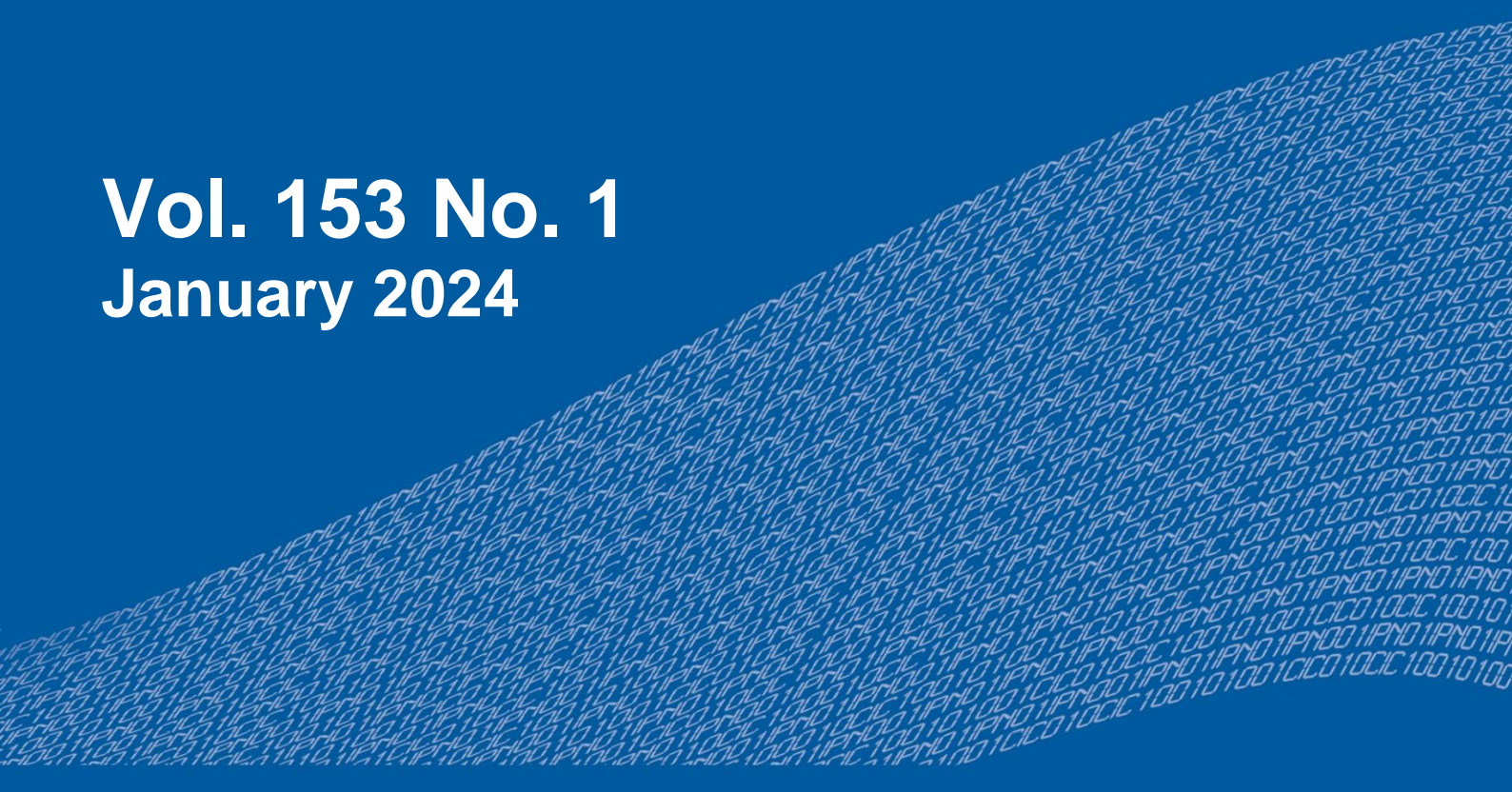
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Research in Computing Science

Vol. 153 No. 1
January 2024



Research in Computing Science

Series Editorial Board

Editors-in-Chief:

Grigori Sidorov, CIC-IPN, Mexico
Gerhard X. Ritter, University of Florida, USA
Jean Serra, Ecole des Mines de Paris, France
Ulises Cortés, UPC, Barcelona, Spain

Jesús Angulo, Ecole des Mines de Paris, France
Jihad El-Sana, Ben-Gurion Univ. of the Negev, Israel
Alexander Gelbukh, CIC-IPN, Mexico
Ioannis Kakadiaris, University of Houston, USA
Petros Maragos, Nat. Tech. Univ. of Athens, Greece
Julian Padget, University of Bath, UK
Mateo Valero, UPC, Barcelona, Spain
Olga Kolesnikova, ESCOM-IPN, Mexico
Rafael Guzmán, Univ. of Guanajuato, Mexico
Juan Manuel Torres Moreno, U. of Avignon, France
Miguel González-Mendoza, ITESM, Mexico

Associate Editors:

Editorial Coordination:

Griselda Franco Sánchez

Research in Computing Science, Año 23, Volumen 153, No. 1, enero de 2024, es una publicación mensual, editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través del Centro de Investigación en Computación. Av. Juan de Dios Bátiz S/N, Esq. Av. Miguel Othon de Mendizábal, Col. Nueva Industrial Vallejo, C.P. 07738, Ciudad de México, Tel. 57 29 60 00, ext. 56571. <https://www.rcs.cic.ipn.mx>. Editor responsable: Dr. Grigori Sidorov. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2019-082310242100-203. ISSN: en trámite, ambos otorgados por el Instituto Politécnico Nacional de Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: el Centro de Investigación en Computación, Dr. Grigori Sidorov, Av. Juan de Dios Bátiz S/N, Esq. Av. Miguel Othon de Mendizábal, Col. Nueva Industrial Vallejo, C.P. 07738. Fecha de última modificación 01 de enero de 2024.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

Research in Computing Science, year 23, Volume 153, No. 1, January 2024, is published monthly by the Center for Computing Research of IPN.

The opinions expressed by the authors does not necessarily reflect the editor's posture.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior permission of Centre for Computing Research of the IPN.

Volume 153(1)

Computing Applications in Modern Industry

Rafael Guzmán Cabrera (ed.)



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"



Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Computación
México 2024

ISSN: in process

Copyright © Instituto Politécnico Nacional 2024
Formerly ISSNs: 1870-4069, 1665-9899

Instituto Politécnico Nacional (IPN)
Centro de Investigación en Computación (CIC)
Av. Juan de Dios Bátiz s/n esq. M. Othón de Mendizábal
Unidad Profesional “Adolfo López Mateos”, Zacatenco
07738, México D.F., México

<http://www.rcs.cic.ipn.mx>

<http://www.ipn.mx>

<http://www.cic.ipn.mx>

The editors and the publisher of this journal have made their best effort in preparing this special issue, but make no warranty of any kind, expressed or implied, with regard to the information contained in this volume.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored on a retrieval system or transmitted, in any form or by any means, including electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior permission of the Instituto Politécnico Nacional, except for personal or classroom use provided that copies bear the full citation notice provided on the first page of each paper.

Indexed in LATINDEX, DBLP and Periodica

Electronic edition

Table of Contents

	Page
Development of an Electroacoustic Device for the Early Diagnosis of Osteoporosis	5
<i>Jorge Gutiérrez-Correa, Marysol García-Pérez, Angélica Hernandez-Rayas, Teodoro Cordova-Fraga</i>	
Deep Neural Networks in Processing of MoOx with fs Laser Pulses.....	9
<i>Jaime D. Torres-Contreras, Santiago Camacho-López, Horacio Rostro-González, Miroslava Cano-Lara</i>	
Homogeneous Design and Neutron Analysis for a Sodium-Cooled Fast Modular Nuclear Reactor	17
<i>Enrique Vera-Romero, José Alfredo Soto-Alvarez, Teodoro Córdoba-Fraga</i>	
Caracterización microbiológica de un hongo aislado de la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato.....	21
<i>Cielo C. Molina-Calderón, Estefanía O. Juárez-Hernández</i>	
Análisis de las enzimas con actividad celulolítica de <i>Streptomyces badius</i> para la producción de bioetanol	31
<i>Ingrid Monserrat Gallegos-Olmos, Amanda Rodríguez-Castillo, Juan Francisco Sánchez-López</i>	
Homología de proteínas que codifican para neurotransmisores en el modelo aviar (<i>Gallus gallus</i>) como modelo para estudios de neurobiología	35
<i>Luis Fernando Reséndiz-Nava, Gerardo M. Nava</i>	
Generation of Magnetic Gradients for Biological Systems Stimulation: Mathematical and Geometric Characterization	41
<i>Angel David Ramírez-Galindo, Huetzin Aaron Pérez-Olivas, Gustavo Basurto-Islas, Angélica Hernández-Rayas, Fernando González-López, Teodoro Córdoba-Fraga</i>	

Development of an Electroacoustic Device for the Early Diagnosis of Osteoporosis

Jorge Gutiérrez-Correa, Marysol García-Pérez,
Angélica Hernández-Rayas, Teodoro Cordova-Fraga

University of Guanajuato,
Science and Engineering Division,
México

m.garciaperez@ugto.mx

Abstract. Osteoporosis is a health condition that weakens bones, making them fragile and more likely to break. An electroacoustic device, “the Bone Radar”, developed and built in the Medical Physics laboratory is an alternative in this diagnostic. Measuring cylindrical samples of different length and density were used for the calibration. The prototype improves to establish its validation stage analyzing bone density was performed. The calibration showed a relationship between the parameters of acoustic intensity and density of the samples. This is a first approximation, advancing in the direction of establishing a new technique for early diagnosis of osteoporosis.

Keywords. Osteoporosis, electroacoustic device, bone radar.

1 Introduction

Establishing the appropriate diagnostic test could stop excess of morbidity and mortality [1]. Bone mineral density (BMD) assessment is the gold standard practice in this diagnostic. The most widely used method for measuring bone mass is a dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) [2].

Focused ultrasound (US) technique is an alternative tool in the assessment of BMD [3]. Glüer et al. found a relationship between US and DXA of bone densitometry, measured in two women groups [4].

Barkmann et al. studied parameters such as the speed of the acoustic wave and determined that with these parameters it is feasible to analyze bone density in the femur [5].

The benefits of the US as a way to measure osteoporosis include low cost, portability, and no radiation exposure [6]. Broadband ultrasonic attenuation (BUA) and speed of sound (SOS) are two crucial US metrics. Additionally, US provides BMD-independent information about cortical and trabecular microstructures. According to evidence, the peripheral US method can identify individuals who have low bone density at the axial skeleton as determined by DXA [7].

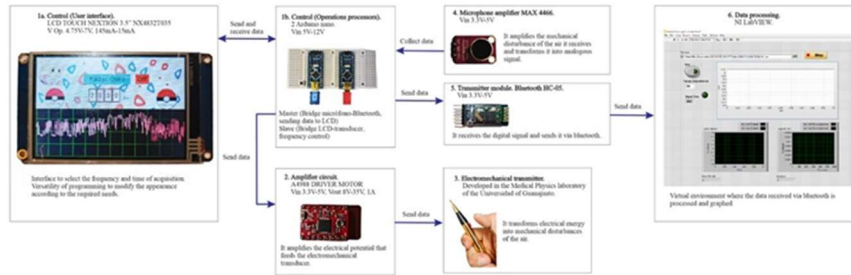


Fig. 1. Diagram with all the stages of the Bone Radar (from left to right): 1) control stage with a NEXTION LCD and two Arduino NANO, 2) power amplifier A4988 DRIVER MOTOR, 3) electromechanical transducer, 4) MAX 4466 microphone and 5) HC-05Bluetooth module.

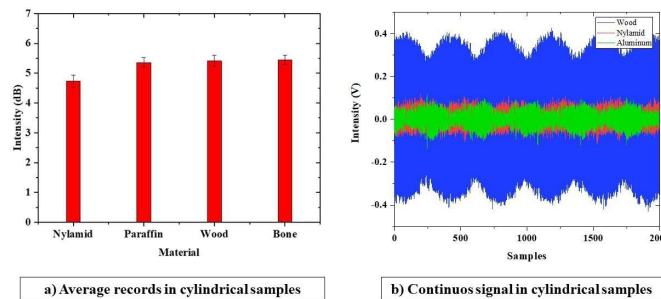


Fig. 2. Device calibration results: in a) the averages of the 10 records made in each of the samples are shown, while in b) the continuous signal of the records saved in a period of 5 seconds is observed.

There was designed and built, in the Medical Physics Laboratory of Science and Engineering Division, a device called “Radar Bone”. Padilla et al. used it for diagnose congenital hip dysplasia in newborn babies [8–10]. The main objective of this work is to make improvements to the Bone Radar prototype to establish its validation stage, analyzing bone density in patients with suspected osteoporosis.

2 Methodology

2.1 Bone Radar Structure and Improvements

The components update was according to functionality and ease of configuration, they are listed below, see figure 1.

- 1 The control stage consists of two parts. The first one works as a control interface containing a NEXTION 3.5" LCD touch screen model NX4832T035. The second part consist of two Arduino NANO modules connected in parallel. One module works as a slave emitting a high and low digital signal according to the frequency selected by the user (100 Hz-2 kHz). The second module works as a master and connects between the data detected by the sound receiver module, the control interface and the data transmission module.

- 2 An A4988 DRIVER MOTOR power amplifier circuit which receives the analog signal from the slave module and amplifies the power of the signal to be sent to the transducer.
- 3 An electromechanical transducer. The component has a metallic pointer through which the sound is focused, it has a switch-type button adapted as a short current in order to allow the user to have better control of the acquisition time.
- 4 An audio sensor, MAX 4466 amplifier microphone through which the acoustic signal is acquired. The module sends the analog signal equivalent to the received sound to the master processor to be sent to the data transfer module as a digital signal.
- 5 Finally, the data transmission is done via Bluetooth through an Arduino HC-05 module to a computer where the signal acquired is processed in the NI Labview Software.

3 Conclusions

During the Bone Radar calibration measurements, it was possible to identify a relationship between the acoustic parameter of sound intensity and the density of each of the measured samples. It can be corroborated this behavior in each of the construction stages of the device, obtaining discrete values and later continuous signals. Later on, this relationship will help to detect porosity in a bone due to osteoporosis, as has been verified in the literature with other acoustic parameters such as wave speed. Work was done to make improvements to the device, giving importance to features such as size, shape and operation of the prototype. With this stage, the electroacoustic device has been enhanced and with its previous characterization it is possible to start working on the validation stage to establish it as an additional diagnostic technique in patients with osteoporosis.

Acknowledgments. Authors thank the partial support for this work by DAIP and University of Guanajuato under grant number DAIP/2022-59023.

References

1. Aziziyeh, R., Amin, M., Habib, M., Garcia-Perlaza, J., Szafranski, K., McTavish, R. K., Disher, T., Lüdke, A., Cameron, C.: The burden of osteoporosis in four Latin American countries: Brazil, Mexico, Colombia, and Argentina. *J Med Econ*, vol. 22, no. 7, pp. 638-644 (2019) doi: 10.1080/13696998.2019.1590843

Deep Neural Networks in Processing of MoOx with fsLaser Pulses

Jaime D. Torres-Contreras¹, Santiago Camacho-López²,
Horacio Rostro-González³, Miroslava Cano-Lara¹

¹ Tecnológico Nacional de México,
ITESI, Guanajuato,
Mexico

² Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada,
Departamento de Óptica, Baja California,
Mexico

³ Universidad de Guanajuato,
DICIS, Guanajuato,
Mexico

miroslava.cl@irapuato.tecnm.mx

Abstract. Artificial Neural Network (NNs) approaches allow for the automatic creation of a model that accounts for these challenging processes, without any physical knowledge of the processes being programmed by a specialist. Fs short-pulse lasers can be used to create oxides in any type on materials, but to model such interactions requires expensive techniques. Multilayer neural networks allow one to take a relatively sparse ensemble of simulations and generate a surrogate model that can be used to rapidly search the parameter space of interest. Whereas traditional machine learning (ML) algorithms (such as Random Forests) may saturate with respect to their capabilities with substantial amounts of data, NNs seem to continue to improve as data increases. In this work an artificial neural network is trained in Python language using the Keras and Tensorflow tools, using the Adam optimizer and with a set of 8000 training epochs. The input variables are the parameters of ultrashort femtosecond pulses irradiating a molybdenum metal layer.

Keywords: Metal laser processing, deep neural networks, molybdenum oxides.

1 Introduction

The processing of materials with pulsed femtosecond lasers with very high repetition rates in the order of 60MHz is a complex process that generates non-linear absorption in the material, the short duration of the pulses of a few femtoseconds allows generating very precise microstructures on the surface, controlling their spatial resolution. Experimental optical setup of material processing with fs pulsed laser in Molybdenum thin films is show in Fig. 1a [1]. Consequently, in Fig. 1b each fs pulse, in conjunction with the high repetition rate, removes a minimal amount of material with minimal

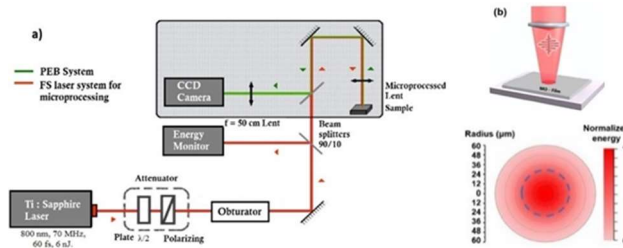


Fig. 1. (a) Experimental optical setup of material processing with fs pulsed laser [1], (b) Radial transformation on the surface of the film when interacting with fs pulses laser.

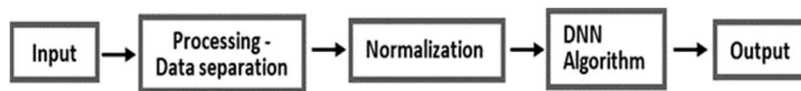


Fig. 2. Data processing through deep learning.

thermal damage, allowing for unmatched depth control and radial transformation on the surface MoO_x .

The interest of generating metal oxides using ultrashort pulsed lasers offers the advantage of miniaturizing designs or crystalline structures of a specific MoO_x by controlling the heat affected zone and micrometric dimensional precision, thus the surface of the film is clean. Developments in machine learning promise to ameliorate some of the challenges of modeling complex physical systems through neural network based surrogate models [2].

There are exist simulation techniques with Deep Learning that allow to reproduce energy curves, electron temperature, time functions, among others. Obtaining and predicting these oxides by means of learning layers has an impact on the understanding of the phenomenon that persists when irradiating a thin layer of Molybdenum.

This work focuses on the creation of a deep neural network, able to predict results of experimentation generated by 60 fs laser pulses by influencing a 500 nm of thickness molybdenum slim layer [1]. In Fig. 2, we can see the sequence used, beginning with the data input, its processing and normalization necessary for network training, and finally the result obtained from the prediction.

By the deep learning use, simulates the behavior of the fs pulsed laser in the metallic surface of the molybdenum layer where experimentally the MoO_x are obtained depending on the laser parameters, exposure time and the properties of the metallic film. The advantage of using ultrashort pulsed lasers is that offers a fine control in the formation of molybdenum oxides in localized regions and micrometric scales [1].

The data used is preprocessed and augmented to train an accurate network on the output parameters and once the results are obtained, the necessary adjustments are made to obtain an optimal response [2]. Mainly, it seeks to establish a data analysis base to make increasingly complex networks including analysis of experimental images through which each of the types of oxide present can be identified.

Table 1. Set of experimental data prepared for the study.

Fluence (mJ/cm^2)	Time (s)								
	2	10	20	30	60	180	360	600	1200
0.5	0	14.1	13.05	16.1	26.84	41.05	45.68	48.52	59.26
0.7	19.57	41.57	55.78	65.26	74.42	80	86.42	90.1	96.1
0.9	43.68	76.31	83.57	84.63	85.47	88.84	92	96.1	105.89
1.1	82.73	90.52	92.84	93.89	93.68	95.26	100	101.57	104.21
1.3	80	94.73	98.1	97.89	98.31	99.15	101.68	104.73	107.57
1.5	86.63	98.1	98.21	99.15	99.26	101.15	104.42	104.21	101.05

2 Data Analysis

The used data set in the neural network conforms by 60 elements of experimentation, showed in the Table 1, this information was allowed in three columns ordained by diameter, fluence and time. The resulting database is a table with 3 columns and 55 rows from which the training parameters for the neural network are obtained.

The data is sorted and separated by commas, so the file ending is CSV. We use data augmentation, a standard technique indeed learning. The data set was increased by a simple cubic interpolation by a factor of 2, resulting like it's shown in Fig. 3 obtaining 120 data of these process.

3 Neural Network Architecture

Establish the architecture of the neural network, several structures were tested, the one that worked best was a network $1 \times 64 \times 128 \times 64 \times 1$ with 3 input parameters: Fluence, time and experimental diameter and one output variable we obtain the predicted diameter. The data were preprocessed and normalized to be entered in a first layer and then proceed through 3 internal layers, finally a resulting value of the final layer is obtained. The final architecture of the network is shown in Fig. 4.

4 Training and validation

For this project, supervised learning was used by which the neural network was trained. The adaptive moment estimation (Adam) was used for the optimizer and the MSE for the loss function [2]. The neural network was trained for 8000 epochs, using Keras backend API Keras-TensorFlow v2.9.0, which took the computer around 24ms to complete an epoch on a machine with AMD Ryzen 5 4500U CPU with Radeon Vega6 iGPU, without using the GPU before the CPU, using the Python 3 language, for a total time of 4 minutes for the complete training of the algorithm.

The training is done using the basic linear regression formula applied by TensorFlow [3] for regression models as:

$$y = \beta + \alpha x + \varepsilon. \quad (1)$$

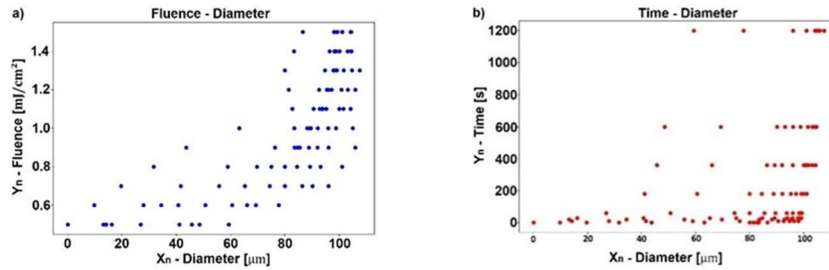


Fig. 3. Representation of scatter diagrams applying the increase of data through simple quadratic interpolation [2], a) Laser fluence in relation to the diameter, b) Exposure time in relation to the diameter [1].

In which β is the bias, that is, if $x = 0$, $y = \beta$; α is the weight associated with x and ε is the residual or error of the model, which includes the data that the model cannot learn. Applying this formula to our case, it would be:

$$\sum diam_{pred} = \beta + \alpha^9 diam_{exp} + F_{pp} + t_{exp} + \varepsilon. \quad (2)$$

With the variables related to the experimental diameter, the fluence, and the exposure time, as well as an MSE error function like the following:

$$MSE(y) = \sum^{DEEE} (predict - real\ value)^2, \quad (3)$$

where the value of 8000 is the number of epochs used in the neural network, predict refers predicted value, and real value is the reference to the training value.

Neural network was trained for 8000 epochs due to limited input data, finding at this point the best learning response. Finalizing with an overfitting in the neural network after this number of epochs and it starts to overfit suffering significant noise. With overfitting we refer to what happens to a model when it models the results of a training too well, learning details of these that are not general.

In this case, time and fluency are affected, data used to demonstrate the relationship between the appearance of laser irradiation and the diameter of growth of the zone transformed into the thin metallic film. The learning rate and validation split was $lr=0.001$ and $Vs=0.001$ respectively. The best learning rate in general is the one that decreases as the algorithm approaches a solution, to achieve this effect we have the *learning rate* hyperparameter [4].

The satisfactory error threshold in this type of network is determined by trial and error, making the necessary adjustments to find its ideal characteristics. In the previous tests of the final network model, learning rate adjustments, Split validation and number of epochs were tested, as well as different structures of 2 and 4 layers, finding the lowest training error, MSE of 33 in the configuration.

Once the neural network has been trained, the training files are stored so that they can be used later by another prediction application. The MSE and MAE errors are also plotted, shown in Fig. 5, to obtain a clearer idea of the quality of the trained model. A downward trend in MAE and MSE indicates that the metric is improving. This means that the retraining of the model is effective. Erratic or irregular variation indicates that

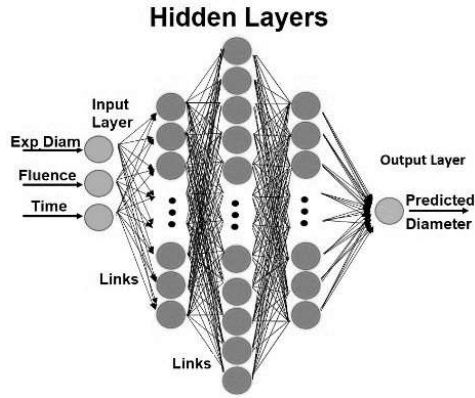


Fig. 4. Representation of the neural network configuration used in this work with its input and output variables.

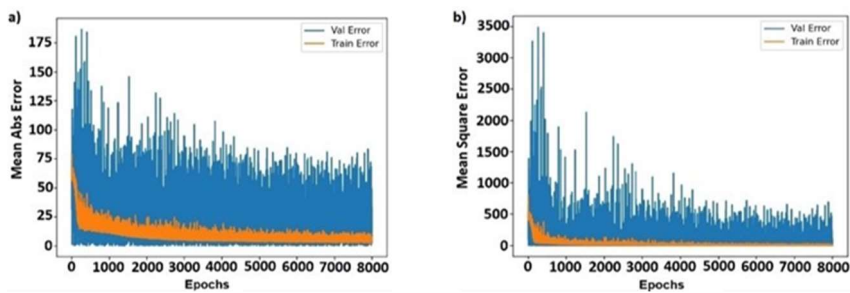


Fig. 5. Representation of the errors obtained, (a) is the MAE and, (b) the MSE of the trained network.

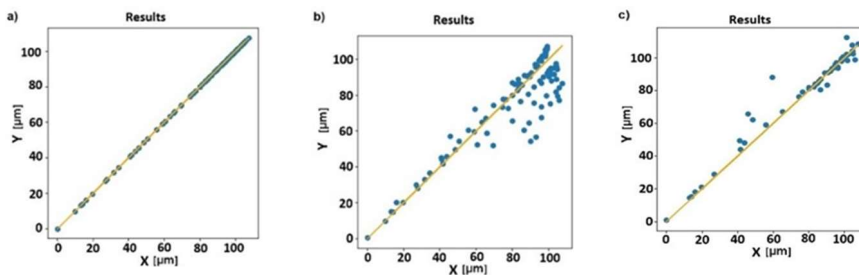


Fig. 6. Distribution of neural network results, (a) Graphed of dataset, (b) Neural network with overfitting, (c) Neural network predictions.

the feedback data is not consistent between assessments. Increase the minimum sample size for the quality supervisor. The backpropagation algorithm is based on a recursive procedure to estimate the weights as a function of the response error in each layer [5].

The mean absolute error provides the average of the absolute difference between the model prediction and the target value. The root means square error (MSE) provides the

average of the squared difference between the model prediction and the target value. It can be used as a measure of the quality of an estimator. The mean absolute error (MAE) provides the average of the absolute difference between the model prediction and the target value [4].

In some consulted works on deep learning focused on material processing, additional simulation settings, number of times, change of learning rate and hidden layers were made with which a list was made, and the most optimal result was chosen, compared with this work, it was chosen through experimentation and general training data, testing which configuration yielded a better result [2].

5 Results

For the verification of the neural network, sample data obtained from the same training database was used and entered into the prediction application obtaining very small errors and shown in the distribution plot of Fig. 6. Once checking the values, it is possible through this neural network to predict the behavior of the output parameter, through new input parameters.

Each one of the points represents a piece of data, which approximates the training variable and shows the behavior and errors obtained thanks to the neural network. The more adjusted the points are to the line, the better the quality of the predictions obtained.

6 Conclusion

This paper demonstrates the use of neural networks in the analysis of data generated through the experimentation of ultrafast laser pulses, in relation to the effect of the laser fluence, the type of micro processed material, as well as the time spent in each experiment.

In unsupervised learning methods, simulations are performed, and processing results are obtained, before resorting to experimentation, which is sometimes expensive. Much of the work is focused on the preparation and processing of training data taking the previous experimentation data, as well as the search for the ideal network architecture.

The network shown for this case is simple, although the approach gives us many possibilities for a more robust modeling thanks to convolutional techniques, allowing a better understanding of the study in the transformation of thin metallic films by means of ultrashort laser pulses.

References

1. Cano-Lara, M.: Óxidos de molibdeno inducidos por irradiación láser de pulsos ultracortos. Tesis Doctoral CICESE, Baja California, México (2013)
2. Djordjević, B. Z., Kemp, A. J., Kim, J., Simpson, R. A., Wilks, S. C., Ma, T., Mariscal, D. A.: Modeling laser-driven ion acceleration with deep learning. *Physics of Plasmas*, vol. 28, no. 4 (2021) doi: 10.1063/5.0045449

3. Aurélien-Géron.: Hands-on machine learning with scikit-learn, keras, and tensorflow: Concepts, tools, and techniques to build intelligent systems. O'Reilly Media, Sebastopol, CA, 2nd Edición (2019)
4. Torres, J.: Python deep learning: Introducción practica con Keras y tensorflow. Alpha Editorial, Bogotá, Colombia (2020)
5. Daurelio, G.: Neural network optimization of laser welding process. Conference Paper in Proceedings of SPIE, The International Society for Optical Engineering (2020)

Homogeneous Design and Neutron Analysis for a Sodium-Cooled Fast Modular Nuclear Reactor

Enrique Vera-Romero, José Alfredo Soto-Alvarez,
Teodoro Córdova-Fraga

Universidad de Guanajuato,
División de Ciencias e Ingenierías,
Mexico

e.veraromero@ugto.mx, {jasa, theo}@fisica.ugto.mx

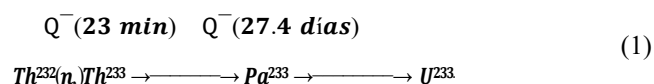
Abstract. In this work, a neutron analysis for a homogeneous nuclear reactor core model with SMR characteristics and fast neutron spectrum has been analyzed. A mixture of uranium and thorium has been used as fuel, with the intention of incorporating thorium and verifying its behavior as a new nuclear fuel in this type of reactor. Sodium has been used as a refrigerant element. Several scenarios with different levels of enrichment for U-235 were evaluated. Monte Carlo simulations were carried out for an irradiation period of 650 days, emphasizing the analysis of the effective multiplication factor, the inventory of fission products and minor actinides of interest, and the degree of fuel burnup. It was obtained that for an enrichment of 17% the reactor could operate at nominal power in a supercritical state, in addition to low production of Pu-239.

Keywords: Uranium, thorium, criticality, small modular reactor.

1 Introduction

Currently, uranium is considered as the base fuel material for all nuclear reactors in operation responsible for the production of electrical energy. However, only 0.711% of natural uranium contains the fissile isotope U-235, so an enrichment process is required, which entails a significant expense in the preparation of nuclear fuel.

On the other hand, it is known that there are uranium reserves worldwide for the next 100 years [1], making important to search for new fuel elements, thus being able to extend the peaceful use of nuclear energy, having the advantage of not emitting greenhouse gases. During the last years, Thorium has emerged as an alternate element to replace Uranium as a fuel in reactors. Although Th-232 is a fertile isotope, by absorbing a neutron it is possible to obtain the fissile material U-233. Equation (1) shows the process:



One of the drawbacks of nuclear energy is the production of radioactive waste (minor actinides and fission products), mainly those with a long half-life; however, the use of thorium in the fuel matrix helps to reduce this problem since that, the absorption of many more neutrons is required for the production of heavy isotopes. For example, it takes seven neutrons for Th-232 to produce Pu-239, unlike U-238 which only requires one neutron.

Research into the use of Thorium as a new nuclear fuel has already begun. Schaffer [1] makes a description of how Thorium can be used as fuel. In the work of Anantharaman *et. al.* [2], explains how some thorium-based fuel assemblies were irradiated with the intention of reprocessing and separating U-233. In the work of Ibrahim *et. al.* [3] the feasibility of incorporating Thorium into a fast reactor was investigated, it was possible to burn 25.9 Tons of Plutonium from LWRs and 5 Tons of U-233 were generated.

On the other hand, small modular reactors (SMRs) are advanced reactors that have the capacity to produce approximately one third of the energy of a conventional reactor, about 300 MW [4]. Being small devices, they can be easily preassembled and transported. This is why it is important to analyze the behavior of these devices when incorporating Thorium as a fuel in conjunction with a fast neutron spectrum.

In this article, a neutron analysis for a homogeneous design of the active part of the core of a small modular reactor was carried out, thorium-based fuel was used and no moderator element was used, seeking to maintain a fast neutron spectrum. Follow-up was given to the criticality, the inventory of produced and spent masses as well as the fuel burnup.

2 Materials and Methods

The active part of the core of a modular nuclear reactor was modeled, using thorium - based fuel. The model was completely homogeneous, establishing an 80/20 ratio in the U/Th mixture. Figure 2 shows the layout of the model, as well as the dimensions used. No moderator material was used, with the intention of always maintaining a fast neutron spectrum, and thus contributing to the reduction of trans-uranium elements with high half-lives.

All the simulations were carried out in steady state maintaining a nominal power of 300 MWth. The operating temperature was established at 1200 K, with the intention of expanding the effective sections of neutron capture in the materials (Doppler Broadening [5]) and thus increase the nuclear transmutations. Liquid sodium was used as cooling material. Six burn steps were simulated for a total of 650 days of irradiation.

All the simulations were carried out by Monte Carlo technique, using the MCNP code, version 6.2 [6]. Two macro-bodies (cylinder and hexagonal prism) were used for the construction of the geometry. The neutron analysis focused on determining the k_{eff} , the fuel burnup and the building of the inventory of fission products and minor actinides. Table 1 shows the materials and their corresponding isotopes used in the simulations.

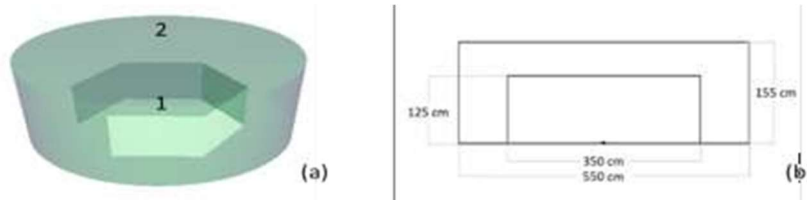


Fig. 1. (a) 3D view of the active part of the homogenous core; (1) is core and (2) reflector (b) Dimensions set in the model.

Table 1. Materials used in the simulated models.

Material configuration of the homogeneous core/reflector
Core
U-234, U-235, U-238 (primary fuel) 80%
Th-232 (secondary fuel) 20%
Si-28, Si-29, Si-30 (cladding)
C (fuel and cladding)
Na (refrigerant material)
Reflector
Zirconium Silicide ($Zr_3 Si_2$)

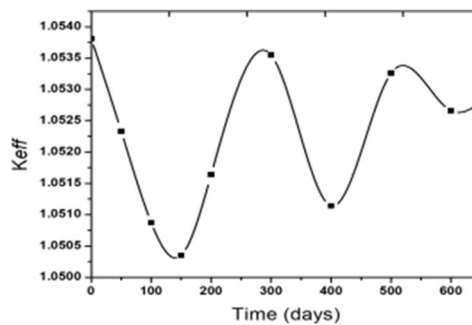


Fig. 2. Evolution of criticality throughout the irradiation period.

3 Results and Discussion

For the enrichment levels 5, 10 and 15% of U-235, the criticality values were 0.65, 0.85 and 0.92 respectively, producing a subcritical reactor; with 17% enrichment, supercriticality was reached. Figure 2 shows the temporal evolution of the k_{eff} for the entire simulated irradiation period. It can be noted how small oscillations occur over time but always maintaining a value greater than 1.0, therefore there is the assurance of constant energy production during this time.

Figure 3 shows the production and vanishes of the important actinides followed for 17% enrichment, a small amount of Np-237 was produced, an isotope with a half-life of 2.14×10^6 years and high radiotoxicity. There is no virtual production of actinides like americium and curium.

As for the plutonium isotopes, only Pu-239 was generated, which together with U-233 can contribute fission reactions and thus extend the reactor's operating cycle. The

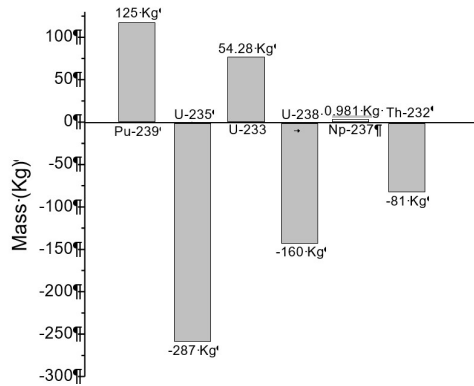


Fig. 3. Masses produced and consumed after the irradiation period.

fuel burnup for the entire irradiation period was 3.035 GWd/MTU, for all levels of enrichment, thus inferring that the use of fuel is independent of the level of enrichment.

4 Conclusion

According to the results obtained, the scenario with 17% enrichment was the ideal one, since supercriticality was obtained with it. Likewise, the incorporation of Thorium as a new fuel helped to generate the fissile material U-233, an element that could be used to maintain the fission reactions, or to be extracted through a reprocessing of the spent material, for later use in another reactor core.

Acknowledgments. Thanks to CONACYT, and the University of Guanajuato.

References

1. Baker-Schaffer, M.: Abundant thorium as an alternative nuclear fuel: Important waste disposal and weapon proliferation advantages. *Energy Policy*, vol. 60, pp. 4–12 (2013) doi: 10.1016/j.enpol.2013.04.062
2. Anantharaman, K., Shivakumar, V., Saha, D.: Utilisation of thorium in reactors. *Journal of Nuclear Materials*, vol. 383, no. 1-2, pp. 119–121 (2008) doi: 10.1016/j.jnucmat.2008.08.042
3. Ibrahim, A., Aziz, M., EL-Kameesy, S. U., El-Fiki, S. A., Galahom, A. A.: Analysis of thorium fuel feasibility in large scale gas cooled fast reactor using MCNPX code. *Annals of Nuclear Energy*, vol. 111, pp. 460–467 (2018) doi: 10.1016/j.anucene.2017.07.029
4. Murakami, T., Anbumozhi, V.: Global situation of small modular reactor development and deployment, economic research institute for ASEAN and East Asia (ERIA) (2021)
5. Duderstadt, J. J., Hamilton, L. J.: *Nuclear reactor analysis*. Wiley (1976)
6. Werner, C. J.: *MCNP user's manual code version 6.2*. Los Alamos National Laboratory, (2017)

Caracterización microbiológica de un hongo aislado de la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato

Cielo C. Molina-Calderón, Estefanía O. Juárez-Hernández

Instituto Politécnico Nacional,
Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería,
Campus Guanajuato,
México

cielocmc@hotmail.com

Resumen. Debido a la inespecificidad de los complejos enzimáticos especializados presentados por los hongos descomponedores de madera, estos presentan una gran variedad de aplicaciones biotecnológicas. Se realizó la identificación de un hongo noreportado, considerado plaga en la sierra de Santa Rosa, México; se realizó la caracterización de su morfología, así como la evaluación de su capacidad para degradar madera y celulosa. Se creció el hongo por triplicado en medio PDA durante seis semanas a 26°C, obteniendo un crecimiento lento [13]. Se evaluó su capacidad para degradar madera cultivándolo en medio PDA con 3, 10 y 15% v/v de aserrín de pino por el mismo periodo de tiempo, disminuyendo el diámetro de crecimiento en los mismos a medida que aumentaba dicho porcentaje respecto al control sin aserrín. Asimismo, se evaluó la actividad celulolítica del hongo a través de su crecimiento en medio sólido de celulosa por triplicado durante 21 días bajo las mismas condiciones; se obtuvo un crecimiento similar de la muestra respecto al crecimiento obtenido en el cultivo en medio PDA y una velocidad de aparición del halo de degradación de celulosa de 5.33 y 33.02 mm/día para un periodo de cero a tres y de tres a veintidós días, respectivamente, describiéndolo como degradador de celulosa alto o rápido [6] tras un periodo de latencia de aproximadamente tres días. Se observó una morfología al crecer el hongo en medio PDA y al usar las técnicas de papel de celofán y microcultivo que permitió proponer su identificación como *Verticillium dahliae*.

Palabras clave: Caracterización, celulosa, aserrín, plaga, *Verticillium*.

Microbiological Characterization of a Fungus Isolated from the Sierra de Santa Rosa, Guanajuato

Abstract. Due to the nonspecificity of the specialized enzyme complexes presented by wood-decomposing fungi, they present a wide variety of biotechnological applications. The identification of an unreported fungus, considered a pest in the Sierra de Santa Rosa, Mexico, was carried out; The characterization of its morphology was carried out, as well as the evaluation of its capacity to degrade wood and cellulose. The fungus was grown in triplicate in PDA medium for six weeks at 26°C, obtaining slow growth [13]. Its ability to degrade wood was evaluated by growing it in PDA medium with 3, 10 and 15%

v/v of pine sawdust for the same period of time, decreasing the growth diameter in them as said percentage increase compared to the control without sawdust. Likewise, the cellulolytic activity of the fungus was evaluated through its growth in solid cellulose medium in triplicate for 21 days under the same conditions; A similar growth of the sample was obtained with respect to the growth obtained in the culture in PDA medium and a speed of appearance of the cellulose degradation halo of 5.33 and 33.02 *mm/día* for a period of zero to three and three to twenty-one days. respectively, describing it as a high or rapid cellulose degrader [6] after a latency period of approximately three days. A morphology was observed when the fungus grew in PDA medium and when using cellophane paper and microculture techniques that allowed us to propose its identification as *Verticillium dahliae*.

Keywords: Characterization, cellulose, sawdust, pest, *Verticillium*.

1. Introducción

Los hongos de tipo silvestre en México se presentan en variedad de especies y formas [3], por lo que el reportado conocimiento de dicha diversidad es insuficiente, y las cifras que han mencionado diversos autores no reflejan con certeza la cantidad concreta de especies conocidas [1]. Estos son aquellos organismos de tipo unicelular o pluricelular, eucariotas y con una rígida pared celular compuesta por quitina y glucano [5].

Específicamente, los hongos de tipo xilófagos son aquellos organismos que se alimentan de los componentes que contiene la madera, provocando así severos daños a la misma [14]. La degradación que este tipo de organismos causa en la madera de los árboles es una de las enfermedades más comunes que pueden sufrir, debilitando hasta cierto punto la madera llegando a fracturarlos; este fenómeno puede afectar diferentes partes de los árboles, desde las ramas, hasta las raíces [12].

Específicamente, el proceso de hidrólisis de la celulosa por hongos se realiza a través de la participación de un complejo enzimático llamado celulasas, debido a la estructura compleja, cristalina y amorfa que tiene la celulosa, hidrolizándola en las moléculas de celobiosa, glucosa y oligosacáridos.

Dicho complejo está constituido por tres enzimas: endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas, enzimas de naturaleza glicoproteína que no necesitan de cofactores para poder realizar la actividad enzimática a diferencia de las involucradas en la degradación de lignina [10].

2. Metodología

2.1. Caracterización macroscópica

Se elaboró por triplicado medio PDA para el crecimiento del hongo en cajas Petri y se evaluó la capacidad de degradar madera por el hongo analizado creciéndolo en medios PDA con aserrín proveniente de pino, específicamente con 0, 3, 10 y 15% *v/v* de aserrín cada uno. Todas las placas sembradas fueron incubadas a 26°C por un periodo de seis semanas. Para el caso del cultivo de medios sin porcentaje de aserrín, se midió diariamente el diámetro de crecimiento en milímetros, con el fin de construir una curva

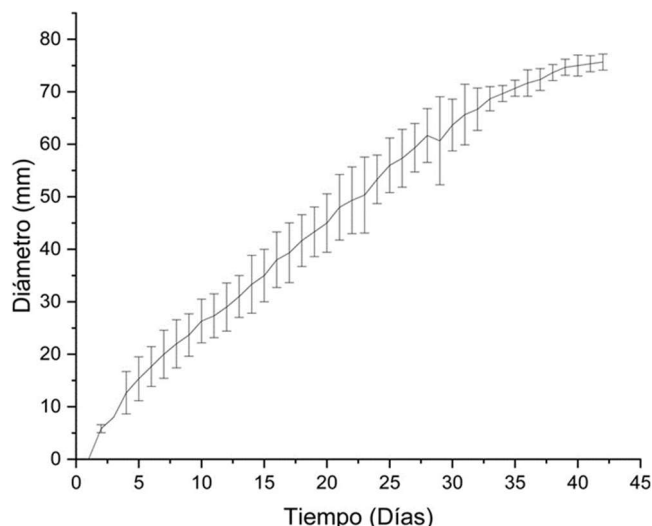


Fig. 1. Cinética de medias con desviación estándar del crecimiento del hongo por triplicado en medio PDA a 26°C durante seis semanas.

de crecimiento a lo largo de periodo de incubación. Asimismo, se midió en las mismas unidades el diámetro de crecimiento de manera semanal de los medios de cultivo con porcentaje de aserrín para realizar un análisis ANOVA de factor único, también evaluando las diferencias significativas entre los aislados en cada porcentaje de aserrín de manera semanal mediante comparaciones múltiples de medias usando la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Además, a lo largo de este periodo y para todos los tipos de medio, se observó y registró la morfología presentada.

2.2. Caracterización microscópica

Técnica del papel celofán. Se realizó la técnica del papel de celofán [11] partiendo de un cultivo del hongo en medio PDA tras tres semanas de incubación a 26°C y observando la muestra al microscopio óptico bajo objetivo 40X para describir la forma celular de la muestra.

Técnica de microcultivo. Se realizó la técnica de microcultivo [7] montando el sistema y humedeciendo la cámara con agua destilada estéril con 30% de glicerol al papel filtro en el fondo para producir una cámara de humedad. Se incubaron las placas de Petri a 26°C durante tres semanas, añadiendo periódicamente glicerol 30% nuevamente al papel filtro en la base de manera semanal. Finalmente, se observó al microscopio óptico bajo objetivo 40X y se registraron las estructuras del hongo para su identificación.

2.3. Evaluación de la actividad celulolítica

Se realizó esta prueba inoculando en medio de celulosa [6] (g/L : 5 celulosa, 0.1 sulfato de manganeso, 0.2 sulfato de magnesio, 2 fosfato monobásico de potasio y 15 agar agar) una muestra de micelio, además de un control sin muestra, todos por

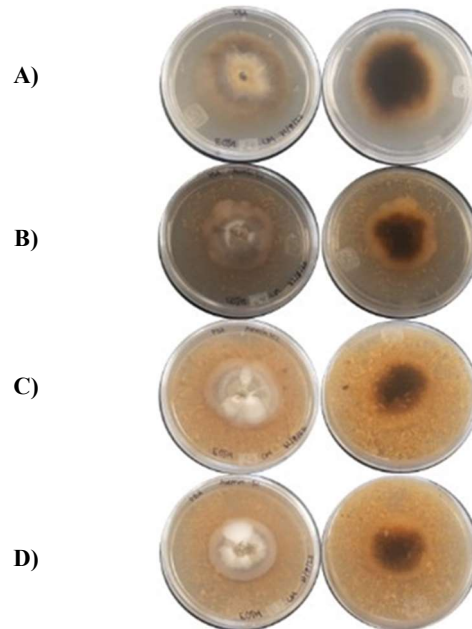


Fig. 2. Crecimiento del hongo en medios PDA con diferente porcentaje v/v de aserrín tras cuatro semanas de la inoculación (anverso, izquierda; reverso, derecha). A) Control medio PDA sin aserrín; B) Medio PDA+Aserrín 3%; C) Medio PDA+Aserrín 10%; D) Medio PDA+Aserrín 15%.

triplicado. Se incubaron durante tres semanas a 26°C, tiempo durante el cual se evaluaron diariamente los respectivos diámetros de crecimiento y de halo de degradación a contraluz basándose en la desaparición de las pequeñas acumulaciones de celulosa del medio heterogéneo gracias a la actividad del hongo, obteniendo así aproximaciones; todas las mediciones se realizaron en milímetros, con el fin de elaborar sus respectivas cinéticas a lo largo del periodo de tiempo de incubación.

Se reveló el medio con solución rojo Congo al 0.1% (*p/v*) y se dejó actuar el colorante durante 15 minutos. Después, se lavó con una solución de cloruro de sodio 1 M. Se determinó la actividad celulolítica por la presencia de zonas claras (halos) manifestadas por la hidrólisis de la celulosa.

En el caso de la realización de la cinética de aparición del halo de degradación de celulosa, esta se dividió en dos periodos de tiempo de acuerdo con el comportamiento de dicha degradación, obteniendo así las respectivas velocidades en *mm/día* para cada periodo.

3. Resultados

Se obtuvieron colonias en medio PDA las cuales abarcaron finalmente el área central de la caja de manera uniforme. Su morfología fue filamentosa, con elevación plana, borde filamentoso y superficie lisa. Se observó una textura de micelio algodonosa con

Tabla 1. Resultados obtenidos tras el análisis ANOVA usando la prueba de Tukey ($P < 0.05$) para los diámetros obtenidos de crecimiento en milímetros en la prueba de degradación de aserrín.

Semana	Control medio	Medio	Medio	Medio	Valor P
	PDA	PDA+Aserrín 3%	PDA+Aserrín 10%	PDA+Aserrín 15%	semanal
1	18 abcd	15.33 abcd	13.33 abcd	12.67 abcd	0.0795
2	36.33 abc	30.33 abcd	30 abcd	28.33 bcd	0.0181
3	47.67 ac	35.33 cdb	39.33 acdb	37.33 cdb	0.0082
4	58.33 a	43.33 cdb	44.33 cdb	44 cdb	0.0002
5	74 a	57.33 bdc	54.33 bdc	55.33 bdc	0.0021
6	77.33 a	65.67 bcd	63.33 bcd	62.67 bcd	0.0004

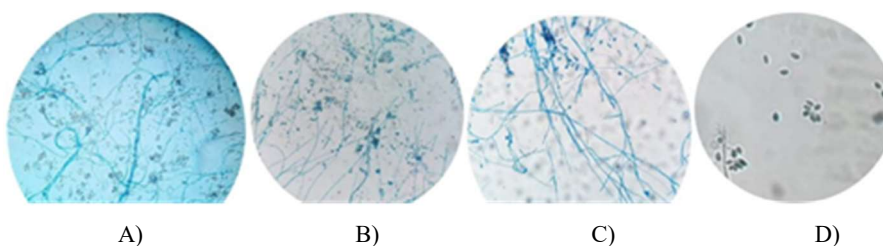


Fig. 3. Observación del hongo tras ser incubado por tres semanas a 26°C en medio PDA al microscopio óptico bajo objetivo 40X. A) Técnica del papel celofán; B) Técnica de microcultivo; C) Técnica de microcultivo (visualización de hifas); D) Técnica de microcultivo (visualización de conidios).

esporas decolor negro, con micelio vegetativo y reproductivo, siendo el primero de un color blancuzco crema oscureciéndose a café gradualmente en el centro debido a pigmentación, así como un crecimiento invasivo (fig. 2, A).

Asimismo, se evaluó la cinética de crecimiento del hongo midiendo el diámetro de crecimiento de las muestras a lo largo de las tres semanas de incubación en milímetros, obteniendo una curva representativa como se muestra en la fig. 2, observando un crecimiento total al cabo de dichas tres semanas, teniendo su aparentefase exponencial de desarrollo microbiano del quinto al vigésimo octavo día de incubación. Por otro lado, en la prueba de degradación de aserrín se observó la aparición de micelio aéreo parcialmente de un color blanco más pronunciado en las muestras evaluadas en medios con aserrín que en el control sin aserrín (fig. 2).

Al final de la prueba, se observó que el crecimiento en los medios tendía a disminuir en cuanto a longitud del diámetro del mismo a medida que aumentaba el porcentaje de aserrín en el medio (fig. 2). De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis ANOVA, en cuanto al valor P semanal se tienen diferencias significativas en los datos de todas las semanas a excepción de la primera, al haber obtenido valores inferiores a

0.05. Sin embargo, según los resultados obtenidos en la prueba de Tukey, se observan diferencias estadísticamente significativas únicamente en el caso del control (tabla 1, columna 2) al ser comparadas las respectivas medias de este tipo con las medias obtenidas en los casos de medios PDA con aserrín (tabla 1, columnas 3-5).

Cabe mencionar que dichas diferencias se fueron identificando de manera gradual a medida que se avanzaba en el número de semanas, ya que en la primera no se determinaron diferencias significativas. Los datos corresponden a la media de las tres réplicas respectivas realizadas en cada caso. Las letras representan la diferencia significativa existente entre dicho número de repeticiones, en donde las medias en la misma fila (ya que se realizó el análisis de manera semanal) y con la misma letra no se determinaron como estadísticamente diferentes.

La última columna corresponde al valor P obtenido tras la realización del análisis ANOVA, esto realizado de igual forma semanalmente. De acuerdo con las pruebas concernientes a la caracterización microscópica, se identificaron hifas de modalidad rizoide y septadas (fig. 3, C), con microconidias de conidióforos verticilados, además de largas fiálides. Asimismo, se apreciaron abundantes microesclerocios (fig. 3, A y B) y conidios de tipo filospora, esféricos u ovoides, hialinos y unicelulares (fig. 3, D); reproducción asexual por fragmentación y sin pigmentación.

Finalmente, se realizó la evaluación de la velocidad de aparición del halo de hidrólisis de celulosa generado y del crecimiento del hongo cada 24 horas, midiendo los respectivos diámetros en milímetros. Los resultados confirmaron este tipo de degradación de acuerdo con la comparación del anverso y reverso de las muestras evaluadas contra el control realizado. Se observa un fondo rojo en la caja Petri debido a la adición de solución de rojo Congo al 0.1% (p/v), con zonas claras alrededor del crecimiento de la muestra, siendo estos ya mencionados halos de degradación de celulosa (fig. 5).

Se elaboró la cinética de crecimiento del hongo en este medio, observando un crecimiento ligeramente mayor al obtenido en el cultivo en medio PDA, para el periodo final alcanzado de 21 días, sin embargo, se aprecia de manera general un mismo ritmo de crecimiento a lo largo de este periodo de tiempo. Además, se evaluó la velocidad de degradación de celulosa a lo largo de dichas tres semanas (fig. 4); se dividió en dos partes la cinética elaborada de acuerdo a la marcada diferencia en el comportamiento mostrado en la misma, la primera abarcando desde la inoculación hasta el tercer día de incubación, y la segunda del tercer día al vigésimo primero.

De esta manera, se obtuvieron dos velocidades promedio de degradación de este compuesto, una correspondiente a cada parte: de 5.33 y 33.02 $mm/día$ respectivamente, observando así una mayor velocidad para el segundo periodo de degradación.

4. Discusión

En cuanto a la identificación del hongo, el género *Verticillium* posee fiálides largas en conidióforos ramificados en verticilos [15], característica que se ajusta a las mostradas por el hongo en análisis (fig. 3). Se reporta que las especies de *Verticillium* son fitopatógenos no específicos [8], aspecto que concuerda con la problemática presentada en la Sierra de Santa Rosa; de igual manera, posee conidióforos hialinos,

simples o ramificados rectos biendiferenciados, portando verticilos de esbeltas fíalidas divergentes en forma de punzón, cuyas hifas son hialinas y septadas, además de que sus conidios son hialinos o de colores brillantes y en su mayoría unicelulares [9].

Dicha descripción encaja con los resultados obtenidos (fig. 3). Para la parte microscópica, la especie en específico de *V. longisporum* cultivada en medio PDA presenta una morfología macroscópica plana, borde filamentoso, pigmentación al centro color café y micelio algodonoso [16], descripción sumamente parecida a la del hongo estudiado.

De dicho cultivo en medio PDA, al incubarse durante 14 días en oscuridad a aproximadamente 20°C, se obtiene un diámetro de crecimiento de 42 mm, mientras que la muestra analizada en este trabajo adquirió uno en promedio de 34 mm en este mismo tiempo (fig. 1). Como se observa, ambos crecimientos son parecidos.

Sin embargo, para diferenciar entre las dos especies mencionadas de este género al momento (*V. dahliae* y *V. longisporum*) es importante la morfología de los conidios, ya que *V. dahliae* produce unos relativamente esféricos, mientras que *V. longisporum* produce unos de forma elongada [17].

Además, *V. dahliae* es un organismo de colonia blanca y micelio algodonoso abundante al crecer en medio PDA inicialmente, para gradualmente volverse de un tono oscuro, produciendo abundantes conidias hialinas y de forma generalmente ovalada. Debido a lo anterior, se propone la identificación del hongo analizado como *V. dahliae*, al presentar las características atribuidas a este hongo, diferenciándose de *V. longisporum* al observarse conidias esféricas y ovaladas.

Conforme a los resultados obtenidos en la prueba de degradación de aserrín, se observó la capacidad de degradación de madera del hongo al identificarse una disminución estadísticamente significativa en los diámetros de crecimiento con porcentajes v/v de aserrín respecto a los obtenidos sin este compuesto con el pasar de las semanas (tabla 1), demostrando un retardo en el crecimiento del hongo analizado posiblemente debido a dicho proceso de degradación.

A lo anterior, se suma que la podredumbre de tipo blanca presenta una gran diversidad, habiendo dos tipos de esta degradación: deslignificación selectiva y pudrición simultánea, donde en el primer caso, los hongos degradan principalmente la lignina, dejando sin afectar los tubos de celulosa y la madera con manchas de color blanco y con arrugas. Por otro lado, en el caso de la pudrición simultánea, los hongos descomponen al mismo tiempo celulosa, hemicelulosa y lignina [14]. Teniendo lo anterior en cuenta, en la última clasificación de hongos de podredumbre blanca, el hongo analizado podía categorizarse de esta manera al ser posible la degradación simultánea de celulosa y lignina.

En cuanto a ello, aspectos como la aparición de micelio blanco al entorno de las hifas en el crecimiento del hongo en medios PDA+Aserrín con diferentes porcentajes (fig. 2) concuerda con las manchas blancas anteriormente mencionadas en el caso de los hongos de podredumbre blanca, así como el vasto crecimiento habido en la evaluación del crecimiento de hongo en medio de celulosa (fig. 4) a comparación del crecimiento mostrado en medios PDA con aserrín (tabla 1), ya que fue bastante similar al hallado en medio PDA (fig. 1), e incluso ligeramente mayor, esto al haber alcanzado en promedio los 60 cm de diámetro de crecimiento en 42 días para el medio con menor cantidad de aserrín (PDA+Aserrín 3%), en 22 días en medio PDA y en 19 días en medio de celulosa, estando todos los cultivos bajo las mismas condiciones.

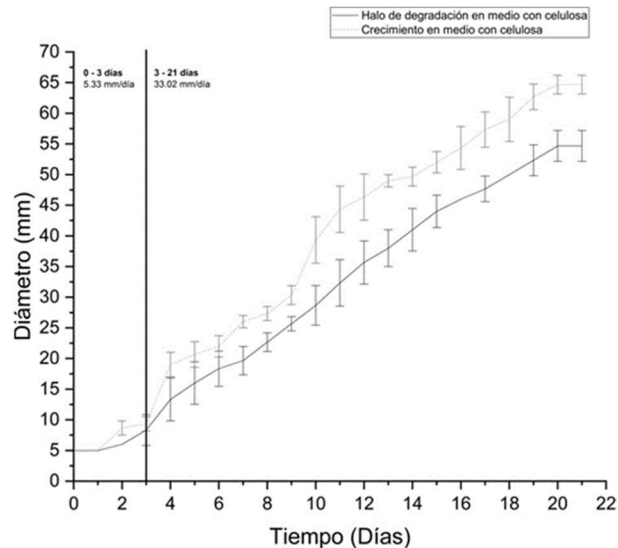


Fig. 4. Cinética de las medias con desviación estándar de la actividad celulolítica y de crecimiento del hongo en medio de celulosa por tres semanas a 24°C junto con las respectivas velocidades de degradación de celulosa por periodo definido.

Aunado a ello, se menciona la rápida degradación de celulosa graficada en la fig. 4, de donde se calcula una velocidad de degradación de celulosa promedio en el primer periodo definido de 5.33 mm/día y de 33.02 mm/día para el segundo. En un estudio, al evaluar de manera similar la degradación de celulosa en diferentes hongos xilófagos, se obtuvo las máximas velocidades de 18.816 mm/día (correspondiente a *Aspergillus fumigatus*) y 9.432 mm/día (para *Aspergillus flavus*) en los primeros cuatro días y en los siguientes dos, respectivamente [6].

Al comparar estas velocidades con las obtenidas, se observa una notable diferencia, ya que, para el primer periodo de tiempo, se obtuvo una velocidad más baja, y, en contraste, para el segundo, se obtuvo una mayor, sin embargo, para este último caso se tiene un periodo de tiempo más largo. De esta manera, en comparación, la capacidad de degradación del hongo estudiado podría entenderse como alta o rápida tras un periodo de latencia de aproximadamente tres días.

5. Conclusiones y perspectivas

Se realizó la caracterización de un hongo no reportado, considerado plaga en la sierra de Santa Rosa, Guanajuato, esto a través de la realización de pruebas microbiológicas con el fin de observar su morfología, observando características del género *Verticillium*, específicamente de la especie *V. dahliae*, proponiendo dicha especie para su identificación. Asimismo, se realizó la evaluación de su capacidad para degradar madera y actividad celulolítica. Para el primer caso, al evaluar su crecimiento en medios PDA con porcentajes ascendentes de aserrín de pino (3, 10 y 15% *v/v*), se obtuvo una disminución del diámetro en los mismos a medida que aumentaba este porcentaje



Fig. 5. Cultivos en medio sólido de celulosa revelados con rojo congo 0.1% (m/v) tras incubación de tres semanas a 26°C (anverso, izquierda; reverso, derecha); A) Control medio celulosa sin muestra, B) Medio celulosa con muestra.

respecto al control sin aserrín, esto además de la aparición parcial de micelio blanco en los medios que contenían aserrín, lo último acentuándose a medida que aumentaba el porcentaje de dicho compuesto, mostrando así atributos de un hongo de tipo xilófago de podredumbre blanca.

Para el segundo caso, en su cultivo en medio de celulosa, se obtuvo un crecimiento similar de la muestra respecto a su crecimiento en medio PDA, donde se obtuvo un crecimiento catalogado como lento [13], y una velocidad de aparición del halo de degradación de celulosa de 5.33 y 33.02 *mm/día* para un periodo de cero a tres días y de tres a veintiún días, respectivamente, características que describen a este hongo con una capacidad de degradación de celulosa alta o rápida [6] tras un periodo de latencia de aproximadamente tres días.

De acuerdo a los resultados obtenidos en cuanto a la caracterización microbiológica, al no poder ser considerados estos como inequívocos, se propone realizar una caracterización de tipo molecular para su identificación, realizando una secuenciación por gen ITS con una previa extracción y purificación de ADN fúngico. Asimismo, se podrían realizar pruebas en cuanto a una caracterización más profunda sobre la actividad celulolítica presentada por el hongo y así obtener una perspectiva más amplia en cuanto a sus potenciales aplicaciones.

Inclusive, pruebas en cuanto a degradación de lignina y hemicelulosa podrían ser realizadas. Por otro lado, dado que el interés en el hongo se debe que se considera plaga, podría realizarse un muestreo del área para así estimar el porcentaje de árboles sanos, enfermos y muertos para de esta forma tener una idea más clara de la enfermedad y buscar la manera de controlarla.

Finalmente, al haber comprobado su capacidad de degradación de celulosa, se tienen aplicaciones en distintas áreas de la industria, entre ellas, la industria extractiva, actividad limitada debido a su alto costo de producción en el uso común de vegetales al respecto [2], por lo que, al ser el hongo analizado de naturaleza filamentosa, sobresale al caracterizarse por formar hifas capaces de colonizar matrices sólidas, y así se tiene una tecnología más sencilla y con menor costo para su producción [4].

Referencias

1. Aguirre, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., Valenzuela, R.: Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. 85, pp. 76–81 (2014) doi: 10.7550/rmb.33649
2. Chacón, O., Waliszewski, K.: Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia*, vol. 21, no. 42, pp. 111–120 (2005)
3. Díaz, K., Morales, G., Radilla, A., vonBertrab, P.: Identificación, caracterización y conservación de hongos silvestres mexicanos. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 3, no. 1, pp. 501–507 (2018)
4. Escudero-Agudelo, J., Daza-Merchant, Z. T., Gil-Zapata, N. J., Mora-Muñoz O. Y.: Evaluación de las enzimas celulolíticas producidas por hongos nativos mediante fermentación en estado sólido (SSF) utilizando residuos de cosecha de caña de azúcar. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 15, no. 1, pp. 108–117 (2013)
5. Universidad Católica de Manizales, https://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/2021/03/Micologia_general.pdf
6. Galván-Quintero, B.: Aislamiento, purificación y caracterización de actividad celulolítica de hongos de corteza de *Pinus hartwegii*. Universidad Autónoma del Estado de México (2018)
7. García-Hernández, M.: Aislamiento e identificación de hongos filamentosos tolerantes a metales pesados en el proceso de lodos activados en una planta de tratamientos de agua residual. Universidad Autónoma de Nuevo León (2004)
8. Koppert: <https://www.koppert.mx/retos/control-de-enfermedades/verticilosis/>.
9. Larone, D. H.: *Medically important Fungi: A guide to identification*. 3rd edn, ASM Press, Washington, D.C. (1995)
10. Mora, V.: Evaluación de dos hongos filamentosos para la biosíntesis de celulasas a partir de residuos agroindustriales de mora (*Rubus adenotrichos*) mediante fermentación en medio sólido. Universidad de Costa Rica (2015)
11. Universidad Autónoma de San Luis Potosí: <http://www.fc.uaslp.mx/informacion-para/material-didactico/MANUALDELABORATORIOBIOLOGIADEHONGOS.pdf>
12. Passer: <https://www.controldeplagapasser.com/wiki/hongos-xilofagos/>
13. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, <http://www.fc.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>
14. Sanite: <https://diagnosisdelamadera.com/diagnosis-de-la-madera-guia-de-hongosxilofagos/>
15. Sociedad Microbiológica Española: https://www.semicrobiologia.org/wp-content/uploads/2021/04/30_Clave.pdf
16. Xiaorong, Z.: *Verticillium longisporum* on oilseed rape (*brassica napus* L.): Differential roles of salicylic acid, seed transmission and plant colonization in greenhouse and field conditions. Universidad Göttingen (2018)
17. Yu, J., Cafarov, I. H., Badadoost, M.: Morphology, molecular identity, and pathogenicity of *verticillium dahliae* and *V. longisporum* Associated with Internally Discolored Horseradish Roots. *Plant Disease*, vol. 100, no. 4, pp. 749–757 (2016)

Análisis de las enzimas con actividad celulolítica de *Streptomyces badius* para la producción de bioetanol

Ingrid Monserrat Gallegos-Olmos, Amanda Rodríguez-Castillo,
Juan Francisco Sánchez-López

Instituto Politécnico Nacional,
Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato,
México

igallegosol700@alumno.ipn.mx

Resumen. El bioetanol de segunda generación es un biocombustible que se puede obtener a partir de la fermentación de la biomasa lignocelulósica de residuos agrícolas (maíz, sorgo y trigo). Como parte de su proceso de obtención, se pueden emplear microorganismos con actividades enzimáticas características que permiten la sacarificación de la materia prima. Entre estas enzimas se encuentran: celulasas, hemicelulasas, glucanasas, xilanasas y peroxidasas, principalmente. La cepa M7C3 (*Streptomyces badius*) es una bacteria aislada de los jales mineros de Guanajuato, Gto., de la cual, en este trabajo se analizó su capacidad celulolítica, así como se realizó un análisis bioinformático de las enzimas reportadas en la base de datos del NCBI para esta bacteria. Como parte de los resultados, se encontró que esta cepa fue capaz de crecer en medio mínimo con Carboximetilcelulosa 1% (CMC 1%), presentando un índice de “CMCasa” de 2.5, que está en el rango de las cepas de *Streptomyces* con capacidad celulolítica. Asimismo, se realizó una cinética de crecimiento de esta cepa en medio mínimo líquido con CMC1%, para analizar la actividad celulolítica en los sobrenadantes. Finalmente, se encontró en la base de datos del NCBI que *S. badius* presenta en su genoma genes que corresponden a glicosil hidrolasas (endoglucanasas, glicosidasas, xilanasas), así como peroxidasas, que indicarían que este microorganismo presenta la maquinaria lignocelulolítica necesaria en el proceso de producción de bioetanol.

Palabras clave: Bioetanol, *Streptomyces*, jales mineros, Guanajuato.

Analysis of Enzymes with Cellulolytic Activity of *Streptomyces Badius* for the Production of Bioethanol

Abstract. Second generation bioethanol is a biofuel that can be obtained from the fermentation of lignocellulosic biomass from agricultural waste (corn, sorghum and wheat). As part of its production process, microorganisms with characteristic enzymatic activities can be used that allow the saccharification of the raw material. Among these enzymes are: cellulases, hemicellulases, glucanases, xylanases and peroxidases, mainly. The M7C3 strain (*Streptomyces badius*) is a bacteria isolated from the mining tailings of Guanajuato, Gto., of which, in this work, its cellulolytic capacity was analyzed, as well as a bioinformatic analysis of the enzymes reported in the database was carried out.

from NCBI for these bacteria. As part of the results, it was found that this strain was capable of growing in minimal medium with 1% Carboxymethylcellulose (1% CMC), presenting a "CMCase" index of 2.5, which is in the range of *Streptomyces* strains with the capacity cellulolytic. Likewise, growth kinetics of this strain were carried out in liquid minimal medium with CMC1%, to analyze the cellulolytic activity in the supernatants. Finally, it was found in the NCBI database that *S. badius* has genes in its genome that correspond to glycosyl hydrolases (endoglucanases, glycosidases, xylanases), as well as peroxidases, which would indicate that this microorganism has the lignocellulolytic machinery necessary in the process of bioethanol production.

Keywords: Bioethanol, *Streptomyces*, mining tailings, Guanajuato.

1. Introducción

Un biocombustible es una fuente de bioenergía renovable, obtenido mediante la biomasa de microorganismos o generado a través de diversos procesos biológicos. Este producto posee diversas ventajas, ya que al ser biodegradable presenta características sostenibles y su combustión está determinada mediante el ciclo del dióxido de carbono.

El bioetanol de segunda generación es un biocombustible que puede ser obtenido a partir de la fermentación de la biomasa lignocelulósica de residuos agrícolas (maíz, trigo y sorgo) compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina; en su proceso de obtención se requiere de un pretratamiento de la materia prima donde se deslignifica.

2. Resultados y discusión

La cepa M7C3 identificada molecularmente como *Streptomyces badius* por nuestro grupo de trabajo [4], es una bacteria que ha sido reportada como productora de enzimas degradadoras de celulosa o lignocelulosa [6]. Por su parte otras bacterias han sido reportadas con esta capacidad como lo son *Streptomyces argenteolus* [7]; *Streptomyces griseorubens* [8]; *Streptomyces lividans* [9] y *Streptomyces viridosporus* [10]. La determinación de la hidrólisis celulolítica mediante la tinción con Rojo Congo, es una técnica que consiste en la asociación del colorante Rojo Congo con la zona de acción de las enzimas celulolíticas.

Cuando en el sitio está presente la celulosa, el colorante se mantiene unido a ella, es decir, a las regiones donde hay enlaces β -1,4- D-glucanos, generando una intensa coloración que se desvanece ante la actividad despolimerizante de las celulasas [11]. En la figura 1A se observan los resultados obtenidos con la tinción por Rojo Congo, en donde aparecen zonas de aclaramiento alrededor de la colonia, lo cual nos determina la capacidad celulolítica de *S. badius*.

Con estos datos se determinó el índice de la actividad enzimática (ICMC), el cual es un método que determina la capacidad de producir "CMCasas" (Endo-1,4- β -D-glucanasas) obteniendo un valor de para M7C3, el cual coincide con el obtenido para otras especies de *Streptomyces* a los 7 días de crecimiento, que oscilan entre 2 y 2.8 [12]. Por otra parte, en la figura 1B se determinó las proteínas totales del sobrenadante producidas por la cepa M7C3 en medio mínimo líquido con CMC 1%, detectando un máximo de proteínas a los 9 días en el sobrenadante de este medio de cultivo, el cual es

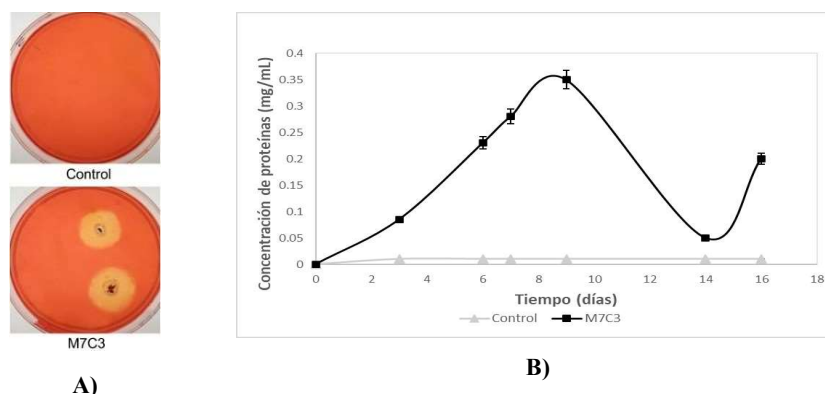


Fig. 1. A) Tinción con Rojo Congo para *S. badius*. B) Concentración de proteína extracelular de la cepa M7C3 cultivada en CMC 1%.

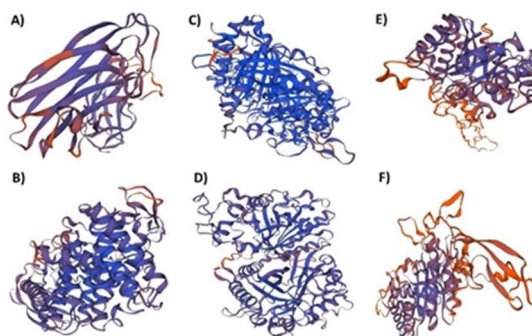


Fig. 2. Modelado en 3D para las enzimas celulolíticas presentes en *S. badius*. A) glucósido hidrolasa familia 9 WP_199888086.1 (852 aa); B) endoglucanasa GGS46745.1 (936 aa); C) peroxidasa tipo Dyp WP_199888640.1 (381 aa); D) peroxidasa RAN18503.1 (451 aa); E) endo beta 1,4 xilanasas WP_253265217.1 (568 aa); F) glicosil hidrolasa RAN13377.1 (581 aa).

un resultado similar al reportado por Acosta Rodríguez *et al.* [13]. Para degradar el material lignocelulolítico presente en el residuo agroindustrial, los microorganismos requieren de la acción conjunta de endoglucanasas, exoglucanasas, β -D-glucosidasas, xilanasas y peroxidadas, lacasas y feruloil esterasas [9, 10].

En la figura 2 se muestra la estructura 3D obtenida para las enzimas celulolíticas de *S. badius*, encontradas en la base de datos del NCBI, con lo cual se muestra que esta bacteria estaría equipada con las enzimas requeridas para la biodegradación del material lignocelulolítico.

3. Conclusión

Se detectó actividad celulolítica sobre CMC 1% en la cepa M7C3 de *S. badius* aislada de los jales mineros de Guanajuato, Gto. Se encontró también que esta bacteria posee la maquinaria de degradación del material lignocelulolítico.

Agradecimientos. Agradecemos al Instituto Politécnico Nacional, por el apoyo otorgado al Proyecto de Investigación SIP 20220926.

Referencias

1. Gaurav, N., Sivasankari, S., Kiran, G. S., Ninawe, A., Selvin, J.: Utilization of bioresources for sustainable biofuels: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 73, pp. 205–214 (2017) doi: 10.1016/j.rser.2017.01.070
2. Chen, H., Fu, X.: Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 57, pp. 468–78 (2016) doi: 10.1016/j.rser.2015.12.069
3. Vohra, M., Jagdish, M., Rahul, M., Satish, P., Sanjay, P.: Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 2, no. 1, pp. 573–584 (2014) doi: 10.1016/j.jece.2013.10.013
4. Kasana, R. C., Salwan, R., Dhar, H., Dutt, S., Gulati, A.: A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Current Microbiology*, Springer link, vol. 57, pp. 503–507 (2008) doi: 10.1007/s00284-008-9276-8
5. Phelan, M. B., Crawford, D. L., Pometto III, A. L.: Isolation of lignocellulose decomposing actinomycetes and degradation of specifically ¹⁴C-labeled lignocelluloses by six selected *Streptomyces* strains. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 25, no. 11, pp. 1270–1276 (1979) doi: 10.1139/m79-200
6. Ventorino, V., Ionata, E., Birolo, L., Montella, S., Marcolongo, L., de Chiaro, A., Espreso, F., Faraco, V., Pepe, O.: Lignocellulose adapted endocellulase producing *Streptomyces* strains for bioconversion of cellulose-based materials. *Frontiers in Microbiology*, vol. 7 (2016) doi: 10.3389/fmicb.2016.02061

Homología de proteínas que codifican para neurotransmisores en el modelo aviar (*Gallus gallus*) como modelo para estudios de neurobiología

Luis Fernando Reséndiz-Nava¹, Gerardo M. Nava²

¹ Instituto Politécnico Nacional,
UPIIG,
México

² Universidad Autónoma de Querétaro,
Facultad de Química,
México

gerardomnava@gmail.com, luisfer_r@outlook.com

Resumen. Los neurotransmisores son biomoléculas encargadas de la comunicación entre neuronas y receptores celulares. Cambios en los niveles de producción de neurotransmisores han sido asociados con enfermedades psicológicas (bajos niveles de serotonina y dopamina provocando depresión) y enfermedades del tracto gastrointestinal (valores altos de dopamina y serotonina en mucosa de pacientes con colitis ulcerosa). Algunos modelos animales comúnmente utilizados en estudios neurobiológicos son el ratón (*Mus musculus*), rata (*Rattus norvegicus*), pez cebra (*Danio rerio*) y aves (*Columba livia*). El objetivo del presente trabajo fue documentar y justificar el uso del modelo aviar *Gallus gallus* para estudios neurobiológicos. Este modelo animal es de bajo costo, fácil mantenimiento, alojamiento y manipulación, además es un modelo de doble propósito en donde los resultados pueden impactar las investigaciones biomédicas y de seguridad alimentaria. Se realizó un estudio bioinformático donde se analizaron secuencias de proteínas asociadas a síntesis y recepción de neurotransmisores en los modelos humano, ratón, rata, pez cebra y aves. Se identificaron genes y proteínas responsables de la síntesis de triptófano hidroxilasa (TPH1), receptores adrenérgicos (ADRA), de dopamina (DRD1) y muscarínico de acetilcolina (CHRM3). Los resultados del presente análisis revelaron un alto porcentaje de homología entre las proteínas de pollo y el ser humano; por ejemplo, TPH1 = 86.43%, DRD1 = 81.33%, ADRA = 76.87%, CHRM3 = 79.87%. Estos resultados resaltan la importancia del modelo aviar para estudios de la biología de la síntesis y regulación de neurotransmisores.

Palabras clave: *Gallus gallus*, modelo animal, neurotransmisores, proteínas, dopamina, serotonina.

Homology of Proteins that Code for Neurotransmitters in the Avian Model (*Gallus gallus*) as a Model for Neurobiology Studies

Abstract. Neurotransmitters are biomolecules responsible for communication between neurons and cell receptors. Changes in the levels of neurotransmitter

production have been associated with psychological diseases (low levels of serotonin and dopamine causing depression) and diseases of the gastrointestinal tract (high values of dopamine and serotonin in the mucosa of patients with ulcerative colitis). Some animal models commonly used in neurobiological studies are the mouse (*Mus musculus*), rat (*Rattus norvegicus*), zebrafish (*Danio rerio*) and birds (*Columba livia*). The objective of this work was to document and justify the use of the avian model *Gallus gallus* for neurobiological studies. This animal model is low cost, easy to maintain, house and handle, and is a dual-purpose model where the results can impact biomedical and food safety research. A bioinformatics study was carried out where protein sequences associated with the synthesis and reception of neurotransmitters were analyzed in human, mouse, rat, zebrafish and bird models. Genes and proteins responsible for the synthesis of tryptophan hydroxylase (TPH1), adrenergic receptors (ADRA), dopamine (DRD1) and muscarinic acetylcholine (CHRM3) were identified. The results of the present analysis revealed a high percentage of homology between chicken and human proteins; for example, TPH1 = 86.43%, DRD1 = 81.33%, ADRA = 76.87%, CHRM3 = 79.87%. These results highlight the importance of the avian model for studies of the biology of neurotransmitter synthesis and regulation.

Keywords: *Gallus gallus*, animal model, neurotransmitters, proteins, dopamine, serotonin.

1. Introducción

El sistema nervioso es uno de los principales tejidos responsables de mantener la homeostasis en el cuerpo humano, produciendo respuestas celulares a los cambios en las condiciones internas y externas del cuerpo. El principal componente del sistema nervioso son las neuronas, células capaces de procesar y transmitir información. La comunicación entre neuronas se logra gracias a los neurotransmisores, biomoléculas que se unen a receptores celulares específicos para generar una respuesta en una célula objetivo [1]. Los receptores de neurotransmisores son proteínas encontradas a nivel membranal en la célula objetivo, cuando un neurotransmisor se une a un receptor provoca cambios en la actividad de la neurona postsináptica, liberando más neurotransmisores y continuando la comunicación neuronal [2].

1.1. Patologías asociadas a la alteración en los niveles de neurotransmisores

La serotonina es uno de los principales neurotransmisores que ayudan a mantener la homeostasis en el cuerpo humano, es principalmente sintetizado en células encontradas dentro del tracto gastrointestinal. Es de gran importancia mantener la homeostasis en este sistema, valores elevados de serotonina (33.5 células positivas a serotonina por mm de mucosa) encontrados en mucosa intestinal de pacientes con enfermedad celiaca pueden provocar una respuesta autoinmune en el cuerpo [3].

La dopamina, norepinefrina y epinefrina forman parte de un grupo denominado catecolaminas, sintetizados a partir de la tirosina. La dopamina presenta distintos tipos de receptores que van desde el D1 hasta el D5, siendo el D4 uno de los receptores que solo puede ser encontrado en la capa de la mucosa intestinal.

Se ha encontrado que tanto la dopamina como la serotonina son responsables de la movilidad intestinal, por lo que la regulación de su producción es de suma importancia

(se producen 10 nmol de dopamina cada minuto en órganos del sistema digestivo) [4] [5]. La norepinefrina y epinefrina son de suma importancia en el cuerpo y se ha encontrado evidencia de como un desbalance de estas está presente en la enfermedad de Crohn y en colitis ulcerosa, donde se encontraron niveles bajos de norepinefrina en la mucosa intestinal inflamada de pacientes con la enfermedad de Crohn [6].

2. Modelo *Gallus gallus*

El uso de aves en estudios científicos ha sido ampliamente documentado en diversos estudios a través de los años, llevando a descubrimientos valiosos en favor de la salud humana, como la distinción inicial de las células T y las células B, descubrimiento hecho en el sistema inmunológico de pollos [7]. En México las Normas Oficiales en materia de Salud Animal, para estudios de experimentación científica, a resaltar son las siguientes: NOM-062-ZOO-1999: uso y mantenimiento de animales de laboratorio, NOM-029-ZOO-1995: instalaciones y laboratorios para análisis en materia zoonosanitaria, NOM-033-SAG/ZOO-2014: métodos de sacrificio animales domésticos y silvestres.

En el uso de animales para estudios científicos siempre se debe considerar el valor del objetivo del estudio, minimizar el sufrimiento de los animales involucrados y la evaluación de metodologías alternas [8]. Existen ciertas ventajas que permiten que el modelo aviar *Gallus gallus* sea viable para la realización de estudios, entre los cuales destacan su bajo precio, la facilidad de manipulación del ave. En estudios neurobiológicos se ha utilizado el pollo para estudiar los mecanismos celulares y posibles terapias para el Alzheimer, gracias a la homología existente entre la proteína precursora amiloidea humana y la del pollo [9].

Estudios similares apuntan al pollo como un modelo viable para la investigación de enfermedades del sistema nervioso como la retinosis pigmentaria y para estudios de neurotoxicidad [10] [11]. Los pollos han sido utilizados para estudios científicos desde hace ya bastante tiempo, como modelo animal genético en los tiempos de Mendel [12], más recientemente su estudio como modelo de obtención de anticuerpos en huevos se hizo popular, gracias a que presentaba una alternativa más ética que el desangrado animal [13].

Sin embargo, algunos autores han sugerido que las discrepancias entre los resultados obtenidos de modelos animales como el pollo y las pruebas clínicas en humanos, podrían deberse a que los experimentos con animales no reflejan con precisión la respuesta del cuerpo humano a distintos tratamientos [9].

3. Homología de proteínas entre modelos animales

Se realizó un estudio bioinformático para identificar y comparar los genes y las proteínas que codifican para los neurotransmisores en los modelos humano, ratón, rata, pez cebra y aves. Los análisis de secuencias se realizaron con datos depositados en el UniProt (www.uniprot.org) y GenBank del NCBI. Se utilizaron como punto de partida las proteínas humanas de referencia revisadas y depositadas en UniProt.

Tabla 1. Porcentajes de homología de proteínas asociadas a síntesis de neurotransmisores y receptores.

Especie	Porcentaje de homología			
	TPH1	DRD1	ADRA	CHRM3
<i>Homo sapiens</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Rattus norvegicus</i>	91.2%	91.2%	92.7%	91.7%
<i>Mus musculus</i>	89.5%	91.7%	91.9%	91.7%
<i>Gallus gallus</i>	86.4%	81.3%	76.9%	79.9%
<i>Columba livia</i>	87.3%	82.0%	77.4%	79.2%
<i>Danio rerio</i>	78.3%	75.7%	59.1%	63.4%

4. Conclusiones

Los neurotransmisores son biomoléculas que, por su asociación con trastornos mentales y enfermedades gastrointestinales, han cobrado gran relevancia en las últimas décadas. El estudio bioinformático de homología de proteínas relacionadas con la síntesis y recepción de neurotransmisores en *Gallus gallus* realizado en este trabajo reveló altos porcentajes de homología entre las proteínas del pollo y del humano con valores de TPH1 = 86.43%, DRD1 = 81.33%, ADRA = 76.87%, CHRM3 = 79.87%. Estos resultados confirman la viabilidad del modelo *Gallus gallus* como posible alternativa en estudios neurobiológicos y la conexión intestino cerebro.

Referencias

- Hyman, S. E.: Neurotransmitters. *Current Biology*, vol. 15, no. 5, pp. R154–R158 (2005) doi: 10.1016/j.cub.2005.02.037
- Nestler, E. J., Kenny, P. J., Russo, S. J., Schaefer, A.: Nestler, Hyman & Malenka's molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience. Fourth edition, New York, McGraw Hill (2020)
- Di-Sabatino, A., Giuffrida, P., Vanoli, A., Luinetti, O., Manca, R., Biancheri, P., Corazza, G. R.: Increase in neuroendocrine cells in the duodenal mucosa of patients with refractory celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology*, vol. 109, no. 2, pp. 258–269 (2014) doi: 10.1038/ajg.2013.426
- Chen, Y., Xu, J., Chen, Y.: Regulation of neurotransmitters by the gut microbiota and effects on cognition in neurological disorders. *Nutrients*, vol. 13, no. 6, p. 2099 (2021) doi: 10.3390/nu13062099
- Eisenhofer, G., Áneman, A., Friberg, P., Hooper, D., Fändriks, L., Lonroth, H., Mezey, E.: Substantial production of dopamine in the human gastrointestinal tract. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 82, no. 11, pp. 3864–3871 (1997) doi: 10.1210/jcem.82.11.4339
- Magro, F., Vieira-Coelho, M. A., Fraga, S., Serrão, M. P., Veloso, F. T., Ribeiro, T., Soares-da-Silva, P.: Impaired synthesis or cellular storage of norepinephrine, dopamine, and 5-hydroxytryptamine in human inflammatory bowel disease.

- Digestive diseases and sciences, vol. 47, no. 1, pp. 216–224 (2002) doi: 10.1023/a:1013256629600
7. Cooper, M. D., Peterson, R. D., South, M. A., Good, R. A.: The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. *The Journal of experimental medicine*, vol. 123, no. 1, pp. 75–102 (1966) doi: 10.1084/jem.123.1.75
 8. Hendriksen, C. F.: The ethics of research involving animals: a review of the London: Nuffield council on bioethics report from a three Rs Perspective. *Alternative to Laboratory Animal*, vol. 33, no. 6, pp. 659-662 (2005)
 9. Mileusnic, R., Rose, S.: The chick as a model for the study of the cellular mechanisms and potential therapies for Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 2010, p. e180734 (2010) doi: 10.4061/2010/180734
 10. Burt, D. W., Morrice, D. R., Lester, D. H., Robertson, G. W., Mohamed, M. D., Simmons, I., Inglehearn, C. F.: Analysis of the RDD locus in chicken: a model for human retinitis pigmentosa. *Molecular Vision*, vol. 9, pp. 164–170 (2003)
 11. Dodgson, J. B., Romanov, M. N.: Use of chicken models for the analysis of human disease. *Current Protocols in Human Genetics*, Chapter 15, vol. 40, no. 1, pp. 15.5.1 –15.5.12, (2004) doi: 10.1002/0471142905.hg1505s40
 12. Bateson, W., Saunders, E., R. Punnett, R. C.: Royal Society. Reports to the Evolution committee. Report II. experimental studies in the physiology of heredity. Experiment whith Poultry (1904) <http://archive.org/details/RoyalSociety.ReportsToTheEvolutionCommittee.ReportIi.Experimental>
 13. Klemperer, F.: Ueber natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisirungstherapie. *Archiv Für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, vol. 31, no. 4, pp. 356–382 (1893) doi: 10.1007/BF01832882

Generation of Magnetic Gradients for Biological Systems Stimulation: Mathematical and Geometric Characterization

Angel David Ramírez-Galindo,
Huetzin Aaron Pérez-Olivas, Gustavo Basurto-Islas,
Angélica Hernández-Rayas, Fernando González-López,
Teodoro Córdova-Fraga

Universidad de Guanajuato,
División de Ciencias e Ingeniería, Guanajuato,
Mexico

ad.ramirezgalindo@ugto.mx

Abstract. Mathematical and geometric characterization for the magnetic field generated in three different geometric types of coil common used in magnetic stimulation protocols is presented. The analysis on field line behavior is highlighted, as well as the gradient estimation for each case. It is important to add the last one has been an omitted factor in magnetic stimulation research.

Keyword: Biological systems, magnetic gradients, mathematical characterization.

1 Introduction

The stimulation of biological systems using magnetic fields is a particular application where knowing the spatial distribution of the field generated by the coil plays an important role due to the need to estimate the effect of the field on the stimulated biological systems [1-3]. Typical coil geometries used in clinical, animal model, and *in vitro* stimulation systems are: single coil, Helmholtz coil, and figure eight coil arrangement.

In each case, a different effect is sought due to the characteristics of the geometry. In addition to the magnitude of the field, the systems consider some other important parameters such as the frequency of field generation, stimulation time, field homogeneity and recently giving importance to the gradient [4]. In this work the mathematical modeling using Biot-Savart's law and geometric construction of the of the three geometries as sources of magnetic field are presented.

2 Methodology

Biot-Savart law expression describes partial contributions of the magnetic field ($d\vec{B}$) due to stationary currents (I) that flow through threadlike (or closed) circuits, considering only infinitesimal elements of length (dl), at the point located at the position that the vector (\vec{r}) points at a distance (r) with respect to (dl), who points in the direction of the current (I).

It is necessary to set up the vectors that represent the components according to the coil geometry. The first case to analyze is single coil geometry, where the infinitesimal element of length is given by:

$$d\vec{l} = dr\hat{e}_r + rd\theta\hat{e}_\theta + r\sin(\theta)d\phi\hat{e}_\phi. \quad (1)$$

Likewise, the vector that describes the position of any point of the field source and the observation point P is considered:

$$\vec{r} = r\hat{e}_r, \quad (2)$$

$$\vec{r}' = r'\hat{e}_r. \quad (3)$$

Performing the corresponding vector operations, the expression that determines the field in space due to a solenoid in cartesian coordinates is:

$$B = \frac{N\mu_0Ir}{4(r-R)^2} \left[\left(\frac{zx}{ar}\right)\hat{i} + \left(\frac{zy}{ar}\right)\hat{j} - \left(\frac{a}{r^2}\right)\hat{k} \right] \quad (4)$$

Using a similar methodology as in the case of the solenoid coil, the expression of the magnetic induction for the Helmholtz coils system and the figure eight coil arrangement is obtained:

$B = \frac{N\mu_0Ir^2}{2} \left[\frac{1}{\left(\left(z - \frac{r}{z}\right)^2 + r^2\right)^{3/2}} + \frac{1}{\left(\left(z + \frac{r}{z}\right)^2 + r^2\right)^{3/2}} \right] \hat{k}$	(5)
$B = \frac{N\mu_0Ir}{4(r-R)^2} \left[\left(\frac{z(x-a)}{ar} + \frac{z(x+a)}{ar}\right)\hat{i} + \left(\frac{zy}{ar}\right)\hat{j} - \left(\frac{a}{r^2}\right)\hat{k} \right]$	(6)

A complementary parameter for stimulation systems is the gradient, this value is derived from obtaining the field at all points in space in an analytical way, this is represented by the expression:

$$\frac{d\vec{B}}{dx} = \frac{\vec{B}_2 - \vec{B}_1}{x_2 - x_1} \quad (7)$$

This methodology makes it possible to characterize the field lines generated by the three coil geometries and thus perform a calculation of the characteristic gradient for each coil.

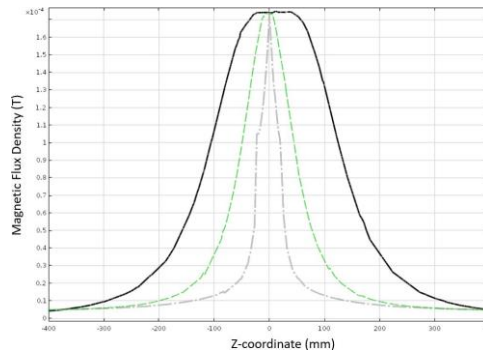


Fig. 1. Intensity of magnetic induction along the Z axis. The distribution of the Helmholtz coils system is shown in solid lines, the distribution due to the Single coil is shown in dashed lines, and the distribution due to the Figure eight coil arrangement is shown in dashed dotted lines.

3 Results

The graph of the field vectors generated by the three coils models along the Z-axis is shown in Fig. 1.

It is important to emphasize that each coil geometry has particular field generation characteristics and that they are used for different purposes, the following can be mentioned:

- Single coil: the field generated by this coil is homogeneous in the space close to the axis of symmetry of the geometry.
- Helmholtz coils system: a homogeneous field is generated in a volume that is determined by the radius of the coil. It has a field gradient close to zero.
- Figure eight coil arrangement: a focus of the field is sought with low penetration depths.

The importance of the gradient for the three cases is based on the comparison of research papers where the effects of stimulation are different, under similar stimulation conditions. The gradient values for the three models are: $1 \text{ mT}/\text{m}$ for the solenoid coil, $0.0001 \text{ mT}/\text{m}$ for the Helmholtz coil and finally $0.1 \text{ mT}/\text{m}$ for the figure eight coil arrangement.

4 Conclusion

The mathematical modeling through the expression of the Biot-Savart law is a core part of the work since the geometric considerations taken into account are the basis for the proposal of the model used for the simulation by the finite element method. The work carried out can be a guideline to estimate the effect of magnetic stimulation, since both the spatial distribution of the field and its direction at any point in space are known in detail.

5 Discussion

In the magnetic stimulation of cell cultures or biological systems, four parameters are identified that should be considered in each study of this nature if reproducibility is to be achieved: the intensity of magnetic induction, the frequency of magnetic induction, the length of time of magnetic stimulation and the magnetic field gradient.

Number one considers static magnetic fields, although if one considers Faraday's law of induction, where it is stated that the change of magnetic flux with time induces an e.m.f, the effect is expected (and it is in cell cultures) to be more evident.

Considering the research presented in this manuscript, it is indisputable that the gradient of magnetic induction is different in each of the three cases and therefore it is to be expected that the effect of stimulation using a coil or a system of coils in the form of eight, is greater due to Faraday's Law (considering now also the spatial difference in intensity) than that achieved with a Helmholtz coils system.

In our research group there is evidence of the effect of the magnetic field gradient, which is increased from 12% to 80% in the inhibition of the formation of protein aggregates typical of Alzheimer's disease [5].

Acknowledgment. This work was partially supported by University of Guanajuato under grant no. DAIP2022/59023.

References

1. Marchesi, N., Osera, C., Fassina, L., Amadio, M., Angeletti, F., Morini, M., Magenes, G., Venturini, L., Biggiogera, M., Ricevuti, G., Govoni, S., Caorsi, S., Pascale, A., Comincini, S.: Autophagy is modulated in human neuroblastoma cells through direct exposition to low frequency electromagnetic fields. *Journal of cellular physiology*, vol. 229, no. 11, pp. 1776–1786 (2014) doi: 10.1002/jcp.24631
2. Osera, C., Amadio, M., Falone, S., Fassina, L., Magenes, G., Amicarelli, F., Ricevuti, G., Govoni, S., Pascale, A.: Pre-exposure of neuroblastoma cell line to pulsed electromagnetic field prevents h2o2-induced ROS production by increasing MnSOD activity. *Bioelectromagnetics*, vol. 36, no. 3, pp. 219–232 (2015) doi: 10.1002/bem.21900
3. Arendash, G. W., Sanchez-Ramos, J., Mori, T., Mamcarz, M., Lin, X., Runfeldt, M., Wang, L., Zhang, G., Sava, V., Tan, J., Chuanhai, C.: Electromagnetic field treatment protects against and reverses cognitive impairment in Alzheimer's disease mice. *Journal of Alzheimer's disease*, vol 19, no. 1, pp. 191–210 (2010) doi: 10.3233/JAD-2010-1228
4. Zablotskii, V., Polyakova, T., Dejneka, A.: Cells in the non-uniform magnetic world: how cells respond to high gradient magnetic fields. *BioEssays*, vol.40, no. 8 (2018) doi: 10.1002/bies.201800017
5. Maldonado-Moreles, A., Cordova-Fraga, T., Bonilla-Jaime, H., Lopez-Camacho, P. Y., Basurto-Islas, G.: Low frequency vortex magnetic field reduces amyloid β aggregation, increase cell viability and protect from amyloid β toxicity. *Electromagnetic Biology and Medicine*, vol 40, no. 1, pp. 191–200 (2021) doi: 10.1080/15368378.2020.1830288

Electronic edition
Available online: <http://www.rcs.cic.ipn.mx>



<http://rsc.cic.ipn.mx>



Centro de Investigación
en Computación