



SAPROBIO

2021

6° Simposio Argentino
de Procesos Biotecnológicos

“Transfiriendo biotecnología para el desarrollo”

LIBRO DE RESUMENES

Posadas-Misiones
04 al 06 de agosto



Facultad de
Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales



InBioMis
Instituto de Biotecnología Misiones
María Ebe Reza

Universidad Nacional de Misiones

SAPROBIO 2021 6º Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos:
transfiriendo biotecnología para el desarrollo : libro de resúmenes / compilación
de Pedro Darío Zapata ; Adriana Elizabeth Alvarenga. - 1a ed. - Posadas: Uni-
versidad Nacional de Misiones, 2021.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-950-766-183-9

1. Biotecnología. 2. Biotecnología Ambiental. 3. Tecnologías. I. Zapata, Pedro
Darío, comp. II. Alvarenga, Adriana Elizabeth, comp. III. Título.
CDD 570.15



Sitio Web:

www.saprobio.com

Diseño y composición general / Responsables sitio Web:

Lic. Adrian Cassetai - ASC. Gustavo Escalante

Diseño gráfico y editorial:

DG. Lourdes Andrea Benitez

Compilación:

Dr. Pedro Darío Zapata - Dra. Adriana Elizabeth Alvarenga



“Transfiriendo biotecnología para el desarrollo”

Del 4 al 6 de agosto de 2021 se llevó a cabo el 6º Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos (SAPROBIO 2021) organizado por la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES a través del Instituto de Biotecnología Misiones, FCEQyN (UNaM) – PTMi y de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales – UNaM.

El Simposio abordó un conjunto de temáticas complejas e interrelacionadas y su relevancia es clave para el incremento de los procesos de formación, investigación y desarrollo vinculados al campo de los procesos biotecnológicos. El lema de esta edición 2021 ha sido: **“Transfiriendo biotecnología para el desarrollo”** dándole una relevancia especial a los proyectos referidos a la transferencia de tecnología. Contó con conferencias plenarias ofrecidas por investigadores de prestigio internacional, sesiones orales de los trabajos presentados y exhibiciones de poster (linkeados en el sitio del evento). Estos últimos fueron agrupados según las siguientes áreas temáticas propuestas según el programa preliminar:

1. Tecnología de cultivo celular
2. Fermentación microbiana y biotransformaciones
3. Diseño de biorreactores y Escalado de procesos biotecnológicos
4. Procesos de recuperación y purificación de macromoléculas
5. Bioprocesos en la industria alimentaria y remediación ambiental
6. Enseñanza de los procesos biotecnológicos
7. Biotecnología Animal y Vegetal
8. Sesión especial: BioStart Ups

AUSPICIANTES:

-Agencia I+D+i (Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación)

-Biofábrica de Misiones S.A.

-Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral

-ConBiotec (Consortio de Unidades Académicas con carreras de Biotecnología pertenecientes a Universidades Nacionales de la República Argentina)

-Consejo Interuniversitario Nacional (CIN)

-Municipalidad de Posadas

COORDINACIÓN GENERAL:

Dr. Pedro Darío ZAPATA - Dra. Adriana ALVARENGA - Lic. Adrian CASSETAI

COMITÉ ORGANIZADOR

- Dr. Pedro Darío ZAPATA (Secretario de Ciencia y Tecnología - UNaM)
- Dra. Laura L. VILLALBA (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. María Isabel FONSECA (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Mgter. Verónica TEZA (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Marina QUIROGA (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Eleonora CAMPOS (INTA - CONICET)
- Dra. María Victoria BUSI (UNR - CONICET)
- Dra. Laura LEVIN (UBA - CONICET)
- Dr. Alejandro BECCARIA (UNL)
- Dr. Javier LOTTESBERGUER (UNL)
- Dra. Julia FARIÑA (PROIMI - CONICET)
- Dr. Osvaldo DELGADO (PROIMI - CONICET)
- Dra. Alicia MARTOS (UNaM – FCEQyN)
- Dra. Adriana ALVARENGA (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Lucrecia BARCHUK (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Romina CONIGLIO (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. María KOLMAN (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Daniela RODRIGUEZ (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Lorena CASTRILLO (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Marcela SADAÑOSKI (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dra. Gabriela DIAZ (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dr. Martin GIORGIO (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dr. Gustavo BICH (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Lic. Agostina LE VRAUX (UNaM – FCEQyN)
- Dr. Alejandro TROMBERT (UNL)
- Dra. Diana ROMANINI (UNR)
- Dr. Cristian FERRI (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dr. Juan Ernesto VELAZQUEZ (UNaM – FCEQyN – INBIOMIS)
- Dr. Diego GÓMEZ CASATI (CEFOBI-CONICET)
- Dra. Marta POLTI (PROIMI – CONICET – UNT)
- Dr. Matías ASENCIÓN DIEZ (UNL-CONICET)
- Dra. Agustina GUGLIOTTA (FBCB – UNL)
- Dra. Marianela MASIN (FBCB – UNL)
- Dra. Milagros BÜRGI (FBCB – UNL)
- Dra. Natalia CEALGLIO (FBCB – UNL)
- Dra. Andrea Micaela DALLAGNOL (FCEQyN, UNaM)
- Dra. Paula BUTIUK (FCEQyN, UNaM)
- Dra. Silvana MAIDANA (FCEQyN UNaM)
- Dra. Karina Beatriz ACOSTA (INBIOMIS - UNaM)
- Dra. Ana Clara LÓPEZ (INBIOMIS - FCEQyN - UNaM)
- Dra. Florencia BRUERA (INBIOMIS - FCEQyN - UNaM)
- Dr. Gustavo KRAMER (IMAM - FCEQyN - UNaM)
- Lic. Sebastian CHILALICHE (INBIOMIS - FCEQyN - UNaM)
- Lic. Manuela VERESCHUK (INBIOMIS - FCEQyN - UNaM)
- Farm. Gabriela ACOSTA (INBIOMIS - FCEQyN - UNaM)
- TUAC. Gislina BRONDANI (UNaM)
- Lic. Adrian CASSETAI (UNaM)
- Lic. Vanesa LETREÑIUK (UNaM)
- ASC Gustavo ESCALANTE (UNaM)
- Dra. Daniela MOREIRA KUBIAK (Biofábrica de Misiones)

APOYOS FINANCIEROS: RC-RPN-2020-00062 (AGENCIA NACIONAL DE PROMOCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN, EL DESARROLLO TECNOLÓGICO Y LA INNOVACIÓN).

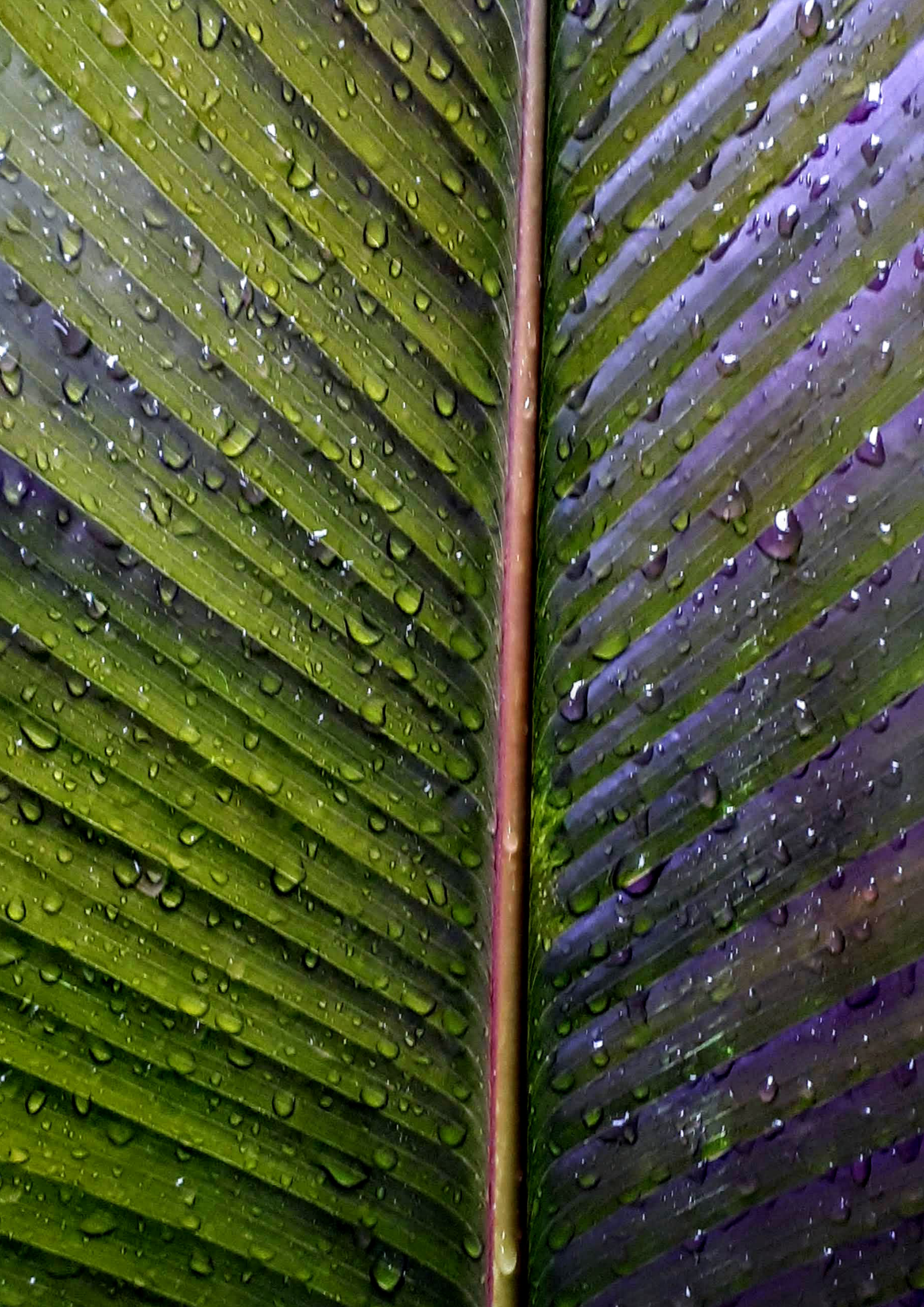
ÍNDICE GRAL

PROGRAMA	6
CONFERENCIA APERTURA <i>PRODUCTS AND PROCESSES TOWARDS A SUSTAINABLE BIOBASED ECONOMY</i>	9
SESIÓN 1 <i>TECNOLOGÍA DE CULTIVO CELULAR</i>	10
SESIÓN 2 <i>FERMENTACIÓN MICROBIANA Y BIOTRANSFORMACIONES</i>	19
SESIÓN 3 <i>DISEÑO DE BIORREACTORES Y ESCALADO DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS</i>	82
SESIÓN 4 <i>PROCESOS DE RECUPERACIÓN Y PURIFICACIÓN DE MACROMOLÉCULAS</i>	92
SESIÓN 5 <i>BIOPROCESOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y REMEDIACIÓN AMBIENTAL</i>	113
SESIÓN 6 <i>ENSEÑANZA DE LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS</i>	174
SESIÓN 7 <i>BIOTECNOLOGÍA ANIMAL Y VEGETAL</i>	178
SESIÓN ESPECIAL: BIO – START UP	207
ÍNDICE DE AUTORES	213

PROGRAMA

4 de agosto		
10 a 11hs	Acto de Apertura del SAPROBIO	
11 a 12hs	Conferencia Plenaria Inaugural Products and processes towards a sustainable biobased economy Dr. Jochen Schmid Instituto de Microbiología Molecular y Biotecnología de la University of Münster	
12 a 13:30hs	Coffee Break – Almuerzo “me quedo en casa”	
13:30 a 14hs	Conferencia Temática S1 Dr. Marcos Oggero Laboratorio de Cultivos Celulares del Centro Biotecnológico del Litoral Título: La glicoingeniería de proteínas en el camino de novedosos bioterapéuticos.	Conferencia Temática S2 Dr. Álvaro Enrique Díaz Barrera Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Chile. Título: Aspectos moleculares y tecnológicos para la producción de polihidroxicarbohidratos: plásticos de origen bacteriano.
14 a 14:30hs	Sesión 1: Tecnología de cultivo celular. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados.	
14:30 a 18hs Corte Intermedio	Sesión 2: Fermentación microbiana y biotransformaciones. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados. Dra. Micaela Pescuma Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónica (CI EFAP) Título: Perspectivas alimentarias de seleno-aminoácidos y seleno-nanopartículas producidas por bacterias lácticas.	
5 de agosto		
9 a 9:30hs	Conferencia Temática Sesión 3 Dr. Hugo Menzella Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos Rosario. IPROBYQ – UNR Título: Desarrollo de enzimas para el mejoramiento de procesos industriales.	Ciclo de charlas Biofábrica SA Charla 1. "Biofábrica como herramienta para el desarrollo sustentable". IngFtalMgter. José Cabral Charla 2. Bioinsumos a través de Biofábrica, una herramienta biotecnológica para el manejo de plagas con recursos nativos. Dr. en Ciencias Edilberto Pozo Velazquez Charla 3. BIOFABRICA MOVIL: nueva alternativa a la propagación masiva de plantas a través del cultivo de tejidos. Dr. Guillermo Rafael Salvatierra
9:30 a 13hs	Sesión 3: Diseño de biorreactores y Escalado de procesos biotecnológicos. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados.	
13 a 14hs	Coffee Break – Almuerzo “me quedo en casa”	
14 a 14:30hs	Conferencia Temática Sesión 5 Dr. Martín Blasco Centro de Investigación y Desarrollo en Biotecnología Industrial, INTI Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Título: Biomasa fúngica para alimentación humana: Una vieja historia con nueva perspectiva.	Conferencia Temática Sesión 4 Dr. Marcelo Fernández Lahore Department of Life Sciences and Chemistry, Jacobs University, Bremen, Germany Environmental and Industrial Biotechnologies, Luxembourg Institute of Technology. Título: Continuous recovery and purification of bioproducts on the basis of adsorption technology

14:30 a 18hs	<p>Sesión 5: Bioprocesos en la industria alimentaria y remediación ambiental. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados</p>	<p>Sesión 4: Procesos de recuperación y purificación de macromoléculas. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados</p>
6 de agosto		
9 a 9:30hs	<p>Sesión 6: Enseñanza de los procesos biotecnológicos. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados.</p>	<p>Biotecnología Animal Dr. Juan Ignacio Fernandino Instituto Tecnológico de Chascomus. CONICET - UNSAM Título: Edición génica para el mejoramiento de la producción en acuicultura.</p>
9:30 a 10hs		<p>Biotecnología Vegetal Dra. Marina Clemente IIB - Instituto de Investigaciones Biotecnológicas. CONICET-UNSAM Título: Las plantas como biofábricas para la producción de vacunas</p>
10 A 13hs		<p>Sesión 7: Biotecnología Animal y Vegetal. Comunicaciones orales de trabajos seleccionados</p>
13 a 14hs	Coffee Break – Almuerzo “me quedo en casa”	
14 a 15hs	<p>Conferencia Plenaria de Cierre Dra. Marta Tortajada Serra Archer Daniels Midland (ADM) – Universidad Politécnica de Valencia TÍTULO: BPL1, un probiótico/postbiótico para la salud metabólica</p>	
15 a 18hs	<p>Sesión especial: BioStart Ups Conferencias especiales - Dra. Ana Binetti. Instituto de Lactología Industrial INLAIN (UNL CONICET) - Dr. Pablo Feldman. Director de Vinculación Tecnológica en Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Univ. Nacional de Rosario.</p> <p>Desarrollos seleccionados Start Ups - Dr Sebastián Cavalitto. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales CINDEFI – UNLP. Desarrollo test Covid - Dr. Juan Ernesto Velazquez. Instituto de Biotecnología Misiones. - Lic. Juan Pablo Bracho. CINDEFI-CONICET. - Dra. Lorena Castrillo. Instituto de Biotecnología Misiones.</p>	
18 a 19:30hs	Acto de cierre y entrega de premios	
7 de agosto		
10 a 11hs	<p>Reunión del Comité Científico SAPROBIO 2021 Elección del próximo evento Conformación Formal de la Red y pautas de desarrollo</p>	





Conferencia Apertura

Products and processes towards a sustainable biobased economy

Prof. Dr. Ing. JOCHEN SCHMID, Institute of Molecular Microbiology and Biotechnology, University of Münster, Germany

Abstract

The talk will deal with various aspects of products and processes towards a biobased economy. Several process routes, such as biotransformation, fermentation as well as biocatalytic approaches will be discussed and compared concerning their suitability for the utilization of renewable resources. The main scope will be the production of tailored biobased and biodegradable biopolymers, which can replace fossil-based polymers, to realize more sustainable products. The importance of structure function-relationship will be highlighted to obtain intensified insights in novel material applications. In sum, the talk will give an overview of the promising perspectives of the key biotechnology as tool for the future bioeconomy.

SESIÓN 1

TECNOLOGÍA DE CULTIVO CELULAR

CONFERENCIA PLENARIA SESION 1

La glicoingeniería de proteínas en el camino de novedosos bioterapéuticos

OGGERO, Marcos R.

Laboratorio de Cultivos Celulares. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

CONICET

moggero@fcb.unl.edu.ar

La glicosilación de proteínas es la forma predominante de modificación postraduccional que, con determinadas variantes, es común a las células eucariotas. La glicosilación enzimática implica una compleja red metabólica y diferentes tipos de vías que orquestan la amplificación del proteoma para producir distintas proteoformas y funciones biológicas. La gran diversidad estructural de los glicanos plantea desafíos que conducen a la exploración de sus funciones específicas y a nuevas funciones que pueden ser otorgadas en el contexto del diseño de nuevas biomoléculas.

En la actualidad existen cientos de proteínas y péptidos terapéuticos aprobados por las agencias internacionales de evaluación de medicamentos para una amplia variedad de indicaciones. Muchas de estas proteínas y péptidos carecen de propiedades farmacocinéticas adecuadas, a menudo porque son más pequeñas que el límite de filtración renal de alrededor de 70 kDa y/o están sujetos a renovación metabólica por peptidasas, que limitan significativamente su vida media in vivo. Para subsanar este inconveniente surgen los productos biomejorados o biobetters, que se definen como nuevas versiones de los biofarmacéuticos que son desarrollados mediante la incorporación de

cambios en su perfil molecular y/o funcional a través de modificaciones químicas o moleculares. Sumado a estas particularidades farmacocinéticas, el aspecto farmacodinámico también se hace presente mediante la generación de nuevos fármacos basados en proteínas que puedan desplegar funciones innovadoras.

En este sentido, en nuestro laboratorio hemos utilizado a la glicoingeniería como recurso para conferir mejoras a proteínas de relevancia terapéutica generando productos biomejorados e innovadores en cultivos de células animales.

La glicoingeniería se presenta como una estrategia basada en la modificación del contenido y/o la estructura de los glicanos de una proteína mediante la aplicación de

modificaciones genéticas que dan lugar a protocolos para modificar proteínas y células. En un sentido amplio la glicoingeniería incluye la optimización y remodelación de glicanos que naturalmente se expresan en una dada proteína, la eliminación de los mismos o la incorporación de nuevos, todo ello con el objetivo de generar entidades con propiedades novedosas o mejoradas, que en el caso de bioterapéuticos se traduzca en el incremento de la potencia biológica y la disminución de los efectos adversos.

En esta presentación se mostrarán dos proteínas desarrolladas en nuestro laboratorio en las que la adición de glicanos mediante glicoingeniería contribuyó a perfilar moléculas de interés terapéutico. La primera, una molécula de interferón-alfa2b (IFN- α 2b) en su versión híper-N-glicosilada e híper-O-glicosilada y, la segunda, una molécula de eritropoyetina híper-N-glicosilada. Si bien la glicoingeniería se llevó a cabo para ambas entidades moleculares, la concepción de su aplicación tuvo distintos objetivos. Por un lado, la mejora de las propiedades farmacocinéticas y biológicas del IFN natural y, por el

otro lado, la obtención de una versión novedosa de eritropoyetina para la cual, dado su natural comportamiento hematopoyético y neuroprotector, se priorizó esta última función biológica en detrimento de la primera.

En particular, el segundo caso dio lugar a la creación de una empresa de base tecnológica y a fases de nacionalización de patentes como hitos imprescindibles para avanzar hacia un nuevo y eficaz bioterapéutico.

Palabras claves: GLICOSILACIÓN; GLICOINGENIERÍA; BIOTERAPÉUTICOS; INTERFERÓN; ERITROPOYETINA

1TCC

Vacunas multipropósito desarrolladas a partir de una plataforma generadora de VLPs Quiméricas

GARAY, Ernesto S.^{a, b}; FONTANA, Diego S.^{a, b}; KRATJE, Ricardo B.^b; PRIETO, Claudio C.^a

a) Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) CONICET

egaray@fcb.unl.edu.ar

Las partículas pseudovirales (VLPs) son estructuras supramoleculares autoensamblables constituidas por proteínas virales, que a diferencia de los virus son bioseguras debido a no poseer material genético en su interior. Además, debido a su naturaleza particulada y multivalente son capaces de generar respuestas inmunes robustas, sien-

do candidatos interesantes para el desarrollo de vacunas de nueva generación. Asimismo, es posible fusionar epitopes o dominios heterólogos en ciertas proteínas virales que al ser expresadas en forma recombinante permiten la formación de VLPs quiméricas (qVLPs), siendo capaces de generar respuestas inmunes hacia dicho dominio heterólogo. Sin embargo, puede ocurrir que luego de la introducción de la secuencia heteróloga el plegamiento de la proteína *carrier* se vea alterado. Por este motivo, resulta esencial identificar regiones en la misma que sean apropiadas para estos fines.

En nuestro laboratorio desarrollamos y caracterizamos previamente VLPs del virus de la rabia (RV-VLP), las cuales se generaron por expresión recombinante en células HEK293 de la glicoproteína G (RVG) del virus de la rabia, una proteína de envoltura que es el principal blanco de anticuerpos neutralizantes (AN). Éstas RV-VLPs son capaces de generar AN en animales y de protegerlos frente a desafíos con el virus de la rabia activo, volviéndose un candidato vacunal atractivo frente a las vacunas tradicionales a virus inactivado que requieren la manipulación del virus para su producción.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de la RVG para generar qVLPs, de manera de establecer una plataforma de presentación antigénica basada en RV-VLPs. Como modelo de estudio utilizamos un epitope de importancia antigénica del virus de la Fiebre Aftosa (FMDV), denominado *loop* G-H (AA 140-160 de la proteína de cápside VP1). Esta secuencia representa el sitio blanco de AN ya que es la responsable de la interacción con el receptor celular durante una infección. Para esto se identificaron posibles sitios de inserción dentro de la secuencia de aminoácidos de RVG mediante un análisis bioinformático en el cual se seleccionaron regiones con elevada flexibilidad estructural y expuestas al solvente. Se identificaron tres

regiones aptas para tal fin, una en el extremo N-terminal y dos dentro de la secuencia en zonas de loops. Luego, se insertó en forma independiente la secuencia heteróloga en cada región, obteniéndose tres variantes diferentes de proteínas de fusión de RVG con el *loop* G-H.

Posteriormente, se expresaron dichas proteínas en células HEK293 y se comprobó su correcta localización en la membrana plasmática por inmunomarcación con anticuerpos anti-RVG, mediante citometría de flujo y microscopía láser confocal. A su vez, se comprobó que el epitopeheterólogo se encuentra expuesto y con una conformación antigénica correcta al ser reconocido por anticuerpos específicos anti-FMDV. Finalmente, se verificó por ELISA sándwich específico hacia RVG y FMDV, la formación de qVLPs en el sobrenadante de cultivo de las variantes diseñadas, verificando a su vez que el epitopeheterólogo se encuentra expuesto en la superficie de las partículas.

Estos resultados son prometedores y podrían sentar la base para la generación de una nueva plataforma de presentación antigénica basada en RV-VLPs.

Palabras claves: PARTÍCULA PSEUDOVIRAL; RABIA; AFTOSA; HEK293; VACUNA.

2TCC

Nuevos promotores endógenos, identificados mediante RNA-SEQ de células CHO-k1, para la expresión de proteínas recombinantes

TOSSOLINI, Ileana^{a b}; GUGLIOTTA Agustina^{a b}; LOPEZ DÍAZ, Fernando^d; KRATJE, Ricardo B.^{a b}; PRIETO, Claudio^{a c}.

a) Laboratorio de Cultivos Celulares, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

b) CONICET, Santa Fe, Argentina.

c) Cellargen Biotech S.R.L., Santa Fe, Argentina.

d) Regulatory Biology Laboratory, Salk Institute for Biological Studies, 10010 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037.

itossolini@fcb.unl.edu.ar

Las células derivadas de ovario de hámster chino (*chinese hamsterovary*, CHO) constituyen el sistema huésped de elección para la producción industrial de proteínas recombinantes terapéuticas. La expresión de proteínas heterólogas en células de mamífero requiere de la optimización de diversos parámetros, entre ellos, el diseño del vector de expresión. Actualmente, el empleo de promotores virales (como CMV) constituye la alternativa más usada, ya que proporcionan niveles altos de expresión de la proteína recombinante de interés. Sin embargo, los promotores virales muchas veces se encuentran sujetos a silenciamiento epigenético. Además, imponen a las células cierto estrés, pudiendo interrumpir su crecimiento y afectar diversos procesos celulares. Idealmente la función promotora debe coordinarse con el proceso productivo. Por

estas razones, el uso de promotores endógenos que se encuentren activos durante las fases del ciclo celular asociadas a la producción, constituye una alternativa interesante.

En este trabajo, se llevó a cabo la secuenciación del transcriptoma (RNA-seq) de células CHOK1 adaptadas al cultivo en suspensión. La comparación entre los perfiles de expresión génica obtenidos en las diferentes etapas de cultivo permitió seleccionar ciertos genes con elevada actividad transcripcional, con el fin de utilizar sus promotores para generar nuevos vectores de expresión.

Se realizaron tres réplicas biológicas del cultivo de células CHOK1 en biorreactores operados en modo perfusión, empleando medio de cultivo libre de suero fetal bovino. Se obtuvieron muestras de ARN durante la fase exponencial y estacionaria. Luego de la secuenciación mediante la plataforma Illumina y el análisis bioinformático de los datos, se seleccionaron 6 genes con elevada expresión en ambas etapas de cultivo. La región promotora de cada gen (aproximadamente 1 kb) fue amplificada mediante PCR. Estos promotores (que denominamos P1-P6) fueron clonados en el vector de expresión pZs-Green1-1 para evaluar la actividad transcripcional de los mismos de manera transitoria y estable, no solo en células CHO-K1 sino también en células HEK293 y BHK-21, ampliamente usadas para la producción de proteínas recombinantes terapéuticas y vacunas. Los nuevos promotores fueron evaluados y comparados en función del promotor CMV, el cual contiene la secuencia mínima del promotor, antecedido por un *enhancer* y seguido por un intrón quimérico. La expresión de la proteína reportera fue analizada mediante microscopía de fluorescencia y citometría de flujo. También, se evaluó la expresión estable del gen reportero luego de un descenso de la temperatura del cultivo de células CHO-K1 (37 °C a 32 °C). La mayoría de los promotores endógenos mostró

una actividad transcripcional comparable o superior al promotor viral CMV, evidenciando altos niveles de actividad y estabilidad de expresión a largo plazo.

En resumen, se obtuvieron promotores endógenos de células CHOK1 que constituyen una alternativa promisoriosa al uso de promotores virales, para la producción de proteínas recombinantes de interés biotecnológico. Además, los mismos responden a las condiciones de cultivo habitualmente implementadas en la escala productiva (alta densidad en cultivos en perfusión). Estos promotores constituyen un panel inicial para diseñar estrategias de ingeniería celular y promotores sintéticos, así como para el desarrollo de líneas celulares industriales.

Palabras claves: CÉLULAS CHO; PROMOTORES ENDÓGENOS; RNA-SEQ; CÉLULAS DE MAMÍFERO; ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL.

3TCC

Germinación y regeneración *in vitro* de *Sesbaniapunicea* y *Sesbaniavirgata*

VALENTI Melina ^a; GONZALEZ Matías ^b; RUSCITTI Marcela ^{b,c}

a) Centro Experimental de Propagación Vegetativa (CEPROVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

b) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE - UNLP - CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

c) Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de

la provincia de Buenos Aires, Junín, Buenos Aires, Argentina.

marcelaruscitti@gmail.com

La degradación y contaminación del suelo por metales pesados (MP) se han convertido en una gran preocupación en todo el mundo. La fitorremediación representa una solución tecnológica eficaz para disminuir la contaminación. En esta técnica se pueden utilizar plantas para la fitoestabilización y revegetación de suelos degradados, como *Sesbaniapunicea* y *Sesbaniavirgata*, ambas especies nativas de la Región Pampeana (Argentina). En el presente estudio se evaluó la germinación y regeneración *in vitro* a partir de callos de estas especies con el objeto de producir un protocolo eficiente para su posterior uso como especies fitorremediadoras y brindar información que permita generar variabilidad para aumentar la tolerancia a MP.

Las semillas de ambas especies se sometieron a tratamientos pregerminativos (control, escarificación química con H₂SO₄ (90%), lavado con H₂O 24 horas y escarificación mecánica), en placas de Petri con papel de filtro humedecido con agua destilada, en una cámara de germinación (28°C y oscuridad). Una vez seleccionado el mejor tratamiento pregerminativo, las semillas se desinfectaron superficialmente con alcohol (70%) 1 minuto y NaClO (40%) 30 minutos. Dentro del flujo laminar, se enjuagaron tres veces con agua esterilizada. Se sembraron 40 semillas de cada especie en tubos de 90 cm³ que contenían un medio de cultivo de aislamiento. El pH de todos los medios de cultivo se ajustó entre 5,8 y 6,2, antes de esterilizarse en autoclave a 1,05 kg.cm⁻² y 120 °C durante 20 minutos. Las condiciones de cultivo fueron 25 °C ± 2 °C y 16 horas de luz, con una irradiancia de 100 μmoles.m⁻².s⁻¹.

Hongos del género *Ophiostoma* de los bosques andino-patagónicos para la obtención de lipasas

AQUINO M. D.^{abc}; PILDAIN M. B.^{abe}; SAPARRAT M. C. N.^{bd}

a) Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP)

b) CONICET

c) McyTelP-Chubut

d) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Universidad Nacional de La Plata

e) UNPSJB

maquino@ciefap.org.ar

Las plántulas de ambas especies obtenidas *in vitro* se cortaron y separaron en secciones de cotiledones, epicotilo e hipocótilo. Estos explantes se sembraron en un medio basal de Murashige y Skoog (1962), con auxinas y citocininas en partes iguales para evaluar la capacidad de inducción de callos. Se sembraron cotiledones, secciones de hipocótilo y secciones de epicótilo de cada especie, con ocho repeticiones de cada uno. Treinta días después, los explantes se subcultivaron en un medio similar, en idénticas condiciones ambientales, sin la adición de reguladores de crecimiento. Los callos que mostraron un crecimiento significativo y signos de morfogénesis se subcultivaron en un medio de proliferación de brotes y los brotes formados en esta etapa se subcultivaron en un medio para su posterior enraizamiento.

El porcentaje de germinación de semillas que no tuvieron ningún tratamiento pregerminativo fue escaso, sin embargo, tanto la escarificación mecánica como la química incrementaron significativamente la germinación en ambas especies. Es posible la regeneración *in vitro* a partir de callos, utilizando secciones de epicotilo como explante, que tienen capacidad caulogénica. Sin embargo, la respuesta en la etapa de enraizamiento no fue la misma para las dos especies, siendo mejor en *S. virgata*. La capacidad de regenerar estas especies mediante el cultivo de callos aporta nueva información para avanzar en los estudios de transformación genética y generar variabilidad para incrementar la tolerancia a la contaminación por MP y poder utilizar estas especies para planes de fitorremediación o revegetación de ecosistemas degradados.

Palabras claves: CULTIVO IN VITRO; MULTIPLICACIÓN POR SEMILLAS; SESBANIA.

El mercado de enzimas industriales se encuentra en constante crecimiento debido a las mejoras en las tecnologías de producción, la ingeniería de las proteínas en sus propiedades funcionales y los nuevos campos de aplicación. Los hongos productores de enzimas extracelulares presentan ventajas sobre las fuentes bacterianas, siendo una de las más importantes su menor costo dado la facilidad relativa de obtención. Las lipasas son enzimas que hidrolizan esteres de diferentes compuestos como los acilglicérols, incluyendo las triacilglicérols hidrolasas (EC 3.1.1.3), catalizadores claves en reacciones de esterificación y transesterificación necesarias por ejemplo en la industria del biodiesel. El género *Ophiostoma* incluye hongos que están asociados a escarabajos fitófagos y al floema de la madera, ocasionando manchas en el albura, conocidas como mancha azul o mancha de albura (*blue-stain* o *sap-stain*). Dentro de este género, existen especies altamente productoras de lipasas. El objetivo de este trabajo

es evaluar la capacidad de aislamientos de diferentes especies de *Ophiostoma* obtenidas de árboles de los bosques patagónicos para sintetizar lipasas y su respuesta al suplemento de aditivos que puedan maximizar su producción. Para ello, se utilizaron 5 aislamientos, *Ophiostomopiliferum* CIEFAPcc 475, *Ophiostomaperegrinum* CIEFAPcc 464, *Ophiostomanovae-zelandie* CIEFAPcc 423, *Ophiostomanothofagui* CIEFAPcc 446 y *Ophiostomapatagonicum* CIEFAPcc 449. Se evaluó en placa su habilidad para sintetizar enzimas hidrolíticas utilizando Tween 20 y Tween 80 como sustrato; en cultivo líquido se evaluará el efecto de diferentes aditivos, como aceite de oliva, aserrín de *Nothofagus* sp. y de *Pinus* sp., sobre la actividad lipasa extracelular utilizando 1,2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster como sustrato. Aunque en placa todos los aislamientos mostraron actividad lipasa extracelular, la relación entre la hidrólisis enzimática y el crecimiento micelar mostró diferencias según el tipo de sustrato utilizado, siendo mayor en presencia de Tween 20, y el aislamiento. Entre éstos, los niveles más altos fueron detectados para *O. piliferum* CIEFAPcc 475, mientras que los más bajos se obtuvieron en el caso de *O. nothofagi* CIEFAPcc 446. Estos resultados serán comparados con los datos obtenidos en cultivo líquido para la optimización de la producción de sus lipasas extracelulares. *Ophiostomopiliferum* es una especie ya reportada por su alta producción de lipasas. No hay reportes de producción enzimática para *O. nothofagi*, por lo que se espera mejorar la producción optimizando la relación actividad/crecimiento.

Palabras claves: LÍPIDOS; PATAGONIA; HIDRÓLISIS; ENZIMAS FÚNGICAS.

5TCC

Desarrollo de un proceso de producción de gonadotropina coriónica equina recombinante

VILLARRAZA, Carlos J.^{a,d}; ANTUÑA, Sebastián^f; TARDIVO, Belén^f; RODRIGUEZ, María C.^{a,d}; CATTANEO, Luciano^c; BÓ, Gabriel^g; CEAGLIO, Natalia^{b,d}; PRIETO, Claudio^{a,e,f}

a) Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) Laboratorio de Cultivos Celulares. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

c) Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral.

d) CONICET

e) Cellargen Biotech S.R.L.

f) Biotecnofe S.A., PTLC.

g) Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

jvillaraza@fcb.unl.edu.ar

La gonadotropina coriónica equina (eCG) es una hormona utilizada en medicina veterinaria para controlar la actividad reproductiva en diferentes tipos de ganado FSH and thyroid-stimulating hormone. In non-equid species, eCG shows high LH- and FSH-like activities and has a high affinity for both FSH and LH receptors in the ovaries. On the granulosa and thecal cells of the follicle, eCG has long-lasting LH- and FSH-like effects that stimulate oestradiol and progesterone secretion. Thus, eCG administration in dairy cattle results in fewer atretic follicles, the recruitment of more small follicles showing an elevated growth rate, the sustained growth

of medium and large follicles and improved development of the dominant and pre-ovulatory follicle. In consequence, the quality of the ensuing CL is improved, and thereby progesterone secretion increased. Based on these characteristics, eCG treatment is utilized in veterinary medicine to control the reproductive activity of the cow by i. Actualmente, el único producto comercial disponible para este fin consiste en una preparación parcialmente purificada de plasma de yeguas preñadas (PMSG), que no solo constituye un riesgo para la salud por los posibles contaminantes presentes en el plasma, sino que también plantea algunas cuestiones bioéticas. Se han descrito diversos intentos para producir la eCG recombinante (reCG) en diferentes huéspedes. No obstante, en todos los casos, la hormona no mostró bioactividad *in vivo* significativa en modelos de rata, o fue producida en cantidades insuficientes para fines comerciales.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un proceso de producción de la reCG mediante la expresión de la proteína a partir del cultivo de células animales modificadas por ingeniería genética, utilizando medio de cultivo libre de suero fetal bovino (SFM).

Se generó una línea celular productora de reCG mediante transducción lentiviral de células CHO-K1 adaptadas a crecimiento en suspensión (sCHO-K1). Dicha línea celular fue clonada mediante técnica de dilución límite, obteniéndose el clon celular P5C3 con una productividad de $20 \text{ UI} \cdot 10^6 \text{ cel}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, el cual fue cultivado en un biorreactor de 1 L de volumen de trabajo, operado en modo de perfusión en SFM. El clon P5C3 presentó una velocidad específica de crecimiento de $0,013 \text{ h}^{-1}$, con una producción cercana a $1,8 \times 10^5 \text{ UI}$ de reCG por día. La reCG fue parcialmente purificada del sobrenadante de cultivo mediante cromatografía de pseudoafinidad a colorantes, empleando la resina CptoBlue-Sepharose FF, obteniéndose una

recuperación de aproximadamente 70%. La potencia biológica *in vivo* de la reCG parcialmente purificada se evaluó en ratas hembras mediante el ensayo descrito por Steelman y Pohley, obteniéndose un valor de $7200 \pm 100 \text{ UI} \cdot \text{ml}^{-1}$, lo cual permitió demostrar la actividad biológica de la hormona producida en animales de experimentación. Finalmente, se evaluó la eficacia de diferentes dosis de reCG en un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) sobre la tasa de preñez en animales de destino. Para ello, 82 vacas *Bos indicus* x *Bos taurus* en anestro fueron distribuidas en cuatro grupos, los cuales recibieron 100 (n=21), 140 (n= 20) y 200 (n=20) UI de reCG o 400 UI de PMSG (n= 21). Las tasas de preñez obtenidas fueron 33,3% (7/21), 45,0% (9/20) y 30,0% (6/20) para las vacas que recibieron 100, 140 y 200 UI de reCG, respectivamente, y 42,9% (9/21) para aquellas que recibieron 400 UI de PMSG. De esta manera, se pudo concluir que la reCG no solo demostró actividad biológica en el ganado vacuno, sino que además una dosis de 140 UI de reCG ejerció el mismo efecto biológico que una dosis de 400 UI de PMSG, lo que podría indicar una mayor bioactividad de la hormona recombinante.

Los resultados obtenidos demuestran que la estrategia desarrollada representa una opción atractiva para la producción de reCG y constituye una alternativa auspiciosa para el reemplazo de animales como fuente de PMSG.

Palabras claves: GONADOTROFINA CORIÓNICAEQUINA; PMSG; PARTÍCULAS LENTIVIRALES; CHO-K1

Optimización de la producción *in vitro* de mAbs mediante design of experiments

WANDEL PETERSEN, Valentina^{a, b}; KRATJE, Ricardo B. ^{a, b}; OGGERO, Marcos R. ^{a, b}; BÜRGI, María M. ^{a, b}

a) Laboratorio de Cultivos Celulares. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) CONICET

wandelp.valentina@gmail.com

En nuestro laboratorio, los procesos de purificación y caracterización de rhEPO y de análogos N-hiperglicosilados de la citoquina, requieren del empleo de un anticuerpo monoclonal anti-rhEPO (mAb 2B2) que, hasta el momento, era producido *in vivo* en líquido ascítico. Debido a preocupaciones éticas, científicas y de seguridad inherentes al uso de animales, se adaptó el hibridoma productor a un medio de cultivo libre de suero fetal bovino (MLS) compuesto por la mezcla 50:50 de los medios comerciales DMEM/Ham's F12 y EXCELL-620, suplementado con colesterol.

El proceso de adaptación consistió en una primera etapa de reducción gradual de la concentración de suero fetal bovino (SFB) en el medio de cultivo, operado en condiciones estáticas, y una segunda etapa de adaptación a MLS en agitación, procedimiento que se realizó mediante un protocolo directo y otro secuencial. Se compararon los cultivos adaptados mediante la determinación de los parámetros específicos: velocidad de crecimiento, velocidad de muerte, productividad y concentración efectiva 50 (CE50) del mAb producido en cada condición.

La adaptación directa al MLS mantuvo la tasa de crecimiento y la productividad de la condición inicial; sin embargo, el protocolo secuencial redujo la productividad en un 96%. El clon adaptado a MLS de forma directa fue empleado para la producción del mAb 2B2 en cultivos batch, obteniendo un rendimiento de 200 mg de mAb (concentración promedio 120 µg/ml) con una pureza superior al 98%.

Dado el elevado costo de los reactivos que componen el MLS y la necesidad de producir grandes masas del mAb 2B2, se optimizó la formulación del medio de cultivo mediante un diseño de experimentos (DOE) de mezclas *D-optimal*. El diseño constó de 13 experimentos realizados en un mismo bloque, empleando las siguientes mezclas de los medios DMEM/Ham's F12:EXCELL-620 50:50, 56:44, 63:37, 75:25, 81:19, 87:13, 94:6, sin el agregado de lípidos.

El DOE permitió eliminar el SFB y el colesterol como suplementos nutricionales, arrojando dos soluciones como óptimos simultáneos: las mezclas 67:33 y 94:6 de DMEM/Ham's F12:EXCELL-620, las cuales establecen una reducción de los costos del medio de cultivo de 10,4 y 40,5 veces, respectivamente, en relación al medio de cultivo inicial. Ambas condiciones lograron mantener la tasa de crecimiento de la condición inicial (valor medio de 0,04 h⁻¹), así como la CE50 e incrementaron la productividad del clon 1,7 y 1,5 veces, respectivamente.

En conclusión, la adaptación del hibridoma productor al MLS permitió incrementar 1,3 veces la pureza del mAb, conservar su afinidad aparente y mantener los parámetros de crecimiento y producción. De este modo se reemplazará su producción *in vivo* por un proceso económico, reproducible, escalable, libre del empleo de animales y de sus derivados, que permitirá disponer del reactivo en grandes cantidades para diferentes propósitos.

Como perspectiva futura, se emplearán ambas condiciones óptimas para producir el mAb a mayor escala mediante un proceso bifásico en un biorreactor, en el cual, la mezcla 67:33 se utilizará como medio de cultivo de crecimiento y la mezcla 94:6 como medio de cultivo para perfusión.

Palabras claves: ANTICUERPOS MONOCLONALES; DISEÑO DE EXPERIMENTOS; MEDIO DE CULTIVO LIBRE DE SUERO.

SESIÓN 2

FERMENTACIÓN MICROBIANA Y BIOTRANSFOR- MACIONES

**Conferencia Sesión 2: Fermentación
microbiana y biotransformaciones**

Aspectos moleculares y tecnológicos para la producción de polihidroxi- alcanoatos: plásticos de origen bacteriano

DÍAZ-BARRERA, Alvaro

*Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia
Universidad Católica de Valparaíso, Chile*

alvaro.diaz@pucv.cl

El desarrollo de técnicas de biología molecular en conjunto con estrategias de ingeniería son necesarias para optimizar la producción de productos biotecnológicos. Un tipo de producto biotecnológico son los polímeros de origen bacteriano. Entre estos bioproductos se encuentra el poli(3-hidroxibutirato) (PHB), el cual es un poliéster que se acumula intracelularmente. Un microorganismo productor de PHB es *Azotobacter vinelandii*, la cual es una bacteria Gram-negativa, aerobia estricta que puede fijar nitrógeno atmosférico. El PHB tiene diferentes aplicaciones, destacándose como reemplazo del plástico en diversas aplicaciones industriales y como material usado en biomedicina. Desde hace décadas se está estudiando el metabolismo de síntesis de PHB y se sabe que se encuentra bajo un complejo control genético. Así, el uso de mutantes de *A. vinelandii* para producir PHB ofrece una herramienta para sintetizar polímeros de calidad definida. Asimismo, el control de variables del bioproceso tal como el oxígeno del cultivo, permite producir PHB con pesos moleculares específicos. En esta ponencia, se abordan los principales aspectos de ingeniería de bioprocesos y de biología molecular que de manera integrada se están utilizando para

producir PHB en *A. vinelandii*. Se presentan los principales resultados de nuestro grupo, con énfasis en el desarrollo de cultivos de *A. vinelandii* para producir PHB y el escalamiento de su producción.

Perspectivas alimentarias de seleno-aminoácidos y seleno-nanopartículas producidas por bacterias lácticas

PESCUMA, Micaela

Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP)-CONICET. Ruta 259 Km 16,24 - CC 14 (9200) Esquel, Chubut, Argentina.

mpescu@gmail.com

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para todos los organismos vivos. La deficiencia de Se está asociada con pérdida de fertilidad, enfermedades cardiovasculares y baja resistencia a enfermedades virales y bacterianas. Se ha sugerido que la ingesta de cantidades mayores a las recomendadas (200 µg/día) podría proteger contra el cáncer y algunas enfermedades degenerativas relacionadas con la edad. Esto se debe a que el Se se encuentra como SeCys en el centro activo de selenoproteínas con actividad antioxidante (glutatión peroxidasa, iodo-tiroxina deiodinasa y tioredoxina reductasa). El Se en la naturaleza se encuentra principalmente como sales inorgánicas (SeO₄, SeO₅) en el suelo o como selenometionina (SeMet) o selenometilcisteína (SeMetCys) en nueces, cebolla, ajo, repollo, mostaza y hongos. Sin embargo su concentración en los vegetales dependerá de la concentración

de sales de Se en el suelo. Las bacterias lácticas (BAL) son ampliamente utilizadas en la industria alimentaria en la elaboración de diversos alimentos y bebidas fermentadas. Estas bacterias son capaces de unir, incorporar y bio-transformar Se en SeCys, SeMet y selenonanopartículas (SeNPs). Recientemente, se encontraron selenoproteínas en el proteoma extracelular de BAL por lo que el huésped podría recibir SeCys al ingerir alimentos fermentados suplementados con Se o incluso durante la permanencia del microorganismo en el intestino. Por otro lado, se sabe que las SeNPs tienen capacidad antimicrobiana y anti-carcinogénica. La capacidad de las BAL de biotransformar Se abre nuevas perspectivas para la elaboración de productos fermentados y/o probióticos enriquecidos en Se (SeNPs y/o Se-aminoácidos) con propiedades benéficas sobre la salud.

2FMB

Producción de biosurfactantes en cultivos sumergidos: evaluación de distintas fuentes de carbono

Haidar, Carla N.^a; López, Débora N. ^a; Nerli, Bibiana B. ^a y P. Malpiedi, Luciana ^a.

a) Laboratorio de Sistemas Autoensamblados. Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ). Universidad Nacional de Rosario (UNR) - CONICET. Suipacha 531, 1er piso, Rosario – Santa Fe. CP:2000.

carnhaidar@gmail.com
haidar@iprobyq-conicet.gob.ar

Introducción: En la actualidad, los biosurfactantes (BS) son utilizados en diferentes áreas de interés industrial como la alimenticia, cosmética, farmacéutica y biorremediación. Los BS poseen múltiples ventajas sobre los surfactantes sintéticos, sin embargo, aún existen desventajas en su comercialización masiva asociadas a los elevados costos de producción y recuperación. El precio final de estos productos está relacionado con la composición del medio de cultivo, pero específicamente, con la elección de la fuente de carbono. Para afrontar este conocido problema, muchos autores han centrado sus investigaciones en el empleo de residuos o sub-productos industriales. Una alternativa que viene siendo muy explorada es utilizar residuos hidrofóbicos parcialmente inmiscibles en los medios líquidos. En este sentido, se ha reportado que la presencia de éstos compuestos incrementa la producción microbiana de BS resultando en rendimientos mayores a los encontrados para fuentes de carbono tradicionales.

Objetivo: Estudiar la producción de BS empleando *Pseudomonas syringae* pv. *tubaci* como microorganismo productor, utilizando un residuo hidrofóbico y sustratos hidrofílicos convencionales en los medios de cultivo.

Metodología: Se utilizaron Erlenmeyer con 100 mL de medio fresco conteniendo las siguientes fuentes de carbono (10 g/L): aceite de fritura usado (AFU), glicerol, sacarosa, fructosa, glucosa y una mezcla AFU/glicerol proporción 1:1. Luego de inocular los medios, el crecimiento bacteriano y producción de BS fue monitoreado por medidas de DO_{600nm} y metodologías de detección/cuantificación (actividades superficiales/interfaciales y HPLC), respectivamente. Después de realizar estudios comparativos mediante un análisis estadístico y seleccionar la condición que incremente la producción de BS, el extracto obtenido fue caracterizado

químicamente por FT-IR y LC-ESI-MS. Posteriormente, se exploraron algunas propiedades fisicoquímicas que incluyeron estudios de capacidad emulsionante con diversos solventes orgánicos, dilución micelar crítica (CMD) y estabilidad frente a diferentes condiciones experimentales.

Resultados: Concluida la evaluación y comparaciones estadísticas correspondientes, los mejores resultados se observaron al usar la combinación AFU/glicerol. Esta condición, permitió obtener un título de producción de BS de $1,730 \pm 0,033$ g/L luego de 72 horas de crecimiento a 28 °C. La caracterización química reveló que la muestra estaba compuesta principalmente por una mezcla de lipopéptidos cíclicos (siringopeptinas, siringomicinas y atrofactinas) y glicolípidos (mono/di-ramnolípidos). Según los estudios de propiedades fisicoquímicas, el extracto de BS logró reducir la tensión superficial del agua desde $74,37 \pm 0,28$ mN/m hasta $40,07 \pm 0,43$ mN/m. Además, la muestra presentó una CMD elevada (1:128) en comparación a datos reportados en bibliografía y fue capaz de emulsionar una variedad de compuestos hidrófobos. En particular, se observaron índices de emulsificación del 83 % y 78 % en presencia de tolueno y aceite de motor usado, respectivamente. Por otro lado, el extracto retuvo la mayor parte de su capacidad emulsionante después de haber sido expuesto a condiciones extremas de temperaturas, pH y fuerza iónica.

Conclusiones: Estos hallazgos indican la posibilidad de utilizar un residuo hidrofóbico altamente contaminante en el diseño de medios de cultivos para la producción de BS empleando a *P. syringae* pv. *tabaci*. Adicionalmente, los resultados muestran la versatilidad de la mezcla obtenida dado sus atractivas y prometedoras propiedades fisicoquímicas.

Palabras claves: ACEITE DE FRITURA USADO; CAPACIDAD EMULSIONANTE; DILUCIÓN MICELAR CRÍTICA; PSEUDOMONAS SYRNGAE PV. TABACI.

3FMB

Control óptimo de la producción de lípidos en microalgas mediante modelado metabólico

VITALE, Ignacio^a; MÁRQUEZ, Vanina^b; BECCARIA, Alejandro^b; DONDO, Rodolfo^{a,b}

a) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC; CONICET – UNL). Santa Fe, Argentina.

b) Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

rdondo@santafe-conicet.gov.ar

Los aceites unicelulares son productos biotecnológicos muy promisorios, utilizados principalmente en la alimentación y en la síntesis de biocombustibles. En este trabajo se desarrolló un modelo matemático macroscópico aplicado a datos bibliográficos de producción de lípidos en la microalga oleaginosa *Tisochrysis lutea*. Para esto, se simuló un proceso de cultivo en modo *fed-batch* repetido, desarrollado en un biorreactor abierto tipo *raceway pond*. Se aplicaron condiciones fotoautotróficas, con ciclos de luz y oscuridad. Se tomaron dos conjuntos de estados iniciales diferentes, representados por sendas condiciones fisiológicas del inóculo. El modelo se basó en una red metabólica reducida que incluyó la excreción de acetato como mecanismo de disipación de energía frente a un exceso de iluminación y un balance macroscópico correspondiente al tipo

Optimización de la secreción de enzimas micolíticas en escovopsis primorosea HMP9

BARENGO, Marcela P.^{a,b}; AMERIO, Natalia S.^{a,b}; BICH, Gustavo A.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; CASTRILLO, María L.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Recca" (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina.

b) CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Posadas, Misiones, Argentina.

barengomarcela@gmail.com

En la provincia de Misiones, una de las principales plagas que afecta el sector forestal primario, son las hormigas cortadoras de hojas. Su actividad forrajera consiste en cortar y transportar hasta su nido material vegetal fresco, sobre el cual crece el hongo *Leucoagaricus gongylophorus* (Basidiomycota: Agaricales), que es su principal fuente de alimento. Por su parte, los hongos del género *Escovopsis* (Ascomycota: Hipocreales), se consideran parásitos especialistas de *L. gongylophorus*. Estos micoparásitos, secretan enzimas micolíticas extracelulares, principalmente quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, las cuales son capaces de hidrolizar los componentes de las paredes celulares de su hospedador. Por tanto, *Escovopsis* se presenta como un potencial biocontrolador indirecto de las hormigas cortadoras de hojas. Un camino eficaz para su aplicación biotecnológica es inducir su actividad micolítica, lo que implica la optimización experimental de sus condiciones de fermentación, como la concentración inicial de los compo-

de cultivo indicado. En dicha red, cada función metabólica (fotosíntesis, glicólisis, síntesis de carbohidratos, síntesis de lípidos y síntesis de biomasa) se caracterizó mediante una estequiometría propia y una cinética de pseudoprimer orden. La producción de lípidos se indujo simulando un agotamiento de la fuente de nitrógeno, para lo cual se manipuló tanto la composición de la corriente de entrada al biorreactor, como el flujo de la misma. El objetivo consiste en maximizar el contenido de lípidos en la cosecha, planteándose así un problema de control óptimo. El modelo macroscópico se expresó como un sistema de ecuaciones algebraico-diferenciales con 9 variables de estado y 3 variables de control. El problema se resolvió utilizando el software GPOPS.

Su resolución permitió establecer políticas óptimas de alimentación y de cosecha del biorreactor como así también optimizar la concentración de la fuente de nitrógeno en el mismo. Además, se pudo determinar que las diferentes cosechas resultaron cualitativamente similares para las dos condiciones fisiológicas iniciales del inóculo. De esta manera, mediante el modelado metabólico, se pudieron resolver diferentes cuestiones operativas para el cultivo de esta microalga oleaginosa. Tal herramienta teórica se consolida así en este campo biotecnológico, demostrando su potencial utilidad para colaborar en el establecimiento de un proceso industrial de producción de aceite unicelular de microalgas.

Palabras claves: BIORREACTOR FED-BATCH REPETIDO; TISOCHRYSIS LUTEA; ACEITE UNICELULAR; OPEN RACEWAY POND.

nentes del medio de cultivo, entre otras variables importantes. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue optimizar fuentes nitrógeno para la secreción de enzimas micolíticas, en una cepa de *Escovopsis* nativa de Misiones.

Se trabajó con una cepa promisorio de *Escovopsis primorosea* HMP9, y fuentes de carbono (paredes celulares de *L. gongylophorus*) y nitrógeno (complejo nitrogenado Mandels) previamente seleccionadas. Se procedió a la optimización de los componentes nitrogenados del medio Mandels (urea, extracto de levadura y sulfato de amonio). Se empleó un diseño de superficie de respuesta (RSM), Box-Behnken, en el cual se ensayó el efecto de tres concentraciones para cada fuente de nitrógeno. Se realizaron 17 ensayos en fermentación líquida. Para cuantificar la actividad proteasa, se utilizó el método de azocaseína; y para las actividades β -1,3-glucanasas y quitinasas, se empleó el método del ácido dinitrosalicílico y los resultados fueron analizados mediante el programa estadístico *Statgraphics centurión XVI*.

Se realizó un análisis de varianza de RSM en el cual se observó, un efecto positivo estadísticamente significativo por parte de todas las fuentes de nitrógeno ($p < 0,05$) en la actividad proteasas. Con respecto a β -1,3-glucanasas y quitinasas, se observó un efecto significativo positivo por parte de extracto de levadura y negativo por parte de sulfato de amonio ($p < 0,05$), con un nivel de 95,0% de confianza. A partir de la optimización de múltiples respuestas se pudieron predecir las concentraciones de cada componente nitrogenado para optimizar las actividades enzimáticas. Estas condiciones fueron validadas experimentalmente, obteniéndose valores mayores a los predichos. Por tanto, a partir del diseño experimental RSM en fermentación líquida, fue posible optimizar la actividad de las tres enzimas micolíticas, empleando medio Mandels cuya concen-

tración de componentes nitrogenados fue, urea (0,1 g/L), extracto de levadura (1,86 g/L) y sulfato de amonio (0,21 g/L). La actividad proteasas se incrementó en un 59,3%, β -1,3-glucanasas en un 87% y quitinasas en un 86,35%.

Estos resultados permitieron optimizar un medio de fermentación líquido adecuado para maximizar la secreción micolítica de la cepa *Escovopsis primorosea* HMP9 lo que permitirá sentar las bases bioquímicas en la generación de un biofungicida contra *L. gongylophorus*, que pueda ser aplicado en el control biológico indirecto de hormigas cortadoras de hojas.

Palabras claves: MANDELS; SUPERFICIE DE RESPUESTA; PROTEASAS; QUITINASAS; β -1,3-GLUCANASAS; BIOCONTROL.

5FMB

Producción de enzimas para la síntesis de prebióticos utilizando descartes de zanahoria

GUERRA, Laureana; CLEMENTZ, Adriana; ROMANINI, Diana.

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. IPROBYQ - CONICET

guerra@iprobyq-conicet.gob.ar

Introducción: En Argentina se descartan anualmente 84.000 toneladas de zanahorias (*Daucus Carota*), durante los procesos de selección por no cumplir con los estándares de calidad, tamaño y forma impuestos por el mercado. Este hecho, además de significar

una importante pérdida económica para los productores, tiene consecuencias negativas sobre el medio ambiente dado que gran parte del descarte se descompone a cielo abierto en campos generando proliferación de plagas, malos olores y alteración de los estratos del suelo. En base a este contexto, este trabajo propone reutilizar dichos descartes como materia prima para la producción de enzimas generadoras de fructooligosacáridos (FOS), ingredientes con características prebióticas, ampliamente utilizados en la producción de alimentos funcionales y que en Argentina se importan en su totalidad.

Objetivo: Producir invertasa, enzima con actividad transfructosilasa capaz de generar fructooligosacáridos, a partir de descartes de zanahoria.

Materiales y Métodos: Las zanahorias fueron procesadas a los fines de obtener jugo y bagazo, siendo este último utilizado como soporte de la fermentación sólida para la producción de la enzima de interés, utilizando *Aspergillus niger* como microorganismo productor. Se evaluó el efecto de la suplementación del bagazo con medios enriquecidos en nitrógeno orgánico (urea, extracto de levadura y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) e inorgánico (medio Czapeck) y sin fuente de carbono. Por otra parte, se evaluó el volumen del medio de suplementación agregado, la concentración del inóculo y el tiempo de incubación. La actividad transfructosilasa de la enzima invertasa obtenida a partir de los extractos crudos fue determinada sobre una solución concentrada de sacarosa (400 g/L) mediante cromatografía en capa fina.

Resultados: Se encontró que la suplementación del bagazo con fuentes orgánicas de nitrógeno y elementos trazas aumenta notablemente la producción de invertasa (145,51 U/mL) y para que ésta sea máxima se requiere un volumen de 5 mL de dicho medio, un tiempo de incubación de 96 h y

un inóculo de 1×10^6 conidios/mL. El extracto enzimático obtenido es capaz de catalizar la síntesis de fructooligosacáridos.

Conclusiones: Es posible producir invertasa con actividad transfructosilasa capaz de sintetizar fructooligosacáridos a partir de descartes de zanahoria, utilizando *A. niger* como productor. La revalorización de estas zanahorias no solo contribuiría a mitigar los efectos negativos que conlleva su descarte, sino que además tendría el beneficio de generar productos de valor agregado, abriendo la posibilidad de producir FOS en el país, los cuales actualmente se importan en su totalidad.

Palabras claves: INVERTASA; FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS; DESCARTES DE ZANAHORIA.

6FMB

Producción de ácido láctico a partir de efluentes industriales de bebidas gaseosas

GUZMÁN, Victoria M.^{a,b}; TOMASSI, Ariel H.^{a,b}; ZURBRIGGEN, Abril^a; BENZZO, María T.^a; SELUY, Lisandro G.^{a,b}; COMELLI, Raúl N.^{a,b}

a) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental. Depto. de Medio Ambiente. Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas – Univ. Nacional del Litoral (FICH-UNL). Ciudad Universitaria, CP 3000 - Santa Fe, Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

vguzman@fich.unl.edu.ar

El ácido láctico (AL) es de amplio uso en la industria alimenticia, química, cosmética y farmacéutica. Alrededor del 90% del AL

disponible en el mercado se produce mediante fermentación empleando bacterias ácido lácticas (BAL) y aproximadamente un 40% del costo global del proceso deriva del costo de la materia prima seleccionada (glucosa, sacarosa, jarabe de maíz y otros azúcares simples). En este sentido, resulta de gran interés la identificación de fuentes alternativas y económicas para su producción.

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar y optimizar procesos para la producción biológica de ácido láctico empleando materias primas sustentables, en particular, los efluentes líquidos de industrias de bebidas azucaradas generados por “operaciones de descarte” (por ej, producto rechazado durante el proceso de elaboración por políticas de calidad y producto devuelto desde góndola). Estos efluentes, una opción muy atractiva debido a su alta disponibilidad y bajo costo, representan además una opción novedosa para el tratamiento convencional de los mismos previo a su descarga en el medioambiente.

Se realizó un *screening* y se seleccionaron BAL del género *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. plantarum* y *L. coryniformis*) capaces de fermentar los azúcares presentes en los efluentes (glucosa, fructosa y/o sacarosa) sin producción de CO₂ y crecer en condiciones de microaerobiosis con velocidades y rendimiento en ácido láctico compatibles con una escala industrial. Los ensayos de fermentación se realizaron en reactores de 150 mL, operados en forma discontinua teniendo en cuenta diferentes variables: agitación, temperatura, concentración inicial de inóculo y pH regulado con soluciones de NaOH (variable de control fundamental durante el proceso para evitar inhibición por producto debido a la elevada concentración de azúcar en el efluente). En las condiciones seleccionadas se obtuvieron rendimientos entre 0.50 ± 0.05 y 0.75 ± 0.05 g_{láctico}/g_{azúcar consumido} luego de 72 hs de ensayo, con un consumo

de azúcares entre el 65 y 90%, dependiendo de la cepa evaluada. El mejor desempeño de las cepas en los controles en medio MRS indica posibles inhibidores en los efluentes (por ej., conservantes). Sin embargo, se ha demostrado, a escala de laboratorio, que es técnicamente factible producir ácido láctico a partir de efluentes de la industria de bebidas gaseosas empleando bacterias del género *Lactobacillus*.

Palabras claves: ÁCIDO LÁCTICO; EFLUENTES INDUSTRIALES; LACTOBACILLUS.

7FMB

*Obtención de extractos de polifenoles mediante fermentación en estado sólido de *Aspergillus niger* y *Aspergillus oryzae* sobre orujo de uva y cascarilla de soja*

MEINI, María R.^a; CABEZUDO, I.^b; GALETTO, Cecilia S.^a; ROMAINI, Diana^a

a) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos de Rosario-IPROBYQ-CONICET

b) Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR; CONICET

meini@iprobyq-conicet.gob.ar

El orujo de uva es un subproducto de la industria alimenticia que contiene una alta proporción de polifenoles con potenciales aplicaciones en alimentos funcionales. Sin embargo, los métodos de extracción clásicos basados en solvente orgánicos no permiten extraer la fracción de polifenoles que se encuentran unidos a la matriz lignocelu-

lósica. Además, son poco amigables con el medio ambiente y suelen llevar a la pérdida de actividad antioxidante ya que requieren grandes cantidades de solventes orgánicos y elevadas temperaturas.

La extracción de esta fracción de polifenoles unidos o acomplejados puede facilitarse a través del empleo de enzimas hidrolíticas que degradan la matriz lignocelulósica. En forma más directa, puede tratarse la biomasa con un microorganismo que produzca las enzimas *in situ*. En este trabajo se ensayo el empleo de la técnica de fermentación en estado sólido (FES) utilizando hongos de *Aspergillus niger* y *Aspergillus oryzae*. Estos hongos son considerados seguros (*Generally Recognized as Safe*, GRAS) y son productores típicos de enzimas industriales como celulasa, pectinasa, α -amilasa, proteasas, tanasa, entre otras. La enzima tanasa es particularmente importante en el tratamiento de orujo de uva, ya que permite disminuir la complejidad de los polifenoles poliméricos (taninos condensados). El orujo de uva se utilizó como sustrato y soporte en combinación con ác. tánico, inductor de enzima tanasa, y también en combinación con otro desecho, cascarilla de soja, que induce la producción de celulasas, pectinasas, amilasas, etc.

Al tratar la biomasa mediante FES y realizar luego extracciones acuosas de los polifenoles, se encontraron aumentos en el rendimiento de recuperación de los polifenoles, y especialmente, un aumento de su actividad antioxidante. Se pudo correlacionar este efecto con la acción de las enzimas producidas. En el caso de *A. niger*, se encontró que el mismo produce enzimas celulasa, pectinasa y tanasa en forma balanceada; mientras que en iguales condiciones *A. oryzae* produce preferencialmente tanasa. *A. oryzae* resultó ser más eficiente, tanto en la producción de enzima tanasa, como en la liberación de polifenoles e incremento de la actividad antioxidante.

Los resultados obtenidos permiten contar con información para la elaboración de cócteles enzimáticos ad-hoc destinados al tratamiento de distintas biomásas que contengan en su matriz bioactivos de interés.

Palabras claves: FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO; ORUJO DE UVA; CASCARILLA DE SOJA; POLIFENOLES; ANTIOXIDANTES.

8FMB

Fermentación en sustrato sólido: bioinsumo de *Trichoderma* para aplicar en yerba mate

LÓPEZ, Ana C.^{a,b}, ALVARENGA, Adriana E.^{a,b}, ZAPATA, Pedro D.^{a,b}, LUNA, María F.^{c,d}, VILLALBA, Laura L.^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

c) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.

d) Comisión de Investigaciones Científicas. Buenos Aires, Argentina.

anaclara_lopez@yahoo.com.ar

Argentina es el principal productor y exportador de yerba mate, siendo Misiones la provincia de mayor producción. Para el óptimo desarrollo de las plantas y para protegerlas del ataque de plagas y patógenos, se utilizan productos de síntesis química. Una estrategia biotecnológica para disminuir el

uso de estos productos –que contaminan el medio ambiente y son perjudiciales para la salud de todos los seres vivos– es la aplicación de bioinsumos a base de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal o *PGPM* (de sus siglas en inglés). Con el objetivo potencial de una producción de yerba mate sustentable, se realizaron ensayos para obtener un formulado a base de especies de *Trichoderma* –aisladas de la endosfera de yerba mate y caracterizadas como *PGPM in vitro*– cultivadas en Fermentación en Sustrato Sólido (FSS). Se evaluó la producción de *T. asperelloides* LBM 193 y *Trichoderma* sp. LBM 202 en FSS utilizando dos protocolos diferentes: 1. con arroz precocido y 2. arroz (sin cocción) con agua. Luego, el proceso fue igual en ambos: se esterilizó, se inoculó, se incubó a 28 °C por 7-10 días hasta que todo el sustrato fue consumido. Posteriormente, se secó a 40 °C durante 4-10 días, se realizó la molienda y el envasado. El formulado con el primer protocolo se secó en 4 días y presentó una consistencia muy fina, tipo “polvo” de fácil manipulación. Con el segundo, tardó 10 días en secarse y luego de la molienda se obtuvo un formulado pastoso de difícil manipulación y propenso a la contaminación. Se seleccionó el primer protocolo para obtener los formulados de ambos microorganismos y así evaluar su calidad en relación a los siguientes parámetros: concentración total de conidios (por recuento en cámara de Neubauer), conidios viables en PDA al 2 % y presencia de contaminantes en el formulado. Cada formulado se hizo por triplicado y su calidad se evaluó a diferentes tiempos de almacenamiento: 0, 1, 2 y 6 meses. Para ambos formulados, se obtuvo una elevada concentración de conidios totales (10^{10} conidios/g formulado) y también de viables al inicio del ensayo (10^9 UFC/g formulado). La viabilidad disminuyó con el tiempo –por falta de nutrientes, desecación o acumulación de metabolitos tóxicos– pero se mantuvo un título de 10^7

10^6 UFC/g para *T. asperelloides* LBM 193 y *Trichoderma* sp. LBM 202, respectivamente, después de 6 meses de almacenamiento. Con estos ensayos, se logró la selección de un protocolo sencillo para la producción en FSS de un bioinsumo a base de *T. asperelloides* LBM 193 y *Trichoderma* sp. LBM 202, de fácil manipulación y con parámetros de calidad aceptables ($\geq 2 \cdot 10^6$ UFC/g formulado) para ser aplicados en plantas de yerba mate. Este trabajo contribuye a la búsqueda de soluciones amigables con el ambiente que permite el mejoramiento del cultivo de yerba mate, una actividad agroeconómica muy importante en la región misionera.

Palabras claves: BIOINSUMO; FERMENTACIÓN EN SUSTRATO SÓLIDO; TRICHODERMA; YERBA MATE.

9FMB

Producción biológica de ácido acético a partir de melaza

KHAWAM, Jorge N, BENZZO, María T, SELUY, Lisandro G, COMELLI, Raúl N

a) Laboratorio de Ingeniería ambiental. Facultad de Ingeniería y Ciencias hídricas. Universidad Nacional del Litoral.

b) ANPCyT

jorgek90.jk@gmail.com

El presente trabajo se enfoca en la producción biológica y optimización a escala de laboratorio de la producción de ácido acético empleando melaza de caña como materia

prima. La melaza representa un subproducto de la producción de azúcar, que debido a su elevada carga orgánica debe ser tratado, en caso de no ser comercializado, previo a su vertido en un curso receptor. El proceso propuesto permitiría obtener ácido acético, agregando valor a este subproducto.

El objetivo del presente trabajo fue la obtención de ácido acético mediante una fermentación alcohólica mediada por levaduras, de soluciones de melaza en distintas proporciones, seguida de una fermentación acética en cultivo sumergido. Se evaluaron como materia prima 2 tipos de melaza, melaza en polvo y melaza líquida o tal cual se obtiene del proceso de producción de azúcar.

Inicialmente se caracterizaron las materias primas determinando pH, azúcares reductores y totales, contenido de glucosa, perfil de carbohidratos, y compuestos nitrogenados con un extremo alfa-amino libre (FAN).

Las soluciones de melaza en polvo, en diferentes concentraciones, no presentaron la concentración de carbohidratos esperados, según la composición declarada, sí la proporción de los mismos, lo que permite suponer que no todos los sólidos correspondieron a melaza deshidratada, pudiendo existir alguna impureza. Por el contrario, las soluciones de la melaza líquida o tal cual sale del proceso de producción de azúcar, sí presentaron la concentración y perfil de carbohidratos esperado. Además, el pH de ambas melazas, en solución al 10% m/v, fue completamente diferente. Mientras que la melaza líquida presentó un pH ligeramente ácido, en torno a 5, la solución de melaza en polvo, mostró un pH entre 9 y 10, el que al ser neutralizado con H_2SO_4 , generó abundante formación de espuma y un precipitado blanquecino similar al $CaSO_4$, sugiriendo la posible presencia de $CaCO_3$ en el polvo.

Se evaluaron distintas condiciones de cultivo utilizando melaza líquida (inóculo, fuente de nitrógeno, agregado de agente osmoprotectores, modo de operación) sobre la producción de etanol con 3 cepas de *Saccharomyces*. El desempeño de las cepas fue muy similar, alcanzando concentraciones de etanol de 100 g/L, con rendimientos ($g_{\text{etanol}} / g_{\text{azúcares reductores consumidos}}$) de 0,43, lo que representa un 85% del valor teórico. Se observó además que el agregado de fuentes de nitrógeno, no sólo incrementa la velocidad de consumo de azúcares, si no que permite que el consumo sea completo.

Luego de la fermentación alcohólica, las levaduras fueron separadas por centrifugación, y el mosto utilizado para la fermentación acética. Previamente, el mosto alcohólico fue diluido para obtener una concentración de etanol del 5% m/v, y se utilizó como sustrato en un proceso semicontinuo, donde el medio fue reemplazado por mitades. El rendimiento de ácido acético observado fue aproximadamente $1 g_{\text{ac. acético}} / g_{\text{etanol-consumido}}$, lo que representa un 80% del valor teórico. Es factible producir ácido acético a partir de melaza de caña por fermentación alcohólica y fermentación acética sucesivas.

Palabras claves: FERMENTACIÓN, ACÉTICO, ETANOL, EFLUENTE, MELAZA.

Producción de Bioetanol a partir de bagazo cervecero aprovechando pentosas y hexosas

WAGNER Evelyn^a, SIERRA-IBARRA Estefanía^b, MARTINEZ JIMÉNEZ Alfredo^b y ROJAS Natalia L.^a

a) Universidad Nacional de Quilmes, CONICET, Departamento de Ciencia y Tecnología, LI-GBCM-AVI. IMBA., Roque Sáenz Peña 352, Quilmes (1876), Argentina.

b) Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos 62210, México.

evelyn_wag@hotmail.com
nylevewag@gmail.com

El bagazo cervecero (BC) es un residuo sólido generado en grandes cantidades (20 kg/100 L de cerveza producida), representando cerca del 85% (p/p) de los subproductos de la industria cervecera. Debido a esto, y a su naturaleza lignocelulósica, el BC tiene el potencial de ser usado como materia prima de bajo costo para la producción de etanol de segunda generación. Para ello, es necesario convertir el material lignocelulósico en azúcares fermentables, que en el caso del BC está compuesto por hexosas y pentosas.

Debido a que la mayoría de los microorganismos fermentadores sólo consumen glucosa para producir etanol, en este trabajo, se estudió la producción de bioetanol a partir de BC utilizando la cepa etanológica recombinante *Escherichia coli* MS04. Inicialmente, se caracterizó bioquímicamente el BC (glucano 20.47 %, xilano 15.67 % y arabinano 7.48 %) encontrándolo adecuado como sustrato potencial para la producción de bioetanol. Luego, el BC se pretrató con ácido sulfúrico diluido a diferentes tiempos

de pretratamiento -1 y 1.5 h- utilizando una carga de sólidos de 15 % (p/p). La mezcla obtenida del BC pretratado fue sometida a un proceso secuencial de hidrólisis enzimática y fermentación -sin separar los sólidos del líquido-, con el fin de evaluar la producción y rendimiento de bioetanol.

Cuando se evaluó el efecto del tiempo de incubación del pretratamiento sobre la desestabilización de BC se observó que el mejor rendimiento de azúcares se alcanzó luego de pretratar este residuo durante 1.5 h, obteniendo 41.97 g/L de azúcares (compuestos principalmente por glucosa, xilosa y arabinosa), 27.57 % más de azúcares que los obtenidos con el pretratamiento a 1 h. Luego de la etapa de sacarificación, se observó que la concentración de glucosa liberada aumentó rápidamente durante las primeras 12 h. Al final de esta etapa, la concentración de azúcares totales aumentó un 47,46%, con respecto a la obtenida durante el pretratamiento. Esto representó una concentración total de 60 g azúcares/L disponible para la etapa de fermentación cuya producción de etanol alcanzó 29,47 g/L en 30 h. Este resultado significa una productividad de 0,98 g_{EtOH}/Lh y un rendimiento de conversión a etanol del 90% del teórico basado en el consumo de los tres azúcares.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que los carbohidratos contenidos en el BC pueden transformarse eficientemente en pentosas y hexosas mediante un pretratamiento adecuado. Estos monosacáridos fueron consumidos por la bacteria etanológica *E. coli* MS04 y convertidos en etanol, resultando en un rendimiento global equivalente a 207 L_{EtOH} por tonelada de BC. El proceso propuesto en este trabajo se desarrolló de forma secuencial, lo que implica una ventaja operativa para explotar este subproducto lignocelulósico, destacando al BC como un recurso renovable para la producción de bioetanol.

Palabras claves: BAGAZO CERVECERO; BIOETANOL; SACARIFICACIÓN-FERMENTACIÓN SECUENCIAL; ESCHERICHIA COLI ETANOLOGÉNICA.

11FMB

Secreción de enzimas micolíticas en *Trichoderma koningiopsis* inducida por paredes celulares fúngicas

AMERIO Natalia S^{a,b}; BARENGO Marcela P.^{a,b}; BICH Gustavo A.^{a,b}; ZAPATA Pedro D.^{a,b}; CASTRILLO María L.^{a,b} y VILLALBA Laura L.^a

a. Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Recca" (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina.

b. CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas). Posadas, Misiones, Argentina.

natymort@hotmail.com

Las enzimas micolíticas como ser quitinasas, β -1,3 glucanasas y proteasas, son esenciales para la acción micoparasítica de diversas especies de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos. En el presente trabajo se propuso potenciar la actividad enzimática micolítica de la cepa *Trichoderma koningiopsis* POS7, previamente seleccionada por nuestro grupo de trabajo por presentar elevada actividad biocontroladora. Se realizó un diseño experimental factorial, utilizando medio de cultivo líquido con diferentes concentraciones de paredes celulares tratadas de *Fusarium* sp. como fuente de carbono, el cual es un factor determinante en la secreción enzimática. Para el tratamiento de las paredes fúngicas, se inocularon tacos

de micelio de *Fusarium* sp. en medio líquido compuesto por: glucosa 0,5 % y extracto de malta al 1,27 % como fuente de carbono, y Mandels como fuente de nitrógeno. Se incubaron 14 días a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ con luz continua, con el fin de obtener gran cantidad de micelio. Éste se recogió mediante filtración a través de papel de filtro Whatman No. 1, se lavó con agua destilada y se dejó reposar en ClNa 0,85 % durante 2 horas, se hirvió en SDS 2 % durante 5 minutos y centrifugó (4500 x g) durante 10 minutos. El micelio recolectado se lavó con cloroformo:metanol (1:1) y acetona, se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas, se trituró en un mortero y se almacenó en freezer. Las concentraciones de paredes celulares tratadas de *Fusarium* sp. ensayadas fueron: 0,5 %; 1 %; 2 %, 3 %, 5 %, 7 % y 9 %. Como complejo nitrogenado se utilizó extracto de levadura 0,25 % adicionado con KH_2PO_4 (2g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,4 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,3 g/L), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,005 g/L) y $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.002 g/L). Cada medio se realizó por duplicado en Erlenmeyer de 250 ml con 60 ml de medio de cultivo. Se esterilizaron en autoclave durante 15 min a 121°C y 1 atm de presión superior a la normal. El inóculo consistió en 2,5 mL de una suspensión ($1-2 \times 10^7$ esporas/mL) de *T. koningiopsis* POS7. El ensayo se llevó a cabo en agitación continua a 100 rpm a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ por 14 días. Cada 2 días se tomó una alícuota para realizar las determinaciones enzimáticas cuantitativas.

Los ensayos que contenían 7 % de paredes celulares tratadas de *Fusarium* sp. presentaron actividades máximas para las tres enzimas. En relación al tiempo de incubación, para quitinasas se obtuvo el valor máximo el día 10 (111,47 U/L), para β -1,3 glucanasas y proteasas el valor máximo se observó el día 12 (2671,21 U/L y 700,26 U/L, respectivamente).

A partir de dichos resultados se logró seleccionar la concentración de 7 % de paredes

celulares tratadas de *Fusarium* sp., como la fuente de carbono que mostró efectos estadísticamente significativos y positivos sobre la secreción enzimática de quitinasas, β -1,3 glucanasas y proteasas de *T. koningiopsis* POS7. Los resultados obtenidos permitieron optimizar la secreción de enzimas micolíticas bajo condiciones controladas en fermentación líquida por *T. koningiopsis* POS7, lo cual continúa potenciando la utilización de enzimas fúngicas de *Trichoderma* en control biológico.

Palabras claves: QUITINASAS, β -1,3 GLUCANASAS, PROTEASAS Y FUENTE DE CARBONO, FUSARIUM SP.

12FMB

Revalorización del bagazo cervecero: estrategias de pretratamiento e hidrólisis enzimática

WAGNER Evelyn^a, PERÍA Mara E. ^a, ORTÍZ Gastón E. ^b y ROJAS Natalia L. ^a

a) Universidad Nacional de Quilmes, CONICET, Departamento de Ciencia y Tecnología, LIGBCM-AVI. IMBA., Roque Sáenz Peña 352, Quilmes (1876), Argentina.

b) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CONICET. Calle 50 y 115, La Plata (1900), Argentina.

evelyn_wag@hotmail.com
nylevewag@gmail.com

Los residuos lignocelulósicos industriales tienen el potencial de ser utilizados como materiales renovables para obtener productos de mayor valor agregado. La industria cervecera genera anualmente en todo el

mundo toneladas de un residuo lignocelulósico llamado bagazo cervecero (BC), cuyo uso y revalorización se incrementó en los últimos años. Debido a su naturaleza, el BC debe ser degradado a azúcares aprovechables, lo que implica la aplicación de uno o más pretratamientos seguido de hidrólisis enzimática.

En este trabajo, el BC se sometió a diferentes estrategias de pretratamientos para potenciar su revalorización. Se realizaron dos pretratamientos (ácido diluido y peróxido de hidrógeno - pH 5.0-) y se estudiaron los cambios en los grupos funcionales, comportamiento térmico y alteraciones morfológicas mediante espectroscopia FT-IR, análisis termogravimétrico y microscopía electrónica de barrido, respectivamente. La fracción sólida recuperada de cada pretratamiento, se sometió a una etapa de sacarificación utilizando un cóctel de enzimas producido mediante fermentación en sustrato sólido (FSS) por *Trichoderma reesei*, utilizando el mismo BC como sustrato.

Inicialmente, el BC sin tratar presentó un alto contenido de celulosa (23.44 %) y lignina (24.44 %), seguido de hemicelulosa (16.66 %), siendo glucosa y xilosa los azúcares predominantes.

Luego de los pretratamientos, la mayor variación en la composición del BC se encontró luego del pretratamiento ácido -celulosa (56.41 %), lignina (41.57 %) y hemicelulosa (2.27 %)-, observándose que la proporción de hemicelulosa se redujo significativamente, consistente con el mecanismo de acción de dicho pretratamiento. La recuperación de biomasa y los rendimientos de azúcares luego de los pretratamientos fueron consistentes con las alteraciones estructurales observadas por FTIR, TGA y microscopía.

La concentración enzimática del cóctel (0.53 UI/ml actividad filtro de papel, 1.37 UI/ml de endoglucanasas y 120 UI/ml de xi-

13FMB

Producción de conidios de *beauveria bassiana* en dispositivo para utilización en campo

FETTER, Isabela^a; ALVES, Luis F. A.^b; SCHAPOVA-LOFF, Maria E.^c; FERREIRA, Tiago T.^d

a) Laboratorio de Biotecnología Agrícola - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

b) Laboratorio de Biotecnología Agrícola - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

c) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Montecarlo.

d) SparcBio, Laboratorio de Biología dos Insetos – Departamento de Entomología e Acarologia, USP/ESAQL.

isabela_fetter@hotmail.com

Este trabajo tuvo como objetivo testar un dispositivo para la producción y utilización del hongo *Beauveria bassiana* (Bals-Criv.) Vuill. Unioeste 44 (Hypocreales: Cordicipitaceae) en el control del “rulo de la yerba mate” *Gyropsylla spegazziniana* (Hemiptera: Aphalaridae). El dispositivo consto de un soporte plástico amarillo (2,5 × 2,5 cm) con 12 pocillos. El inóculo (blastoporas del hongo) fueron producidas en frascos Erlenmeyer con medio de cultivo líquido (41,7g extracto de levadura, 52g de sacarosa, 1g de KCl, 0,36g de KH₂PO₄ e 0,6 g de MgSO₄ por litro de agua destilada). Después de 4 días de incubación en *Shaker* (200 RPM; 26 ± 1° C, HR 70 ± 10%), 185 µL del inóculo fueron transferidos para cada uno de los pocillos del soporte (volumen suficiente para llenar el pocillo y estar contenido en función de la tensión superficial resultante del formato

lanasas) generado mediante FSS por *T. reesei* -usando BC como sustrato- fue adecuada para utilizarlo en la hidrólisis enzimática del BC pretratado.

Si bien el pretratamiento con H₂O₂ no produjo cambios composicionales relevantes, los valores de azúcares recuperados durante la etapa de sacarificación fueron los más elevados (193.35 mg azúcares / g de BC), 1.75 veces mayor que el BC pretratado con ácido diluido. Este resultado sugiere que el pretratamiento con H₂O₂ es prometedor e interesante si se lo combina con una etapa de sacarificación utilizando enzimas producidas a partir del mismo BC. Además, su implementación reduce el uso de equipos y se desarrolla en condiciones compatibles con la sacarificación, por lo que es posible considerar su realización en forma simultánea.

El BC resultó ser adecuado para la producción de enzimas lignocelulolíticas y como fuente de monosacáridos, ambos con el potencial de generar productos de mayor valor agregado. Las técnicas FTIR, TGA y SEM utilizadas, ayudaron a relacionar los cambios estructurales provocados en el BC por los pretratamientos y el rendimiento de azúcares obtenido tras la sacarificación. La combinación de estrategias de pretratamiento y sacarificación propuestas resulta prometedora para mejorar la explotación de este residuo mediante un proceso económico y ambientalmente seguro.

Palabras claves: BAGAZO CERVECERO; BIOMASA PRETRATADA; ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS.

especial de los pocitos). Los dispositivos fueron colocados en placas de Petri sobre una capa de agar-agua 2% en el fondo. Las placas fueron cerradas e incubadas durante cuatro días ($26 \pm 1^\circ$ C, HR $70 \pm 10\%$). Después del crecimiento y producción de los conidios, los dispositivos fueron colocados en tubos de vidrio e inmersos en una solución acuosa esterilizada de monooleato de sorbitán polioxietileno 0,01%. Luego de la agitación en vórtex, la concentración de conidios fue estimada en cámara de Neubauer. También, se estimó la viabilidad de los conidios, aplicándose 130 μ l de la suspensión de conidios en la superficie del medio de cultivo PDA en placas del tipo RODAC®. Después de la incubación (16 a 24 h a $26 \pm 1^\circ$ C, HR $70 \pm 10\%$), se procedió a contar los conidios germinados y no germinados en microscopio óptico (400 \times), siendo considerados viables los conidios que presentaban el tubo germinativo con el largo igual o mayor que el diámetro. Fueron obtenidos $3,7 \times 10^{10}$ conidios/dispositivo, equivalente a $1,48 \times 10^{10}$ conidios/cm², con viabilidad inicial de aproximadamente 90%. La alta concentración de conidios obtenida convierte al dispositivo en una alternativa prometedora para la producción del hongo, con miras a su uso en el control del rulo de la yerba mate. Esto se debe a que, en estudios anteriores, las trampas amarillas impregnadas con conidios del hongo fueron eficientes para atraer e infectar a los adultos del rulo de la yerba mate en el campo. Sin embargo, el dispositivo tiene la ventaja de una alta producción de conidios viables en menos tiempo (8 días) en comparación con el método convencional en medio sólido (medio de cultivo de arroz) que tarda aproximadamente 30 días. El siguiente paso de la investigación consistirá en probar la capacidad de atractivo e infección del dispositivo para controlar el rulo de la yerba mate.

Palabras claves: HONGOS ENTOMOPATÓGENOS; BLASTOSPORAS; AUTO-DIFUSIÓN.

14FMB

Producción de Beauveria bassiana en bolsas con aire filtrado y fermentación bifásica

FERREIRA, Tiago T.^a; ALVES, Luis F. A.^b; FETTER, Isabela^c

a) SparcBio, Laboratorio de Biología de Insectos – Departamento de Entomología y Acarología, USP/ESAQL.

b) Laboratorio de Biotecnología Agrícola - Centro de Ciencias Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste de Paraná.

c) Laboratorio de Biotecnología Agrícola - Centro de Ciencias Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste de Paraná.

tiago_rosane@hotmail.com

Para la producción de hongos entomopatógenos en Brasil, predominan técnicas utilizadas desde la década de 1960. El método de la fermentación sólida es utilizado con sustrato de arroz cocido y en bolsas de polipropileno sin aireación. Sin embargo, con la creciente demanda de hongos entomopatógenos para el control de plagas, ha aumentado el interés por nuevos métodos de producción. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el uso de bolsas de polipropileno con aireación, fermentación sólida y bifásica para la producción de conidios del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) Unioeste 88. Para la fermentación sólida, el inóculo se obtuvo multiplicando el hongo en cajas Pe-

tri con medio PDA (papa-dextrosa-agar) y se incubó durante 7 días (26 ± 2 °C y fotoperíodo de 12 horas); los conidios se recogieron raspando la superficie del medio. El inóculo para la fermentación bifásica fue obtenido en un Erlenmeyer con un medio líquido específico para el crecimiento *B. bassiana* (41,7 g de extracto de levadura, 52 g de sacarosa, 1 g de KCl, 0,36 g de KH_2PO_4 , 0,6 g de MgSO_4 y 1L de agua destilada), en cámara de incubación con agitación (*Shaker*) a 200 rpm durante 4 días (25 ± 2 °C y oscuridad por 24 h). Ambos inóculos se estandarizaron en una suspensión fúngica 1×10^7 de conidios/mL o blastosporas/mL. Las bolsas recibieron 200g de arroz parboilizado en remojo (50 minutos en agua fría y escurrido) y se esterilizaron en un autoclave (1 atm y 120 °C, 20 min). Una vez frío, se inyectaron 10 ml del inóculo, constituyendo un total de 4 tratamientos: 1) fermentación sólida (conidios) en bolsas con aireación = CA; 2) fermentación sólida (conidios) en bolsas sin aireación = CN; 3) fermentación bifásica (blastosporas) en bolsas con aireación = BA y 4) fermentación bifásica (blastosporas) en bolsas sin aireación = BN. A los 4, 7 y 10 días desde el inicio de la fermentación, se evaluaron para cada tratamiento: la concentración de conidios en el sustrato (arroz + hongo); producción de conidios (g); la concentración de conidios; la viabilidad y la actividad del hongo contra el ácaro *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae). En las bolsas aireadas la producción de conidios en el sustrato fue significativamente mayor: CA 7° y 10° día: $2,5$ y $3,4 \times 10^9$ conidios/g, respectivamente; BA 7° y 10° día: $2,1$ y $2,7 \times 10^9$ conidios/g. La mayor producción de conidios (g) se obtuvo con CA (4,2 g en el 7° día y 5,3 g en el 10° día). La concentración de conidios en el 10° día fue mayor en las bolsas con aireación (CA y BA) ($1,7 \times 10^{11}$ conidios/g y $1,5 \times 10^{11}$ conidios/g, respectivamente). No hubo efecto sobre la viabilidad y actividad acaricida (promedio de 86% de viabilidad y

76% de mortalidad). La fermentación bifásica y el uso de bolsas con filtro de aireación fueron más eficientes para la producción del hongo *B. bassiana* Unioeste 88, con mayor rendimiento de conidios en menos tiempo.

Palabras claves: FERMENTACIÓN BIFÁSICA; MUSHROOM SPAWN BAGS; HONGOS ENTOMOPATÓGENOS; BEAUVERIA BASSIANA.

15FMB

Búsqueda y producción de enzimas lignocelulósicas fúngicas mediante fermentaciones sobre bagazo cervecero

PERÍA, Mara E.^a; WAGNER, Evelyn^a; ORTÍZ Gastón E.^b; CERIANI-NAKAMURAKARE, Esteban D.^c; CARMARÁN Cecilia C.^d; ROJAS, Natalia L.^a

a) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Molecular-AVI, Departamento de Ciencia y Tecnología, CONICET, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal.

b) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CONICET, La Plata, Argentina.

c) Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Lujan, Buenos aires, Argentina

d) Laboratorio de Micología, Fitopatología y Liqueología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

maraeugenia7@gmail.com

La búsqueda de fuentes novedosas de enzimas es un área de constante desarrollo, debido a la necesidad de contar con bioca-

talizadores estables, de producción económica y aplicables en procesos industriales¹. Los residuos lignocelulósicos -recursos renovables y abundantes- representan una alternativa viable para la generación de enzimas. Tal es el caso de la revalorización del bagazo cervecero (BC), principal desecho sólido de esta industria².

El objetivo de este trabajo consiste en desarrollar procesos para la producción de enzimas lignocelulósicas fúngicas utilizando BC como sustrato. Inicialmente, se realizó un screening sobre los hongos *Chaetomium* sp, *Daldinia* sp, *Filobasidium* sp, *Fusarium oxysporum* y *Raffaella arxii*, asociados a *Megaplatypus mutatus* (plaga forestal nativa de Sudamérica perteneciente a los “coleópteros de la ambrosia”)^{3,4}. Se realizaron cultivos en placas de Petri utilizando medios mínimos sólidos con fuentes de carbono específicas: carboximetilcelulosa, almidón y xilano para evaluar las actividades celulasas; amilasas, AMI y xilanasas, XYL, respectivamente. Se determinó el índice de productividad enzimática (EPI) -cociente entre los diámetros de las zonas de hidrólisis y de crecimiento por el tiempo de incubación-.

Paralelamente, para diseñar el proceso de producción, se evaluó el potencial del BC como sustrato de fermentaciones en sustrato sólido (FSS). Se realizaron cultivos a 28 °C durante 14 días de *Trichoderma reesei* – productor conocido de enzimas lignocelulósicas- en BC y salvado de trigo (ST). 5 gramos de sustrato se acondicionaron con 5 ml de NaOH 0.2M, se esterilizaron por 15 min a 121 °C, y se inocularon con 2.5x10⁶ esporas/gramo de sustrato. Luego de 2, 4, 7, 9, 11 y 14 días, se recuperó el cóctel enzimático generado mediante la adición de 100 ml de NaCl 0.1M con Tween 80 0.1% (v/v), y se determinaron las actividades enzimáticas^{5,6,7}. La mayor productividad -expresada como UI/g*s*d- se obtuvo a los 4 días de cultivo, alcanzándose valores de 1.52 y 1.28

para actividad papel de filtro (FPA), 1.55 y 2.55 para endoglucanasas (EGA), 48.4 y 67.79 para XYL, y 0.62 y 1.89 para AMI, en BC y ST respectivamente. Estos resultados demuestran el potencial del BC como sustrato para la producción de enzimas, logrando productividades enzimáticas mayores en comparación con otros residuos lignocelulósicos^{8,9,10}.

Una vez establecidas las condiciones de FSS y a partir de los resultados del screening inicial, se seleccionó a *Filobasidium* sp. para continuar con la producción de enzimas a partir de BC por presentar valores de EPI elevados del conjunto de enzimas de interés y un perfil enzimático poco explorado.

Finalmente, se observó que las productividades obtenidas en las FSS con BC de *Filobasidium* sp. fueron mayores en comparación con *T. reesei* -exceptuando la actividad FPA-, reportándose valores (UI/g*s*d) de 0.58 para FPA, 2.98 para EGA, 56.31 para XYL y 1.02 para AMI.

La combinación del screening de organismos fúngicos provenientes de colecciones biológicas reconocidas -BAFC, FCEyN, UBA- que permite una búsqueda eficiente de fuentes enzimáticas novedosas y la FSS sobre el BC representa una alternativa viable para la producción de enzimas lignocelulósicas fúngicas en procesos biotecnológicos viables.

Palabras claves: HONGOS DE AMBROSIA; BAGAZO CERVECERO; FERMENTACIÓN EN SUSTRATO SÓLIDO.

16FMB

Medios de cultivo de bajo costo para la producción de biosurfactantes bacterianos

TADDIA, Antonela^a; HAIDAR, Carla N.^a; PELLEGRINI MALPIEDI, Luciana^a

a) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ), CONICET/UNR, Suipacha 570 (2000), Rosario, Argentina.

antonelataddia@gmail.com

Introducción: Los biosurfactantes (BS) son moléculas tensoactivas producidas por una gran variedad de microorganismos, los cuales poseen varias ventajas respecto a los surfactantes de origen sintético. *Pseudomonas syringae*, es un bacilo Gram-negativo productor de BS, secreta poderosos lipopéptidos con propiedades fisicoquímicas prometedoras en distintos campos de aplicación. Por otro lado, las formulaciones de BS son relativamente costosas, una posible solución a dicha problemática, se ha centrado en el reemplazo total o parcial de las fuentes de carbono/nitrógeno incorporando desechos recalcitrantes y/o sub-productos de bajo costo en los medios de cultivo de producción. El objetivo de este trabajo fue realizar la selección del medio de cultivo óptimo para producir BS por parte de *Pseudomonas syringae* pv *tabaci*, utilizando como fuente de carbono desechos, tales como aceite de cocina residual provenientes de locales gastronómicos y glicerol proveniente de la industria del biodiesel.

Metodología: Se evaluó la mayor capacidad productiva de biosurfactante, utilizando un diseño factorial con tres factores: relación de la cantidad de aceite y glicerol, concentración de NaNO₃ y concentración de vitaminas. El crecimiento bacteriano fue

monitoreado mediante determinación de densidad óptica (600nm) y la producción de BS mediante el índice de emulsificación (IE) y peso seco. Los cultivos se realizaron en un volumen final de 100mL, se incubaron a 28°C y 150rpm por 72hs. Se extrajeron los BS por precipitación ácida y luego se re-suspendieron en agua carbonatada a pH 7,4. A esta solución se la llamó extracto crudo. La metodología para determinar el IE consistió en mezclar iguales volúmenes de extracto crudo y kerosene. Dicha mezcla se dejó en reposo hasta lograr el equilibrio y se midió el porcentaje del volumen total ocupado por la emulsión. La determinación del peso seco de BS consistió en realizar una extracción con acetato de etilo sobre el extracto crudo en una relación 2:1, luego 24hs de incubación en agitación se retira la fase orgánica, se la coloca en un recipiente de vidrio para completar la evaporación del acetato de etilo. Posteriormente, se vuelve a colocar un volumen de acetato de etilo al extracto crudo remanente, repitiendo el procedimiento descrito tres veces y logrando una masa constante de BS. La selección de las mejores condiciones de producción se realizó con ayuda del programa estadístico Minitab 17, empleando un nivel de confianza del 95%. Resultados: Se determinó que el medio compuesto por una relación de 0,9g aceite/0,1g glicerol, concentración de NaNO₃ 10g/L y sin vitaminas agregadas sería el medio de cultivo más adecuado para la producción de BS a partir de *P. syringae* pv *tabaci*. En estas condiciones se obtuvo el mayor valor de peso seco de BS, 180mg cada 100mL de cultivo. Además, se trata de un medio de cultivo formado por aceites de cocina residual proveniente de locales gastronómica, glicerol refinado y sales, lo cual disminuiría el costo del producto final. Conclusiones: Se logró hallar un medio de cultivo de bajo costo para la producción de BS a partir de *P. syringae* pv *tabaci*, empleando aceite de cocina residual, glicerol y sales.

Palabras claves: BIOSURFACTANTES; PSEUDOMONAS SYRINGAE PV TABACI; ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

17FMB

Dinámica de fermentación en Saccharomyces cerevisiae para la obtención de sidra a escala piloto

BONGIOVANI, Natalia^a; ROCHA PARRA, Andres F.^{a,b}; ITURMENDI, Facundo^a; LAIGLECIA, Juan I.^a; COLETTI, Mauricio^a; COLIN, Ivana^a; CARDOSO SCHWINDT, Virginia^{a,b}; UTHURRY, Carlos^a; VOGELT, Claudio^c

a) Universidad Nacional de Río Negro, CIT – Río Negro, Río Negro, Argentina.

b) Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (CONICET-UNRN), Villa Regina, Río Negro, Argentina.

c) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP-CO-NICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

nbongiovani@unrn.edu.ar

La elaboración de sidra es una de las principales actividades económicas dentro de la producción de manzanas del Alto Valle de Río Negro en la Patagonia Norte. Así, uno de los principales desafíos es obtener sidras de calidad con alto valor agregado y una imprevista regional. La calidad de las sidras depende de factores como la cepa de levadura empleada, la variedad de manzanas usada como materia prima, las condiciones de fermentación, entre otros. El nitrógeno es un nutriente clave que no sólo afecta la cinética de la fermentación sino también las caracte-

terísticas sensoriales del producto final. Los bajos contenidos de nitrógeno en los mostos pueden ocasionar paradas de fermentación. Así, una de las prácticas comunes para evitar este problema es suplementar los mostos con amonio. El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento fermentativo de una cepa comercial de *Saccharomyces cerevisiae* en la elaboración de sidras a escala piloto mediante el agregado de amonio. Para obtener el mosto, se empleó el equipamiento para la producción de sidra de la Planta Piloto de Alimentos Sociales de la UNRN. Se empleó la variedad de manzana Pink Lady. Las fermentaciones se llevaron a cabo a 23°C en fermentadores de 20 L de capacidad con un volumen de mosto de 15 L y una duración de 10 días. El inóculo fue 3,75 g/L de *S. cerevisiae*. Se determinaron el pH, la acidez total, los grados Brix (°Br), los azúcares reductores y la densidad del mosto obtenido en la molienda. Se comparó un mosto con agregado de fosfato de amonio (N+, concentración final de 250 mg/L) frente a un mosto sin agregado de este nutriente (N-). Los parámetros fermentativos evaluados fueron °Br, grados Baumé (°Bé), grado alcohólico (etanol) y densidad. El valor inicial fue 14 °B para ambos mostos, mientras que los finales fueron de 10 y 6 para N- y N+, respectivamente. La tasa de disminución de °Brix de N+ fue más rápida que la de N-, con valores de 0,8 y 0,4 °B/día, respectivamente, evidenciando una cinética de consumo de sustrato mayor bajo N+. La cinética de grados Baumé fue similar en ambas fermentaciones hasta el día 5, con valores iniciales de 8 °Bé para cada mosto. A partir del día 5, las fermentaciones N+ evidenciaron una disminución pronunciada de 6 °Bé a 1 °Bé, mientras que en las N-, el valor final alcanzado fue de 4 °Bé. La acumulación de etanol medida como grado alcohólico mostró la misma tendencia que los grados Baumé hasta el día 5. A partir de este día, los mostos incrementaron su contenido de etanol desde 1% v/v para N+ y 4% v/v para

N-, llegando a valores finales de 5,6% v/v y a 5,1% v/v para N+ y N-, respectivamente, en el día 10. Los resultados obtenidos indican que el agregado de amonio permitió una tasa de fermentación más alta de *S. cerevisiae* favoreciendo un mayor contenido y producción de alcohol.

18FMB

Estrategias para la producción de bioplásticos a partir de recursos naturales renovables

FRESCURA, Julieta M.; ROJAS, Natalia L.

Universidad Nacional de Quilmes, CONICET, Departamento de Ciencia y Tecnología, IMBA, R. Sáenz Peña 352, Quilmes (1876), Argentina.

Julieta.frescura@gmail.com

Los plásticos son materiales indispensables de la vida cotidiana, sin embargo, la demanda actual de plásticos de un solo uso no biodegradables representa una problemática ambiental a nivel mundial. Se estima que en 2015 el 86% (141 millones de toneladas) de los plásticos utilizados para envases *-packaging-* fueron descartados en rellenos sanitarios, en el medioambiente o incinerados [UNEP, 2018; Geyer et al, 2017]. Frente a esto, los polihidroxicanoatos (PHAs), bioplásticos biodegradables y de base biológica se presentan como una alternativa. En particular el poli 3-hidroxipropionato (p(3HP)), es un termoplástico biocompatible que presenta propiedades físicas y mecánicas prometedoras, por lo que podría utilizarse como reemplazo de plásticos convencionales y en el área biomédica [Aduhene et al, 2021].

El objetivo de este trabajo es desarrollar una plataforma biológica de producción de p(3HP) a partir de materias primas renovables, mediante la combinación de herramientas de ingeniería genética y técnicas de diseño de bioprocesos.

El sistema de producción se diseñó considerando la expresión en *Pichia pastoris* de las enzimas (glicerol deshidratasa y su reactivasa; propionaldehído deshidrogenasa y PHA sintasa) implicadas en la ruta biosintética del polímero [Wang et al, 2013]. Para constituir un sistema estable, se decidió expresar todas las enzimas desde de un único gen integrado en el genoma de la levadura, mediante el uso de péptidos auto-procesables T2A [Geier et al., 2015]. Las secuencias codificantes se realizaron de forma sintética, y se llevaron a cabo 7 etapas de clonado en *Escherichia coli* Top10 para generar las construcciones finales de un sistema inducible (bajo promotor pAOX) y un sistema constitutivo (bajo promotor pGAP). Las construcciones se verificaron por secuenciación (Macrogen, República de Corea). Mediante protocolos estándar (Invitrogen, EEUU) se transfirieron las construcciones finales a *P. pastoris* y se seleccionaron clones según la inserción de los genes correspondientes mediante *colony* PCR con *primers* específicos. Finalmente, se plantearon diferentes estrategias de cultivo e inducción con metanol (hasta 120 hs de inducción), analizando tanto el pellet como el sobrenadante de las muestras obtenidas, en términos de expresión de las enzimas de la ruta biosintética de p(3HP). Esto se llevó a cabo mediante técnicas de Bradford, SDS-PAGE, y determinaciones de actividad específicas para las enzimas implicadas en la ruta biosintética [Leal, 2003; Sankaranarayanan, 2017].

Mediante estrategias de ingeniería genética adecuadas fue posible construir una ruta de biosíntesis heteróloga de p(3HP). Como resultado se obtuvieron diversos sistemas

de expresión de las enzimas implicadas en dicha ruta. Se desarrollaron cultivos a escala frascos agitados notándose un crecimiento diferencial entre los clones conteniendo o no los genes de interés. Si bien en el sistema bajo promotor pAOX la inducción es inhibida en presencia de glicerol, sustrato para la biosíntesis de p(3HP), esto es soslayable si se combinan estrategias de cultivo adecuadas.

En resumen, se propone una estrategia novedosa, que reúne la expresión de varias proteínas en tándem mediante péptidos 2A; así como competitiva desde el punto de vista ambiental y económico por la integración del proceso a una biorrefinería de glicerol crudo, una fuente renovable y con costo muy bajo.

Palabras claves: BIOPLÁSTICOS; PICHIA PASTORIS; PÉPTIDOS 2A; GLICEROL.

19FMB

Estudio del efecto del pH y la temperatura sobre la generación de extractos de levadura líquidos obtenidos por autólisis

LEONARDI, Rodrigo J. ^{a, b}; **CABALARO, Ludmila M.L.** ^c; **COMELLI, Raúl N.** ^{a, b}.

a) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental (GPBIA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas (FICH), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Grupo de Ingeniería de Bioprocesos (GiiB), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

(FBCB), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

rodrigoleonardi8950@gmail.com

Se conoce como 'extracto' a la fracción soluble resultante de un proceso de lisis celular (destrucción de la pared celular). Particularmente, los extractos de levadura contienen enzimas, vitaminas, antioxidantes, proteínas, aminoácidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, minerales, etc. Estos extractos son de gran interés por sus diversas aplicaciones y usos, principalmente como fuente de nutrientes (nitrógeno) para la formulación de medios de cultivos en microbiología, y suplemento nutricional en la producción de cerveza (agregados durante la generación de inóculos y en la fermentación). De todos los procesos de lisis abordados en la industria, mecánicos (molino de células, tratamiento a alta presión, ruptura ultrasónica, etc.), y no mecánicos (autólisis, hidrólisis, termólisis, plasmólisis (con sales, ej. NaCl), choque osmótico, disolventes orgánicos, mix de enzimas exógenas agregadas, etc.), la autólisis es uno de los más utilizados, dado que permite obtener buenos rendimientos evitando un gasto excesivo de energía. La autólisis de levaduras es un proceso irreversible que consiste en la degradación de las estructuras intracelulares y su contenido, causado por una alteración en la regulación de la actividad enzimática endógena de un microorganismo. Para fines industriales, la autólisis debe acelerarse y controlarse, por lo que el proceso se induce a través de métodos físicos (temperatura), químicos (pH, sales) y biológicos. Es relevante destacar que la producción de extractos de levadura líquidos mediante autólisis, para la generación de medios de cultivos utilizados en microbiología, es una forma de revalorizar las corrientes de levaduras residuales acondicionadas de muchas industrias (ej. cervecera artesanal).

Surfactantes derivados de aminoácidos: obtención mediante biocatálisis y propiedades

GRILLO, Patricia D.^{a,c}; PRAT, Agustina^a; HERMET, Melisa^{a,b}; SABATIÉ, Alejandro^a; DI SANTO MEZTLER, Gabriela P.^{a,b}; FAIT, MARÍA E.^{a,b}; MORCELLE, Susana R.^{a,b}

a) Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIProVe-UNLP-Centro Asociado CICIPBA). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

c) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA)

patricia_grillo@hotmail.com

Los surfactantes o tensioactivos son compuestos anfifílicos con capacidad para reducir la tensión superficial en sistemas inmiscibles. Tradicionalmente vinculados a los productos de limpieza, estos agentes poseen en la actualidad una amplia gama de aplicaciones que van desde detergentes (como el SDS) hasta biocidas (ej.: el dodine). En particular, aquellos catiónicos basados en aminoácidos han demostrado excelentes propiedades de adsorción y agregación, alta biodegradabilidad, baja ecotoxicidad y actividad antimicrobiana de amplio espectro. Estas características los han posicionado como una alternativa interesante a los haluros de amonio cuaternario, cuestionados por su toxicidad intrínseca y dudosa biodegradabilidad.

En el marco de los paradigmas de la química verde, numerosas investigaciones han descrito la obtención de surfactantes derivados de aminoácidos mediante estrategias

Aquí presentamos un estudio preliminar sobre el efecto del pH (3-4-5-6-7-8), la temperatura (40-50-60 y 70°C), y la presencia de sal (NaCl, 1 gr L⁻¹, a 40-50 °C) sobre la composición de los extractos líquidos obtenidos por autólisis de levaduras liofilizadas comerciales (*Saccharomyces cerevisiae*, Safale S-04 de Fermentis). Como medio de autólisis se utilizaron buffers compuestos de acetato, citrato y fosfato, con el fin de mantener el pH durante el proceso. Se prepararon suspensiones de 100 gr L⁻¹ en tubos DQO (10 ml por tubo), las cuales fueron incubadas sin agitación en un baño termostatizado durante 48 hs. Se tomaron muestras de la suspensión homogénea cada 12 hs, con el fin de analizar en el sobrenadante el contenido de sólidos suspendidos totales (SST), la concentración de compuestos tipo FAN, azúcares totales y proteínas.

Se pudo observar que el contenido de SST, para todos los pH, disminuye a medida que se incrementa la T de autólisis (recuperaciones a las 24 hs de aprox. 50% a T=40 °C), que la conc. de compuestos de FAN disminuye con la T y la liberación es siempre mayor a pH=5. En lo que respecta a azúcares, no existe una tendencia marcada en relación al pH y la T. Las mayores liberaciones de azúcares totales ocurren a 50 y 70 °C. El efecto del NaCl se ensayó a 40 y 50 °C, observándose que no hubo diferencias significativas respecto a los ensayos sin sal.

Palabras claves: LEVADURAS; AUTOLISIS, EXTRACTOS CELULARES.

biocatalíticas, empleando enzimas en uno o más pasos de su elaboración. Nuestro grupo se ha dedicado a la obtención de tensioactivos derivados de aminoácidos (en particular de arginina) monocatenarios empleando peptidasas vegetales adsorbidas sobre poliamida como biocatalizadores, siendo papaína (una endopeptidasa del látex de frutos de *Carica papaya*) la que demostró mejor desempeño. Biocatalizadores basados en lipasas inmovilizadas fueron también ensayados en dichas reacciones, sin obtener los resultados esperados.

Se ha comprobado la actividad tensioactiva de los productos obtenidos (N^{α} -benzoyl-arginina alquilamidas, Bz-Arg-NHC_n, n = 10 ó 12), y se han determinado sus concentraciones micelares críticas (CMC) tanto en agua como en medios salinos, así como también la morfología de sus agregados.

Por otro lado, los productos Bz-Arg-NHC_n estudiados han demostrado una actividad antimicrobiana de amplio espectro comparable e incluso superior a la del surfactante comercial Cetrimide, manifestando una eficacia de hasta el 99,99% en la reducción de la carga de bacterias y levaduras viables en cultivos planctónicos. A su vez, la evaluación del efecto citotóxico in vitro sobre eritrocitos y cultivos celulares, puso en evidencia una menor actividad hemolítica y citotoxicidad, demostrando incluso un efecto protector en glóbulos rojos contra la lisis hipotónica a bajas concentraciones. Para la caracterización del mecanismo de interacción con membranas biológicas, hemos empleado diferentes sistemas modelo de membrana lipídica compuestas por DPPC. Los resultados ponen en evidencia que la presencia del grupo benzilo sería responsable de la gran actividad antimicrobiana en comparación a la de otros compuestos similares.

Todas estas propiedades convierten a Bz-Arg-NHC_n en una alternativa prometedora

a los tensioactivos catiónicos comerciales, especialmente para su empleo como aditivos en formulaciones tópicas. Considerando esto, recientemente hemos evaluado el uso de Bz-Arg-NHC_n como activadores de borde para la obtención de liposomas ultradeformables empleando fosfatidilcolina de soja como fosfolípido, logrando formulaciones con estas características para el derivado de 10 carbonos.

Asimismo, se están efectuando estudios relacionados al efecto de estos tensioactivos sobre etapas tempranas de la formación de biofilms de bacterias y levaduras. Los ensayos preliminares mostraron la capacidad de Bz-Arg-NHC_n de inhibir la adhesión de levaduras en superficies pre-tratadas con los mismos.

En resumen, la obtención de tensioactivos derivados de aminoácidos mediante estrategias quimioenzimáticas constituye una alternativa prometedora a las sales de amonio cuaternario como aditivos multifuncionales con potencial aplicación en formulaciones de interés en la industria farmacéutica y biomédica.

Palabras Claves: SURFACTANTES DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS, ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, INTERACCIÓN CON MEMBRANAS, LIPOSOMAS ULTRADEFORMABLES.

21FMB

Producción de coctel enzimático mediante consorcios fúngicos

MORILLA, Esteban A; MUTTI STEGMANN, Paula; PELLEGRINI MALPIEDI, Luciana; TUBIO, Gisela.

Laboratorio de Diseño de Extractos Enzimáticos. Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. CONICET

morilla@iprobyq-conicet.gob.ar

Con el objetivo de generar procesos acordes al nuevo paradigma de economía circular, se evaluó la producción de enzimas de interés comercial, mediante un proceso más sustentable respecto a los convencionales. Se centró especial atención, en la producción de un coctel conformado por los complejos enzimáticos de celulasas (EC), amilasas (EA), lipasas (EL) y proteasas (EP), para ser utilizadas en la formulación de detergentes enzimáticos. Estas enzimas son producidas principalmente por los hongos filamentosos *Aspergillus niger* y *oryzae* y se evaluó la fermentación fúngica mixta de ambos ascomicetos. Esta revolucionaria estrategia permitió la producción de un coctel de enzimas específicas en una única operación unitaria reduciendo costos y tiempos de producción. Para cumplir con los objetivos se evaluaron diferentes fuentes de sustratos (residuos agroindustriales de alto contenido lignocelulósico); estrategias de inoculación de ambas especies fúngicas, compatibilidad para integrar una misma fermentación; parámetros fermentativos, los cuales demostraron ser fundamentales el estado de la misma (sólido (FS) o sumergido (FSm)); tiempo y temperatura de fermentación; y el método de recuperación de las enzimas post fermentación. Las actividades enzimáticas

se determinaron en el lixiviado obtenido (extracto enzimático) luego de la fermentación. Las EC y EA fue determinada por el método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico, las EL por el método colorimétrico basado en la degradación del *p*-nitrofenil butirato y de las EP por el método de la azocaseína. Todos los sustratos lignocelulósicos resultaron ser propicios para la producción de estas enzimas, pero la mejor producción se obtuvo con una combinación de afrechillo de trigo y cascarilla de soja tanto para FS como FSm. Ambas resultaron apropiadas tanto para el crecimiento fúngico como para la producción de enzimas, sin embargo FS fue más adecuada cuando los extractos enzimáticos fueron extraídos con buffer fosfato y 20 minutos de agitación a 200 R.P.M debido a que se observaron las mayores actividades enzimáticas en estas condiciones. La FS de un consorcio fúngico inoculado con 1×10^6 conidios/mL, simultáneamente con *A. niger* y *A. oryzae*, luego de 4 días de crecimiento a 30 °C produjo un coctel enzimático rico en EC (20,5 UI/g de sustrato), EA (2.000 UI/g de sustrato), EL (1,5 UI/g de sustrato) y EP (20.000 UI/g de sustrato). Las actividades enzimáticas fueron potenciadas en la fermentación mixta respecto a las obtenidas en los monocultivos de los respectivos hongos, debido a que se observaron como máximo las siguientes actividades en monocultivos EC 7 UI/g de sustrato, EA 1500 UI/g de sustrato, EL 0,95 UI/g de sustrato, EP 7.000 UI/g de sustrato. La importancia de este trabajo fue que logro producir un coctel enzimático, enriquecido en las enzimas necesarias para la formulación de detergentes enzimáticos, mediante la utilización de residuos de escaso valor generando la revalorización de los mismos, evitando utilizar sustratos purificados, reduciendo costos y tiempos de producción al emplear una única fermentación. Este desarrollo se engloba dentro de las nuevas tendencias de generar procesos más sustentables de manera de migrar nuestra

economía actual hacia una circular, generando un impacto positivo tanto en lo económico como ambiental.

Palabras claves: CONSORCIO FUNGICO; COCTEL ENZIMATICO; HONGOS FILAMENTOSOS; ECONOMIA CIRCULAR.

22FMB

Evaluación de combinación de sustratos lignocelulósicos para la producción de cocteles enzimáticos

MUTTI STEGMANN Paula^{a,b}, MORILLA, Esteban A.^{a,b}; TUBIO, Gisela^{a,b}.

a) Laboratorio de Diseño de Extractos Enzimáticos. Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos Rosario (IPROByQ) – CONICET.

b) Departamento de Tecnología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario (UNR).

paulamutti@yahoo.com.ar

El incremento en la demanda de alimentos a causa del crecimiento poblacional, conlleva a un aumento en la generación de agro-biomasa residual, cuya mala disposición ocasiona serios problemas ambientales. La fermentación fúngica de la agro-biomasa residual permite obtener una *biomasa fermentada* reducida en factores antifisiológicos, con incrementada calidad nutricional al mejorar la biodisponibilidad de compuestos benéficos siendo su composición adecuada para ser utilizada como alimento animal, y concomitantemente se producen metabolitos de gran interés como las enzimas que pueden ser extraídas y utilizadas con otros

finés sin alterar la *biomasa fermentada*, polisacáridos parcialmente degradados por la acción enzimática facilitando su digestión cuando son ingeridos por animales.

En este trabajo se emplearon residuos de las industrias de trigo, afrechillo de trigo (AT), soja, cascarilla de soja (CS), y de la manufactura de la cebada, bagazo cervecero (BC); que mediante la fermentación de *Aspergillus niger* y *oryzae*, permitieron obtener biomasa fermentada para elaboración de un alimento funcional para animales y enzimas hidrolíticas.

La preparación de los sistemas fermentativos se realizó mezclando diferentes combinaciones de sustratos en proporciones específicas a 4g de sustrato. El BC fue secado en entufa a 45°C por 24 hr y todos fueron molidos en molinillo y tamizados a 40mesh. En el sistema 1, se mezclaron 3g de (AT) y 1g (CS), en el segundo se mezclaron 1,5g de AT, 0,5g de CS y 2g de BC, en el tercero se mezclaron 2,25g de AT, 0,75g de CS y 1g de BC mientras que en el cuarto sistema solo BC. Se adicionó 10 mL de agua destilada y autoclavó a 121°C durante 20 minutos. Se inocularon simultáneamente con *A. niger* y *A. oryzae* (1×10^6 conidios/mL) en una fermentación mixta 4 días. La extracción de enzimas se realizó con buffer fosfato 50 mM pH 6 y centrifugación a 6000 rpm (10 minutos) para remover micelio remanente. Se determinó por métodos colorimétricos actividad Celulasa (C), Amilasa (A), Xilanasas (X) del ácido dinitrosalicílico y de Lipasa (L) por la degradación del *p*-nitrofenil butirato.

En todos los sistemas fermentativos conteniendo BC combinado con otros sustratos, la actividad A y X fue superior respecto de los sistemas en ausencia de BC o conteniendo solo BC. Los sistemas con un agregado 2g de BC presentaron mayor actividad. Por otra parte, la actividad C no se ve afectada significativamente por el

agregado de BC al sistema. Sin embargo, al trabajar solo con BC como sustrato la actividad C disminuyó. La actividad L mostró un aumento significativo de la actividad en aquellos sistemas formados por mezclas entre los sustratos AT, CS y BC, contrariamente en el sistema 3 disminuyó ya que al agregar más BC la presencia de azúcares podría estar inhibiendo el crecimiento.

Se concluye que es posible utilizar agro-biomasa residual en fermentaciones fúngicas para producir enzimas con actividades superiores a los obtenidos al emplear sustratos purificados. El agregado de BC al sustrato en FES, mejoró la producción de A, X y L por *A. niger* y *oryzae* cuando estos crecen en una única fermentación mixta.

Palabras claves: ALIMENTO ANIMAL, FERMEN- TACION FUNGICA; COCTEL ENZIMATICO; RESI- DUOS AGROINDUSTRIALES.

23FMB

*Fermentación láctica del hongo silvestre andinopatagónico *Fistulina antarctica* como alternativa de preservación poscosecha y agregado de valor*

GONZÁLEZ, Gabriela C.^{ab}; SEDE LUCENA, Brenda^{ab}; PESCUA, Micaela^{ab}; PILDAIN, M Belén^{ab}; BARROETA VEÑA, Carolina^{ab}

a) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

b) Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP)

ggonzalez@ciefap.org.ar

El creciente consumo de hongos comestibles se vincula al actual interés por acceder a alimentos naturales y nutritivos. *Fistulina antarctica* es un hongo comestible de cosecha otoñal exclusiva que se consume fresco o procesado fuera de temporada. La vida útil de los hongos puede prolongarse por deshidratado, enlatado, escaldado y congelado. Una alternativa, es la elaboración de escabeches en los cuales la materia prima es fermentada por levaduras y bacterias lácticas (BAL) indígenas. Sin embargo, las fermentaciones libres pueden dar lugar a características organolépticas no deseadas o al desarrollo de microorganismos deteriorantes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de distintas cepas de BAL (aisladas de flores y frutas de la Patagonia y de granulos de kéfir) de fermentar los cuerpos fructíferos de *Fistulina antarctica*, prolongar su vida de estante y aumentar la concentración de compuestos fenólicos. Los hongos fueron lavados, cortados (4 cm aproximadamente), blanqueados o no (frescos) y sumergidos en una solución estéril de sacarosa (2%, p/v) y NaCl (2%, p/v). Los hongos blanqueados fueron inoculados al 2% (v/v) con *Lactocaseibacillus paracasei* GB6 (frutos) y K4 (kéfir) o *Leuconostoc citreum* F4 (flores), fermentados a 20°C durante 7 días y conservados a 4°C durante 30 días. Como control se usaron hongos frescos y blanqueados. El pH inicial (4,9) disminuyó luego de la fermentación (3,5-3,7) y se mantuvo constante durante la vida de estante. Si bien el blanqueado redujo el recuento de BAL inicial (2 U log), luego de la fermentación los valores fueron similares a los observados en los hongos frescos (8,4-8,1 log ufc/ml, respectivamente). Las BAL inoculadas crecieron entre 1,0 y 1,7 U log luego de 7 días de incubación, siendo mayores los recuentos para GB6 (9,1 log ufc/ml). Luego de 30 días de almacenamiento los recuentos de BAL disminuyeron principalmente en los hongos frescos y blanqueados (6,6 y 7,2 log ufc/ml, respectiva-

mente), observándose una mayor sobrevivencia en el caso de los hongos inoculados con GB6 (8,9 log ufc/ml). En todos los casos se observó la presencia de levaduras (4,3 log ufc/ml), aunque sólo en los hongos frescos crecieron luego de 15 días de almacenamiento (1,1 U log), disminuyendo a los 30 días y alcanzando valores similares a los de los hongos blanqueados e inoculados. La concentración de compuestos fenólicos disminuyó luego de la fermentación en los hongos frescos e inoculados con K4 (24 y 11 %, respectivamente), mientras que no se observaron diferencias significativas con los otros tratamientos. En cuanto al color y apariencia, los hongos inoculados mostraron mejores características (colores más claros y menor turbidez); mientras que la textura fue mejor cuando fueron fermentados con GB6. En cuanto al sabor las mejores valoraciones fueron obtenidas para los hongos fermentados con GB6 y F4. *L. paracasei* GB6 podría ser utilizada como cultivo iniciador para aumentar la vida de estante y mejorar las características organolépticas de *Fistulina antarctica*.

24FMB

Producción de Bioetanol de segunda generación a partir de cascarillas de soja

GIL ROLÓN, Martín E. ^{a, b}; LEONARDI, Rodrigo J. ^{a, b}; SELUY, Lisandro G. ^{a, b}; COMELLI, Raúl N. ^{a, b}.

a) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental (GPBIA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas (FICH), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

mgrolon@fich.unl.edu.ar

Actualmente los biocombustibles de primera generación (1G) son foco de debate y cuestionamientos éticos, asociados al uso de recursos capaces de ser utilizados como alimento para la población, y los impactos ambientales que derivan de su producción (involucran monocultivos extensivos, cambio de uso de la tierra, avance sobre ecosistemas naturales, etc). En este contexto, los biocombustibles de segunda generación (2G) aparecen como una alternativa viable para alcanzar la seguridad energética, mejorando el desempeño ambiental de la industria de los biocombustibles.

El bioetanol es el biocombustible más utilizado a nivel mundial y local. Para la producción de bioetanol 2G, se recurre a procesos que permitan aprovechar el potencial de materiales lignocelulósicos residuales. Estos procesos involucran una serie de operaciones físicas, químicas y biológicas, destinadas a romper y/o alterar los polímeros de carbohidratos que constituyen los materiales (hemicelulosas y celulosa), y solubilizar monómeros fermentables, para finalmente bio-convertirlos en etanol.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar los efectos de diferentes condiciones de un tratamiento termoquímico sobre cascarilla de soja, seguido de un tratamiento enzimático en medio líquido con un complejo enzimático comercial con actividad celulasa (Novozyme, Cellic CTec2[®]), sobre la solubilización de azúcares fermentables para una posterior fermentación alcohólica. Para esto, se utilizó un diseño factorial tipo central compuesto (2^k+2k+n_c), con los factores tiempo (30 - 180 min), temperatura (80 - 125°C) y concentración de ácido sulfúrico (0,5 - 2,5% m/v). Los resultados se

analizaron mediante métodos de regresión, construyendo modelos predictivos de tipo superficies de respuesta, evaluando como variables dependientes las concentraciones alcanzadas de pentosas y glucosa.

Posteriormente, se escogieron aquellos hidrolizados con mayor concentración de glucosa para llevar adelante una fermentación alcohólica con una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*. Los medios se inocularon con una concentración inicial de biomasa de 1 gr/L y se mantuvieron a 30°C con agitación constante durante 24 h. Se realizó un muestreo periódico para evaluar el consumo de glucosa y la producción de etanol.

De los resultados, se observó que el aumento de la temperatura y la concentración de ácido sulfúrico en el tratamiento termoquímico están directamente relacionadas con la solubilización de pentosas, esto es, con la hidrólisis de las hemicelulosas, y con la liberación de glucosa durante la posterior sacarificación enzimática de la celulosa. El rango de experimentación incluyó condiciones que permitieron liberar más de un 80% de las pentosas y alcanzar una liberación del 80% de la glucosa a las 24 h de sacarificación enzimática.

Durante la fermentación, se consumió el 100% de la glucosa presente en los hidrolizados, obteniéndose rendimientos de etanol entre 0,45-0,49 gr etanol/gr glucosa. Estos valores, son cercanos al rendimiento teórico sugerido para fermentaciones sobre medios enriquecidos con glucosa (0,51 gr etanol/gr glucosa) y similares a los obtenidos en industrias alcohólicas convencionales (0,40-0,45 gr etanol/gr glucosa).

Los resultados obtenidos sugieren que el proceso planteado para la producción de bioetanol a partir de cascarilla de soja tiene el potencial para ser factible desde el punto de vista tecnológico.

Palabras claves: BIOETANOL; PRE-TRATAMIENTO; LIGNOCELULOSA; FERMENTACIÓN.

25FMB

Optimización de la producción de biosurfactantes empleando *Bacillus amyloliquefaciens* y subproductos de la industria local

BENEDETTI, Gonzalo^a; HAIDAR, Carla N.^a; TUBIO, Gisela^a; PELLEGRINI MALPIEDI, Luciana^a

a) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos Rosario (IPROBYQ), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, CP 2000, Rosario, Argentina

benedetti@iprobyq-conicet.gov.ar

Introducción: A partir de 1965, las leyes de protección del medioambiente comenzaron a limitar el empleo de algunos tipos de surfactantes sintéticos debido a problemas de biodegradabilidad y toxicidad. En este contexto surge una nueva alternativa al empleo de surfactantes sintéticos: los biosurfactantes (BS). Además de su biodegradabilidad, estos compuestos presentan la ventaja adicional de ser producidos por microorganismos que pueden ser cultivados en fuentes renovables de nutrientes. Los microorganismos del género *Bacillus* y el lipopéptido que producen, la Surfactina, constituyen uno de los sistemas con mayor potencial comercial. Actualmente, la principal limitante de su aplicación a gran escala comercial radica en los elevados costos de producción que tienen aparejados. En este sentido, la utilización de sustratos de bajo

costo y la optimización de los recursos utilizados en la producción representan estrategias prometedoras para aumentar la competitividad comercial de los BS. De esta forma, el objetivo del presente trabajo radica en optimizar la producción de BS empleando a *Bacillus amyloliquefaciens* como sistema biológico y subproductos de la industria local como sustratos en la composición de los medios de cultivo.

Materiales y metodología: Se empleó un aislamiento de *Bacillus amyloliquefaciens* proveniente de un nicho petrolífero de la ciudad de Aracaju, Brasil. Se realizó un screening preliminar de crecimiento y producción de BS empleando medios de cultivo con distintas fuentes de carbono (Glucosa, LB, Kerosene, Glicerol proveniente de la industria del biodiesel, Aceite de cocina usado). Se realizó luego un diseño experimental de respuesta de superficie, evaluando como factores la temperatura de cultivo, la composición de la fuente de carbono, y la concentración de extracto de levadura presente en el medio de cultivo. Las respuestas analizadas consistieron en la medición del crecimiento celular, ensayo de actividad de superficie (test de Parafilm M), producción de BS y concentración de Surfactina en extractos de BS.

Resultados y discusión: En los ensayos preliminares, la mayor tasa de crecimiento así como también la mayor producción de BS (1,1-1,3 g/L) y concentración de surfactina en los extractos de BS (84,47 mg/L) se produjo en los medios de cultivo que contenían aceite de cocina usado (ACU). En el diseño experimental se evaluó la composición óptima del medio de cultivo así como también la temperatura que permita la mayor producción de BS. Se obtuvieron condiciones óptimas de producción a temperaturas de cultivo de ~30°C, con una concentración máxima de ACU presente en

el medio (18 g/L) y presencia máxima de extracto de levadura (1,5 g/L).

Se comprobó la producción de BS por parte del microorganismo utilizado en presencia de diversas fuentes de carbono. Se comprobó la producción de surfactina por parte del mismo y se infiere la presencia de BS de otra naturaleza. Se optimizaron de forma preliminar las condiciones de cultivo y la composición del medio para maximizar la producción de BS, utilizando un subproducto hidrofóbico proveniente de la industria local (ACU). Esto representa un primer paso hacia la producción comercial de BS a partir de sustratos de bajo costo.

Palabras claves: OPTIMIZACIÓN; BIOSURFACTANTES; BACILLUS; SURFACTINA.

26FMB

Comparación de biocatalizadores y catalizadores en la producción de carbonato de glicerina por transcarbonatación

ÁLVAREZ SERAFINI, M.S.^a, SNOUSSI, Y.^b, PEDREGAL, T.^c, BOLÍVAR, J.M.^c, BESBES, N.^b, TONETTO, G.^a, GARCÍA-OCHOA, F.^c, LADERO, M.^c

a) Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS) y Planta Piloto de Ingeniería Química – PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina

b) Laboratoire Matériaux Composites et Minéraux Argileux, Centre National de Recherches en Sciences des Matériaux, Technopole Borj Cédria, Soliman 8027, Tunisie
Faculté des Sciences Mathématiques, Physiques et Naturelles de Tunis

c) Departamento de Ingeniería Química y de los Materiales, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

mladerog@ucm.es

La producción de biodiesel por transesterificación de ácidos grasos a partir de diversos aceites con alto contenido en triglicéridos supone la coproducción de glicerina en una notable cantidad (un 10% de la masa inicial de aceite). De esta forma, la mayor parte de la glicerina en el mercado proviene de este proceso (entre un 64 y un 70% del total de glicerina) y los usos de este compuesto se han diversificado. La transcarbonatación a carbonato de glicerina es un proceso que despierta mucho interés por el potencial de este producto como disolvente verde, monómero y fuente de diversos compuestos químicos. Este proceso es simple, tiene bajo impacto ambiental y permite el uso de diversos catalizadores: lipasas, carbonatos, arcillas, hidrotalcitas, etc., muchos de ellos con un carácter débil.

Este trabajo se centra en comparar diversos biocatalizadores (lipasas) y catalizadores básicos heterogéneos y homogéneos (smectita y estearato de zinc) en términos de actividad (frecuencia de reposición) y considerando diversos modelos cinéticos para los catalizadores más activos. La reacción estudiada ha sido la transcarbonatación de carbonato de etileno y glicerina, que rinde carbonato de glicerina y etilenglicol, ambos productos de interés en industria química y cosmética. Las condiciones de operación son suaves: temperaturas de 70 a 80 °C, en ausencia de disolvente o con una ligera concentración de tert-butanol para estabilizar las lipasas y con concentraciones relativamente bajas de los catalizadores (1-4% en masa respecto de la glicerina). La evolución de la composición

del medio se analiza por HPLC de exclusión iónica con columnas Rezex™ ROA-Organic Acid H+ (Phenomenex). El análisis de los datos obtenidos mediante Aspen Custom Modeler permite seleccionar los modelos cinéticos más adecuados.

A primera vista, los procesos con catalizador homogéneo (estearato de Zn) y heterogéneo (Smectita) transcurren rápidamente, en condiciones de 80 °C, 2% catalizador y relación molar 3:1 carbonato:glicerina, las conversiones de glicerina rondan el 61% en 4 h para la smectita, y un 70% para el estearato de zinc, mientras que los procesos con un 3% de lipasa (Eversa Transform 2.0, Lipozyme TL-100L, o Lipozyme CALB-L) a temperatura ligeramente inferior (70 °C) y en condiciones similares de concentración de reactivos, precisan de unas 60 horas para alcanzar un 90% de conversión. Sin embargo, en términos de frecuencia de reposición (s^{-1}), relativa a la actividad de cada centro activo, las lipasas presentan unos valores entre 5,6 y 12 s^{-1} frente a $1,1-1,4 \cdot 10^{-3} s^{-1}$ de los catalizadores alcalinos, mostrando una actividad mucho mayor por centro activo. El catalizador más activo, en estos términos, es la lipasa B de *Candida antarctica*.

Respecto a los modelos cinéticos para describir la velocidad de los procesos, se obtienen buenos resultados con modelos potenciales para el estearato de zinc y la smectita: primer orden parcial respecto de cada reactivo, pero se obtiene un valor de velocidad máximo asintótico según aumenta la concentración de catalizador. El modelo cinético para la enzima Eversa Transform 2.0 es también de tipo potencial tanto para la trans-carbonatación como para la polimerización, reacción que se encuentra en equilibrio.

Palabras claves: GLYCEROL, CARBONATE, ACTIVITY, KINETICS, LIPASE.

Biosíntesis de polihidroxibutirato en biorreactor por la bacteria Halofila Halomonas titanicae KHS3

RODRÍGUEZ, Ailén N^b; PIDHIRNYJ, María I^a; PERETTI CANALE, María V^a; HERRERA SEITZ, María K^c; BECCARIA, Alejandro J^b; STUDDERT, Claudia A^b.

a) Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. CCT-Santa Fe.

c) Instituto de Investigaciones Biológicas. CONICET. Universidad Nacional de Mar del Plata.

ailennatalirodriguez@gmail.com

Los polihidroxicanoatos son polímeros biodegradables y renovables, considerados potenciales sustitutos de los plásticos convencionales derivados del petróleo. Sin embargo, la producción es muy costosa debido principalmente a las condiciones de esterilidad requeridas y a las fuentes de carbono utilizadas. *Halomonas titanicae* KHS3 es una bacteria moderadamente halófila, aislada del puerto de Mar del Plata, que posee una amplia versatilidad metabólica que le permite crecer en diversas condiciones nutricionales. En este trabajo se estudió la capacidad de *H. titanicae* KHS3 de crecer y/o acumular polihidroxibutirato (PHB) a expensas de glicerol como única fuente de carbono, sustituto de relevancia por su creciente oferta relacionada al proceso de elaboración de biodiésel. En una primera instancia se realizaron experimentos en frascos Erlenmeyer empleando un medio mínimo con diferentes concentraciones de glicerol (2,5; 15; 30; 40

g/l). A baja concentración de glicerol, 2,5 y 15 g/l, se observó una velocidad específica de crecimiento (μ) de 0,13 y 0,098 h⁻¹ respectivamente, con acumulación de PHB máxima de 10 y 30%. A concentraciones de 30 y 40 g/l, si bien la μ fue menor (0,07 y 0,06 h⁻¹ respectivamente), los porcentajes de acumulación máximos fueron mucho mayores (83,5 y 77,6 %). En base a estos resultados, se seleccionó la concentración de glicerol de 30 g/l a fin de obtener una alta acumulación sin afectar demasiado la velocidad de crecimiento y para realizar cultivos *batch* en un biorreactor tanque agitado de 1,5 litros. En éstos, se trabajó a pH y tensión de oxígeno disueltos constantes (7 unidades y 20 %, respectivamente), empleando una solución de NaOH (2M) y control en cascada (flujo de aire y velocidad de agitación) para el mantenimiento de las variables mencionadas. El seguimiento de la evolución de la biomasa se realizó determinando la densidad óptica (600 nm) y la masa seca al final del cultivo (60 °C). El cultivo se desarrolló mostrando una típica fase de crecimiento exponencial ($\mu= 0,09$ h⁻¹) seguida de otra estacionaria. Se registró un elevado consumo de álcali y demanda de oxígeno en la primera de las fases, lo que se relaciona con el desarrollo de la biomasa. La acumulación de PHB al finalizar la fase exponencial fue del 7%, valor que se incrementó hasta el 71% al final de la fase estacionaria.

De esta manera, fue posible desarrollar un cultivo en un sistema escalable tal como un biorreactor tanque agitado, usando una fuente de carbono económica y sustentable y obteniendo resultados alentadores para profundizar el estudio.

Finalmente, el polímero acumulado se extrajo por dos métodos basados en el tratamiento con hipoclorito de sodio o con cloroformo, previa liofilización de la biomasa. Actualmente se está realizando una caracterización preliminar del polímero extraído

por ambas metodologías para determinar si el procedimiento de extracción afecta significativamente alguna de las propiedades del material producido.

Se prevé desarrollar nuevos cultivos en el biorreactor, evaluando otros modos de operación tales como el *fed-batch* y la perfusión.

Palabras claves: BIOPLÁSTICO; POLIHIDROXIALCANOATOS; GLICEROL CRUDO; BIORREACTOR TANQUE AGITADO.

28FMB

Efecto de fracciones fenólicas de vinos tintos regionales sobre bacterias deteriorantes

STIVALA, María G.^{a,b}; VILLECCO, Margarita B.^a; AREDES FERNÁNDEZ, Pedro A.^{a,b}

a) Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia – Universidad Nacional de Tucumán

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

maria.stivala@fbqf.unt.edu.ar

El vino es una de las bebidas alcohólicas más conocidas, consumidas e investigadas a nivel mundial. Es producido a partir de la fermentación alcohólica del mosto de uva fresca y atraviesa diferentes controles con el fin de asegurar su calidad y sanidad. Durante la vinificación pueden ocurrir alteraciones organolépticas e higiénico-sanitarias producidas por Bacterias lácticas (BL) indeseables, especialmente del género *Lactobacillus*. Esta especie de BL está relacionada a la presencia de aminas biogénicas, principalmente de

histamina, la cual está estrictamente regulada por países importadores. Actualmente, el control de la microbiota alterante en la industria se realiza únicamente con dióxido de azufre, sin embargo este agente químico puede producir alergias e intolerancia en personas sensibles. Los compuestos fenólicos (CF) presentes en vinos inhiben el crecimiento de las BL. El proceso de añejamiento en barrica de roble libera una mayor cantidad CF al vino. El objetivo de este trabajo es investigar el efecto de la fracción fenólica de bajo peso molecular (FF) extraída de un vino joven o añejado sobre el crecimiento de tres cepas de *L. hilgardii* (5w, 6F y X1B), aisladas de vino y con documentada capacidad para producir aminas biogénicas. La FF se obtiene de vino tinto varietal Tannat joven (J) y añejado (A) producidos en Colalao del Valle (Tucumán) mediante extracciones sucesivas con acetato de etilo. Los microorganismos se cultivan en medio sintético-símil vino (MVS) pH: 4,5 a 20°C suplementado con FF a idéntica concentración que la presente en el vino (1X) y dos (2X) veces concentrada. La actividad antibacteriana se evalúa determinando la diferencia entre viabilidad final e inicial ($A = N - N_0 \text{ Log ufc/mL}$) a las 72 h de incubación, con respecto al medio control. El contenido de CF, determinado por el método de Folin, en la FFJ y FFA es de 268,9 y 940,8 GAE/L, respectivamente. En MVS, sin la adición de FF, las tres cepas de *L. hilgardii* incrementan su viabilidad en 1,83, 1,51 y 1,33 ciclos Log, respectivamente (72 h). En presencia de FFJ 1X, todas las cepas estudiadas muestran una detención del crecimiento respecto al control, manteniendo valores de viabilidad similares al del inóculo durante todo el periodo de incubación ($A = 0 \text{ Log ufc/mL}$). Al duplicar la concentración de FFJ se observa, en todos los casos, una disminución en la concentración de células viables con respecto al inóculo, alcanzando valores de A entre -0,22 y -0,45 Log ufc/mL. La incorporación al MVS de las FFA 1X y 2X provo-

có una notable disminución en la viabilidad microbiana con respecto al inóculo, siendo *L. hilgardii* X1B la bacteria más sensible, observándose a 2X un brusco descenso de la concentración celular ($A=-2,62 \text{ Log ufc/mL}$). Los CF presentes en las FF de los vinos estudiados producen la interrupción y pérdida de viabilidad en bacterias alterantes de vino. Los CF de vino podrían ser propuestos como alternativa natural al uso de los agentes químicos usados actualmente.

Palabras claves: VINO; POLIFENOLES; BACTERIAS LÁCTICAS; ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

29FMB

*Rol de *Limosilactobacillus fermentum* LF2 y sus exopolisacáridos (EPS) en la prevención de colitis crónica*

ALE, Elisa C.; ROJAS, M. Florencia; CORREA OLIVAR, Gabriela; PERALTA, Guillermo H.; BURNS, Patricia; BERGAMINI, Carina; BINETTI, Ana G.

Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET), Santiago del Estero 2829, Santa Fe (3000), Argentina.

eliale@fiq.unl.edu.ar

Muchas bacterias ácido lácticas son productoras de exopolisacáridos (EPS), los cuales son polímeros de carbohidratos complejos que se liberan al medio. Estas moléculas han sido relacionadas con numerosos efectos beneficiosos para la salud, como la regulación de la microbiota intestinal, la prevención de distintas enfermedades, el

rol inmunomodulador, entre otros. *Limosilactobacillus fermentum* Lf2 (Lf2) es una cepa autóctona capaz de producir EPS con propiedades funcionales interesantes demostradas tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. En el presente trabajo se propuso estudiar el rol preventivo de la cepa como de sus EPS en un modelo murino de colitis crónica inducida con TNBS (ácido sulfónico 2,4,6-trinitrobenceno). Para esto, ratones BALB/c fueron tratados por vía intrarectal con dosis crecientes de TNBS resuspendido en etanol 50% a lo largo del ensayo (25, 37,5 y 80 mg/kg a los días 0, 7 y 14, respectivamente). Paralelamente, los ratones recibieron por intubación intragástrica distintos tratamientos durante 15 días: Lf2 liofilizada y resuspendida en agua estéril (dosis final de $10^8 \text{ UFC/día/ratón}$, grupo Lf2), EPS purificado y resuspendido en lactosa 10% (0,6 mg/día/ratón, grupo EPS), y el grupo control (C) recibió lactosa 10%, ya que fue la matriz utilizada para liofilizar la cepa. Además, se sumó otro grupo control (saludable, S) que fue tratado con alcohol 50% sin TNBS y que también recibió lactosa 10%. Luego de cada tratamiento, los ratones fueron anestesiados y sacrificados por dislocación cervical para obtener muestras de intestino delgado (lavado con 5 mL de PBS frío con 1% de inhibidor de proteasas- Sigma Aldrich), intestino grueso y contenido de ciego. A partir de los homogenatos de intestinos se midieron distintas citoquinas por ELISA (BD Biosciences) y se determinó IgA en fluido intestinal por el mismo método. Asimismo, se determinaron los niveles de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) en el contenido de ciego por HPLC. En intestino delgado, se observó un incremento significativo de IgA para el grupo EPS, una disminución de la citoquina proinflamatoria IL-2 para los grupos EPS y Lf2, un aumento de IL-12 para EPS y una disminución de IFN- γ para Lf2, mientras que no se vieron cambios significativos para IL-6 ni TNF- α . Por otro lado, en intestino grueso, IL-2 e IFN- γ

presentaron menores niveles para los grupos EPS y Lf2 en comparación con los grupos C y S, mientras que las diferencias observadas para las citoquinas IL-10 e IL-12 no fueron significativas entre los tratamientos. También se apreciaron diferencias para los SCFA, ya que los niveles de los ácidos acético y propiónico fueron mayores para el grupo Lf2 en comparación con el resto de los tratamientos, mientras que los niveles de ácido butírico de este grupo fueron comparables a los del grupo S. A partir de estos resultados, se pone en manifiesto la potencialidad tanto de la cepa como de sus EPS para ser aplicados como ingredientes funcionales, y, al mismo tiempo, se puede sugerir una correlación entre los efectos de la cepa y su capacidad de producir estas moléculas.

Palabras claves: COLITIS CRÓNICA, EXOPOLISACÁRIDOS, LACTOBACILO, PREVENCIÓN.

30FMB

*Producción masiva de conidias, blastosporas y microesclerocios de *Metarhizium anisopliae* en LSF*

BICH Gustavo A.^{a,b}; CASTRILLO María L.^{a,b}; KRAMER Luis F.^a; VILLALBA Laura L.^a y ZAPATA Pedro D.^{a,b}

a. Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reza" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b. CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas). Buenos Aires, Argentina.

gustavobich@gmail.com

La agricultura busca actualmente un cambio hacia el manejo sustentable de plagas con un uso preponderante de los biopesticidas frente a los pesticidas químicos. La evaluación, producción, aplicación y comercialización de cualquier biopesticida requiere la disponibilidad de grandes cantidades de propágulos del agente de biocontrol. Algunos hongos microscópicos poseen capacidades únicas de biocontrol por sus mecanismos de persistencia, propagación e invasión y por los tipos de propágulos producidos. Algunas cepas de hongos biocontroladores pueden producir conidias, blastosporas, microesclerocios y micelio (biomasa) como propágulos para aplicar en control biológico. La fermentación en estado líquido (LSF) se presenta como un proceso biotecnológico promisorio en la producción masiva de micopesticidas. Sin embargo la influencia de diferentes factores como medios de cultivos líquidos, fotoperiodo, agitación o cepas fúngicas biocontroladoras aún resta por conocer. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la influencia de tres medios de cultivos líquidos, fotoperiodo y agitación en la producción masiva líquida del hongo biocontrolador *Metarhizium anisopliae*.

En la producción de propágulos de agentes biocontroladores se evaluaron dos aislamientos de *M. anisopliae* codificados como LBM 217 y LBM 218, que están depositados en cepario del Instituto de Biotecnología Misiones. Ambos aislados se cultivaron en tres medios de cultivo líquidos: extracto de malta 1,27% p/v, extracto de levadura 0,3% p/v adicionado con dextrosa al 1% p/v y un medio de cultivo natural compuesto por extracto de levadura comercial al 0,3% p/v adicionado con melaza de caña de azúcar al 3% p/v. La incubación se realizó a 28 ± 1 ° C en tres condiciones de fotoperiodo: 24 h de luz; 12 h de luz seguidas de 12 h de oscuridad; o 24 h de oscuridad. Además se evaluaron tres condiciones de agitación (aireación):

condiciones estáticas, 10 rpm o 200 rpm. La producción de propágulos se evaluó cada 48 h durante seis días.

Ambos aislamientos produjeron conidias, blastosporas, así como un tipo de propágulo compacto melanizado de tamaño de 70 a 270 μm llamado microesclerocio que se presenta sólo en algunas cepas de hongos biocontroladores. Con base en estas condiciones experimentales, los rendimientos de propágulos líquidos (conidias, blastosporas y microesclerocios) tuvieron diferencias estadísticas entre las condiciones evaluadas y fueron dependientes de la cepa. Para la cepa *M. anisopliae* LBM 217 la mayor producción de propágulos, entre $2,4$ y $2,8 \times 10^6$ propágulos / ml, se obtuvo en medio de extracto de levadura adicionado con dextrosa, a 200 rpm, e inclusión de luz al sexto día de incubación. En el caso de *M. anisopliae* LBM 218 la mayor producción de propágulos, entre $2,3$ y $2,6 \times 10^6$ propágulos / ml, se obtuvo en medio de extracto de levadura comercial adicionado con melaza de caña de azúcar, a 200 rpm, y 24 h de luz al sexto día de incubación.

Los ensayos de cultivo en matraces evaluados nos permitieron seleccionar el medio de cultivo y las condiciones óptimas para el cultivo de cepas de *M. anisopliae* en fermentación líquida enfocadas en la producción masiva de propágulos para micopesticidas.

Palabras claves: METARHIZIUM, BIOPESTICIDAS, FERMENTACIÓN EN ESTADO LÍQUIDO, CONDICIONES DE CULTIVO.

31FMB

Evaluación de la capacidad fermentativa de probióticos para formular geles ácidos de proteínas del lactosuero

LOYEAU, Paula A.^a; SÁNCHEZ CARNERO, María A.^a; FIORAMONTI, Silvana^a; SPOTTI, María^a; VINDEROLA, Gabriel C.^b; CARRARA, Carlos R.^a

a) Área de estudios Físicoquímicos de Alimentos, Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral (UNL). Santa Fe (3000), Argentina.

b) Instituto de Lactología Industrial (INLAIN), UNL - CONICET. Santa Fe (3000), Argentina.

loyeau.p@gmail.com

Los probióticos como cultivos iniciadores en la fermentación de alimentos han despertado interés en los tecnólogos del área para el diseño de nuevas formulaciones en la producción de alimentos funcionales - aquellos que aportan efectos beneficiosos más allá de su valor nutritivo. Los aislados de proteínas del lactosuero (WPI) también constituyen un ingrediente de interés para el desarrollo de nuevos alimentos, por su elevado valor biológico y excelentes propiedades funcionales.

Objetivo: Evaluar la capacidad de fermentación de probióticos para la obtención de geles ácidos de WPI.

Metodología: Se prepararon (i) soluciones de WPI 6%, tratadas térmicamente 2h a 68.5°C para promover la desnaturalización proteica, (ii) soluciones de glucosa (0.2, 1 y 2%) esterilizadas en autoclave, como fuente de carbono para la fermentación bacteriana, y (iii) un cultivo de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 de 10^9 UFC/mL (cepa autóctona aislada por el INLAIN). Las soluciones de glucosa y WPI se mezclaron para

lograr concentraciones de 0.1, 0.5 y 1% de glucosa y 3% WPI, y se inocularon con las suspensiones de bacterias de manera de obtener una concentración de 10^8 UFC/g. Estas mezclas se incubaron (42°C - 5h), para promover la acidificación y gelificación de los sistemas, a la vez que se registraba el pH en función del tiempo para construir curvas de acidificación. Para cada sistema gelificado se determinó: (i) El pH al final de la incubación y luego de almacenado el gel durante 1 mes a 4°C , (ii) la cantidad de glucosa remanente, usando un kit enzimático, (iii) la sinéresis inicial, midiendo el volumen de líquido exudado, (iv) la capacidad de retención de agua (CRA), luego de centrifugar los geles (1 min, 1000 rpm), y (vi) los recuentos semanales de probióticos durante el almacenamiento a 4°C durante un mes.

Resultados: Todos los sistemas partieron de un pH cercano a 7 al inicio de la fermentación y aquellos con mayor contenido de glucosa alcanzaron menores valores de pH finales (fermentación más rápida). Los geles con 0.1% de glucosa presentaron una estructura más laxa que los demás y en estos sistemas las bacterias consumieron alrededor el 90% de la glucosa inicial. Por otro lado, los geles con 0.5 y 1% de glucosa presentaron estructuras más firmes y en ambos se alcanzó un límite en el consumo de glucosa, que no superó la concentración de 0.25%. Respecto a la interacción con el agua, los geles con menor contenido de glucosa presentaron los menores valores de sinéresis. Sin embargo, no se observaron diferencias en la CRA de los sistemas. Durante el almacenamiento, (i) el valor de pH de todos los geles permaneció sin variaciones, por lo que la bacteria no seguiría fermentando los restos de glucosa, (ii) los recuentos bacterianos cayeron 2 órdenes de magnitud en los geles con 0.1% de glucosa y casi 3 órdenes en los restantes, lo que podría estar indicando una influencia del pH en la supervivencia de los probióticos.

Conclusión: Se lograron sintetizar geles de WPI con buenas propiedades tecnológicas a partir de la fermentación de bacterias probióticas.

Palabras claves: ALIMENTOS FUNCIONALES; PROBIÓTICOS; LACTOSUERO; FERMENTACIÓN LÁCTICA; GELIFICACIÓN.

32FMB

Mejora del desempeño de la lipasa metagenómica LipC12 en la esterificación de ácido oleico mediante estrategias de inmovilización y bioimpinting

SÁNCHEZ, Daniel A.^a, ALNOCH, Robson C.^{b,c}, TONETTO, Gabriela M.^a, KRIEGER, Nadia^d, FERREIRA, María L.^e

a) Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

b) Departamento de Biología, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 14040-901, São Paul, Brazil.

c) Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19046 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

d) Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19081 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

e) Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

dsanchez@plapiqui.cedu.ar

Se llevó a cabo la inmovilización de la lipasa LipC12 sobre diferentes soportes combinada con la técnica de *bioimprinting* en una sola etapa. Los soportes seleccionados fueron quitosano, Accurel MP-1000, pellets de polipropileno, polipropileno en polvo, Nanomer I.44P e Immobead 150. La lipasa inmovilizada se aplicó en la síntesis de pentil oleato, compuesto con aplicación como bio-lubricante.

Se estableció un protocolo estándar para la inmovilización de LipC12 en todos los soportes. Para ello, se preparó una solución acuosa del extracto crudo de la lipasa utilizando 8 mg de extracto liofilizado por cada mililitro de agua destilada pH 6,5 y luego se añadió el soporte en una proporción de 20 mg del sólido por mililitro de la solución. La inmovilización se realizó durante 6 h en viales cerrados con agitación magnética a 700 rpm. La preparación inmovilizada se recuperó por filtración, se lavó dos veces con agua destilada y se secó en estufa a 35 °C durante 12 h. El *bioimprinting* de la lipasa LipC12 se realizó con ácido oleico y en combinación con el procedimiento de inmovilización, en un solo paso. El contenido de moléculas de *bioimprinting* fue de 30 μmol por cada 100 mg de extracto liofilizado.

Las preparaciones de LipC12 inmovilizada, con y sin tratamiento de *bioimprinting*, fueron evaluadas en la esterificación de ácido oleico y 1-pentanol. Para ello, 2 mmol de 1-pentanol, 1 mmol de ácido oleico y 1 ml de n-heptano se colocaron en viales de 10 ml. La reacción se llevó a cabo por 5 horas a 40 °C, 600 rpm y empleando 15% (p/p) de lipasa inmovilizada respecto a la masa de ácido oleico.

La reutilización de los biocatalizadores fue estudiada bajo las mismas condiciones de reacción descritas anteriormente.

Los mejores resultados se obtuvieron para la lipasa inmovilizada sobre Nanomer,

polipropileno en polvo e Immobead, alcanzando conversiones de ácido superiores al 90% para la lipasa inmovilizada sobre Immobead. En todos los casos se encontraron diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza superior al 95% entre la conversión lograda con y sin *bioimprinting* para todos los biocatalizadores. Este hecho permite verificar el efecto beneficioso del *bioimprinting* sobre la actividad de los biocatalizadores en la reacción de esterificación del ácido oleico con 1-pentanol. Las conversiones más altas se lograron utilizando LipC12 inmovilizada sobre soportes con características hidrófobas. Las preparaciones inmovilizadas con mejor desempeño se utilizaron en ocho reacciones de esterificación sucesivas y los mejores resultados se obtuvieron para la lipasa LipC12 inmovilizada en Immobead 150 y quitosano, que mantuvieron 95 y 85% de la actividad inicial, respectivamente.

La inmovilización combinada con el tratamiento de *bioimprinting*, en un solo paso, permitió obtener preparaciones enzimáticas con mayor actividad a través de un proceso simple, en menos tiempo y sin el uso de disolventes orgánicos. Los biocatalizadores mostraron un buen desempeño en la esterificación de ácido oleico y 1-pentanol. El *bioimprinting* incrementó la actividad catalítica para todos los biocatalizadores obtenidos, los mayores incrementos de actividad se observaron para los biocatalizadores obtenidos utilizando soportes con características hidrofóbicas.

33FMB

Inmovilización combinada con bioimprinting para mejorar el desempeño de la lipasa metagenómica LipC12 en la hidrólisis de aceite de soja en un sistema bifásico

SÁNCHEZ, Daniel A.^a, ALNOCH, Robson C.^{b,c}, TONETTO, Gabriela M.^a, KRIEGER, Nadia^d, FERREIRA, María L.^e

a) Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

b) Departamento de Biología, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 14040-901, São Paul, Brazil.

c) Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19046 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

d) Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19081 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

e) Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería

Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

dsanchez@plapiqui.cedu.ar

Se llevó a cabo la inmovilización de la lipasa LipC12 sobre diferentes soportes combinada con la técnica de *bioimprinting* en una sola etapa. Los soportes seleccionados fueron quitosano, Accurel MP-1000, pellets de polipropileno, polipropileno en polvo, Nanomer I.44P e Immobead 150. La lipasa inmovilizada se aplicó en la hidrólisis de

aceite de soja para la obtención de ácidos grasos libres en un sistema bifásico.

Se estableció un protocolo estándar para la inmovilización de LipC12 en todos los soportes. Para ello, se preparó una solución acuosa del extracto crudo de la lipasa utilizando 8 mg de extracto liofilizado por cada mililitro de agua destilada pH 6,5 y luego se añadió el soporte en una proporción de 20 mg del sólido por mililitro de la solución. La inmovilización se realizó durante 6 h en viales cerrados con agitación magnética a 700 rpm. La preparación inmovilizada se recuperó por filtración, se lavó dos veces con agua destilada y se secó en estufa a 35 °C durante 12 h. El tratamiento de *bioimprinting* de la lipasa LipC12 se realizó con ácido oleico y en combinación con el procedimiento de inmovilización, en un solo paso. El contenido de moléculas de *bioimprinting* fue de 30 µmol por cada 100 mg de extracto liofilizado.

Las preparaciones de LipC12 inmovilizada, con y sin tratamiento de *bioimprinting*, fueron evaluadas en la hidrólisis de aceite de soja. Para ello, 1 mmol de aceite, 10 mmol de agua y 1 ml de n-heptano se colocaron en viales de 10 ml. La reacción se llevó a cabo por 5 horas a 40 °C, 600 rpm y empleando 15% (p/p) de lipasa inmovilizada respecto a la masa de aceite.

El efecto positivo del *bioimprinting* sobre el rendimiento a ácidos grasos libres durante la hidrólisis de aceite de soja se encontró solo para los soportes a base de polipropileno. El rendimiento a ácidos grasos libres aumentó un 129% para los pellets, un 70% para Accurel y un 50% para el polvo de polipropileno. Para la lipasa inmovilizada sobre Nanomer e Immobead, se obtuvieron rendimientos superiores al 65%, sin ningún efecto asociado al *bioimprinting*. Las preparaciones inmovilizadas que respondieron positivamente al tratamiento de *bioimprinting* corresponden a las obtenidas utilizando soportes puramente hidrófobos.

Las preparaciones enzimáticas obtenidas mostraron alta actividad hidrolítica. Se obtuvieron rendimientos de ácidos grasos libres superiores al 80% con varios de los biocatalizadores sintetizados. El tratamiento de *bioimprinting* generó cambios importantes en la actividad solo cuando se utilizaron soportes puramente hidrófobos, probablemente debido a la combinación del *bioimprinting* propiamente dicho, la naturaleza tensioactiva de la molécula de *bioimprinting* que mejoró el contacto entre los soportes y la solución de lipasa y la activación interfacial de la lipasa debido a la naturaleza hidrofóbica de los soportes.

34FMB

Inmovilización de la lipasa metagenómica LipC12 combinada con *bioimprinting* para la obtención de biocatalizadores aplicados a la hidrólisis de triglicéridos

SÁNCHEZ, Daniel A.^a, ALNOCH, Robson C.^{b,c}, TONETTO, Gabriela M.^a, KRIEGER, Nadia^d, FERREIRA, María L.^e

a) Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

b) Departamento de Biología, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 14040-901, São Paul, Brazil.

c) Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19046 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

d) Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Cx. P. 19081 Centro Politécnico, Curitiba 81531-980, Paraná, Brazil.

e) Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Planta Piloto de Ingeniería

Química - PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca 8000, Argentina.

dsanchez@plapiqui.cedu.ar

Se llevó a cabo la inmovilización de la lipasa LipC12 sobre diferentes soportes combinada con la técnica de *bioimprinting* en una sola etapa. Los soportes seleccionados fueron quitosano, Accurel MP-1000, pellets de polipropileno, polipropileno en polvo, Nanomer I.44P e Immobead 150. La lipasa inmovilizada se aplicó en la hidrólisis de tricaprilina para evaluar la actividad y selectividad de las preparaciones inmovilizadas con LipC12.

Se estableció un protocolo estándar para la inmovilización de LipC12 combinada con *bioimprinting*, en una única etapa, para todos los soportes. Para ello, se preparó una solución acuosa del extracto crudo de la lipasa utilizando 8 mg de extracto liofilizado por cada mililitro de agua destilada pH 6,5, como agente de *bioimprinting* se adicionaron 30 μ mol de ácido oleico por cada 100 mg de extracto liofilizado y luego se añadió el soporte en una proporción de 20 mg del sólido por cada mililitro de la solución. La inmovilización se realizó durante 6 h en viales cerrados con agitación magnética a 700 rpm. La preparación inmovilizada se recuperó por filtración, se lavó dos veces con agua destilada y se secó en estufa a 35 °C durante 12 h.

Las preparaciones de LipC12 inmovilizada con tratamiento de *bioimprinting*, fueron evaluadas en la hidrólisis de tricaprilina. Para ello, 1 mmol de tricaprilina, 10 mmol de agua y 1 ml de n-heptano se colocaron en

viales de 10 ml. La reacción se llevó a cabo por 90 min a 40 °C, 600 rpm y empleando 15% (p/p) de lipasa inmovilizada respecto a la masa del triglicérido. Se tomaron muestras de reacción a los 30, 60 y 90 min de reacción y se determinó su composición por cromatografía de gases.

Se observaron altas actividades hidrolíticas en tiempos tan cortos como 30 min para LipC12 inmovilizada sobre soportes hidrófobos (polipropileno en polvo, Accurel y Nanomer). Para estas preparaciones se detectó una importante generación de ácidos grasos libres, sin acumulación de glicéridos parciales, para los diferentes tiempos de reacción analizados. Los biocatalizadores obtenidos usando quitosano generaron niveles significativos de diglicéridos incluso en tiempos tan cortos como 30 min. Se observó un comportamiento similar para LipC12 inmovilizada en Immo-bead.

Las altas actividades hidrolíticas para tiempos de reacción cortos encontradas para preparaciones inmovilizadas basadas en soportes con características hidrofóbicas pueden asociarse con una alta eficiencia de inmovilización combinada con la activación de lipasa debido a inmovilización en una interfase y con el tratamiento de *bioimprinting*.

Los biocatalizadores con la mayor actividad hidrolítica también generaron las mayores fracciones de acilglicéridos inespecíficos. La fracción de 1-monocaprilina es considerablemente más alta que la fracción de 2-monocaprilina para biocatalizadores basados en soportes hidrófobos. Un comportamiento similar fue observado para el caso de los diglicéridos, LipC12 inmovilizada sobre soportes hidrófobos generó niveles importantes de 1,3-dicaprilina, mientras que inmovilizada sobre Immo-bead y quitosano permitió la generación de 1,2-dicaprilina en proporciones cercanas al 90%.

La actividad y selectividad de la lipasa está relacionada con su conformación y la misma puede estar influenciada por el soporte de la inmovilización y el agente de *bioimprinting*.

35FMB

La fermentación en sustrato sólido mejora la secreción enzimática de Trichoderma SPP

CASTRILLO María L.^{a,b}; BARENGO Marcela P.^{a,b}; AMERIO Natalia S.^{a,b}; BICH Gustavo A.^{a,b}; ZAPATA Pedro D.^{a,b} y VILLALBA Laura L.^a

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas). Buenos Aires, Argentina.

mlc_827@hotmail.com

El género fúngico *Trichoderma* presenta gran potencial biotecnológico debido a la amplia diversidad metabólica y a la capacidad de secretar un diverso complejo enzimático, que le permite mostrar gran plasticidad ecológica. La secreción enzimática puede estar influida por el tipo de fermentación utilizado en el cultivo de los microorganismos. La mayoría de las enzimas disponibles en el mercado son producidas por fermentación sumergida (SMF), sin embargo la fermentación en cultivo sólido (SSF), ha generado gran interés para la secreción enzimática debido a varias ventajas de importancia económica y ecológica que ofrece en compa-

ración con SMF: soporte sólido para microorganismos, baja demanda de agua, utilización de fuentes de carbono de otro modo inutilizables, fácil aireación, alta productividad, alta concentración de producto final, represión catabólica significativamente más baja o ausente y mejor estabilidad enzimática. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo general determinar la influencia del tipo de fermentación (SMF o SSF) sobre la secreción enzimática de tres cepas del género *Trichoderma*.

Se realizó un diseño experimental de dos factores a 3 y 4 niveles tanto para SMF como SSF. Para cada aislamiento, cada ensayo se diseñó en función de la combinación de los niveles de cada factor. Para el factor fuente de carbono se consideraron tres niveles: bagazo de caña de azúcar, cascarilla de arroz y aserrín de pino; y para el factor fuente de nitrógeno se consideraron cuatro niveles: urea, extracto de levadura, sulfato de amonio y Mandels. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Se preparó una suspensión de esporas a una concentración de 10^7 esporas/mL de los aislamientos *Trichoderma* POS7, NAN13 y TEYU14. Se inocularon 5 mL de cada suspensión en frascos erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 mL de los distintos tipos de SMF ensayados y en recipientes cerrados de 625 mL, conteniendo los distintos tipos de SSF ensayados. Los cultivos se incubaron durante 5 días a $29 \pm 1^\circ\text{C}$ con luz continua, extrayéndose una alícuota cada 24 h para determinación de la cinética de secreción enzimática.

Para analizar los ensayos realizados, se procedió a realizar un ANOVA a partir de los días con mayor actividad enzimática media que no presentaron di-

ferencias estadísticamente significativas entre ellos. En todos los casos, se observó que los factores no presentaron diferencias significativas para los ensayos SMF. En cambio, en los ensayos SSF se observó que los factores eran extremadamente significativos ($p < 0,05$) a un nivel de 95,0% de confianza. A partir de una metodología de fermentación adecuada y un diseño experimental eficaz, se detectó que el aislamiento POS7 incrementa la actividad enzimática en SSF utilizando como fuente de carbono bagazo de caña de azúcar y como fuente de nitrógeno el medio Mandels, y los aislamientos NAN13 y TEYU14 incrementan la actividad enzimática en SSF utilizando como fuente de carbono cascarilla de arroz y como fuente de nitrógeno el medio Mandels. Esta metodología permitió detectar un comportamiento metabólico diferencial de acuerdo al tipo de fermentación utilizado y de acuerdo al aislamiento con respecto a las fuentes de carbono y nitrógeno.

Palabras claves: *Trichoderma* spp., SSF, SMF, DISEÑO EXPERIMENTAL, CONDICIONES DE CULTIVO.

36FMB

Secretoma producido por Trichoderma sp. LBM193 en presencia del fitopatógeno Colletotrichum sp. LBM229

GONZALEZ HOLC, Victoria G. ^{a, b}; **CHELALICHE, Aníbal S.** ^{a, b}; **ZAPATA, Pedro D.** ^{a, b}; **ALVARENGA Adriana E.** ^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) CONICET

guadalupegonzalezholc@gmail.com

Trichoderma es un género fúngico ampliamente estudiado por su papel como biocontrolador. En suelos contaminados con fitopatógenos, especies de este género mejoran el desarrollo de las plantas e inhiben el crecimiento de los patógenos a través de varios mecanismos antagonistas. Los hongos del género *Colletotrichum* causan antracnosis y son reconocidos por afectar a cultivos de interés económico, como por ejemplo el cultivo de yerba mate en el noreste argentino. El objetivo del trabajo consistió en caracterizar la expresión de proteínas secretadas por la cepa de *Trichoderma* sp. LBM193 en presencia de paredes celulares de *Colletotrichum* sp. LBM229. La cepa antagonista se desarrolló en medio mínimo Mandels, con y sin paredes celulares del patógeno, durante 15 días. Posteriormente se procedió a extraer, reducir, alquilar y precipitar las proteínas. La identificación del extracto de proteínas se realizó a través de espectrometría de masas. El análisis del perfil secretómico de *Trichoderma* sp. LBM193 permitió identi-

ficar la expresión diferencial de enzimas secretadas en presencia de paredes celulares del hongo fitopatógeno. Se pudieron identificar proteasas tipo serina (A0A2T3ZPY4; A0A2T3Z4G1), metaloproteasas (A0A2T3ZDP6; A0A2T3Z2D6; A0A2T3Z179), una peptidasa aspártica (A0A2T3ZI84) y una aspartil aminopeptidasa putativa (A0A2T3ZN62), proteínas involucradas durante el proceso micoparasitario de *Trichoderma* sp., produciendo el debilitamiento e hidrólisis de las paredes celulares del patógeno. Además, se identificaron enzimas endo- β -1,3-glicosidasas (A0A2T3ZLZ4), β -manosidasa (A0A2T3YSU1), α -1,2-manosidasa (A0A2T3ZIB4), α -manosidasa (A0A2T3ZPW4), α -l-ramnosidasa (A0A2T3YZN9) relacionadas con la degradación de las paredes de micelios de *Colletotrichum* sp., específicamente. Asimismo, se obtuvo la presencia de una enzima glucanasa (A0A2T3ZL91) y la presencia exclusiva de quitinasas (A0A2T3ZF98, A0A2T3ZHH8, A0A2T3ZNX9, A0A2T3YVT0) que actúan en la digestión enzimática de la pared celular del patógeno, y la presencia de lactamasas (A0A2T3ZAX6, A0A2T3ZNZ0) que estarían implicadas en la hidrólisis de compuestos xenobióticos, y el desarrollo de mecanismos de resistencia a antibióticos, como la degradación enzimática de compuestos que contienen β -lactámicos. Los resultados de este trabajo sugieren que la utilización de *Trichoderma* sp. LBM193 en estrategias de biocontrol de *Colletotrichum* sp. es promisorio en plantas de yerba mate.

Palabras claves: CONTROL BIOLÓGICO; ENZIMAS; MICOPARASITISMO.

37FMB

Crecimiento de hongos con actividad clorogenato hidrolasa sobre sustratos sólidos de yerba mate

BUTIUK, Ana P.^a; MAIDANA, Silvana A.^a; ADACHI O.^b; MARTOS, María A.^a

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCE-QyN). Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología "Dr. Fernando O. Benassi". Posadas, Argentina.

b) Departamento de Química Biológica, Facultad de Agricultura, Universidad de Yamaguchi, Yamaguchi 753-8515, Japón.

anabutiuk@fceqyn.unam.edu.ar

El proceso de fermentación sobre sustratos sólidos (FSS) ha sido muy utilizado para la obtención de enzimas microbianas y otras sustancias de interés industrial. La FSS además de ser de bajo costo y simplicidad, permite el aprovechamiento de subproductos de la agro-industria.

La clorogenato hidrolasa (CHasa, EC 3.1.1.42) cataliza la hidrólisis de ácido clorogénico (ACG) liberando ácidos quínico (AQ) y cafeico (AC), químicos finos que no se producen en nuestro país. CHasa es producida por diferentes especies del género *Aspergillus*, en forma intracelular, cuando son cultivados en medios suplementados con materiales vegetales ricos en ACG. La yerba mate contiene altos niveles de ACG y puede ser utilizada como sustrato e inductor de la actividad CHasa.

El objetivo del presente trabajo fue producir un material sólido con actividad CHasa (koji de yerba mate), mediante el crecimiento de cepas de *Aspergillus* sobre residuos de yerba mate y posteriormente, evaluar la actividad enzimática del biocatalizador.

La cepa de *A. niger* AKU 3302 fue cultivada en frascos Erlenmeyers conteniendo medio Czapek líquido a 30°C, durante 48 h, con agitación. El contenido total de cada Erlenmeyer, compuesto por pellets y medio de cultivo semi-agotado, fue utilizado para inocular bandejas de madera (29x44x5 cm) conteniendo residuos de yerba mate estéril. Las bandejas fueron incubadas a 25°C hasta que el micelio fúngico se desarrolló. El koji de yerba mate obtenido fue almacenado bajo refrigeración hasta su utilización como fuente de enzima CHasa. La actividad CHasa asociada al koji fue evaluada de manera semi-cuantitativa mediante TLC. La reacción enzima-sustrato se realizó mezclando cantidades crecientes de koji (5 a 25 mg) con una solución de ACG en buffer (pH 6,5) y se incubó a 30 °C, 10-15 min, con agitación. Los productos de la hidrólisis del ACG se evaluaron por TLC, utilizando como solvente de corrida n-butanol: ácido acético: agua (4:2:1 v/v). La desaparición del ACG y la aparición de AC fueron examinadas bajo luz UV. El ACG y el AC presentan valores de R_f de 0,88-0,89 y 0,72-0,74, respectivamente, bajo las condiciones de ensayo.

Se observó el crecimiento del micelio fúngico sobre el soporte sólido a partir de los 2 días de incubación. El crecimiento del hongo se mejoró mediante el mezclado del cultivo 2 veces al día, a fin de mejorar la aireación y mantener una temperatura uniforme. El cultivo se mantuvo humedecido mediante el agregado de agua cuando fuera necesario. La FSS se dio por finalizada cuando se observó una buena germinación del hongo y el color del koji de yerba mate cambió de marrón claro a marrón oscuro (~7 días). El análisis por TLC demostró que el koji de yerba mate tenía actividad CHasa. Al incrementar la cantidad de koji en la mezcla de reacción, se observaron claramente sobre el TLC manchas de ACG con intensidad decreciente y manchas de AC con intensidad creciente.

Se preparó un koji de yerba mate mediante el crecimiento de cepas de *Aspergillus* sobre residuos de yerba mate y se confirmó su efectividad como biocatalizador con actividad CHasa.

Palabras claves: CLOROGENATO HIDROLASA; ASPERGILLUS NIGER; FERMENTACIÓN ENSUS-TRATO SOLIDO; YERBA MAYE.

38FMB

Evaluación de la actividad antioxidante en levaduras con aptitudes probióticas

LEIVA ALANIZ María J.^{a,b}; **VERGARA** Silvia C.^{a,b}; **PETRIGNANI** Diego B.^a; **MESTRE** María V.^{a,b,c}; **VAZQUEZ** Fabio^{a,c}; **MANCHA AGRESTI** Pamela.^d; **MATURANO** Yolanda P.^{a,b,c}

a) Instituto de Biotecnología, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

c) Departamento de Ingeniería Agronómica, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de San Juan.

d) Faminas-BH, Facultad de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

majoleiva4@gmail.com

Durante el metabolismo aeróbico de las células de organismos superiores se forman especies reactivas con presencia de un radical libre. Estos compuestos cumplen un papel esencial en el sistema inmunitario, como matar algunos organismos infecciosos, contener el sistema inmunitario para que no se active en exceso, particularmente el oxígeno actúa en el musculo durante la actividad física. El exceso de estas especies reactivas pue-

den causar daño, y el sistema de eliminación del cuerpo humano no siempre es eficaz contra ello. Elevados niveles provocan efectos tóxicos como peroxidación de lípidos, daños en los ácidos nucleicos, inactivación de enzimas, degradación de proteínas, entre otros. Existen reportes que demuestran que el consumo externo de antioxidantes, ya sea a través de alimentos o fortificación de los mismos, no satisface esta demanda, por lo que se promueve la búsqueda de microorganismos con función antioxidante. Los probióticos son microorganismos que consumidos vivos y en concentraciones adecuadas aportan beneficios en la salud del consumidor. Nuestro grupo de trabajo ha seleccionado 15 levaduras nativas aisladas de ambientes vitivinícolas. Las mismas son bioseguras, tolerantes a las condiciones del tracto gastrointestinal y con propiedades de adhesión a las mucosas intestinales. El objetivo del presente trabajo es determinar si las levaduras nativas seleccionadas presentan actividad antioxidante. Metodología: se trabajó con 15 levaduras de los géneros: *Candida* (Pb3, Pb7), *Hanseniopsis* (Pb15, Pb18), *Pichia* (Pb48, Pb50, Pb51, Pb52, Pb53, Pb54, Pb56, Pb57, Pb58), *Torulopsis* (Pb91) y *Wickeromyces* (Pb97), Control: levadura comercial *Saccharomycesboulardii* CNCM I-745. Se activaron en medio YEPD a 100rpm y 28°C. Actividad Catalasa: el peróxido de hidrógeno al 3% se añadió directamente a las colonias de levadura inoculadas 48 horas antes, la actividad de la catalasa se evidenció por la formación de burbujas. Ensayo DPPH: 1×10^8 cel/ml de cultivo de levadura en caldo YPD fue cosechado por centrifugación, lavado dos veces con una solución fisiológica y el sedimento se resuspendió en 1ml de la misma solución, la suspensión celular se transfirió a un nuevo tubo, con 1ml de DPPH, la mezcla homogenizada se incubó 30min a temperatura ambiente en la oscuridad, los tubos de reacción se centrifugaron y se determinó espectrofotométricamen-

te a 520nm. Resultados: todas las levaduras registraron actividad positiva catalasa, destacándose Pb3, Pb7, Pb 48, Pb52, Pb56 y Pb97, por reaccionar en menor tiempo. Las 15 levaduras mostraron actividad DPPH, destacándose 7 de ellas, con resultados mayor al 60%: PB7, PB50, PB51, PB52, PB56, PB57, PB58. Algunos autores reportaron que la actividad antioxidante de las levaduras puede estar relacionada con componentes de la pared celular ((1→3)-β-D-glucano y otros β-glucanos), como así también a la presencia de algunas enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa). Por lo tanto, se concluye que las levaduras Pb7, Pb52, Pb56 y Pb57 son las principales captadoras de especies reactivas en el presente estudio. Estos resultados sirven de base para próximos estudios *in vivo*: Determinación de la actividad de las enzimas Mieloperoxidasa, Peroxidasa Eosinofílica y Medida de la actividad de N-acetilglucosaminidasa en ratones.

Palabras claves: LEVADURAS; PROBIÓTICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE; CATALASA; DPPH.

39FMB

Diferenciación productiva del sector cervecero artesanal mediante bioprospección de levaduras no-convencionales

MESTRE Victoria^{a,b}; MATURANO Paola^{a,b}; VARGAS Mercedes^a; PETRIGNANI Diego^a; VERGARA Cristina^{a,b}; LEIVA María José^{a,b}; VAZQUEZ Fabio^a

a) Instituto de Biotecnología, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de San Juan

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

victoria.mestref@gmail.com

En Argentina la actividad cervecera artesanal ha presentado un rápido proceso de expansión, con un incremento de 20 a 30 % anual en los últimos 5 años. Según los últimos reportes, la producción estimada durante el año 2018 fue de 300000 hL. Este hecho genera un aporte significativo a la economía del país, mediante el flujo comercial de insumos y generación de empleo directo e indirecto. De igual modo, en la provincia de San Juan la elaboración y consumo de cerveza artesanal (CA), presentó un crecimiento acelerado y sostenido. La producción varió de 100 litros/mes en el año 2010 a 38000 litros/mes durante el año 2018, lo cual generó un significativo impacto socioeconómico local. En conjunto con el crecimiento del sector, la demanda por parte de los consumidores ha evolucionado hacia la búsqueda de productos con mayor complejidad organoléptica. Estos hechos incentivan a los elaboradores a establecer alternativas para diferenciar sus productos y posicionarse en un mercado cada vez más competitivo y dinámico. Para incrementar la complejidad organoléptica, agregar valor y diferenciar los productos elaborados, una estrategia atractiva, escasamente explotada, es el empleo de levaduras nativas no convencionales (no *-Saccharomyces* NS). En el presente trabajo se evaluaron 82 aislamientos de levaduras NS pertenecientes a 9 géneros diferentes (*Hanseniaspora*, *Starmerella*, *Candida*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Torulaspota*, *Debaromyces*, *Issatchenkia*, *Zygosaccharomyces*). Los aislamientos fueron obtenidos de ambientes enológicos de la región de Cuyo. Para determinar el potencial uso en mosto de cerveza artesanal como agentes fermentativos se evaluó: capacidad de metabolizar aerobia y anaerobiamente azúcares propios

40FMB

Producción de lipasas de *Penicillium rubens* LBM081

ORTELLADO, L. E.^{a,b}, Villalba, LL.^{a,b}, ZAPATA, P. D.^{a,b}, FONSECA, M. I.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María EbeReca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

ortelladolauraes@gmail.com

del mosto de cerveza (sacarosa, maltosa, fructosa, glucosa), tolerancia a distintos factores de estrés presentes en el proceso (alta concentración de alcohol (7% v/v), lúpulo (35 IBU) y densidad inicial (1096)) y capacidad de producción de compuestos como etil fenoles y sulfuro de hidrogeno, que puedan perjudicar organolépticamente el producto elaborado. De los 82 aislamientos evaluados, 6 (4 *M. pulcherrima* (Bmp4, Bmp5 y Bmp18), 1 *T. delbrueckii* (BTb 3) y 1 *Starm. Bacillaris* (BSb4)) presentaron características positivas para ser evaluadas en condiciones fermentativas a escala laboratorio. Se condujeron fermentaciones en 150 ml de mostos en condiciones asépticas con cultivos iniciadores puros en una concentración de $1 \cdot 10^7$ cel/mL. Se empleó como control la levadura comercial *S. cerevisiae* US04 (Fermentis). Los resultados obtenidos indicaron que 4 aislamientos (Bmp4, Bmp5, Tb3 y Sb4) presentaron buena performance fermentativa respecto a densidad final, pH y velocidad fermentativa, comparados con el control. Se puede concluir sobre la base de los resultados obtenidos que los aislamientos de levaduras no convencionales (no-*Saccharomyces*) presentan potencial para ser empleados en fermentaciones de mosto de cerveza y de esta manera lograr obtener una diferenciación del producto elaborado.

Palabras claves: LEVADURAS NATIVAS; BIOPROSPECCIÓN; CERVEZA ARTESANAL

El empleo de enzimas en diversos sectores industriales está en auge, debido a que su capacidad catalítica ha sido superior a la de numerosos catalizadores químicos o la necesidad cada vez mayor de emplear métodos que sean menos perjudiciales al ambiente. Estas enzimas se han obtenido de distintas fuentes: plantas, animales y microorganismos. Siendo estos últimos los de mayor importancia. Las lipasas son una de las tantas enzimas que son muy demandas por diferentes industrias, lo que ha llevado a buscar nuevas fuentes de esta que puedan cubrir dicha demanda. Teniendo en cuenta este contexto actual, el objetivo del presente trabajo fue producir lipasas utilizando *Penicillium rubens* LBM 081 un aislamiento proveniente de la selva Paranaense.

En primera instancia se partió de un medio de cultivo líquido compuesto por peptona 2 %, aceite de oliva 4 %, suplementado con una suspensión de esporas 1×10^6 , cultivado a una temperatura de 30°C y agitación constante a 140 rpm, en dos volúmenes diferentes de 100, 300 mL por duplicado.

La actividad enzimática de las lipasas presente se cuantifico con el método de p-ni-

trofenol palmitato a 405 nm en los días 6, 10 y 16. Todos los resultados se analizaron con Statgraphics plus de Windows 5.1, Prisma 5.0. (ANOVA simple). También se analizó el perfil enzimático de ambos ensayos en un gel de poliacrilamida con duodecilsulfato sódico SDS-PAGE al 12% (p/v); la corrida electroforética se realizó durante 2 h, adicionando 1 g/L de SDS al *buffer* de corrida. Después de concluida la corrida electroforética, se eliminó el SDS de los geles sumergiéndolos en Triton X-100 al 2,5% a temperatura ambiente por 30 min. Los geles se lavaron brevemente en buffer fosfato 50 mM, pH 7,0 y se cubrieron con una solución de butirato de 4-metilumbeliferilo (MUF) 100 μ M

Se compararon los ensayos realizados y se observó que en 100 mL producía una actividad enzimática de 2782 U/mL a los 6 días de incubación. De la misma forma se evaluó la actividad enzimática lipasa del ensayo realizado a 300 mL en este caso se observó que la actividad enzimática decayó un 40% (1670 U/mL) a los 6 días mientras que al día 10 se observó que se incrementó la actividad llegando a 2086 U/mL quedando estable en días posteriores hasta el día 16 que se concluyó el ensayo. El análisis del zimograma reveló la presencia de una enzima lipasa en todos los ensayos con un peso aproximado de 42 Kda.

Mediante el empleo de volúmenes diferentes se evidenció una buena capacidad en el mantenimiento de la producción de la enzima lipasa en el hongo *Penicillium rubens* LBM 081.

Palabras claves: LIPASA, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, *PENICILLIUM RUBENS* LBM 081.

41FMB

Estudio de FES de residuos agroindustriales para su utilización en alimentos animales

GIL, Rocio M.^{a,b}, RODRÍGUEZ, Laura A.^a; PAROLDI, Emilio H.^a, KUCHEN, Benjamín^{a,b}

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

rocio.mariel.gil@gmail.com

En la provincia de San Juan, la actividad agroindustrial genera grandes cantidades de residuos o subproductos como: Orujo de Uva (OU), Escobajo de Uva (EU), Orujo de Tomate (OT) y Alperujo de Aceituna (AL), siendo este último el mayoritario. En cuanto a su composición se destacan la presencia de celulosa, hemicelulosa, lignina, minerales y azúcares, además de agua. El AL además presenta alta concentración de compuestos fenólicos y extracto etéreo (EE). Por otro lado, debido a la expansión de la frontera agrícola, San Juan se corresponde como una de las nuevas áreas geográficas para la producción animal, cuyos requerimientos nutricionales podrían ser suplementados, de manera parcial, con la utilización de estos subproductos. Para mejorar las condiciones fisicoquímicas y nutricionales un pre-tratamiento y reformulación (a partir de mezclas de los mismos) son requeridos. La Fermentación en Estado Sólido (FES) del AL con hongos filamentosos ha mostrado disminuir el CF del AL, y la mezcla de subproductos con aquellos con contenido reducido de EE podría mejorar la actividad ruminal. Más aún, se mejoraría el contenido proteico y nutricional del alimento debido a la incorporación de los microorganismos provenientes de la FES. El objetivo del presente trabajo es

Propuesta de modificación de la ecuación de Luedeking y Piret para bioproducción fúngica de Ácido Láctico

GROFF, María C.^{a,b}, SCAGLIA, Gustavo^{b,c}, ORTIZ, Oscar A^b, NORIEGA, Sandra E.

a) Instituto de Investigaciones en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias Químicas y Tecnológicas, Universidad Católica de Cuyo, San Juan, Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Instituto de Ingeniería Química, Universidad Nacional de San Juan, San Juan, Argentina.

mcgroffccuyo.edu.ar

El ácido Láctico (AL) es un bioproducto con aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética, química y alimentaria, y se usa como monómero en la producción de ácido poliláctico (polímero biodegradable). El AL tiene una alta demanda mundial (1.220 kilotoneladas en 2016), y en Argentina se importa totalmente ya que no hay producción local. El uso de hongos en sistemas fermentativos líquidos o sólidos, presenta varias ventajas (no son estrictos a nivel nutricional, son capaces de producir el enantiómero puro Levógiro-(+)-AL y poseen enzimas hidrolíticas capaces de degradar estructuras lignocelulósicas). El escalado de los procesos fermentativos es complejo, por existir una variabilidad de los parámetros al aumentar de escala, por lo que el modelado matemático sirve para conseguir un escalado adecuado del bioproceso. Los submodelos que describen las ecuaciones cinéticas involucradas en el crecimiento de la biomasa microbiana y la producción de AL son los primeros y más

aplicar una FES a mezclas de subproductos agroindustriales para aumentar el valor nutricional de los mismos y a futuro utilizarlos como alimento para animales. Para el desarrollo experimental, se estudiaron en OU, OT y AL, los volúmenes generados, la estacionalidad y valores nutricionales como Proteína Bruta (PB), Fibra Bruta (FB), Lípidos (L) y Valor Energético (VE). Se hicieron FES en batch de 5 Kg con 3 mezclas FES1: AL (50%) + OU (50%), FES2: AL (60%) + EU (40%) y FES3: ALP (60%) + OT (40%). Se cultivó por 25 días a 25 °C, 50% de humedad y pH 5. Se utilizó un inóculo microbiano "J2" (5% p/p) desarrollado previamente. Se monitoreo temperatura, humedad y pérdida de peso. Al finalizar, se determinó el valor nutritivo resultante. La FES3 obtuvo significativamente menor fibra bruta (14,49%), relevante para monogástricos. Por otro lado, la FES1 obtuvo significativamente menor cantidad de lípidos totales (1,81%), lo que la convierte en la más apta para los rumiantes. La FES2 resulta significativamente más alta en VE (127.21 Kcal/100g), posiblemente debido a la mayor concentración de lípidos totales de la misma (4,14%). Con relación a Proteínas los tratamientos no tuvieron diferencias significativas, situación que se podría resolver con el agregado de levaduras provenientes de la fermentación enológica y/o cervecera, incorporando al estudio un nuevo subproducto de diferente industria. A futuro se realizará una optimización de las mezclas FES para mejorar los valores nutricionales obtenidos, y en función del tipo de animal que se quiera producir.

Palabras claves: FES, NUTRICIÓN, ALIMENTO.

importantes a desarrollar. Los modelos más utilizados son, en la cinética de crecimiento microbiano el Modelo Logístico (L); y en la producción de AL el Modelo de Luedeking y Piret (LP). También se puede aplicar el Modelo de Primer Orden con Retardo (POCR), ampliamente utilizado en el campo del control de procesos debido a su simplicidad y reproducibilidad. Este modelo presenta dos parámetros importantes y sencillos de calcular, el T_p [h] que proporciona información sobre la velocidad de crecimiento, y el T_o [h] que permite conocer la duración aproximada de la fase de latencia. En este trabajo se analizan y comparan las cinéticas del crecimiento microbiano y la producción de AL de nuestro trabajo experimental (producción de AL a partir de escobajo de uva (EU) usando *R. oryzae* en un sistema de crecimiento sobre membrana a 30°C, 50%HR por 5 días); y el trabajo de Jin et al. (2005) (producción de AL a partir de residuos agroindustriales en fermentación líquida con agitación utilizando *R. oryzae*, a 30°C por 5 días). Al aplicar el modelo POCR, en el trabajo de Jin et al (2005), se observó un tiempo de retardo (T_R) entre la curva de cinética microbiana y la curva de producción de AL, lo que motivó a agregar un término que involucra el T_R en la ecuación de LP, mejorando considerablemente el ajuste de las curvas. En nuestro experimento, $T_R = 0$, lo que sugiere una influencia positiva del EU que permite una producción de AL casi en simultáneo con la generación de biomasa fúngica. Obtuvimos los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano. El ajuste del Modelo POCR es comparable e incluso superior al Modelo L. Para la producción de LA, el parámetro T_R añadido al Modelo LP consiguió una mejora significativa de los R^2 . El crecimiento fúngico y la producción de AL presentaron el mismo valor de T_p , pero difieren en el T_o . El T_R no ha sido definido en otros trabajos, lo cual es un aporte novedoso y supone un avance en la modelización matemática del proceso, que

evidencia un fenómeno no tenido en cuenta hasta ahora en la etapa de fermentación.

Palabras claves: ÁCIDO LÁCTICO; MODELADO MATEMÁTICO; FERMENTACIÓN.

43FMB

Producción de xilanasas extracelulares de *Paenibacillus xylanivorans*

TOPALIAN, Juliana ^a; GARRIDO, Mercedes ^a; LEGISA, Danilo ^b; CAMPOS, Eleonora ^a; BLASCO, Martín ^b

a) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

b) Departamento de Bioprocesos, INTI, Buenos Aires, Argentina.

topalian.juliana@inta.gov.ar
julianatopalian@gmail.com

La bioconversión de lignocelulosa en oligosacáridos prebióticos y azúcares fermentables es un proceso de gran importancia para la valorización de la biomasa vegetal residual. Para ello, es necesaria la producción de extractos enzimáticos eficientes en la deconstrucción de los polisacáridos estructurales que componen la pared celular vegetal, celulosa y hemicelulosa. La celulosa es un polímero lineal de moléculas de glucosa mientras que la hemicelulosa es un heteropolímero ramificado de composición variable, cuya cadena principal está compuesta por xilano. La bacteria Gram positiva *Paenibacillus xylanivorans* secreta enzimas xilanasas en condiciones apropiadas de cultivo. El objetivo de este trabajo fue la optimiza-

44FMB

Selección de levaduras nativas: valoración microbiológica de zona vitivinícola de San Juan

PETRIGNANI, Diego B.^a; VERGARA, Silvia C.^{a,b}; LEIVA ALANIZ, María J.^{a,b}; VAZQUEZ, Fabio^{a,c}; MESTRE FURLANI, María V.^{a,b,c}; MATURANO, Yolanda P.^{a,b,c}

a) Instituto De Biotecnología- Facultad de Ingeniería- Universidad Nacional de San Juan

b) Consejo Nacional Investigación Científicas y técnicas – CONICET

c) Departamento de Ingeniería agronómica- Facultad de Ingeniería- Universidad Nacional de San Juan

petrignanidiego@gmail.com

San Juan es la segunda provincia productora de vinos en Argentina, donde la comercialización y consumo demanda más calidad y tipicidad de los mismos. Una alternativa es tener levaduras nativas seleccionadas del viñedo para aumentar el potencial de los mostos y dar originalidad a los vinos. Pozos de los Algarrobos es una región vitivinícola reconocida, de características particulares para el cultivo de la vid. Luego de estudios presentados de suelo, clima, flora, fauna y antecedentes históricos de la localidad, el I.N.V. aprobó mediante la Resolución C 30/15 la Indicación Geográfica (I.G.) de la región. Hoy están instaladas bodegas con tecnologías de última generación y con viñedos propios; apuntando a tener su propio *pull* microbiano para realzar las características excepcionales de la zona. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar levaduras nativas *Saccharomyces cerevisiae* de Pozo de los Algarrobos- Caucete - San Juan con aptitudes para llevar a cabo la fermentación de variedades

ción de la actividad xilanasa extracelular de *P.xylanivorans* por cultivo en salvado de trigo (WB), un sustrato de bajo costo. En base a los antecedentes, se ensayaron diferentes condiciones de cultivo, logrando la mayor actividad xilanasa por cultivo de 48 a 72 hs, en frasco agitado con deflectores, a 28°C, con 1% de sustrato en un medio salino. Se determinó la estabilidad del extracto enzimático a distintas temperaturas. El extracto mantuvo más del 85 % de actividad hasta 4 semanas tanto a 4°C como a -20°C y -80°C. A su vez, fue posible concentrar la actividad enzimáticas hasta 10X, por liofilización del sobrenadante de cultivo, sin aditivos. Finalmente, se realizó el escalado del cultivo en un reactor de tipo tanque agitado de escala laboratorio (2 L). Durante el cultivo se determinó el consumo volumétrico de oxígeno del cultivo como indicador de la actividad metabólica de las bacterias y la actividad xilanasa. Los resultados obtenidos demuestran la factibilidad de obtener extractos enzimáticos de *P. xylanivorans* utilizando fuentes de carbono económicas como sustrato y abren la posibilidad de su aplicación en bioprocesos para la degradación del xilano presente en biomasa lignocelulósica.

Palabras claves: XILANSAS; PAENIBACILLUS; BIO-REACTOR; LIGNOCELULOSA.

blancas de interés enológico. Las levaduras fueron aisladas de fermentaciones espontáneas de mostos de uvas cosechadas aleatoriamente de los viñedos de *Vitis vinifera* var. Viognier y Chardonnay. Se tomaron muestras al comienzo, mitad y final de la fermentación alcohólica y se sembraron en placas de petri con medio diferencial WLN. Este medio permitió seleccionar por su morfología específica a las unidades formadoras de colonias (UFC) correspondientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras seleccionadas fueron sometidas a las siguientes caracterizaciones: resistencia a etanol (14% v/v), a las dosis de SO₂ agregadas al inicio del proceso (200ppm), capacidad de comenzar a fermentar en mostos con altos niveles de azúcares (28°Brix), producción de SH₂. La identificación molecular intraespecífica se realizó mediante la metodología de PCR interdelta con el fin de diferenciar polimorfismos y aleatoriedad en la distribución de las cepas seleccionadas. Se realizó la extracción mecánica del ADN total de las levaduras utilizando la metodología de Hoffman y Winston (1987) modificada y se amplificaron las secuencias Delta con los cebadores $\delta 12$ y $\delta 21$ mediante el protocolo de Legras y Karst (2003) Resultados: se aislaron 37 levaduras provenientes de la vinificación de Viognier y 30 de la vinificación de Chardonnay. Se seleccionaron 30 aislamientos provenientes del varietal Viognier y 20 del Chardonnay capaces de comenzar a fermentar a altas concentraciones de azúcares, SO₂, etanol y, además, presentaron baja producción de SH₂. La identificación molecular a nivel de cepa indicó que estuvieron presentes 17 cepas diferentes en las vinificaciones de Viognier y 14 cepas en Chardonnay. En la próxima etapa se compararán los patrones moleculares de diferentes cepas comerciales (2 comúnmente empleadas por los bodegueros de la zona y 10 empleadas en otras

bodegas de la Región) con los aislamientos del presente trabajo para corroborar que las mismas sean levaduras propias de la zona vitivinícola.

Palabras claves: SACCHAROMYCES CEREVISIAE NATIVAS, FERMENTACIÓN, VINO, DIFERENCIACIÓN PRODUCTIVA.

45FMB

Producción in vitro y caracterización de pigmentos producidos por Neocosmospora lichenicola

MELNICHUK, Natasha^{ab}; MEINI, María R.^{ac}; CASTELLI María V.^d; LOPEZ Silvia N.^d; ROMANI, Diana^{ab}

a) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos, IPROBYQ-CONICET, Suipacha 570, Rosario, 2000. Argentina

b) Área Procesos Biotecnológicos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Suipacha 531, Rosario, 2000. Argentina.

c) Área Biofísica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Suipacha 531, Rosario, 2000. Argentina

d) Área Farmacognosia, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario; CONICET, Suipacha 531, S2002LRK, Rosario, Argentina

melnichuk@iprobyq-conicet.gov.ar

Los pigmentos son moléculas de origen natural o sintético altamente demandadas por industrias de alimentos, medicamentos, textiles, cosméticas, entre otras (1). Dentro de los pigmentos naturales, se encuentran

los inorgánicos y los orgánicos, estos últimos derivan principalmente de vegetales y animales. Los pigmentos de origen animal como el carmín (obtenido de la cochinilla), presentan baja aceptación por parte de ciertos sectores de consumidores (2). Por otra parte, los pigmentos vegetales presentan desventajas como la dependencia estacional de la producción, costos elevados y variaciones en la intensidad del color (3). En la búsqueda de nuevos pigmentos, los de origen microbiano, específicamente los de origen fúngico, han surgido como una alternativa (3). Entre los pigmentos producidos por hongos filamentosos encontramos una gran variedad de estructuras químicas, tales como melaninas, carotenoides, flavinas, fenazinas, quinonas, etc.

A partir de un estudio de bioprospección para obtener cepas de hongos filamentosos productoras de metabolitos de interés industrial, se realizó el aislamiento de hongos desde muestras de semillas de algodón y de barbecho de soja en descomposición en campos aledaños a la localidad de Alcorta, Santa Fe (Resol. Pcial 232/19). Se aisló una cepa productora de un pigmento rojo en medio agar papa dextrosa que fue identificada como *Neocosmospora lichenicola* mediante amplificación utilizando los primers ITS: V9G y LS266; EF: EF1 y EF2; RPB2: RPB2-5F2 y RPB2-7CR, seguido de secuenciación y comparación de las secuencias en bases de datos, en el Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Holanda. El objetivo de este trabajo fue producir y caracterizar el extracto pigmentado rojo desde cultivos de *N. lichenicola*. Se evaluaron distintos medios de cultivo siguiendo la absorbancia a 470 y 500 nm del sobrenadante del cultivo. El medio líquido seleccionado contiene glucosa (20g/L) como fuente de carbono, sulfato de amonio (2g/L) como fuente de nitrógeno, 0,01g/l FeSO₄; 0,5g/L MgSO₄·7H₂O y 1g/L KH₂PO₄.

Se obtuvieron extractos en acetato de etilo a partir del sobrenadante de cultivos incubados durante 2 días utilizando el medio seleccionado, los cuales fueron analizados mediante diferentes técnicas (TLC, HPLC-DAD, HPLC-MS, RMN¹H mono y bidimensional). Los resultados obtenidos indican que se trata de una mezcla de pigmentos, algunos de ellos compatibles con los que producen hongos del género *Monascus*, como los compuestos 7-(2-hydroxyethyl)-monascorubramine, mitorrubrina y ankaflavina. Sin embargo, se observaron al menos 3 picos mayoritarios con tiempos de retención 7; 9,3 y 11 minutos y máximos de absorción de 305,61 y 497; 491,82 y 540,68 respectivamente, (HPLC-DAD: columna C-18 100 x 2.1 mm, 3 um tamaño de partícula; gradiente H₂O/ 0,1% ácido acético y ACN, 0.35mL/min, en gradiente), tanto en el filtrado del cultivo como en el extracto en acetato de etilo, cuya caracterización química se está realizando.

El mercado de pigmentos requiere de la búsqueda de nuevas especies fúngicas productoras y *N. lichenicola* se presenta como una fuente promisoría de moléculas pigmentadas útiles en la industria. Actualmente se realiza el escalado del cultivo con el objetivo de aumentar la masa de extracto y así caracterizar los pigmentos producidos de manera inequívoca.

Permeado de suero como medio de cultivo para la producción de fermentos

BATISTELA, Mara E.^a; PERALTA, Guillermo H.^{a,b}; HYNES Erica R.^a; BERGAMINI Carina V.^a

a) Instituto de Lactología Industrial (CONICET), Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa Fe, Argentina.

b) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNL), Esperanza, Argentina

batistelamara@gmail.com

El uso de residuos y subproductos de la industria de alimentos como fuentes de nutrientes para la producción de fermentos ha recibido una gran atención en los últimos años debido a su gran disponibilidad, bajo costo y alto valor nutricional. El objetivo del presente trabajo fue optimizar la producción de biomasa de *Lactocaseibacillus rhamnosus* 73 (L73) en un medio de cultivo a base de permeado de suero, y evaluar su uso para la producción de biomasa de otras diez cepas de lactobacilos mesófilos de interés industrial. Para la optimización se aplicó un diseño central compuesto, constituido por 21 puntos experimentales, 5 de los cuales eran repeticiones del punto central. En el diseño se evaluaron cuatro factores: permeado de suero, extracto de levadura, $MnSO_4$ y $MgSO_4$. La cepa L73 fue inoculada en cada medio al 2% v/v e incubada a 37°C durante 24h. Al finalizar la incubación se realizaron las determinaciones de recuentos microbiológicos en placa (MRS, 37°C, 48h) y densidad óptica (DO) a 600nm como medida de biomasa. Los resultados experimentales se procesaron en el programa Design-Expert® 7.0.0 para asignar modelos matemáticos de ajuste. Los coeficientes fueron obtenidos mediante regresión múltiple con elimina-

ción backward ($p < 0,05$) y validados estadísticamente por la prueba de ANOVA y LACK-OF-FIT. Mediante el método de superficie de respuesta y la función deseabilidad se determinaron los niveles de los factores para lograr la mayor biomasa posible al menor costo. Para la validación del medio optimizado se incluyeron otras 10 cepas de lactobacilos de interés tecnológico además de L73. Finalmente, también se evaluó el efecto de la temperatura de incubación (30 °C, 34 °C y 37 °C) y el pH inicial del medio (6,5, 7,0 y 7,5) en la producción de biomasa de L73.

El modelo seleccionado para cada respuesta de biomasa reveló un ajuste significativo ($p < 0,05$) y parámetros de falta de ajuste no significativos. Las gráficas de superficies de respuestas mostraron que los niveles máximos de recuentos microbiológicos y DO se lograron con los niveles más elevados de permeado de suero y extracto de levadura, mientras que el aporte de $MnSO_4$ y $MgSO_4$ no fue significativo. La función deseabilidad permitió determinar la concentración necesaria de permeado de suero (12,876 g/100 mL) y extracto de levadura (0,3529 g/100 mL) para lograr la máxima producción de biomasa de L73. Durante la validación se obtuvieron recuentos microbiológicos elevados para L73 ($\log ufc/mL = 9,37 \pm 0,07$), confirmando así la respuesta teórica; estos niveles fueron similares a los obtenidos en el medio comercial MRS. Altos niveles (entre 8,63 -9,19 $\log ufc/mL$) también fueron obtenidos para 8 de las otras 10 cepas de lactobacilos estudiadas. Por otro lado, la DO alcanzada por la cepa L73 fue un poco menor que la teórica. Finalmente, la temperatura de incubación y el pH inicial evaluados no tuvieron un impacto significativo en la biomasa de L73.

En conclusión, el medio de cultivo optimizado, formulado a partir de permeado de suero, resultó adecuado para la produc-

ción de biomasa de varias cepas de lactobacilos mesófilos en los niveles requeridos en las industrias de fermentos.

Palabras claves: MEDIO DE CULTIVO; PERMEADO DE SUERO; FERMENTOS; LACTOBACILOS.

47FMB

Desarrollo de un proceso de cultivo optimizado para microalgas oleaginosas

MODINI, Laura B^{a,b}; BECCARIA, Alejandro J^b; MÁRQUEZ, Vanina E^b

a) Cátedra Tratamiento de Efluentes. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) Laboratorio de Fermentaciones. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

lmodini@fcb.unl.edu.ar

La producción de biomasa microalgal se usa para obtener una amplia gama de productos biotecnológicos, tales como aceite para la producción de biodiésel. Por otro lado, el empleo de efluentes en el diseño de medios de cultivo impacta en los costos de producción de esa biomasa y el consumo de agua, sumando valor agregado a los desechos.

El objetivo de este trabajo fue seleccionar una cepa de microalga en base a su potencial oleaginoso y optimizar un medio de cultivo para la misma, contemplando el uso de lixiviado generado en el relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe (Argentina). Para esto se partió de 8 cepas de microalgas aisladas de la planta de tratamiento de efluentes líquidos de dicho relleno sanitario, las que se cultivaron en condiciones mixotróficas en medio Bold

3N suplementado con lixiviado (0; 0,1; 1; 5; 10 y 25 % v/v). Tales cepas corresponden a clorofitas, grupo al que pertenecen diversas especies descritas como buenas productoras de aceite apto para biodiésel. Como control se empleó una cepa de *Chlorella* sp. Luego de 20 d de cultivo, se determinó la concentración celular en cámara de Neubauer y la cantidad de aceite unicelular por el método de Sulfo-Fosfo-Vainillina. Sobre la base de los rendimientos de biomasa ($1 \cdot 10^7$ céls./mL) y aceite (21 pg/cél.), se seleccionó una de las cepas, identificada como *Scenedesmus rubescens*, en base a la secuenciación de las regiones ITS, en el locus ribosomal. Posteriormente, se desarrolló un medio de cultivo óptimo para esta cepa aplicando un diseño central compuesto. En este se consideraron 3 factores (% Bold 3N, % lixiviado y % fosfato) y dos respuestas (rendimiento celular y de aceite). La formulación resultante produjo $4 \cdot 10^6$ céls./mL y 36 pg aceite/cél., además de reemplazar una proporción de medio de cultivo base (Bold 3N) por lixiviado en un 85 %, y reducir la concentración de fosfatos en un 50 %, respecto de tal medio base.

De esta manera, fue posible seleccionar una cepa de microalga oleaginoso a partir de asilamientos locales. También se pudo encontrar una formulación optimizada de medio para cultivos *batch*, teniendo en cuenta aspectos positivos para los bioprocesos, como el incremento de la concentración celular y del producto (aceite), y reducción de insumos que mejoran la economía y sustentabilidad.

Finalmente, a fin de profundizar el conocimiento del desempeño biotecnológico de esta microalga, el conjunto cepa-medio de cultivo se evaluará en un fotobiorreactor *air-lift* de 400 ml. Además, se caracterizará el perfil de ácidos grasos del aceite obtenido.

Palabras claves: ACEITE UNICELULAR; BIODIÉSEL; LIXIVIADO.

Supervivencia a simulación del tracto gastro-intestinal de levaduras vinicas con aptitudes probióticas

VERGARA Silvia C.^{a,b}, LEIVA María J.^{a,b}, PETRIGNANI Diego B.^b, MESTRE María V.^{a,b,c}, NALLY María C.^{a,b,c}, KUCHEN Benjamín^{a,b}, MANCHA AGRESTI Pamela^d, MATURANO Yolanda P.^{a,b,c}

a) CONICET, Argentina

b) IBT, Facultad de Ingeniería UNSJ, Argentina

c) Dpto de Ing. Agronómica UNSJ, Argentina

d) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

scristina.vergara@gmail.com

La selección de levaduras probióticas requiere un examen preliminar basado en varias actividades funcionales. La resistencia a los jugos gástricos y pancreáticos es una propiedad muy importante de las cepas de levadura probiótica, así se garantiza el pasaje a través del tracto digestivo humano. El objetivo de este estudio fue evaluar la supervivencia de levaduras de origen vinícola a condiciones del tracto gastrointestinal (TGI) simuladas. Las 15 levaduras empleadas en este estudio fueron preseleccionadas por ser bioseguras, presentar tolerancia a rangos de temperatura, bilis y acidez presentes en el TGI, propiedades de adhesión y antimicrobianas. Las cepas nativas fueron *Candida intermedia* (PB3), *C. sake* (PB7), *Hanseniaspora guilliermondii* (PB15), *H. uvarum* (PB18) *Pichia kudriazevii* (PB48, PB50, PB51, PB52, PB53) *P. masmurika* (PB54), *P. occidentalis* (PB56, PB57, PB58), *Torulaspota delbrueckii* (PB91) y *Wickerhamomyces anomalus* (PB97) Para la simulación del pasaje por el TGI se preparó jugo gástrico (JG-NaCl 2.05,

KH_2PO_4 0.60, CaCl_2 0.11, KCl 0.37, pepsina 0.0133 (g/L), pH=2.0) y pancreático (JP-sales biliares 3.0, pancreatina 0.1, Na_2HPO_4 26.9 y NaCl 8.5 (g/L), pH= 7). Las cepas previamente activadas se centrifugaron, lavaron 2 veces con PBS y resuspendieron (10^8 - 10^7 cél/ml) en 7 ml de JG. Se incubaron 2,5 h a 37°C con agitación constante (100 rpm) para simular los movimientos peristálticos. Las células recolectadas del paso anterior se centrifugaron, lavaron dos veces con PBS y resuspendieron en 7 ml de JD e incubó por 3h a 37°C con agitación constante (100 rpm). Mediante siembra en placa (medio YEPD-agar) al principio, medio y final de cada simulación digestiva se evaluó la viabilidad celular. Los resultados indican que en general hubo una disminución significativa en la supervivencia ($p < 0.05$) tanto en la fase gástrica como la duodenal ($p < 0.05$), sin embargo, no supero el 30%. Las cepas con mayor porcentaje de supervivencia al final de la etapa duodenal respecto a la inoculación inicial en la etapa gástrica fueron *C. sake* (PB7 80.77%), *Pichia kudriazevii* (PB48 85.64%, PB51 89.63%, PB53 83%) *P. occidentalis* (PB56 89.66%, PB58 81.75 %), *Torulaspota delbrueckii* (PB91 94.76%) y *Wickerhamomyces anomalus* (PB97 80.30%). Cabe destacar que la cepa probiótica control *Saccharomyces cerevisiae* CNCM 1745 registro supervivencia de 76.78%. Si bien la bibliografía sugiere que la principal barrera que encuentran los microorganismos tras la ingestión es el jugo gástrico, cuyo efecto inhibitor está estrictamente relacionado con el pH y la concentración de ácido clorhídrico, en nuestros resultados se evidencia que, si bien hay una disminución durante todo el proceso, la reducción más significativa se evidenció al final de la fase duodenal (supervivencia entre 65-90%). Puede inferirse que las levaduras vnicas del presente trabajo registraron proporciones de supervivencia elevados debido a que están adaptadas a condiciones de pH bajos presentes durante el proceso de vini-

ficación. Estos resultados demuestran la potencialidad de las levaduras vínicas para ser empleadas como probióticas. La resistencia al pasaje por el TGI resulta sumamente relevante con el fin de asegurar la concentración adecuada de microorganismos en el intestino y de este modo garantizar la ejecución de los efectos deseados.

Palabras claves: LEVADURAS; PROBIOTICOS; RESISTENCIA TRACTO GASTROINTESTINAL.

49FMB

Crecimiento de *G. diazotrophicus* OCG1 en medio de cultivo de bajo costo

ALDERETE, Micaela E. J.^a; NUÑEZ, María A.^a; ROMERO, Eduardo R.^a; TORTORA, María L.^a

Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, Tucumán, Argentina.

malderete@eeoac.org.ar

Los biofertilizantes constituidos por bacterias promotoras del crecimiento vegetal, son una alternativa sustentable para el manejo integral de los cañaverales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la viabilidad y estabilidad de una cepa endofítica de *Gluconacetobacter* aislada de caña de azúcar, en un medio de cultivo formulado a partir de subproductos de la industria azucarera, a fin de lograr su propagación a gran escala. En trabajos previos realizados por nuestro grupo de trabajo, se aisló una cepa endofítica identificada como *Gluconacetobacter diazotrophicus* OCG1, a partir de tallos de caña de azúcar provenientes de lotes comerciales

ubicados en el departamento Monteros. El aislamiento OCG1 presentó el gen *nifD* involucrado en la fijación biológica de nitrógeno, la cual constituye una característica promotora del crecimiento vegetal de las bacterias PGPB (*Plant Growth Promoting Bacteria*). En bioensayos realizados en invernáculo, OCG1 fue capaz de colonizar el sistema radicular de plántulas de caña de azúcar (TUC 95-10) e incrementó el peso fresco y seco del sistema aéreo y radicular. A fin de obtener grandes cantidades de células metabólicamente activas para la formulación de un biofertilizante, OCG1 se inoculó en un medio de cultivo formulado con subproductos de la industria sucroalcoholera cuya composición en g/l es: melaza 235,8; nitrógeno total de *Torulopsis utilis* 0,73; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1,32; pH 5,5 - 6. Los cultivos se incubaron 7 días a 30 °C y 180 rpm. Como control se utilizó la cepa PAL5, usada en formulaciones comerciales. Para evaluar el crecimiento de OCG1 en el medio de producción, se determinaron las unidades formadoras de colonias (UFC/ml) en el medio de cultivo LGI-P sólido a los 7 días de incubación. La viabilidad y estabilidad se determinó a los 14 y 30 días de almacenamiento mediante recuentos en el medio de cultivo LGI-P semisólido y mediante observaciones en microscopio óptico. Nuestros resultados demuestran que OCG1 fue capaz de crecer hasta alcanzar un valor promedio de $9,33 \times 10^7$ UFC/ml, adaptándose al medio de producción que utiliza un sustrato complejo como la melaza como única fuente de C, en comparación con PAL5 que sólo alcanzó un valor de $1,50 \times 10^4$ UFC/ml. Al evaluar la estabilidad de los cultivos a temperatura ambiente, observamos que la cantidad de bacterias viables para OCG1 se mantuvo en el orden de 10^7 UFC/ml hasta los 30 días, a pesar de que se observó una leve disminución en la movilidad bacilar por microscopía óptica. Durante el crecimiento de OCG1 en el medio de producción, presentó la formación de una película de biofilm adherida a la

pared del erlenmeyer. Los exopolisacáridos (EPS) producidos y excretados por OCG1 podrían proteger a las células en condiciones de estrés y favorecer el proceso de colonización bacteriana. De esta forma, el medio de cultivo formulado a partir de subproductos de bajo costo podría ser utilizado para la propagación a gran escala de OCG1, la cual según los resultados preliminares obtenidos por nuestro grupo de trabajo, tiene potencial para ser utilizada como biofertilizante en caña de azúcar.

Palabras claves: SUSTENTABILIDAD; CAÑAVE-RAL; FIJACION BIOLÓGICA DE NITRÓGENO.

50FMB

Optimización sobre la actividad lipasa de *Burkholderia ambifaria*- S19

QUIROGA ZINGARETTI, Adriana E. ^{a,b}; **FONSECA, María I.** ^{a,b}; **ZAPATA, Pedro D.** ^{a,b}; **QUIROGA, Marina** ^a

a) Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reza" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones. Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina

ariadna1301@hotmail.com

Las lipasas (E.C. 3.1.1.3) son uno de los grupos de enzimas más importantes en biocatálisis, con variadas aplicaciones nivel industrial. Si bien son enzimas ubicuas, las producidas por los microorganismos pueden ser optimizadas para su aprovechamiento.

Es fundamental, en dicha explotación, el efecto que los factores químicos y físicos tienen sobre la actividad lipasa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de dichos factores sobre la actividad lipolítica del sobrenadante de *Burkholderia ambifaria*- S19. La cepa se recuperó en agar Columbia por el método de aislamiento a 30°C por 24 h, para corroborar pureza y viabilidad. De este cultivo, se realizó una suspensión correspondiente a al 0,5 en la Escala de McFarland (DO600) para inocular el medio, en cada ensayo. Se partió de las condiciones propuestas por Mobarak, 2011. Se fueron ensayando una por una las variables: cloruro de calcio dihidratado (0,04% y ausente); fuente de carbono (aceite de oliva, tributirina y glucosa, todos al 0,5%, 1%, 2% y sin fuente de carbono); fuente de nitrógeno (se combinaron fosfato monoamónico (0,1%, 0,5% y 1% y ausente) y peptona de carne (0,2%, 1% y 2% y sin agregar); pH (5,11; 5,50; 6,00; 6,50; 7,00; 7,50 y 8,00); tween 80 (0,075%, 0,15%, 0,30%, 0,5% y sin agregar); sulfato de magnesio heptahidratado (0,02%, 0,04% 0,08% y sin adicionar), cloruro de sodio (0,062%, 0,125%, 0,25%, 0,375% y sin agregar); inóculo (1%, 2%, 3%, 4%, 5% y 6%), temperatura (25, 30, 35 y 40 °C) y agitación (120, 150, 180 y 210 r.p.m., sin agitación). Los extractos libres de células se obtuvieron según metodología optimizada por nuestro laboratorio. La actividad enzimática se determinó espectrofotométricamente (410 nm) midiendo el *p*-nitrofenol producido por la hidrólisis del palmitato del *p*-nitrofenol.

Se partió de una actividad lipasa de 1454,40 UI/mL. Luego de ajustar una a una las variables del medio y condiciones cultivo se obtuvo una actividad de 28155,71 UI/mL ($p < 0,001$). La composición del medio optimizado fue: aceite de oliva 1% (v/v), fosfato monoamónico 0,1% (p/v), 0,5% y peptona de carne 0,2% (p/v), tween 80 0,15% (v/v),

sulfato de magnesio heptahidratado 0,04% (p/v), cloruro de sodio 0,125%(p/v); ajustado a pH 7,00 con NaOH 1N. El inoculó en suspensión agregado fue 5% del volumen del medio. Las condiciones de cultivo fueron las mejores a 30°C y 180 r.p.m.

En base a nuestros resultados podemos concluir que este trabajo culmina la etapa de optimización del medio para la cepa *Burkholderia ambifaria*– S19. Lo que da paso para comenzar la caracterización bioquímica de dicha cepa promisorio para futuras aplicaciones biotecnológicas.

Palabras claves: BURKHOLDERIA AMBIFARIA–S19; LIPASAS; BIOTECNOLOGÍA.

51FMB

Estudio fisicoquímico, contenido de polifenoles y análisis microbiológico en diferentes caldos de sidranorpatagónicas

ROCHA PARRA, Diego F.^{a,b}; BONGIOVANI, Natalia S.^a; TARIFA, María C.^{a,b}; ROCHA PARRA, Andrés F.^{a,b}; COLIN, Ivana^{a,b}; LAIGLECIA, Juan I.^a; ITURMENDI, Facundo^a.

a) Universidad Nacional de Río Negro. CIT Río Negro. Río Negro. Argentina.

b) Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (CONICET-UNRN), Villa Regina, Río Negro, Argentina.

dfrochaparra@unrn.edu.ar

El Alto Valle de Río Negro en la Patagonia Norte es la principal zona productora de frutas de pepita del país, correspondiendo el

53% a la producción manzana. La principal actividad agroindustrial asociada a la fruticultura es la elaboración de caldos de sidra y jugos (concentrado y/o natural).

En la última década, las exigencias de los consumidores obligaron a la industria sidrera a invertir en innovación y desarrollo de productos de mayor calidad con una impronta regional característica. Dentro de los factores que condicionan la calidad de las sidras pueden destacarse la cepa de levaduras empleada, la variedad de manzana utilizada y las condiciones operativas del proceso de fermentación. Por otro lado, la utilización de jugo concentrado a nivel internacional, para complementar la elaboración de sidra, presenta innumerables beneficios que actualmente en el mercado nacional no se pueden explotar debido a las limitaciones del Código Alimentario Argentino.

El objetivo del trabajo fue comparar el proceso de fermentación, la calidad microbiológica final y el contenido de polifenoles totales en los caldos de sidra obtenidos a partir de diferentes variedades de manzana, así como también, de un jugo concentrado adquirido en una empresa juguera de la región. El proceso de elaboración a partir de las variedades Red Delicious (RD), Pink Lady (PL), Fuji (F), Granny Smith (GS) y Jugo Concentrado (JC) fue llevado a cabo en la Planta Piloto de Alimentos Sociales de la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN).

Se realizaron las determinaciones de pH, acidez total, °Brix, extracto seco, sólidos centrifugables, cenizas y densidad de todos los jugos obtenidos. Las fermentaciones se llevaron a cabo a una temperatura controlada de 23 ± 1°C en fermentadores de 60 L de capacidad, inoculados con 25 g/100 L *Saccharomyces cerevisiae*, y se evaluó la evolución de la cinética de grados Baumé (°Bé). El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin Cia-

calteau y el recuento final de levaduras se realizó mediante recuento en placa en medio glucosa-cloranfenicol agar. Las fermentaciones duraron entre 8 (JC) y 15 (PL) días con un recuento final de levaduras de entre 2,76 Log Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/mL (GS) y 3,63 Log UFC/mL (F). La tasa de disminución de °Bé se encontró entre los 0,93 (JC) y 0,35 (PL) °Bé/día. El JC registró el menor contenido polifenólico (316,3 mg/L) comparado con los obtenidos para las otras variedades de manzana: GS (586,4 mg/L), F (446,5 mg/L), RD (402,21 mg/L) y PL (369,3 mg/L). Las diferencias en los parámetros físicoquímicos finales entre el JC y las diferentes variedades, se deben posiblemente a la tecnología de proceso utilizada (tratamiento térmico y enzimático), que podría modificar la composición físicoquímica del jugo de partida. Por esta razón existe un gran potencial para producir sidras a partir de diferentes variedades de manzanas con características diferenciadas que sean atractivas e innovadoras para el consumidor.

52FMB

Valorización de un cultivo andino (Yacón) mediante la producción de una fitasa de levadura asociada a la célula mediante un proceso estadísticamente optimizado

CONDE MOLINA, Debora^a; Novelli Poisson Guido^b; IANNONE Leopoldo J.^c; GALVAGNO Miguel A^{b,c}

a) Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional Delta, Universidad Tecnológica Nacional, Campana, Buenos Aires, Argentina.

b) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas

(IIBIO), Universidad Nacional de San

Martín (UNSAM)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), San Martín, Buenos Aires, Argentina.

c) Instituto de Micología y Botánica (INMIBO-CO-NICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón II, Ciudad Universitaria, CABA, Argentina.

miguelgalvagno@gmail.com

El Yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) es un cultivo tradicional andino pre-incaico extendido desde Colombia hasta el norte de Argentina. En sus raíces reservantes acumula hasta un 70% del peso en fructooligosacáridos (FOS, oligómeros de fructosa unidos por enlaces (2→1)-β-glicosídicos), sacarosa y fructosa. En 1981 la FAO declaró al yacón en estado de emergencia promoviendo su conservación y uso sostenible. En los alimentos para animales, elaborados en base a cereales el 80% del fósforo se encuentra en forma de ácido fítico (hexakis[dihidrogeno(fosfato)] de (1*r*,2*R*,3*S*,4*s*,5*R*,6*S*)-ciclohexano-1,2,3,4,5,6-hexailo). El ácido fítico actúa como antinutriente al ser quelante de micronutrientes, Zn y Fe. Debido a su degradación incompleta en animales monogástricos deficientes en actividad de fitasa el fósforo no puede ser asimilado por lo que pasa al medio ambiente con el correspondiente aumento de la DBO produciendo también eutrofización. Por lo tanto las dietas deben ser suplementadas con el agregado de fitasa.

En este trabajo se propone valorizar al yacón mediante la utilización de sus azúcares y estudiar la capacidad de la levadura *Debaromyces occidentalis* para producir actividad fitasa en un medio basado en extracto de *S. sonchifolius* (yacón) (YM).

Utilizando un diseño de optimización Box-Behnken, y analizado por metodología de superficie de respuesta se evaluaron las

53FMB

Queso cremoso elaborado con leche adicionada de leche en polvo

GIMÉNEZ, Paula^a; PEROTTI María C.^{a,b}; GEORGE, Guillermo A.^{a,b}; SPOTTI María^c; QUINTERO, Juan P^c; CABALLERO María. S^{a,b}; HYNES Erica R^{a,b}; BERGAMINI Carina V.^{a,b}.

a) Instituto de Lactología Industrial (UNL/CONI-CET)

b) Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, UNL

c) Laboratorio de Estudios Fisicoquímicos de Alimentos. ITA – FIQ, UNL

paula.gimenez92@gmail.com

El agregado de polvos lácteos a la leche de quesería es una estrategia para estandarizar el nivel proteico y/o aportar propiedades tecnofuncionales como la mejora de la textura y la retención de agua. Sin embargo, también aportan lactosa, la cual puede favorecer el desarrollo de defectos. El objetivo del presente trabajo fue determinar el impacto del uso de leche enriquecida con Leche en Polvo Descremada (LPD) en la elaboración y maduración de queso Cremoso. Se elaboraron por triplicado cinco tipos de queso: un control y cuatro experimentales. Los quesos control (C) se elaboraron con leche sin adición de LPD, mientras que los experimentales (E) fueron elaborados con leche adicionada de LPD (de bajo tratamiento térmico) a dos niveles de proteína (1-4g% y 2-4,7g% de proteína), con la inclusión (E1L y E2L) o no (E1 y E2) de un lavado de la cuajada (20%) durante la elaboración, con el objetivo de disminuir el nivel de lactosa que se incrementa por la adición del polvo. Se analizó la composición global (humedad, materia grasa y proteínas) y pH mediante métodos normalizados y se determinaron los niveles

condiciones óptimas para la producción de fitasa en YM optimizando la concentración de YM, temperatura, pH, inóculo, concentración de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y tiempo de fermentación en matraces agitados. Los máximos títulos de actividad fitasa se obtuvieron mediante cultivo a 28 ° C y pH 5,5, con un inóculo de 10^7 células/mL en medio con 0,11% p/v azúcares reductores de yacón, 0,65% p/v de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y 16 horas de fermentación. La localización de la fitasa se determinó mediante fraccionamiento subcelular y formación de protoplastos. La actividad máxima de fitasa alcanzada en estas condiciones fue más de 6 veces mayor que en medio no optimizado. El escalado en un biorreactor de tipo STR, O_2 disuelto 30% saturación, aumentó aún más la productividad de la fitasa en 1,5 veces. La fitasa producida se asoció a la fracción de la pared celular y su actividad óptima se obtuvo entre valores de rango de temperatura y pH de 75-80 ° C y 4.0-5.0, respectivamente, reteniendo el 80% de su actividad a 80 ° C durante 40 min. Los valores de K_m y V_{max} para fitato de la fitasa calculados a partir de gráficos de Lineaweaver Burk fueron 2,5 mM y 357 mU/mg de proteína, respectivamente. Los cationes Fe^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} inhibieron la actividad enzimática en un 87, 48 y 35%, respectivamente. Progresivamente el aumento de la concentración de fósforo en el medio inhibió la producción de enzimas, hasta 60% con 0,1% p/v H_2KPO_4 .

En conclusión, la biomasa de levadura, la producción de fitasa y la cinética de producción en YM fueron similares a los producidos en un medio a base de melaza de caña. El yacón resultó ser un sustrato nutritivo alternativo y prometedor para producir una fitasa unida a levadura como aditivo nutricional potencialmente aplicable en la industria de piensos.

del starter y NSLAB (bacterias lácticas no pertenecientes al fermento) por recuentos en placa. Además, se analizaron los niveles de ácidos orgánicos y azúcares (HPLC), el perfil de textura (por compresión al 30%) y la capacidad de fusión de los quesos (incremento de área de un cilindro de queso por calentamiento en estufa). Los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía ($p=0,05$). Las diferencias entre medias se determinaron mediante el test de Tukey.

Los quesos E tuvieron una composición similar ($p>0,05$) al C en cuanto al nivel de humedad, proteína y pH, mientras que el nivel de grasa fue menor ($p<0,05$) en E1L y E2 con respecto al C. En relación al nivel de lactosa, galactosa y ácido cítrico, se observó una tendencia de mayores niveles en los quesos E y una leve disminución debido al lavado de la cuajada; las diferencias para la lactosa y cítrico fueron significativas entre los quesos C y los quesos E1, E2 y E2L. Los niveles de ácido láctico fueron similares en todos los quesos. El recuento del starter se encontró dentro del orden esperado (10^9 UFC/g queso), mientras que el de NSLAB fue menor que 10^3 UFC/g queso en todos los quesos. El análisis de textura reveló que los quesos E1, E2 y E2L presentaron una dureza levemente superior al C y E1L, observándose diferencias significativas entre C y E2L, E1 y E1L, y E1L y E2L. La masticabilidad se incrementó en los quesos E, pero la diferencia fue significativa solo entre C y E2L. Los parámetros de recuperación elástica, cohesividad, resiliencia, adhesividad y capacidad de fusión fueron similares en todos los quesos.

El uso de leche enriquecida con LPD para la elaboración de queso Cremoso no tuvo en general un gran impacto en la composición, propiedades de textura y fusión de los quesos, ya que sólo produjo leves modificaciones en algunos parámetros dependiendo de las condiciones de elaboración.

Palabras claves: QUESO CREMOSO; LECHE EN POLVO; MADURACIÓN.

54FMB

Evaluación de estrategias de cultivo de actinobacterias para optimizar su monitoreo y manipulación

BAZÁN, Lucas A.^a; ADET, Cyntia^a; FUENTES, M. Soledad^a y BENIMELI, Claudia S.^{a,b}

a) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI)- CONICET. San Miguel de Tucumán

b) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Catamarca.

cbenimeli@yahoo.com.ar

Las actinobacterias tienen gran versatilidad metabólica, por lo que son importantes herramientas para aplicaciones biotecnológicas, tales como la biorremediación. Sin embargo, su manejo en el laboratorio requiere cierto cuidado, por lo que se deben desarrollar estrategias que permitan un monitoreo rápido y confiable de su fisiología y crecimiento celular.

El objetivo del trabajo fue estudiar comparativamente el crecimiento microbiano de *Streptomyces* sp. M7, en diferentes condiciones, incluyendo cultivo tradicional o adicionado con Tween 80, en presencia o ausencia de resortes de acero inoxidable, inoculando diferentes concentraciones iniciales del microorganismo.

Se utilizó como modelo de estudio *Streptomyces* sp. M7, una actinobacteria capaz de degradar diversos plaguicidas. Se realizaron cultivos inoculando diferentes concentraciones

nes iniciales de células vegetativas (1, 2, 4, 8 g L⁻¹) en medio mínimo adicionado con glucosa como fuente de carbono (10 g L⁻¹), en presencia o ausencia de Tween 80 (0,01 N) y de resortes de acero inoxidable, en el fondo del Erlenmeyer. Los cultivos se incubaron 7 días a 30 °C y 150 rpm. Se tomaron muestras diarias para determinar crecimiento microbiano (peso seco, recuento de UFC, espectrofotometría) y concentración de glucosa residual (kit enzimático).

En los cultivos tradicionales, en ausencia de Tween 80 y resortes, no se observaron diferencias significativas en el crecimiento microbiano al cabo de 7 días de incubación, cuando se emplearon las dos concentraciones de inóculo menores, determinado tanto por peso seco como por recuento de UFC. Sin embargo, a mayor concentración de inóculo inicial se obtuvo mayor crecimiento microbiano, lo cual fue corroborado empleando ambas técnicas analíticas. La biomasa final fue 1,58x10⁷; 1,47x10⁷; 2,65x10⁹ y 1,27x10¹⁰ UFC mL⁻¹ para los inóculos de 1, 2, 4 y 8 g L⁻¹, respectivamente. Para esta técnica de cultivo no se determinó el crecimiento por espectrofotometría debido a que las hifas microbianas formaron agrupaciones de filamentos de diferentes tamaños, los cuales se adhirieron a las paredes de vidrio de los Erlenmeyers, debido a la producción de exopolisacáridos.

En los cultivos realizados empleando resortes y Tween 80 se determinó el crecimiento microbiano mediante espectrofotometría, observándose al final del ensayo mayor biomasa al inocular mayor concentración inicial de microorganismo. La DO (505 nm) final obtenida para los inóculos de 1, 2, 4 y 8 g L⁻¹, fue 1,16; 0,23; 0,51 y 0,55, respectivamente.

En ambos ensayos se observó mayor velocidad de consumo de glucosa al incrementar la concentración inicial de inóculo, de-

teciéndose un consumo total de esta fuente de carbono a las 168 y 144 h para inóculos de 1 y 2 g L⁻¹ y a las 120 h para los inóculos de 4 y 8 g L⁻¹.

Teniendo en cuenta estos resultados y la producción de exopolisacárido en los dos cultivos con mayor concentración inicial de inóculo, incluso en presencia de Tween 80, se seleccionó la concentración de 2 g L⁻¹ para posteriores ensayos de biorremediación. El empleo de resortes y la técnica espectrofotométrica para la determinación de crecimiento microbiano resultaron más apropiadas, por su rapidez y sencillez, desde el punto de vista operativo.

Palabras claves: CULTIVO; ACTINOBACTERIAS; INÓCULOS; PELLETS.

SESIÓN 3

DISEÑO DE BIORREACTORES Y ESCALADO DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Transporte y consumo de oxígeno en bioprocesos aerobios: stress hidrodinámico

VERGARA, Priscilla ^b; GOMEZ, Emilio ^a;
VILLAR, Juan C. ^b; GARCIA-OCHOA, Félix^a

a) Dpto. Ingeniería Química y de Materiales. Facultad CC. Químicas. Universidad Complutense de Madrid, España

b) Dpto. Celulosa y Papel. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Madrid, España

El oxígeno es un nutriente esencial en los bioprocesos aerobios que, debido a su baja solubilidad en los caldos de cultivo, es necesario suministrar continuamente para mantener la concentración adecuada en el bioproceso.

La disponibilidad del oxígeno depende del balance de velocidad de dos fenómenos en serie: el transporte desde la fase gaseosa y el consumo en el cultivo.

La velocidad del transporte de oxígeno (OTR) depende de diversas variables (García-Ochoa y Gomez, 2009):

- Tipo y geometría del biorreactor, principalmente el tipo de contactor y las relaciones geométricas.
- Tipo de agitación y de distribución del gas: diseño y dimensiones.
- La velocidad de agitación y el caudal de gas: la energía suministrada por unidad de volumen.
- Las propiedades del cultivo: viscosidad y tensión superficial, básicamente.

La velocidad de consumo de oxígeno (OUR) depende del bioproceso en cuestión. El mayor consumo se produce por el crecimiento celular y, en menor medida, por el mantenimiento del cultivo y, en algunas oca-

siones, por la síntesis del producto y de los subproductos (García-Ochoa y col. 2010).

Un suministro suficiente de oxígeno es fundamental para el progreso de cultivos aerobios (bacterias, levaduras, células de mamíferos y plantas). La concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo depende del balance de las dos velocidades citadas; si la velocidad de consumo es potencialmente mayor que la velocidad de transporte, caso frecuente, la concentración de oxígeno disminuirá, incluso llegando a un valor próximo a cero; en caso contrario, la disponibilidad de oxígeno será mayor y su concentración en el líquido alcanzará un valor determinado. Esta situación cambia con el tiempo durante el transcurso del proceso.

Normalmente, se busca una OTR alta, para satisfacer la OUR demandada por el cultivo. Esto se consigue aumentando la velocidad de agitación (la variable que más influye en OTR). El aumento de dicha velocidad de agitación puede llevar consigo la aparición de stress hidrodinámico, con daño celular, modificando la velocidad de crecimiento y de producción (García-Ochoa y col. 2020).

Por otro lado, si se utiliza una OTR elevada y la concentración de oxígeno en el líquido aumenta mucho, puede originarse un cambio en las rutas metabólicas y puede cambiar drásticamente la distribución de metabolitos o productos (García-Ochoa y col. 2020).

Para un correcto desarrollo de un bioproceso aerobio, es necesario estudiar estos aspectos (OTR, OUR y posible stress) a nivel de laboratorio. Recientemente, se ha puesto de manifiesto la posibilidad de un cambio en las rutas metabólicas, como se ha comentado, por lo que el cambio de escala a mayores tamaños debe hacerse teniendo en cuenta los tres fenómenos: transporte, consumo y posibilidad de stress hidrodinámico, pero asegurando el nivel de oxígeno disuelto

apropiado en cada caso. Para ello, el mejor criterio de cambio de escala se ha demostrado ser la constancia del valor del coeficiente de transporte ($k_L a$), en lugar del criterio más utilizado de conservar la potencia suministrada por unidad de volumen (P/V).

2DBEP

Metodología rápida para calcular la transferencia de CO_2 en medios acuosos

IBAÑEZ, Manuel V.^{a, b}; **LEONARDI, Rodrigo J.**^c; **PALMIER, Maximiliano**^a; **HEINRICH, Josué M.**^{a, b}

a) Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

b) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional del

Litoral (UNL), Güemes 3450 (S3000GLN), Santa Fe, Argentina.

c) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental, Departamento de Medio Ambiente (DMA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

mibaniez@intec.unl.edu.ar

En los reactores biológicos destinados a la propagación autotrófica de microalgas, las concentraciones de Oxígeno y de Dióxido de Carbono en la solución juegan un papel muy importante. El CO_2 es la única fuente de carbono durante el crecimiento fotosintético siendo su principal reservorio la fase gaseosa en contacto con la suspensión acuosa.

Entre la fase gaseosa y el sitio donde se da la fotosíntesis existen numerosas barreras que el CO_2 debe sortear antes de la fijación biológica, siendo el proceso de disolución gas – líquido, y la hidratación de las moléculas de CO_2 disueltas, las etapas más importantes.

En este trabajo, se aplica una perspectiva de trabajo sistemática, derivada de la termodinámica irreversible, que permitió la cuantificación de las constantes cinéticas de disolución gas – líquido e hidratación del CO_2 en un medio de cultivo para algas. La metodología implicó el diseño de un estado inicial de equilibrio en el medio líquido presente en un bioreactor en el que burbujeaba una corriente de aire filtrado, y que es perturbado por el agregado de una concentración arbitraria de hidróxido de Sodio (NaOH). Con la ayuda de un trazador coloreado, Rojo Cresol, se cuantificó el cambio en la absorbancia de la solución hasta alcanzar un nuevo estado de equilibrio, debido a la incorporación de CO_2 proveniente de la fase gaseosa en contacto con el líquido. Bajo las mismas condiciones de Temperatura, Agitación y Caudal de Aire, se estudió la cinética de nueve condiciones iniciales diferentes, obteniéndose para cada una de ellas, las mismas constantes cinéticas para el modelo de absorción propuesto.

Colectivamente, los resultados de este trabajo sugieren que el modelo fisicoquímico desarrollado puede ser implementado a otros sistemas de cultivo, permitiendo de manera sencilla la incorporación de la transferencia de materia de CO_2 en las expresiones cinéticas para el crecimiento de microorganismos fotosintéticos. De lo anterior se desprende también que una herramienta de cálculo rápido y sencillo de constantes cinéticas permite, entre otras cosas, la comparación rápida entre la eficiencia de diferentes bioreactores para la transferencia de materia y su consecuente optimización para el diseño de unidades más eficientes y que

puedan cubrir las necesidades de un proceso particular.

Adicionalmente, de los resultados se demuestra que cada paso que ocurre en simultáneo es acoplado, y que la reacción de hidratación de CO_2 disuelto es la etapa determinante del proceso de transferencia gas – líquido. Esto último, sustenta las observaciones experimentales de diversos autores sobre que el enriquecimiento de CO_2 en la fase gaseosa puede causar pérdidas económicas, debido a que no todo el carbono suministrado será empleado para la producción de biomasa, y como predice el modelo presentado en este trabajo, parte de dicho nutriente retorna a la fase gas y se pierde del sistema de cultivo (proceso de desorción de CO_2). Finalmente, un aporte adicional de este trabajo es que se puede extender el uso del método al estudio de la transferencia de materia de O_2 generado durante la fotosíntesis (principal inhibidor del desarrollo de cultivos fotosintéticos).

Palabras claves: DIÓXIDO DE CARBONO; TRANSFERENCIA DE MATERIA; MICROALGAS; FOTOBIOREACTOR.

3DBEP

Cálculo rápido de la productividad fotoautotrófica de fotobioreactores tubulares horizontales

IBAÑEZ, Manuel V. ^{a, b}; LEONARDI, Rodrigo J. ^c; HEINRICH, Josué M. ^{a, b}

a) Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

cas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

b) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional del

Litoral (UNL), Güemes 3450 (S3000GLN), Santa Fe, Argentina.

c) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental, Departamento de Medio Ambiente (DMA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

mibaniez@intec.unl.edu.ar

Los fotobiorreactores (PBR) son las unidades preferidas para el cultivo de microorganismos fotosintéticos. Incluso si el cultivo es mixotrófico o autótrofo, la luz debe llegar a la suspensión atravesando las paredes de la unidad. En consecuencia, la optimización y el control de la transferencia de luz en los PBR están ligados a la estrecha relación entre las características de la Fuente de Luz, la Geometría del Sistema y las Propiedades Radiativas de los microorganismos dependientes del estado fisiológico de la célula en un momento dado. La combinación de estas tres características en la ecuación de Transferencia Radiativa permite el acceso al Campo de Energía Radiante en un PBR y, posteriormente, el conocimiento de la disponibilidad de luz dentro de la unidad y las tasas volumétricas locales de absorción de luz en el rango espectral de trabajo. Las tasas de absorción se pueden traducir luego en valores de tasa de crecimiento vinculados a una expresión cinética de crecimiento y, además, la productividad de una configuración particular. No obstante, durante la progresión de un cultivo, el campo de energía radiante y la composición del medio líquido cambian dinámicamente y significativamente. Así, los procesos biológicos foto-adaptativos y fí-

sico-químicos del sistema podrían alterar las propiedades de radiación de la suspensión, a través de variaciones en la composición de la biomasa y morfología de las células, alterando directamente el crecimiento.

Aquí presentamos un enfoque para cuantificar las propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas y luego utilizar a las mismas para calcular la productividad de un fotobiorreactor tubular horizontal perteneciente a la compañía MINT Engineering GmbH (Dresden, Alemania). Se empleó con éxito una metodología sencilla, consistente en iluminar una suspensión de microalgas con una fuente de radiación policromática caracterizada y evaluar cómo se modifican las direcciones y la cantidad de energía transportada por los haces de luz tras atravesar la suspensión. Posteriormente, mediante un programa de optimización, los datos experimentales del cultivo fueron usados para determinar los coeficientes espectrales de absorción y de dispersión de los fotones, y la función de fase de dispersión de la suspensión. Por último, la combinación de la información geométrica de la unidad, junto con el conocimiento de la composición espectral y direccional de la Luz suministrada a la suspensión, y una expresión cinética derivada de la fase dependiente de la luz de la fotosíntesis, permitieron resolver el conjunto de ecuaciones diferenciales que caracterizan al bioproceso y así calcular la performance de las unidades productivas involucradas.

Para seis cultivos batch de *A. platensis* (Spirulina), se analizaron muestras diarias correspondientes a un tiempo de proceso de una semana, utilizando con éxito un balance energético que es independiente de la concentración de biomasa o pigmento. En conjunto, los resultados aquí presentados sugieren que esta metodología podría adaptarse a otras suspensiones, geometrías de reactores y fuente de luz involucradas, permitiendo formas accesibles de evaluar

las características radiativas de los microorganismos fototróficos y su productividad en el contexto complejo de la evolución en el tiempo del campo de energía radiante dentro de un fotobiorreactor.

Palabras claves: PROPIEDADES RADIATIVAS, DISPONIBILIDAD DE LUZ, FOTOBIOREACTOR, MICROALGA, PRODUCTIVIDAD.

4DBEP

*Evaluación del crecimiento de *Haematococcuspluvialis* en un simulador de condiciones outdoor*

IBAÑEZ, Manuel V. ^{a, b}; **LEONARDI, Rodrigo J.** ^c; **PALMIER, Maximiliano** ^a; **HEINRICH, Josué M.** ^{a, b}

a) Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

b) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Güemes 3450 (S3000GLN), Santa Fe, Argentina.

c) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental, Departamento de Medio Ambiente (DMA), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Ciudad Universitaria (Paraje El Pozo), Santa Fe, Argentina.

mibaniez@intec.unl.edu.ar

Haematococcuspluvialis es una microalga verde de interés comercial e industrial por su capacidad de acumular grandes cantidades de Astaxantina, uno de los pigmentos an-

tioxidantes más poderosos de la naturaleza. Los mercados más importantes del carotenoide son las áreas relacionadas a la acuicultura, y la producción de nutracéuticos y fármacos.

Con fines de producción de biomasa y Astaxantina de *H. pluvialis* en condiciones *outdoor*, a escala de planta piloto o industrial, es necesario la elección de un Fotobiorreactor (FBR), las condiciones de cultivo y las de operación. En estos sistemas, la luz juega un rol importante en el crecimiento de la biomasa, en la acumulación de carotenoides, y en la regulación del ciclo celular. En los sistemas de producción a gran escala se observan notables diferencias mensuales en la productividad de la biomasa, de la Astaxantina, y en la duración del ciclo de producción, debido principalmente a las fluctuaciones de luz (calidad, cantidad y tiempo).

Para evaluar rápidamente la performance de un FBR puede recurrirse a metodologías experimentales, las cuales persiguen reproducir las condiciones de cultivo *outdoor* en el laboratorio. El potencial de estas técnicas radica en la obtención de información para la elección del Fotobiorreactor, la cepa, y las condiciones de cultivo, en un tiempo relativamente corto respecto al de instalación de un FBR, su puesta en funcionamiento y entrada en régimen. Otra ventaja potencial es la reducción de los costos de construcción y de operación de un sistema de cultivo que no satisface las necesidades del proceso.

En el presente trabajo se utilizó una metodología experimental para evaluar la conducta de crecimiento de una cepa local de *H. pluvialis* en un reactor columna de burbujeo de 30 L en condiciones de iluminación natural de días típicos de verano, otoño e invierno de Santa Fe (Argentina), operando el dispositivo en forma batch, y

dejando libremente variar la composición del medio de cultivo y el pH. La iluminación se reprodujo en términos de la cantidad de luz que llega al reactor por unidad de tiempo y volumen [$\mu\text{mol s}^{-1} \text{L}^{-1}$], en un reactor de laboratorio comercial marca Infors HT, y con un módulo de iluminación LED de amplio espectro blanco frío.

De los resultados experimentales se observa que el perfil de iluminación tiene un gran impacto sobre la productividad de la biomasa y de carotenoides totales, la duración del ciclo de vida, la cantidad de biomasa producida y el contenido de pigmentos. Cuanto más grande es la radiación diaria que recibe el FBR, menor es la cantidad de biomasa producida, y el contenido de pigmentos es mayor. Finalmente, se destaca que, si bien en este trabajo se focalizó en analizar el impacto de la luz sobre los cultivos de una cepa nativa de *H. pluvialis*, a partir de la técnica empleada se pueden encontrar las condiciones óptimas que permitan el desarrollo de la cepa a nivel industrial (Temperatura y pH, principalmente), tomando como base los flujos de radiación aquí presentados en la selección de nuevos parámetros operativos.

Palabras claves: HAEMATOCOCCUSPLUVIALIS, ASTAXANTINA, REPRODUCCIÓN DE ILUMINACIÓN OUTDOOR, LEDS, FOTOBIOREACTORES.

Modelo para predecir la producción de biogás del escalado en DAS

GIL, Rocio M.^{a,b}; RODRÍGUEZ, Laura A.^a; MARTIN, María L.^a; SANTANA Anelise^a, KUCHEN, Benjamin^{a,b}

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

rocio.mariel.gil@gmail.com

Últimamente, los bioprocesos son usados para la transformación de residuos agroindustriales en productos reutilizables en cadenas de producción amigables con el medio ambiente. Un ejemplo de ello es la digestión anaerobia, la cual puede ser llevada a cabo por dos vías, el proceso húmedo (DAH) y el seco, denominado como digestión anaerobia seca (DAS). Existen modelos desarrollados para las DAH, como el ADM1, pero no se encontraron modelos para las DASS. En este trabajo se simuló de manera computacional el proceso de DAS para el Alperujo (ALP), residuo de la extracción de aceite de oliva por dos fases, en una escala de laboratorio con el fin de evaluar la producción de biogás y el empleo de sus resultados para un cambio de escala del proceso. Las pruebas de DAS se realizaron a 37°C en reactores de 60 mL, alimentando con el 60% p / p de TS en un modo de alimentación por lotes. Se ajustó un modelo cinético basado en la ecuación de Gompertz que predice la producción de biogás a lo largo del tiempo con pocas entradas. Los parámetros de dicho modelo se ajustaron a partir de los datos experimentales. Al modelo ajustado con los parámetros de laboratorio se utilizó como herramienta de control durante las pruebas

posteriores realizadas a escala piloto en un digester de 200 L alimentado en modo discontinuo. Se obtuvieron rendimientos de biogás entre 0.5 y 0.9 Nm³ / kgVS, y contenidos de metano de 40-53% v/v en ambas escalas. El modelo derivado de los resultados del procedimiento propuesto es adecuado para una evaluación del cambio de escala del proceso de DAS.

Palabras claves: ESCALADO, BIOGAS, ALPERUJO

6DBEP

Escalado de un reactor FES en la detoxificación del alperujo. Del laboratorio a una planta piloto

RODRÍGUEZ, Laura A.^a; ANDREOLLI, Luciana^a
GIL Rocío M.^{a, b}; KUCHEN, Benjamin^{a, b}

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

laurirodriguez@gmail.com

El alperujo (AL) es un subproducto del proceso de extracción de aceite de oliva en sistemas de dos fases. Es semisólido, está compuesto por azúcares, proteínas, ácidos orgánicos, lípidos, pectinas y compuestos fenólicos (CF). Debido al contenido de CF, frecuentemente, es inhibitorio para el desarrollo de microorganismos (se lo considera nocivo para el suelo) y, legalmente requiere un tratamiento previo a su disposición final. La Fermentación en Estado Sólido (FES) es un tratamiento que posibilita la detoxificación y valorización del AL, sin embargo las investigaciones existentes son en pequeñas

escalas (laboratorio y banco). Los residuos agrícolas se presentan en grandes volúmenes y es por ello que se requiere un estudio del escalado del proceso, manteniendo los aspectos biotecnológicos que aseguren la degradación del mismo. En las FES, los principales problemas en los cambios de escala son: remoción de calor metabólico, suministro de aire y mezclado. El objetivo de este trabajo fue realizar un escalado hasta un reactor de 20000 L, mediante pruebas experimentales con aumentos progresivos de escalas (reactores de banco) y aplicando criterios de escalado para la última etapa (reactor de escala piloto). El porcentaje de degradación de contenido fenólico (% CF) y el tiempo necesario para alcanzarlo (t), fueron variables indicativas de los resultados alcanzados en cada etapa del escalado. Las pruebas comenzaron en cajas de Petri (CP) con 20 g de medio de cultivo y luego se continuaron en un reactor de lecho fijo (RLF) de 10 L, con 2000 g de medio de cultivo (Relación de Escala 1:100). El % CF alcanzado fue 80%, porcentaje importante teniendo en cuenta la rapidez con la que lo alcanzo, pero el cultivo no se pudo prolongar más allá de los 7 días debido a la falta de humedad del lecho. En ambas escalas la ausencia de remoción de calor fue notable, por lo que se decidió, optar por un reactor con agitación y aireación forzada para la siguiente etapa. En un reactor de tambor agitado (RTA) de 35 L con 20 Kg de medio de cultivo (Escala 1:10), el % de CF fue de 80 %, pero el cultivo se prolongó hasta los 30 días, algo favorable ya que permitió entre otras cosas estudiar actividades enzimáticas relacionadas con la degradación de los CF. La siguiente etapa fue una FES con 50 Kg de medio de cultivo, en un reactor de tambor rotatorio (RTR) de 400 L, con agitación pero sin aireación forzada. Se logró mantener el contenido de agua en un rango aceptable para la fermentación y el porcentaje de disminución de CF fue de 65% en 30 días. Para la última etapa, el objetivo

es fermentar 250 Kg en un RTR de 20000 L. Aplicando criterios de similitud geométrica y dinámica, más precisamente agitación (velocidad de rotación crítica (N_c) y n° de rotaciones del tambor (ω) y porcentaje de llenado) y aireación, se determinó que es necesario un reactor de $D=1.05$ m, $H= 2.10$ m, $N_c=14$ r.p.m, $\omega=0.2$ m^{-1} con un volumen de trabajo del 30 %.

7DBEP

Efectos de la aireación sobre cultivos de *arthrospira platensis* en fotobiorreactores neumáticos

ARGUMEDO MOIX, Maximiliano C. J.^a;
GUTIÉRREZ, María del C.^a; GIULIETTI, Ana M.^{a,b};
BUSTO, Víctor D.^{a,b}

a) Centro de Tecnologías Químicas, Facultad Regional Buenos Aires, Universidad Tecnológica Nacional

b) Instituto NANOBIOTEC (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

maxcjam@gmail.com

Arthrospira (Spirulina) platensis es una cianobacteria verde azulada que puede ser utilizada como suplemento en alimentación humana y animal, como producto nutracéutico, para el tratamiento de aguas residuales, en industria de cosméticos y en agricultura como biofertilizante. En el diseño y selección de un fotobiorreactor adecuado para el cultivo de *A. platensis* debe considerarse no solo un adecuado suministro de luz sino un eficiente mezclado y transferencia

de CO_2 . En este sentido, los fotobiorreactores neumáticos resultan aptos y cuentan con dichas propiedades. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la velocidad de aireación y del diseño del aireador sobre el crecimiento y la composición bioquímica de cultivos de *A. platensis* en fotobiorreactores neumáticos. Para ello, se utilizaron fotobiorreactores neumáticos tipo columnas de burbujeo conteniendo 200 mL de medio de cultivo Zarrouk, aplicando diferentes velocidades de aireación (0,008, 0,012, 0,019 y 0,034 vvm) y utilizando aireadores con o sin difusores microporosos. Todos los cultivos se realizaron a 28°C bajo una intensidad lumínica de 60 $\mu mol s^{-1} m^{-2}$ y un fotoperíodo de 12 hs/12 hs (luz/oscuridad). El crecimiento fue seguido mediante densidad óptica a 560 nm y correlacionado con la biomasa en base seca (g PS). A los 21 días de cultivo se determinaron los contenidos de proteínas y ficocianina. Se estimaron parámetros cinéticos como la velocidad específica de crecimiento (μ) y el índice de crecimiento (IC). Además, se determinaron el coeficiente volumétrico de transferencia de masa referido al CO_2 ($k_L a_{CO_2}$) y volumen total de la fase gaseosa retenida (hold-up). El incremento paulatino de la velocidad de aireación condujo a un aumento en el valor del $k_L a_{CO_2}$ y del hold-up de hasta 2,6 y 4,2 veces en relación con los obtenidos a la menor velocidad de aireación (0,008 vvm), respectivamente. Esto tuvo un efecto positivo sobre los cultivos de *A. platensis* incrementando la μ desde $0,203 \pm 0,016$ hasta $0,295 \pm 0,024$ d^{-1} . La producción de biomasa y los IC de *A. platensis* se incrementaron un 43% y un 45% a las velocidades de aireación más elevadas (0,019 y 0,034 vvm) en relación a las más bajas (0,008 y 0,012 vvm), respectivamente. Si bien no se observaron diferencias significativas, la utilización de difusores microporosos incrementó aproximadamente un 5% la producción de biomasa. La producción máxima de biomasa fue de $1,27 \pm$

0,11 g PS/L a los 21 días de cultivo utilizando difusores microporosos a una velocidad de aireación de 0,019 vvm. Por otra parte, no se hallaron diferencias significativas en torno a los contenidos proteico y de ficocianina de los cultivos de *A. platensis* bajo todas las condiciones estudiadas. Sin embargo, el contenido proteico tendió a aumentar con el descenso de las velocidades de aireación. Se puede concluir que la μ y la producción de biomasa de *A. platensis* pueden incrementarse con el aumento de la velocidad de aireación en fotobiorreactores neumáticos, y que el uso de difusores microporosos podría redundar en un incremento significativo de la biomasa controlando posiblemente el diámetro de las burbujas generadas.

Palabras claves: ARTHROSPIRA PLATENSIS; FOTOBIORREACTORES NEUMÁTICOS; AIREACIÓN; AIREADOR; BIOMASA.

8DBEP

Factibilidad de escalado para producción de ácidos grasos ω -3 empleando microalgas marinas

HINTERMEISTER, Emilia^a; SANCHEZ, Esteban A.^a; MANUALE, Debora L.^a; TORRESI, Pablo A.^a; YORI, Juan C.^a; BECCARIA, Alejandro J.^b

a) Grupo de Valorización de Descartes Agroindustriales (GVDA) - INCAPE, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral - CONICET.

b) Laboratorio de Fermentaciones, Facultad Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral.

esanchez@fiq.unl.edu.ar

Los ácidos grasos (AG) son esenciales en la dieta. Los AG ω -3 (eicosapentaenoico, EPA y docosahexaenoico, DHA) tienen rol vasodilatador, desinflamatorio y de desarrollo. Los AG ω -3 se producen en plantas y microalgas marinas. El DHA de microalgas es un producto sin contaminantes, con bajo costo y reducido impacto ambiental. Argentina importa 50 ton/año de aceite de algas con 40% p/p DHA. La Provincia de Santa Fe dispone de subproductos agroindustriales (glicerol, soja) y descartes hortícolas (zanahoria, batata) con potencial como materias primas abundantes y económicas.

El objetivo será formular medios de cultivo económicos empleando subproductos y descartes regionales como fuente de carbono y nitrógeno (FCN) para producir DHA con microalgas. Se pretende escalar el proceso, maximizando crecimiento (X_c) y rendimiento (R_c) celular, velocidad específica de crecimiento (μ) y producción DHA (P_D).

Se evaluó la cepa *Aurantiochytrium* sp. en cultivo *batch* de 0,1L por 120 h (aerobio, 30°C, 150 rpm) con medio: GLC* (extracto levadura 5 gL⁻¹; peptona carne 5 gL⁻¹; glucosa 35 gL⁻¹), GLC (GLC* sin extracto levadura), GRO (GLC sin glucosa y con glicerol 60 gL⁻¹) y MZA (GLC sin glucosa y con melaza zanahoria 120 gL⁻¹). También se evaluó en biorreactor *batch* alimentado de 1L y 10L por 100 h (aerobio, 30°C, 300 rpm) con medios GRO y GLC. Los cultivos se cosecharon y determinó gravimétricamente concentración de biomasa y aceites. La biomasa de biorreactores se utilizó en procesos extractivos (sonicación, centrifugación y/o destilación al vacío) y perfil de AG (cromatografía gaseosa).

Para cultivos *batch* (0,1L) con GLC*, GLC y GRO, X_c fue idéntico, con similar μ (0,70-0,72 h⁻¹) y R_c (10,50-11,00 gL⁻¹). Aunque μ fue similar (0,68 h⁻¹) en cultivo *batch* con MZA, X_c fue menor y R_c 3 veces inferior, denotando dificultad del microalga para incorporar FCN

desde melaza zanahoria. La mayor P_{DHA} se obtuvo con GLC ($2,62 \text{ gL}^{-1}$) y GRO ($1,84 \text{ gL}^{-1}$), siendo 4 y 10 veces menor para GLC* y MZA, respectivamente, comparando con GLC.

En biorreactores *batch* alimentado con GRO, μ fueron idénticas ($0,20 \text{ h}^{-1}$), mientras R_c para 1L ($27,87 \text{ gL}^{-1}$) fue más del doble que R_c para 10L ($12,15 \text{ gL}^{-1}$). El aumento de escala 10 veces disminuyó X_c y generó 3,3 veces menos P_{DHA} ($2,14 \text{ gL}^{-1}$). Esto podría mejorarse incrementando las inyecciones de sustrato.

Para biorreactores *batch* alimentado con GLC, el aumento de escala 10 veces mejoró μ ($0,22$ a $0,74 \text{ h}^{-1}$, respectivamente) y R_c ($4,68$ a $22,63 \text{ gL}^{-1}$, respectivamente). El escalado aumentó X_c e incrementó 4,6 veces la P_{DHA} ($4,17 \text{ gL}^{-1}$). Esto fue posiblemente debido a mayor cantidad de inyecciones de sustrato.

El cultivo *batch* alimentado de *Aurantiochytrium* sp. es promisorio. La ausencia de extracto de levadura no afecta los parámetros de cultivo y supone ahorro para el escalado. Se propone hidrolizar la melaza de zanahoria para disponer monosacáridos libres. El contenido de DHA superó 40% p/p de los AG totales del microalga, siendo promisorio para optimizar el escalado a 100L. Se evaluará la P_{DHA} para medios con otros descartes regionales (soja, papa, batata), previa hidrólisis para biodisponer azúcares simples.

Palabras claves: SUBPRODUCTOS; DESCARTES; SCHIZOCHYTRIUM SP.; BATCH ALIMENTADO; ÁCIDOS GRASOS ω -3.

SESIÓN 4

PROCESOS DE RECUPERACIÓN Y PURIFICACIÓN DE MACROMOLÉCULAS

Conferencia Sesión 4: Procesos de
recuperación y purificación de
macromoléculas

Continuous recovery and purification of bioproducts on the basis of adsorption technology

FERNÁNDEZ LAHORE, Marcelo

*Department of Life Sciences and Chemistry,
Jacobs University, Bremen, Germany*

*Environmental and Industrial Biotechnolo-
gies, Luxembourg Institute of Technology.*

The recovery and purification of various types of byproducts, including, but not limited to, proteins of biotherapeutic interest, has been highly dependent on adsorption and chromatography. Different chromatographic modes are implemented for that purpose, depending on the properties of the target macromolecule as opposed to the properties of the significant contaminating species.

The traditional way of recovering and purifying bioproducts on the basis of chromatography has been in batch mode. However, in the last two decades there has been a tendency to improve their base situation.

The concept of “process integration” has been applied to chromatographic separations through the implementation of fluidized / classified beds that allowed the use of raw raw material, even in the case of the presence of suspended particles (cells, cellular debris, etc.). This particular way of running a chromatographic separation presents particular challenges, for which solutions can be proposed today.

The concept of “process intensification” has been applied to chromatographic se-

parations by implementing sophisticated schemes such as simulating motion chromatography. This has allowed for continuous separations to occur. However, the processing of unclear raw materials is not possible in this case.

Its objective is to synergize the advantages of the integration and intensification of processes in a single operating unit, which allows a simplified, robust and CONTINUOUS mode of operation. To do this, we are currently working on a modified version of fluidized beds and fibrous adsorbents, which allow unconventional processing schemes. Our work reveals the challenges that lie ahead and suggests some possible avenues of research to alleviate the current limitations of environmental processing in industrial settings.

2PRPM

Revalorización del destilado desodorizante de soja mediante la recuperación de tocoferoles

MARTINI, Georgina^a; BUSTILLO, Soledad^b; NERLI, Bibiana B.^a; P. MALPIEDI, Luciana^a

a) Laboratorio de Sistemas Autoensamblados. Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ). Universidad Nacional de Rosario (UNR) - CONICET. Suipacha 531, 1er piso, Rosario – Santa Fe. CP: 2000.

b) Grupo de Investigaciones Bioquímicas y Moleculares (GIBYM), IQUIBA-NEA CONICET, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

geormartini@gmail.com

Introducción: Los tocoferoles (vitamina E), potentes antioxidantes naturales, están recibiendo una atención creciente en aplicaciones industriales, que van desde la industria alimenticia, farmacéutica y hasta la cosmética. Una de las grandes fuentes naturales de los tocoferoles (TF) es el desodorizado de soja (SODD), el cual se obtiene del último paso del proceso de refinación del aceite de soja crudo. Hoy en día, el consumo creciente de aceite de soja está conduciendo a una mayor producción de este subproducto, por lo que su valorización es fundamental. En este trabajo se evaluó la conveniencia de acoplar el proceso de saponificación a una extracción con sistemas micelares mixtos de bajo impacto formados por el surfactante no iónico Tergitol 15-S-7 (Tg7) y el biosurfactante aniónico-ramnolípido (RL), en la recuperación de TFs de SODD.

Metodología: 50 mg de SODD fueron sometidos a un proceso de saponificación con base fuerte y en caliente, en presencia de Tg7 al 12% p/p. Luego de enfriar la muestra, se adicionaron 2,00 g de solución de Tg7 al 9% p/p disuelta en NaCit 200 mM pH 5,00, y RL (0,25% p/p finales). Dicha mezcla se incubó tres horas a 65 °C, dando como resultado la formación de un sistema micelar de dos fases acuosas. Después de la incubación, se determinaron visualmente los volúmenes de las fases y se tomaron muestras de las fases superior e inferior para estimar la actividad antioxidante (AA) medida por ABTS, el contenido recuperado de TFs (HPLC), y eficiencia de encapsulado, mediante una centrifugación con filtros de 10 KDa, y posterior análisis de AA y HPLC. Para fines comparativos, también se llevó a cabo la reacción de saponificación seguida de extracción convencional con solventes, a la cual se le realizaron los mismos análisis que los descritos previamente.

Resultados: La comparación entre ambos protocolos de saponificación (convencional y acoplada a extracción con micelas mixtas) se realizó empleando del Test de Fisher, basado en la diferencia mínima significativa (LSD). Dicho análisis mostró que los valores de AA obtenidos para las muestras de fase micelar superior (FS) (2,83 mmoles ET/g SODD) fueron significativamente superiores los obtenidos para las muestras correspondientes a la saponificación convencional (1,65 mmoles ET/g SODD). Asimismo, se observó que prácticamente toda la AA fue recuperada en dicha fase, dado que el rendimiento de extracción fue superior al 95%. También se corroboró que, con un valor de significancia del 5%, la extracción individual de cada TF fue superior en la FS del sistema micelar, con rendimientos superiores al 92%. Finalmente, los análisis de eficiencia de encapsulado demostraron que el 93% de los tocoferoles recuperados en la FS se encontraban asociados a las micelas. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos permiten concluir sobre la factibilidad de usar sistemas micelares mixtos como método extractivo alternativo a la recuperación de TFs de SODD. Dicho método tiene como ventaja adicional el hecho de que la mayoría de los TFs se encuentran encapsulados en las micelas, lo cual contribuye a su estabilización y mejora en la capacidad antioxidante.

Palabras claves: SISTEMAS MICELARES MIXTOS; EXTRACCIÓN; TOCOFEROLES.

3PRPM

*Purificación de una nueva enzima fibrinolítica secretada por *Hornodermoporus martius* LBM 224*

ACOSTA, Gabriela A.^{a,b}; FONSECA, María I.^{a,b}; FARIÑA, Julia I.^c; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Eberca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina

c) Laboratorio de Micodiversidad & Micoprospección. PROIMI-CONICET. Tucumán, Argentina.

gaby_acosta@hotmail.com

Las enzimas fibrinolíticas producidas por hongos han cobrado gran importancia para el tratamiento de enfermedades del sistema cardiovascular. Nuestro grupo de trabajo ha evaluado la capacidad *Hornodermoporus martius* LBM 224 de producir enzimas extracelulares con actividad fibrinolítica (Fb), lo cual ofrece una ventaja a la hora de su recuperación y purificación, y ha optimizado los parámetros de cultivo para la producción enzimática de interés. El objetivo de este trabajo fue purificar la enzima fibrinolítica producida por *H. martius* LBM 224.

La purificación de la enzima fibrinolítica se realizó a partir del sobrenadante de cultivo en medio líquido optimizado (conteniendo en g/L: glucosa, 35; extracto de carne, 5; NaCl, 2; KH_2PO_4 , 0,5 y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5) a los 21 días de incubación a 28 °C, el cual se separó del micelio por centrifugación a 4.400 x g durante 10 min a temperatura ambiente. El sobrenadante obtenido se filtró

utilizando un filtro de jeringa (Biofil™) con una membrana de fluoruro de polivinilideno de 0,22 µm obteniéndose un sobrenadante enzimático libre de micelio y esporas. A continuación, se realizó una precipitación en dos etapas. En la primera etapa al sobrenadante se le adicionó 1 volumen de acetona fría (-18 °C) y se incubó con agitación constante en baño de hielo durante 1 h. Se centrifugó a 10.000 x g a 4 °C durante 30 min y los precipitados obtenidos en esta primera etapa se resuspendieron en agua destilada (P1) para su evaluación. Por otro lado, a los sobrenadantes obtenidos de la primera precipitación se les adicionó nuevamente 1 volumen de acetona fría bajo las condiciones anteriormente descritas. Los precipitados obtenidos en esta segunda etapa se resuspendieron en agua destilada (P2) para su evaluación, mientras que los sobrenadantes se descartaron. La fracción P2 se separó mediante ultrafiltración (MWCO 30 kDa) utilizando columnas Pierce Concentrator (ThermoScientific™). Las diferentes fracciones obtenidas: sobrenadante y cada etapa de recuperación/purificación parcial, se evaluaron mediante SDS-PAGE y la determinación de la cantidad de proteínas se realizó utilizando el reactivo de Bradford (Sigma Aldrich®) con albúmina de suero bovino como estándar. La actividad Fb se determinó mediante el método de degradación de fibrina de Wang *et al.* (2011) midiendo la absorbancia del producto de degradación de la fibrina a 275 nm. Las unidades de actividad enzimática, expresadas como unidades de degradación de fibrina (FU), se definen como el incremento de 0,01 unidades de absorbancia a 275 nm por min de reacción.

Como resultado se obtuvo una enzima fibrinolítica purificada a homogeneidad, evidenciada por la presencia de una sola banda de 29 kDa en SDS-PAGE, con actividad Fb específica de 531,69 FU/mg, un factor

de purificación de 3,9 y un rendimiento del 35,47 %. Este método de purificación resultó ser sencillo, económico y rápido, ya que no requiere equipos complejos y utiliza bajas proporciones de solvente, siendo una buena alternativa para la purificación de la enzima fibrinolítica secretada por *H. martius* LBM 224.

Palabras claves: ENZIMAS FIBRINOLÍTICAS; PURIFICACIÓN; AGARICOMICETE; HORNODERMOPORUS MARTIUS.

4PRPM

Producción de la enzima recombinante Lactato Oxidasa a escala de laboratorio

MANASSERO, Agustina^a; AMARANTO, Marilla^a; PERNIGOTTI, Martín^b; BARRA, José L^a; GODINO, Agustina^a.

a) CIQUIBIC-CONICET, DQBRC, FCQ, UNC, Córdoba, Argentina

b) Wiener Laboratorios SAIC, Riobamba 2944, Rosario, Argentina

agustinagodino@gmail.com

La enzima Lactato Oxidas (LOX) es ampliamente utilizada en la formulación de kits, biosensores y reactivos diagnósticos destinados a medir la concentración de lactato en muestras biológicas. El lactato es un biomarcador importante para el diagnóstico clínico. La concentración de lactato en sangre fuera del rango normal puede ser indicativa de acidosis láctica causada por hipoxia tisular u otras enfermedades subyacentes como enfermedades hepáticas, anemia o

sepsis. En este trabajo, se propuso desarrollar el proceso biotecnológico a escala de laboratorio para la producción de la enzima LOX de *Aerococcusviridans* recombinante. Diseñamos un vector de expresión para sobreexpresar la LOX fusionada a una etiqueta de afinidad en *Escherichiacoli*. En principio, con el objetivo de optimizar las condiciones de expresión se analizaron dos inductores, IPTG (0,4mM) o Lactosa (0,17% o 0,34%). La proteína fue sobreexpresada con ambos inductores y los niveles de expresión obtenidos con lactosa 0,34% fueron mayores a los obtenidos con IPTG, permitiendo el remplazo de este último por un inductor más económico como la lactosa. Posteriormente, la LOX recombinante fue purificada exitosamente mediante cromatografía de afinidad, obteniéndose aproximadamente 30-35 mg/L de cultivo, con un alto grado de pureza. Con la finalidad de caracterizar la LOX producida en nuestro laboratorio, analizamos la funcionalidad y estabilidad de la misma en el kit diagnóstico Lactate (cód. 1999795) de Wiener Laboratorios SAIC. Los ensayos fueron realizados utilizando la enzima LOX comercial provista por el kit como referencia. Los resultados obtenidos en el ensayo de funcionalidad mostraron que la reactividad del sistema utilizando la LOX producida en nuestro laboratorio es equivalente a la del kit comercial. En los ensayos de estabilidad (estabilidad acelerada a 37°C), se observó que la reactividad del kit utilizando la LOX producida en nuestro laboratorio fue comparable con la comercial hasta el día 10. Luego, la pérdida de funcionalidad del kit formulado con nuestra LOX fue más acelerada que la del kit formulado con la proteína comercial. La pérdida de funcionalidad fue del 16,8% para la LOX recombinante y del 1,5% para la comercial luego de tres semanas de incubación. Finalmente, nos propusimos obtener un formulado a base de la enzima liofilizada. Se analizaron varias formulaciones conteniendo excipientes para estabilizar la

proteína durante el proceso de liofilizado. Los excipientes analizados fueron diferentes azúcares en distintas concentraciones y en algunos casos, combinados con un polímero. Se midió la funcionalidad de la proteína antes y después del proceso de liofilizado. La funcionalidad permaneció prácticamente intacta en una de las formulaciones probadas luego de la liofilización. Además, se observó que luego de 5 meses de haberse liofilizado la proteína y habiéndose almacenado a -20 sin exposición a la luz, la funcionalidad de la proteína se mantuvo inalterable. Además, la formulación a base de la enzima liofilizada fue analizada por Wiener Laboratorios SAIC de acuerdo a sus propios parámetros de calidad mostrando resultados alentadores. En conclusión, la optimización de las condiciones de crecimiento, inducción, purificación y formulación nos permitió producir una enzima LOX funcional en nuestro laboratorio.

Palabras claves: PROTEÍNAS RECOMBINANTES; ENZIMAS DE USO DIAGNÓSTICO; LACTATO OXIDASA; PROCESO BIOTECNOLÓGICO.

5PRPM

Cultivo celular de alta densidad para producir la enzima Lactato Oxidasa recombinante

AMARANTO, Marilla; GODINO, Agustina; BARRA, José L.

CIQUIBIC-CONICET, DQBRC, FCQ, UNC, Córdoba, Argentina

marilla.amaranto@gmail.com

Las técnicas de cultivo de alta densidad celular (HCDC) son de relevancia para la producción de proteínas recombinantes. La productividad global de una proteína recombinante depende tanto de la densidad celular como del rendimiento del producto celular específico. Los HCDCs permiten alcanzar altas concentraciones de biomasa maximizando la cantidad de producto en un volumen dado dentro de un tiempo determinado. El objetivo de este trabajo fue utilizar la tecnología de HCDC para producir en *Escherichia coli* la enzima Lactato Oxidasa (LOX) recombinante, la cual es ampliamente utilizada en la formulación de biosensores y kits de diagnóstico humano. Para llevar a cabo este objetivo, se realizó un cultivo en batch-alimentado utilizando un biorreactor con capacidad para 2 L de cultivo (BIOSTAT A, Sartorius). El procedimiento consistió en tres etapas: 1. Etapa batch: la cepa de *E. coli* productora de la LOX fue inoculada en el biorreactor a una densidad celular (DO_{600}) de 0,1. El batch se realizó en medio mínimo M9 modificado con glucosa (10g/L) a 37°C durante 8,5 horas. 2. Etapa batch-alimentado: una vez que la glucosa en el medio de cultivo fue consumida, se suministró una solución de alimentación con glucosa (700g/L) a una tasa constante. Esta etapa fue realizada a 30 °C durante 12,5 horas. 3. Etapa de inducción: la expresión de LOX fue inducida con lactosa (0,34%) a 22°C durante 8 horas. Durante todo el proceso el pH fue controlado a 6,8 a través de la adición de soluciones de NH_4OH al 25% (p / v) o H_3PO_4 3 M. Los niveles de oxígeno disuelto fueron controlados al 20% mediante el control tanto de la velocidad de agitación como del ingreso de aire. Se tomaron muestras del cultivo periódicamente, analizando la concentración de glucosa, la densidad celular (DO_{600}) y el peso celular seco. La glucosa fue consumida completamente a las 8,5 horas de cultivo en batch lo que indicó el fin de la fase en sistema cerrado y el comienzo de

la etapa de alimentación, etapa durante la cual la glucosa se mantuvo a una concentración menor que 1gr/L. En las etapas de batch y batch-alimentado la densidad celular aumentó exponencialmente. La disminución de la temperatura a 30°C en la etapa batch-alimentado permitió una disminución en la tasa de crecimiento con el fin de evitar limitaciones en el oxígeno disponible. Al finalizar el proceso, una biomasa final de 26 g/l ($DO_{600}=60$) fue alcanzada. Luego de la inducción, se tomaron muestras cada 2 horas para analizar el nivel de expresión de proteína, alcanzando un valor de 290 mg/L luego de 8 horas post-inducción. Al finalizar el cultivo las células fueron cosechadas y la enzima LOX recombinante fue purificada mediante cromatografía de afinidad con un alto grado de pureza y en forma activa. En conclusión, se logró producir la enzima recombinante de uso diagnóstico LOX, realizando un cultivo en batch-alimentado llegando a densidades celulares considerables. Optimizando las condiciones tanto en las etapas de crecimiento como de inducción esperamos lograr mayores rendimientos de biomasa y de producto final.

Palabras claves: CULTIVO CELULAR DE ALTA DENSIDAD; PROTEÍNAS RECOMBINANTES; LACTATO OXIDASA.

Proceso biotecnológico innovador para escalar la producción de proteína Spike de SARS-CoV-2

SMITH, Ignacio ^{a, b}; Mc CALLUM, Gregorio J. ^{a, b}; BIRENBAUM, Joaquín ^{a, b}; TARGOVNIK, Alexandra M. ^{a, b}; WOLMAN, Federico J. ^{a, b}; ALONSO, Leonardo G. ^{a, b}; MIRANDA, María V. ^{a, b}

a) Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTECH), UBA-CONICET Junín 956 6º piso (1113) CABA, Argentina

b) Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956 6º piso (1113) CABA, Argentina

ismith@docente.ffyb.uba.ar

A partir del primer caso informado en Wuhan, China en diciembre de 2019, gran parte de la comunidad científica mundial se ha enfocado en aportar soluciones frente a la pandemia que hoy sigue vigente. La secuencia genética del SARS-CoV-2 se publicó en enero de 2020 y ha permitido acelerar el desarrollo de métodos de diagnóstico, tratamientos y vacunas. Se ha puesto especial foco en la proteína Spike (S) expuesta en la superficie del SARS-CoV-2, el virus causante de COVID-19, ya que es clave en la unión del virus al receptor celular y la progresión de la infección se frena si nuestro sistema inmune reacciona contra esta proteína. En el último año uno de los desafíos para la Biotecnología fue brindar métodos que permitan disponer de alta cantidad y calidad de proteínas de SARS-Cov-2.

La proteína S es estructuralmente compleja, constituye una glicoproteína de 500 kDa aprox., homotrimérica y cada monómero está compuesto por una cabeza globular, una subunidad S1 donde se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD) y la subuni-

dad S2 que asiste en la fusión a membrana. La producción de la proteína S se logra en líneas celulares de mamíferos (CHO y HEK) pero con bajos rendimientos y altos costos.

Nuestro grupo de investigación viene trabajando intensamente en el desarrollo de una nueva plataforma biotecnológica basada en el sistema baculovirus-larvas de insecto y atractiva porque no requiere del uso de grandes cantidades de medios de cultivo ni de sofisticados equipos (biorreactores). Las larvas de lepidópteros, considerados plagas de la región, actúan como eficientes “biofábricas” de proteínas.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un proceso para la producción de proteína S en su estado prefusión y trimérica en larvas de *Rachiplusianu* para su fácil escalado y uso en diferentes aplicaciones en el marco de la pandemia.

Para esto se construyó un baculovirus recombinante basado en *Autographacalifornica*, (AcMNPV-S) con la secuencia codificante para S en su forma prefusión clonada bajo el promotor de poliedrina y tras el péptido señal gp64. La secuencia no poseía el sitio de clivaje para furina y contenía una etiqueta de 6xHis para facilitar su purificación por IMAC. Una vez obtenido el inóculo en cultivo celular Sf9, se infectaron larvas con 5×10^5 UFP/larva y la cosecha de la proteína S se realizó al día 4 post infección. Los extractos se obtuvieron usando un homogenizador de paletas y se clarificó a 4°C por filtración (125 μ m y 3 μ m). Luego de probar diferentes condiciones se optimizó el proceso donde se equilibró la matriz cromatográfica en buffer conteniendo 80 mM de imidazol y se eluyó la proteína S con 500 mM de imidazol. Se realizaron 15 lotes productivos y se estableció un rendimiento de 15 μ g/g de larva. La proteína S producida en *R. nu* resultó ser altamente inmunorreactiva y con ella se logró producir sueros equinos hiperinmunes de alto título

neutralizante. Además, se utilizó como único antígeno para el desarrollo de kits de ELISA. Finalmente, esta tecnología fue transferida y escalada con éxito en la empresa (Start Up) TREBE BIOTECH instalada en Pergamino, Bs. As., donde actualmente se concentra su producción.

Palabras claves: SARS-COV-2; SPIKE; BACULOVIRUS; LARVAS DE LEPIDÓPTEROS.

7PRPM

Evaluación de pectina obtenida a partir de las cáscaras de tunas

SILVA, Fernanda M.^a; MICHALUK, Ariel^a; PÉREZ ZAMORA, Cristina^b

a) Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAUS). Comandante Fernández N°755. P. R. Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

b) Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA). Comandante Fernández N°755, primer piso. P. R. Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

fernandamariana2305@gmail.com

Las pectinas son polisacáridos que forman parte de la pared celular y la laminilla media de las células vegetales, aportando rigidez y cohesión a los tejidos. Estas macromoléculas presentan una gran variedad de aplicaciones, en la industria de alimentos como gelificante y espesante, y en la industria farmacéutica como prebiótico, agente antioxidante, anticanceroso y antimicrobiano. Actualmente la principal fuente de extracción es la cascara de cítricos y manza-

nas, debido al alto rendimiento que presentan. Pero todo producto natural puede ser una fuente potencial de pectinas. *Opuntia ficus indica* es un arbustoperteneciente a la familia de las Cactáceas, que se desarrolla en regiones áridas y semiáridas. Esta especie está ampliamente distribuida en el norte argentino, siendo notable en la región del sudoeste chaqueño, donde crece de forma silvestre. A pesar de ser un recurso abundante en la zona, se encuentra subexplotado. En esta oportunidad, centramos nuestro interés en los frutos de *O. ficus indica* como una potencial fuente de pectinas. Dado que son muchos los factores que afectan a las características de las pectinas obtenidas, como ser: tipo de materia prima, factores ambientales, estado de la materia prima, procesos de extracción; el objetivo de este trabajo fue evaluar si el proceso de deshidratación de la cáscara de estos frutos afecta a la pectina obtenida. Para ello se trabajó con la cáscara de frutos frescos y la cáscara deshidratada. La deshidratación se llevó a cabo en estufa con circulación de aire (24h, 60 °C). La extracción se realizó mediante hidrólisis ácida, a pH 2, con calentamiento (85 °C) durante 40 minutos y se precipitó con etanol 96% en una relación 1:4. Para la caracterización se determinó el rendimiento de extracción en base seca, el peso equivalente (PE), acidez libre (AL), porcentaje de metoxilo (%MET), grado de esterificación (GE) y porcentaje de ácido anhidro galacturónico (AAG). El rendimiento obtenido a partir de las cáscaras deshidratadas y de las cascara frescas fue del 14%, mientras que para las cascara frescas fue de 8%. Las pectinas obtenidas de la cáscara deshidratada, presentaron un mayor PE, igual AL y valores menores de %MET, GE y AAG. El análisis estadístico (ANOVA) refleja que no hay diferencias significativas para los parámetros analizados, excepto en el rendimiento de extracción, donde a partir de la cáscara deshidratada se obtiene alrededor de un 75% más de pectina que empleando

la cáscara fresca. Se puede concluir que el proceso de deshidratación de las cáscaras no afecta las propiedades fisicoquímicas de la pectina obtenida, obteniendo mejor rendimiento.

Palabras claves: OPUNTIA FICUS INDICA; PROCESO DE EXTRACCIÓN; PECTINA DE FRUTA.

8PRPM

Aislamiento y purificación de polisacáridos del cultivo líquido de *Ganoderma Sessile*

VICECONTE, Fátima R.^{a, b}; VELA GUROVIC, María S.^{a, b}

a) Centro de Recursos Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-UNS-CONICET). Bahía Blanca

b) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (BByF UNS). Bahía Blanca.

fviceconte@cerzos-conicet.gob.ar

El género *Ganoderma* incluye a una variedad de especies de hongos basidiomicetes mundialmente apreciados por sus numerosas propiedades medicinales, entre las cuales se destaca la inmunomodulación, actividad principalmente atribuida a los polisacáridos. Entre los métodos de cultivo de hongos, la fermentación en estado líquido resulta efectiva para la producción de estas macromoléculas debido a su rapidez y buenos rendimientos (Zhou y col., 2012). En estudios previos, la cepa *G. sessile* E47 presen-

tó rendimientos de polisacáridos superiores a los de otras cepas de *Ganodermaspp.* (Viceconte y col. 2021) así como tiempos de cultivo menores. Los objetivos de este trabajo fueron la extracción y purificación de los polisacáridos de esta cepa a los fines de caracterizar el producto y compararlo con los polisacáridos de las cepas medicinales *G. lucidum* y *G. lingzhi*.

Los polisacáridos de *G. sessile* E47 se aislaron del sobrenadante del cultivo líquido mediante precipitación con el agregado de 4 volúmenes de etanol y posterior centrifugación. Luego de su liofilización, el extracto crudo fue sometido a desengrasado en frío con acetona. Las proteínas se eliminaron del extracto por precipitación con ácido tricloroacético 24% p/v (1:1). Posteriormente, el sobrenadante fue dializado contra agua corriente y destilada en membrana de diálisis (*cut-off* 14000 Da). El perfil de polisacáridos se obtuvo mediante separación del extracto en una columna cromatográfica de intercambio aniónico (DEAE-celulosa, fase móvil: agua destilada y NaCl 0.05 a 0.5 M). Las fracciones obtenidas se concentraron, dializaron y liofilizaron para obtener su peso seco, y finalmente se sometieron a purificación en cromatografía de exclusión por tamaños (Sephadex G-200, fase móvil: NaCl 0.2 M). El monitoreo de la presencia de carbohidratos en las alícuotas recolectadas se realizó en todos los casos mediante reacción con fenol-ácido sulfúrico y posterior medición de la absorbancia a 490 nm.

El perfil de elución obtenido en la columna de DEAE-celulosa mostró la presencia de al menos tres tipos diferentes de polisacáridos, similar a lo reportado para *G. lucidum* (Li y col., 2016), con un rendimiento total de 53.3% de polisacáridos purificados respecto al extracto crudo determinado por gravimetría. Las fracciones evidenciaron la presencia de polisacáridos de alto peso molecular mediante cromatografía de filtración en gel.

Los resultados obtenidos demuestran que el perfil de polisacáridos de *G. sessile* E47, resultó similar a los perfiles de las especies medicinales.

Palabras claves: POLISACARIDOS; GANODERMA SESSILE; CULTIVO LIQUIDO; PURIFICACION.

9PRPM

Pegilacion de alfa-galactosidasa recombinante humana (rha-Gal) empleando mPEG-butirato de NHS

MENEGON, Malen^{a,b}, VAILLARD, Victoria A.^a, RODRIGUEZ, María C.^b, CEAGLIO, Natalia A.^b, VAILLARD, Santiago E.^a.

a) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), UNL-CONICET, Santa Fe, 3000, Argentina.

b) Centro Biotecnológico del Litoral (CBL, FCB), UNL, Santa Fe, 3000, Argentina.

mmenegon@santafe-conicet.gov.ar

La bioconjugación con metoxi-polietilenglicol (mPEG), o PEGilación, puede corregir varios inconvenientes asociados al uso terapéutico de proteínas recombinantes y de otros biofármacos. Las drogas conjugadas a mPEG exhiben mejoras en sus propiedades químicas, bioquímicas y farmacológicas y un comportamiento *in vivo* mucho más favorable.

En la actualidad se encuentra en estudio clínico de fase III una versión PEGilada de rha-Gal producida en células de tabaco (PRX-102, PEGunigalsidasa alfa[®]), donde se

emplea PEG homo-bifuncional de 2 KDa en exceso, conduciendo a un bioconjugado muy heterogéneo, en el que las subunidades de la enzima se encuentran entrecruzadas de forma covalente. El objetivo de este trabajo es estudiar la conjugación de rha-Gal producida en células CHO-K1 empleando mPEG mono-funcional de elevado peso molecular que no conduce al entrecruzamiento de las subunidades enzimáticas.

Para ello, en primer lugar se determinó la actividad enzimática (AE) de la enzima pura, la que se empleó como producto de partida, obteniendo un valor de 1,01E+06 (U.mg⁻¹). Luego se llevaron a cabo las reacciones de PEGilación con mPEG-NHS butirato de 30 KDa (mPEG-SBA), en PBS pH 8,0 a 25 °C, en una relación molar rha-Gal:mPEG 1:10. Tanto la enzima como las reacciones de conjugación se evaluaron por SEC-HPLC con detección a 280 nm y por SDS-PAGE. Con el objetivo de optimizar la reacción de conjugación se tomaron alícuotas a distintos tiempos y se analizaron por SDS-PAGE. Además, se midió la AE remanente en el crudo de reacción, sin observar cambios en su valor. En estas condiciones, se alcanzó conversión completa de rha-Gal luego de 6 h de reacción a expensas de la formación de un 60% de productos diPEGilados. La formación de productos monoPEGilados, que otorgan homogeneidad al producto, alcanzó un máximo del 40% luego de 20 min. A partir de ese momento, sólo se observó el incremento de productos de sobre-PEGilación, por lo que se estableció como tiempo óptimo un período de 20 min. Luego de la conjugación, se comenzó la puesta a punto de la purificación del conjugado. La optimización se basó en el uso de la metodología empleada para purificar rha-Gal a partir de sobrenadantes de cultivo teniendo en cuenta los cambios esperados en las propiedades de la proteína, principalmente carga e hidrofobicidad. En primer lugar, se realizó una cromatografía de

intercambio aniónico (IEX), en la que se logró separar la proteína libre y la fracción conjugada del exceso de mPEG-SBA remanente en el crudo de reacción, que podría interferir en la siguiente etapa⁵. Como segundo paso de purificación, se empleó una resina de interacción hidrofóbica (HIC), observándose un enriquecimiento de la proteína PEGilada en relación a la proteína no PEGilada en las primeras fracciones de elución. Si bien hasta el momento aún no se han podido separar completamente ambas especies, estudios preliminares indicarían que la AE de la proteína conjugada no diferiría con respecto al producto de referencia ni a la versión en evaluación clínica, aunque exhibiría un carácter más homogéneo, lo que resulta una propiedad altamente deseable en un desarrollo de tecnología de PEGilación.

Palabras claves: PEGILACIÓN; BIOCONJUGACIÓN; GALACTOSIDASA A; ENFERMEDAD DE FABRY.

10PRPM

Caracterización estructural por ATR-FTIR de β -glucanos obtenidos de paredes de levaduras cerveceras

PIERMARIA J., RIVERO S., MEDRANO M.

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de los Alimentos, CIDCA (CONICET - UNLP - CIC) Calle 47 y 116 s/n La Plata, Buenos Aires, Argentina.

medrano@biol.unlp.edu.ar

La economía circular tiene por objeto promover una gestión integral de residuos como estrategia sustentable para el aprovechamiento de desechos de un proceso productivo. En este sentido, la industria cervecera es una actividad económica que se caracteriza por la generación de grandes volúmenes de subproductos que pueden ser aprovechados. De acuerdo a resultados de una encuesta realizada a plantas cerveceras, el excedente de levaduras constituye el segundo residuo más importante que genera inconvenientes para su disposición final. La pared de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* contiene un 40% de β -glucanos, polímeros con alto potencial para ser utilizados como aditivo funcional en alimentos. La actividad biológica de estos polímeros está siendo estudiada ya que hay indicios de que tienen actividad prebiótica.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar mediante espectroscopia infrarroja de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) el extracto de β -glucanos obtenido a partir de paredes de levaduras cerveceras. Se partió del descarte de crema de levadura proveniente de una planta cervecera de la Ciudad de La Plata (*S. cerevisiae* SafeAleS05, Fermentis, estilo Golden Ale). La extracción de los β -glucanos se realizó mediante autólisis (pH 5.0, 50°C durante 48h y 80°C, 15 min en agitación), incubación con NaOH (1M, 80°C, 2h en agitación), centrifugación, incubación con ácido acético (1M, 2h, 80°C), lavado y secado. Se verificó la ausencia de azúcares simples por cromatografía en capa fina y se cuantificó el rendimiento mediante el método de antrona. El polímero obtenido se analizó mediante ATR-FTIR a fin de identificar sus principales grupos funcionales.

A partir de las etapas descritas se obtuvo un polímero con un rendimiento de 800 mg de polvo seco cada 100 ml de levadura.

11PRPM

Método para la extracción de RNA basado en el uso de nanopartículas magnéticas

Del análisis espectral obtenido por ATR-FTIR se comprobó que los espectros de los β -glucanos obtenidos son compatibles con los de β -glucanos comerciales descritos en bibliografía. Se identificaron los picos característicos en la región comprendida entre 4000-3000 cm^{-1} (adscrito a los modos vibracionales de estiramiento simétrico y asimétrico de los grupos O-H característicos del polímero), 3000-2840 cm^{-1} (asignado a los modos de vibración simétricos y antisimétricos de los grupos CH); región 1285-800 cm^{-1} (1040), correspondiente a las uniones C-O-C y C-O de los anillos de D-glucosa y de las uniones glicosídicas.

Estos resultados permitieron concluir que es factible obtener un polímero compatible con β -glucanos con un grado de pureza aceptable a partir del descarte de crema de levaduras proveniente de una cepa comercial utilizada para la elaboración de cerveza. El método de extracción y purificación no exhibió complejidades, si bien se debería adaptar su producción a mayor escala empleando tecnologías eco compatibles. La relevancia de este trabajo reside en la importancia de encontrar aplicaciones alternativas a este subproducto que incrementen su valor agregado y minimicen el impacto ambiental de su disposición al ambiente.

Palabras claves: β -GLUCANOS, LEVADURAS, ATR-FTIR.

CAPRIOTTI, Natalia^{a,b}; ONS, Sheila^{a,b}; TRAVERSO, Lucila^{a,b}; ROMANOWSKI, Víctor^{b,c}; PIDRE, Matias^{b,c}; FERRELLI, M. Leticia^{b,c}; LOPEZ, M. Florencia^{b,c}; AMORÓS, Leslie^{b,c}; MENDOZA ZELIS, Pedro^{b,d}; JUNCAL, Luciana^{b,d}; DE SOUSA, Elisa^{b,e}; SCHILARDI, Patricia^{b,e}; LILLIO, Cristian^{b,e}; LAVORATO, Gabriel^{b,e}; VERICAT, Carolina^{b,e}; y FONTICELLI, Mariano^{b,e}; RODRIGUEZ TORRES, Claudia^{b,d}

a) Centro Regional de Estudios Genómicos (Facultad de Ciencias Exactas-UNLP)

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

c) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (CONICET/UNLP)

d) Instituto de Física de La Plata (CONICET/UNLP)

e) Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (CONICET/UNLP)

nataliacapriotti@conicet.gov.ar

El aislamiento y purificación de RNA de calidad es un paso fundamental para asegurar una alta especificidad y sensibilidad en la detección, cuantificación y diagnóstico de enfermedades por RT-qPCR. Los métodos de obtención de ácidos ribonucleicos deben ser robustos y de alto rendimiento con alta capacidad de fabricación y distribución. En la actualidad, la mayoría de los kits comerciales utilizados son costosos, poseen a menudo múltiples componentes que no son fácilmente reemplazables y su suministro no se puede garantizar dado que son importados. Además, algunos de ellos requieren de equipamiento sofisticado, no siempre disponibles en los laboratorios de investigación y diagnóstico. Por ende, la metodología

disponible no ofrece suficiente flexibilidad y disponibilidad cuando se trata de una gran epidemia o una pandemia, como lo es la de COVID-19. El objetivo del trabajo es proporcionar un protocolo de extracción de RNA basado en perlas magnéticas de sílice de bajo costo, independiente de equipamiento sofisticado y de producción nacional. El procedimiento de extracción por este método incluye etapas de inmovilización rápida y eficiente de las moléculas de RNA sobre la superficie de las nanopartículas y la posterior aplicación de campos magnéticos lo cual permite separar de forma rápida y eficiente los ácidos nucleicos evitando pasos de centrifugación. El cambio en la concentración de sales en el medio permite una elución eficiente para los posteriores pasos de amplificación por el método de elección. Se han realizado pruebas de extracción en distintas muestras biológicas: tejidos provenientes de insectos, línea celular de pulmón y muestras de hisopado oro- y nasofaríngeos de pacientes sospechados de tener coronavirus; se obtuvieron niveles de rendimiento y calidad de RNA similares a los *kits* disponibles comercialmente y además hemos logrado niveles de Ct (-Cyclethreshold-) igualables por RT-qPCR. En esta presentación se describirán los antecedentes de esta metodología, el estado actual del proyecto y las perspectivas de implementación en laboratorios de diagnóstico y de biología molecular.

Palabras claves: ÁCIDO RIBONUCLEICO; DIAGNÓSTICO; PURIFICACIÓN; NPM.

12PRPM

Purificación e identificación de péptidos de chañar con actividad antioxidante y anticoagulante

OZÓN, Brenda; GEIER, Florencia; SAMAN, Candela; ROSSOTTI, Martina; CLAVER, Santiago; OBREGÓN, Walter D.; COTABARREN, Juliana

Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIPROVE), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

cotabarren.juliana@biol.unlp.edu.ar

Las especies reactivas de oxígeno y los radicales libres tienen efectos en muchas moléculas en el cuerpo humano, como el ADN, los ácidos grasos y las proteínas. En este sentido, los compuestos antioxidantes han ganado interés debido a su posible aplicación terapéutica en múltiples patologías, desde el cáncer hasta la malaria, hipertensión y trastornos de la sangre. Además, la búsqueda de péptidos de origen alimentario con actividad anticoagulante ha ganado interés debido a su actividad biológica, baja toxicidad y facilidad para ser metabolizados por el cuerpo humano. *G. decorticans* es un árbol caducifolio xerófilo (conocido como chañar) generalmente utilizado en la medicina tradicional aunque escasamente explorado en cuanto a su contenido proteico. El presente estudio informa del aislamiento, purificación e identificación de péptidos antioxidantes y anticoagulantes de chañar (GdAPs).

Se preparó un extracto crudo procesando 10 g de semillas de chañar con 100 ml de buffer Tris-HCl 0,1 M (pH 7,5) y se incubó durante 120 min a 4°C en agitación. La suspensión fue filtrada, centrifugada y lue-

go se recolectó el sobrenadante (al que llamamos GdEC). Se realizó una purificación parcial de los péptidos antioxidantes de chañar por tratamiento térmico durante 30 min a 90°C (GdTT90). Luego una alícuota de 2 ml de GdTT90 (80 µg/mL) se sembró en una columna de exclusión molecular con relleno de Sephacryl S-100 HR. La elución se realizó con buffer Tris-HCl 0,1 M (pH 7,5), se evaluó la actividad antioxidante de las fracciones colectadas mediante DPPH y ABTS, y aquellas fracciones que presentaron actividad antioxidante fueron seleccionadas como GdAPs (péptidos antioxidantes de Geoffroeadecorticans). Se evaluó la concentración a la cual los GdAPs producen 50% de actividad antioxidante (IC50) por ambas metodologías. Por espectrometría de masas MALDI-TOF se evaluó el peso molecular de los péptidos presentes en dicha fracción y se evaluó su composición aminoacídica. Finalmente se realizaron ensayos de actividad anticoagulante frente a las vías intrínseca y extrínseca de coagulación por las metodologías de aPTT y PT respectivamente.

El análisis por MALDI-TOF/MS reveló la presencia de tres picos predominantes de bajo peso molecular: 2.257,199 Da, 2.717,165 Da y 5.422,002 Da. La secuencia aminoacídica parcial de los GdAPs reveló sus características estructurales únicas, exhibiendo homología con diversas regiones encontradas en proteínas hipotéticas obtenidas del genoma de *Arachishypogaea*. Los resultados de la actividad antioxidante mostraron que la concentración de IC50 para DPPH fue de $35,5 \pm 0,3$ µg/mL y para ABTS fue de $95,1 \pm 0,6$ µg/mL. Estos resultados indican que los potenciales usos de los GdAPs son comparables a los de hidrolizados proteicos con propiedades antioxidantes obtenidos por tecnología enzimática, pero con la ventaja esencial, en el caso de los GdAPs, de que no necesitan tal proceso, generando un producto con mayor rentabilidad. Finalmen-

te, los GdAPs presentaron actividad anticoagulante frente a la vía intrínseca de coagulación, produciendo una inhibición completa en la coagulación a una concentración de 172 µg/mL. Los resultados de nuestra investigación fomentan futuros estudios sobre el uso potencial de los GdAP en la biomedicina y/o la industria alimentaria.

Palabras claves: GEOFFROEA DECORTICANS; PÉPTIDOS BIOACTIVOS; ANTIOXIDANTES; ANTI-COAGULANTES.

13PRPM

Desarrollo de una estrategia de purificación de proteínas utilizando un péptido bifuncional

LEOPOLD, María J. ^{a, b}; **OGGERO, Marcos** ^{a, b}; **CEAGLIO, Natalia** ^{a, b}

a) Centro Biotecnológico del Litoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

b) CONICET

mleopold@fbc.unl.edu.ar

Entre las técnicas que permiten la obtención de proteínas puras en un único paso se puede mencionar a la cromatografía de inmunoafinidad que emplea etiquetas peptídicas que contienen epitopes lineales reconocidos por anticuerpos monoclonales (mAb). Esta interacción suele presentar alta afinidad y especificidad, lo que minimiza el riesgo de uniones inespecíficas. En nuestro laboratorio hemos diseñado un péptido de 15 aminoácidos denominado mGMOP como

etiqueta para la preparación de proteínas de fusión. Esta etiqueta deriva de la región N-terminal del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos humano (hGM-CSF) y se caracteriza por exhibir dos propiedades. Por un lado, presenta una elevada probabilidad de O-glicosilación, con 6 sitios potenciales para la unión de O-glicanos. Por otra parte, contiene la secuencia APAR, que constituye un epítopo lineal reconocido por un mAb (CC1H7) obtenido también en nuestro laboratorio. Ambas características determinan la bifuncionalidad del péptido mGMOP, que puede ser utilizado simultáneamente para conferir propiedades biológicas mejoradas a las proteínas de fusión debido a su capacidad de hiper-O-glicosilación y como un sistema para la cuantificación y/o purificación de las mismas.

Trabajos previos permitieron fusionar la etiqueta mGMOP a la región N-terminal del interferón- α 2b recombinante humano (rhIFN- α 2b), demostrando la quimera mGMOP-IFN una mejora significativa en sus propiedades farmacocinéticas con respecto al rhIFN- α 2b no modificado (Sales y col., 2021).

En el presente trabajo se propuso explorar el potencial de la etiqueta mGMOP para ser utilizada para la purificación de mGMOP-IFN a partir de sobrenadantes de cultivo de células CHO-K1 recombinantes mediante cromatografía de inmunoafinidad. Teniendo en cuenta que se ha demostrado un aumento de la afinidad de unión entre el epítopo APAR-paratope CC1H7 en un entorno de alta fuerza iónica (Perotti y col., 2013), se llevó a cabo un diseño de experimentos con el fin de estudiar el efecto de diferentes sales a distintos pH mediante ELISA. De esta manera, se establecieron tres condiciones (KCl 3,75 M pH 7,5; NaCl 4,5 M pH 7,5; Na₂SO₄ 1 M pH 8) observándose el máximo incremento de la afinidad aparente con respecto al control en ausencia de sal a pH 7.

Las condiciones seleccionadas se evaluaron como estrategias de unión en el proceso de purificación cromatográfico. Para ello, se analizó la capacidad dinámica de la matriz Sepharose-CC1H7 mediante acondicionamiento de la siembra (sobrenadante conteniendo mGMOP-IFN) con las diferentes sales al pH correspondiente, comparando los resultados con el mismo proceso realizado en ausencia de sal. La capacidad dinámica a $C/C_0=0,1$ fue superior para la condición Na₂SO₄ 1 M pH 8 con respecto a la siembra en ausencia de sal (3,2 veces), mientras que para el resto de las sales fue similar a esta última condición. No obstante, a relaciones $C/C_0>0,1$ se observaron diferencias para todas las sales con respecto a la unión en ausencia de sal, indicando que la condición de alta fuerza iónica permite incrementar la masa de mGMOP-IFN a sembrar y resulta así, una estrategia eficaz para optimizar el proceso de purificación de proteínas de fusión al novedoso péptido.

Palabras claves: ETIQUETA; PURIFICACIÓN; INMUNOAFINIDAD.

14PRPM

Preformulación de un nuevo producto recombinante de interés en medicina veterinaria

MUSSIO Pablo E.^a; RODRÍGUEZ María C.^a; PRIETO, César C.^b

^aLaboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral.FBCB. UNL. CONICET.

^bLaboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral.FBCB. UNL.

pablo.esteban.mussio@gmail.com

El uso de la gonadotropina coriónica equina (eCG) se ha convertido en una terapia hormonal clave para mejorar la actividad reproductiva en diferentes tipos de ganado. Actualmente, la metodología para la obtención de PMSG (gonadotropina sérica de yeguas preñadas), involucra un inadecuado uso de animales, lo que genera serios cuestionamientos bioéticos. Asimismo, PMSG podría contener contaminantes con potenciales riesgos sanitarios como virus o priones y presenta una gran variabilidad en su perfil de glicosilación entre distintos lotes, lo que repercute en su potencia biológica.

Con el fin de resolver esta problemática, en nuestro laboratorio hemos desarrollado una tecnología basada en el cultivo de células de mamíferos para obtener un nuevo producto veterinario: la eCG recombinante (reCG).

Durante su producción y almacenamiento, las proteínas recombinantes son sometidas a diferentes condiciones de estrés. En este sentido, los estudios de preformulación resultan clave en el desarrollo de un biofármaco. La caracterización del compuesto activo, permitirá desarrollar un producto seguro y eficaz que, además, mantiene su estabilidad en el tiempo.

En el presente trabajo nos propusimos como objetivo diseñar estrategias de preformulación para reCG a partir del uso de diferentes técnicas analíticas.

La proteína recombinante, sintetizada por células CHOK1 adaptadas a crecer en suspensión, fue purificada mediante cromatografía de pseudoafinidad a colorantes. Posteriormente, se propusieron dos principios de purificación: cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) y cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC), permitiendo así obtener muestras (denominadas reCG RP-HPLC y reCG HIC, respectivamente) con un mayor grado de

pureza. Como estándar se utilizaron dos marcas comerciales de PMSG, purificadas mediante RP-HPLC.

El análisis densitométrico por SDS-PAGE, permitió estimar la masa molecular aparente y la pureza de las variantes. La identidad de las moléculas fue confirmada por *western blot*, empleando anticuerpos anti-reCG. Mediante cromatografía de exclusión molecular fue posible determinar la pureza de las muestras (reCG RP-HPLC=89%; reCG HIC=55%; PMSG RP-HPLC=73%) y estimar la masa molecular aparente de las variantes estudiadas (reCG=45 KDa; PMSG=66 KDa).

Tras el análisis por RP-HPLC, se evidenció que PMSG ($tr=12,95$ minutos) presentó un menor tiempo de retención (tr) que reCG RP-HPLC ($tr=13,58$ minutos) y reCG HIC ($tr=13,74$ minutos), debido a diferencias en la polaridad de las moléculas.

Mediante isoelectroenfoque se determinó que ambas variantes poseen un elevado número de isoformas. Sin embargo, PMSG exhibió un mayor número de isoformas concentradas en la región más ácida, debido a su mayor contenido de ácido siálico (Neu5Ac). Esto fue confirmado mediante cromatografía de intercambio iónico a pH elevado con detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD) (18 ± 3 y 7 ± 2 mol Neu5Ac/mol eCG, para PMSG y reCG, respectivamente; $p < 0,05$). El análisis del perfil de *N*-glicanos cargados mediante cromatografía de intercambio aniónico débil evidenció un mayor contenido de glicanos neutros y tetrasialilados en las formas recombinantes.

Así, en este trabajo fue posible purificar reCG para la posterior caracterización fisicoquímica en su forma nativa, mediante el uso de diferentes técnicas analíticas simples. A su vez, se realizó un estudio comparativo con PMSG, demostrando diferencias en el perfil de glicosilación de ambas moléculas.

Palabras claves: PREFORMULACIÓN, PROTEÍNA RECOMBINANTE, MEDICINA VETERINARIA.

15PRPM

Diagnóstico de bordetellapertussis mediante PCR-Tip, una novedosa plataforma para la liberación de reactivos para PCR

SÁNCHEZ Mirna L.^a, VALDEZ Hugo A.^b, GIMÉNEZ Claudia Y.^a, RODRÍGUEZ María E.^b, GRASSELLI Mariano^a

a-Laboratorio de Materiales Biotecnológicos (La-MaBio), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, IMBICE-CONICET, Bernal, Argentina.

b- Laboratorio de microbiología celular e inmunomecanismos. CINDEFI | Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales Facultad de Ciencias Exactas (UNLP)

La generación de nuevos materiales abre un abanico de posibilidades a la generación de múltiples productos con funciones y aplicaciones en diversas áreas de los bioprocesos.

En trabajos previos hemos reportado el desarrollo de una plataforma tecnológica basada en la funcionalización de tips de micropipetas como dispositivos para la purificación de biomoléculas o dispensación de reactivos de alto costo (Sánchez, 2015; Sánchez, 2020).

En este trabajo ajustamos la plataforma de dispensación con un objetivo específico: el diagnóstico del patógeno humano *Bordetellapertussis*, el agente causal de la

tos convulsa. Actualmente existe una vacunación a gran escala a nivel local y mundial contra esta bacteria; sin embargo, siguen registrándose brotes de la enfermedad que ocurren cada 4 a 5 años. Esta condición de prevalencia y la alta incidencia condujo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a considerarla como enfermedad reemergente. Cada año se informan más de 60 millones de casos y más de medio millón de muertes por tos convulsa en todo el mundo. En nuestro país, como en el resto del mundo, se registra un aumento significativo en el número de casos registrados. Por lo que se requiere un relevamiento epidemiológico muy activo. Actualmente se hace un diagnóstico molecular mediante PCR. Este patógeno se puede identificar de otros mediante la amplificación de elementos insercionales característicos del genoma de esta bacteria.

La estandarización en los procesos de identificación es un nicho de vacancia interesante a desarrollar y en este trabajo hacemos una aproximación en este sentido usando como modelo de optimización el diagnóstico molecular de *Bordetellapertussis*.

La tecnología protegida previamente se basa en el recubrimiento de las paredes internas de un tip de micropipeta descartable con un compositehidrofílico-agente estabilizante (alcohol polivinílico-trehalosa) que tiene la capacidad de absorber de forma reversible reactivos de alto costo.

Se estudio la absorción de dos tipos de compuestos claves en la reacción de PCR para el diagnóstico molecular: oligonucleótidos y deoxinucleósido trifosfato (dNTPs). Se generaron dos dispositivos: uno con oligonucleótidos absorbidos en la pared interna del tip y otro con oligonucleótidos + dNTPs. A estos dispositivos los denominamos PCR-tip1 y PCR-tip2, respectivamente. Se determinaron los porcentajes de libera-

ción de las biomoléculas de interés en cada uno de ellos y se realizaron las reacciones correspondientes a fin de evaluar su funcionalidad. La capacidad de liberación para los oligonucleótidos fue del 70% y 72% para los oligonucleótidos + dNTPs.

La identificación del patógeno empleando los PCR-tips en los protocolos de identificación molecular de *Bordetellapertussis*, demuestra la potencialidad de la invención en la optimización de la metodología para identificación esta bacteria. Los descubrimientos realizados sientan las bases para continuar desarrollando un dispositivo capaz de absorber todos los reactivos de la reacción de diagnóstico. Al mismo tiempo, son el puntapié inicial para desarrollar una gama de productos optimizados con perspectiva diagnóstica para diferentes patógenos de interés.

Palabras claves: PCR-TIP PCR, DIAGNÓSTICO.

16PRPM

Desarrollo de un método para purificar anticuerpos basado en el empleo de fusiones de dominios de unión a inmunoglobulinas a polímeros similares a elastina

RESTUCCI, Fernando. E.; PETRUCCELLI, Silvana

Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos CIDCA)-CONICET-CIC- Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.

fernando.restucci@gmail.com

Los anticuerpos (Abs) constituyen el grupo de biológicos de mayor precio y demanda. Su proceso downstream emplea rellenos cromatográficos que contienen proteína A que son de los más onerosos del mercado. El desarrollo de procesos más económicos es de sumo interés y la precipitación selectiva constituye una buena alternativa. El objetivo de este trabajo fue la construcción, síntesis y caracterización de moléculas que puedan ser utilizadas en precipitaciones selectivas de Abs de diferentes especies. Estas moléculas están compuestas por dos partes. Por un lado, los dominios Y que reconocen específicamente Abs. Se emplearon la proteína A de *Staphylococcus aureus*(A), la proteína G de *Streptococcus*(G) o un dímero del dominio Z (derivado de A). Por otro lado, los polipéptidos similares a elastina (ELP, *elastinlike polypeptide*) que son polímeros artificiales formados por repeticiones de un pentapéptido (VPGXG)_n, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, y n la cantidad de repeticiones del pentapeptido. Los ELP poseen la característica de sufrir transiciones térmicas tornándose insolubles a una temperatura superior a la T_t (temperatura de transición) lo que permite su separación de otras proteínas que permanecen solubles por no sufrir transiciones. La T_t depende del aminoácido X y del n. En este trabajo se utilizaron ELP con X=Valina y n= 40 (ELP40), 80 (ELP80) o 120 (ELP120). Los genes codificantes para ambas partes fueron multimerizados para obtener los ELP40-ZZ, ELP40-G, ELP40-A, ELP80-ZZ, ELP80-G, ELP120-ZZ, y ELP120-A. Estas fusiones fueron subclonadas en el vector de expresión pET200 y sintetizadas en *E. coli* BL21. Los rendimientos de producción fueron 4 mg/ml para los ELP40 y aproximadamente 2 mg/ml para los ELP80 y ELP120. Los distintos ELP fueron purificados por ITC (*inversetransitioncycling*), empleando concentraciones de NaCl 3M, 2M y 1M para los ELP40, 80 y 120, respectivamente. Las temperaturas utilizadas fueron 55°C

para ELP40 y 45°C para los ELP80 y 120 y los rendimientos obtenidos fueron del 90% con una única ITC. Los ELP-Y fueron utilizados en la purificación de sueros de caballo, conejo y cabra y ascitis. La unión a los Abs a los ELP-Y se realizó por incubación pH 7,4. a 4°C. Posteriormente se adicionó NaCl, se aumentó la temperatura, y los complejos ELP-Y-Abs fueron separados por centrifugación. El precipitado se resuspendió a buffer pH 2,7 y los ELP-Y fueron separados de los Abs por ITC. La fracción soluble se neutralizó con buffer pH 9. Todos los ELP-Y mostraron capacidad de unión a IgGs pero los mayores rendimientos y grados de pureza se obtuvieron con los ELP80-G. Los ELP-Y fueron producidos y purificados utilizando procedimientos de bajo costo y constituyen un método alternativo costo efectivo para la purificación de anticuerpos.

17PRPM

Purificación de la proteína Np de SARS-CoV-2 empleando el Sistema FasTAG y su aplicación para uso diagnóstico

HARGUINDEGUY, Inés^b; BEZUS, Brenda^a; BRACHO, Juan P.^a; RAMÍREZ, Andrea^a; CAVALITTO, Sebastián F.^{a,b}; ORTIZ, Gastón E.^{a,b}

a) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

b) BambooBiotech SAS, RomuloNaón 3237, 1430 CABA, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

info@bamboobiotech.com

El coronavirus SARS-CoV-2, causante del síndrome respiratorio COVID-19, posee un

ssARN envuelto por una nucleocápside proteica. Las proteínas de la cápside tienen la capacidad de generar una respuesta humoral de anticuerpos IgG/IgM, que pueden ser utilizados para detectar personas infectadas. En particular, se destaca la proteína Np dado que presenta escasa homología con nucleoproteínas de otros coronavirus, siendo un blanco ideal para el desarrollo de sistemas diagnósticos que permitan la detección de anticuerpos IgG/IgM anti-Np en muestras serológicas. Por otro lado, nuestro grupo ha desarrollado y patentado un novedoso sistema de etiquetado llamado *FasTAG*, que permite la purificación e inmovilización de proteínas recombinantes sobre la superficie de bacterias Gram +. En este sistema, las proteínas recombinantes expresadas en sistemas heterólogos son fusionadas al dominio C-terminal de las proteínas de Capa-S de *Lactobacillus* (*FasTAG*). Luego, se emplea la afinidad intrínseca que posee dicho dominio por las membranas de las bacterias Gram + para la purificación de las proteínas recombinantes de interés. Sobre la base de lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la funcionalidad del sistema para purificar la proteína Np fusionada al *FasTAG*, y su posterior aplicación en tiras reactivas para uso diagnóstico. Para ello, la secuencia de la proteína Np fue clonada en marco con el *FasTAG* en el vector pBam (BambooBiotech®) y expresada en *Escherichia coli* BL21 *CodonPlus*. La producción se realizó a 37°C y 250 rpm, en Erlenmeyer conteniendo medio LB e IPTG 1 mM como inductor. Posteriormente, se obtuvo un lisado celular en el cual se encuentra presente la proteína recombinante Np-*FasTAG*. Dicho lisado se incubó en batch durante 2 horas a 25°C con una matriz constituida por *B. subtilis* inactivado con formol 3%. A continuación, la suspensión se centrifugó y el precipitado se lavó para eliminar las proteínas no retenidas o retenidas en la matriz de forma inespecífi-

Caracterización de una Nanored de celulosa bacteriana obtenida del residuo de la Kombucha

BERGOTTINI Verónica M.^a; BERNHARDT Dana C.^{a,b}

a) Instituto de Tecnología-INTEC, Universidad Argentina de la Empresa.

b) Departamento de Industrias-ITAPROQ, Fac. de Cs. Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

vbergottini@uade.edu.ar

ca. Luego, la proteína de interés fue eluida durante 1 hora a 25°C empleando LiCl 5M, y cada una de las fracciones fueron analizadas mediante gel de SDS-PAGE. El ensayo demostró la potencialidad de este sistema para la purificación de la proteína Np, logrando purificar 7,2 µg de proteína por mg de resina. Posteriormente, la proteína purificada se utilizó para evaluar su potencial uso como antígeno de captura en un sistema de inmunoensayo de flujo lateral. El mismo cuenta con un diseño sándwich, en donde los anticuerpos humanos IgG/IgM anti-Np reaccionan con el oro coloidal conjugado a anticuerpos anti-humano (cabra), y luego son capturados por el antígeno recombinante Np dispensado en la línea de testeo. Como control se dispuso anticuerpo anti-cabra (conejo) en la línea de control. Las tiras reactivas resultantes se ensayaron empleando sueros reactivos y no reactivos para SARS-CoV-2, y se registró la intensidad de color (señal) obtenida en la línea de testeo. Se logró la detección de anticuerpos IgG/IgM en muestras serológicas empleando un panel de 20 sueros positivos y negativos. Como resultado, se logró aplicar el sistema *FasTAG* en la purificación de la proteína Np, y la misma fue empleada con éxito en la detección de anticuerpos IgG/IgM reactivos para SARS-CoV-2, revelando la potencialidad y funcionalidad de este sistema para su uso en la purificación de Np con fines diagnósticos.

Palabras claves: COVID-19; SARS-COV-2; B. SUBTILIS; SISTEMA FASTAG; INMUNOENSAYO DE FLUJO LATERAL (IFL).

La celulosa bacteriana (CB) está emergiendo como una fuente de celulosa alternativa debido a que sus microfibrillas son 100 veces más pequeñas que en las plantas y se sintetizan como una red tridimensional de nanofibras con propiedades promisorias como un alta cristalinidad (70% –80%), alta porosidad, alta resistencia mecánica, capacidad para absorber agua, termoestabilidad y biocompatibilidad. Estas propiedades hacen a la CB una materia prima versátil con múltiples aplicaciones que van desde el packaging, materiales conductores, biomateriales para la moda, vendajes para heridas hasta carriers de fármacos o sustancias bioactivas. La kombucha es una bebida probiótica que se obtiene de la fermentación de té negro y sacarosa mediante el cultivo de una colonia simbiótica de bacterias y levaduras (SCOBY). Un producto de desecho de la kombucha es el SCOBY en el que las bacterias sintetizan celulosa en la interfase aire-líquido del cultivo el cual puede ser empleado como una fuente para la obtención de este polímero.

Con el objetivo de revalorizar el residuo de la kombucha en un modelo de produc-

ción circular, se exploró un protocolo de purificación, seguido de hidrólisis ácida y liofilización para la obtención de nanoredes de celulosa con diferentes características estructurales. La microestructura de la red y el tamaño de las fibras se analizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), el grado de cristalinidad por difracción de rayos-X y la composición por un análisis elemental (EDS). Las microfotografías de SEM demostraron diferencias en la microestructura de las nanoredes de BC observándose una mayor porosidad y un tamaño de fibra más pequeño en la nanored tratada con ácido sulfúrico y clorhídrico en comparación con la nanored no hidrolizada. El grado de cristalinidad de la CB fue del 90% y el análisis elemental demostró que los tratamientos químicos no dejaron residuos coprecipitados en la nanored.

Estos resultados iniciales muestran la potencialidad de los tratamientos combinados para purificar y obtener una nanored de celulosa a partir de un residuo como el SCOBY en la producción de kombucha. La potencialidad de la CB bioensamblada en forma de nanored es uno de las nuevas promesas en el desarrollo de biomateriales con propiedades estructurales superiores así como también funcionales.

Palabras claves: SCOBY, NANORED, CELULOSA BACTERIANA, HIDRÓLISIS ACIDA.

19PRPM

Purificación de proteínas de amaranto con nanopartículas funcionalizadas

Ripetta, Sol; Barrio, Daniel A.

Universidad Nacional de Río Negro. CIT Río Negro – CONICET.

mripetta@unrn.edu.ar

La purificación de proteínas es un proceso que puede llevar diversos pasos complejos y costosos. La utilización de nanopartículas ferromagnéticas funcionalizadas contribuye a disminuir estos procesos dado que se separan de soluciones proteicas utilizando un imán. La purificación de lectinas puede realizarse con este método, sin embargo hay que seleccionar los azúcares adecuados para derivatizar las partículas dado que le otorga selectividad al sistema. El objetivo del presente trabajo fue purificar proteínas, en particular lectinas de *Amaranthus cruentus* y evaluar el rendimiento de adsorción a partículas ferromagnéticas funcionalizadas con lactosa y galactosa. Para ello, se partió de una suspensión de proteínas de amaranto (2,2 mg/ml) extraída de harina desgrasada a pH: 9,0 y nanopartículas. Alícuotas de 500 ul del concentrado proteico se mezclaron con 500 ul de nanopartículas ferromagnéticas recubiertas con tetraetilortosilicato (TEOS), funcionalizadas con aminopropiltriétoxilano (APTES) y derivatizadas con los azúcares ya mencionados durante 2 horas, pH: 7,0 a 37 °C. A continuación se retiró el sobrenadante, se lavaron las partículas con buffer fosfato 0,1 M pH: 7,0 y se expusieron a Urea 8 M como agente desorbente. Por otro lado, se repitió el ensayo con concentraciones decrecientes de proteína, a saber: 1,26 mg/ml,

0,69 mg/ml, 0,51 mg/ml para determinar la capacidad y saturación de las partículas. La concentración de lectinas se evaluó por un ensayo de hemoaglutinación (50 ul de muestra + 50 ul de sangre por well, 1 hora, 37°C) En los sobrenadantes de adsorción se determinó el contenido de proteínas por el método de Bradford. Partiendo de una solución de 2,2 mg/ml de proteína, la adsorción a las partículas fue del 62,6% con galactosa y del 61,1% con lactosa, mientras que las desorciones fueron del 54,6% y 60,23% respectivamente. Con concentraciones de proteína decrecientes las adsorciones fueron del 79,3%, 83,8% 91,3% para la galactosa con concentraciones de 1,26 mg/ml, 0,69 mg/ml, 0,51 mg/ml de proteína, y de 82,8%, 86,5% 91,5% para la lactosa en mismas condiciones respectivamente. Los ensayos de hemoaglutinación revelaron que mediante este proceso de purificación es posible concentrar las lectinas de la muestra proteica unas 3.63 veces para las partículas derivatizadas con galactosa y 3.17 veces para las de lactosa. En conclusión, las nanopartículas ferromagnéticas derivatizadas con lactosa y galactosa fueron efectivas para separar proteínas de amaranto y no se observaron diferencias significativas para ambos azúcares, siendo la concentración de lectinas finales mayor en las partículas derivatizadas con galactosa.

SESIÓN 5

BIOPROCESOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y REMEDIACIÓN AMBIENTAL

Conferencia Sesión 5: Bioprocesos en la industria alimentaria y remediación ambiental

Biomasa fúngica para alimentación humana: una vieja historia con nueva perspectiva

BLASCO, Martin

Centro de Investigación y Desarrollo en Biotecnología Industrial, INTI Instituto Nacional de Tecnología Industrial.

La biomasa inactivada de “Fusarium venenatum” (BIF) para alimentación humana, generalmente denominada “mycoprotein” o “micoproteína”, ha recorrido un camino de más de 30 años en el mercado de la alimentación humana. Sin embargo, este producto cubre una porción marginal del mercado alimenticio mundial. Ante los desafíos del aumento de la demanda de proteínas de alta calidad para alimentación con menor impacto ambiental, la micoproteína comenzó a ser revalorizada como una alternativa a alimentos basados en animales y plantas, tanto por sus características nutricionales excelentes como por el potencial de producción altamente controlada y descentralizada en bioreactores.

La BIF, presenta una composición de proteínas, lípidos y fibra soportada en una estructura filamentosa, diferenciándola de las proteínas unicelulares obtenidas a partir de levaduras. Dicha estructura está soportada con el andamiaje de quitina de la pared celular del hongo que se conserva luego de los tratamientos requeridos para su inactivación, permitiendo la separación de la porción estructurada del material conteniendo bases nitrogenadas, inconvenientes en exceso para alimentación humana.

En la actualidad existe un único productor de importancia a nivel mundial, Quorn Foods Inc., del conglomerado filipino Monde Nissin. Sin embargo, en los últimos cinco años aparecieron varias empresas utilizando diferentes tecnologías para la producción de BIF. Por ejemplo, Nature’s Fynd Inc., Enough (3FBio), Kernel Mycofoods Inc. con sistema de producción en estado sólido, cultivo utilizando efluente de producción de etanol y aprovechando una variedad de fuentes de carbono y energía.

En INTI, se desarrolló para Enyotech S.A., luego denominada Kernel Mycofoods Inc., un procedimiento de producción de BIF, que complementado con trabajos de otras instituciones como VTT de Finlandia y Lesaffre permitieron delinear una estrategia de producción competitiva para este producto. En esta presentación se tratarán los desafíos y resultados relacionados con la producción de este tipo de productos y sus derivados.

1BIAR

Remoción de especies nitrogenadas en humedales bioelectroquímicos

RODRIGUEZ SIMÓN, Carlos N; BUSALEM, Juan; GIUNTA, Valeria; BONANNI, Pablo S.

Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (ITEMA)

rodsimon@hotmail.com

Los humedales de tratamiento son un sistema de depuración biológico de aguas residuales visualmente atractivo y que no genera olores, lo cual permite su integración en las urbanizaciones y su aplicación como sistema de tratamiento descentralizado (desconectado de la red central) de aguas residuales. Su prin-

principal desventaja es la gran área que requieren para su implementación.

Buscando disminuir el requerimiento de espacio, recientemente ha comenzado a estudiarse la aplicación de microorganismos electro-activos en humedales de tratamiento, dando lugar a los humedales bioelectroquímicos. En este sistema se favorece el crecimiento de bacterias denominadas electro-activas que tienen una gran velocidad de degradación de especies carbonadas, generando un aumento en la eficiencia de remoción de demanda química de oxígeno, parámetro utilizado comúnmente para evaluar la calidad de un efluente.

Sin embargo, la alta velocidad de degradación de compuestos carbonados genera limitaciones en la remoción de otras especies contaminantes como el nitrato, por provocar una escasez de fuentes electrónicas apropiadas para los microorganismos encargados de su remoción.

Existen microorganismos capaces de utilizar electrodos polarizados como fuente de electrones. La limitación en la remoción de nitratos puede ser paliada suministrando a los microorganismos los electrones para su metabolismo directamente desde un electrodo polarizado.

En este trabajo se determinaron las condiciones de operación óptimas para esta intensificación, evaluando por medio de técnicas electroquímicas la capacidad de remoción de especies nitrogenadas de un consorcio aislado de humedales bioelectroquímicos comparando el comportamiento de éstos contra *Thiobacillus Denitrificans*, una cepa modelo de remoción de nitratos con electrones provenientes de electrodos. Para crecer los consorcios se utilizaron reactores electroquímicos con barras de grafito polarizadas como dador de electrones y se estudió la influencia de la concentración de oxígeno utilizando el medio de cultivo típico de bacterias denitrificantes privado del compuesto dador de electrones.

Se midió en continuo la corriente eléctrica generada por el sistema, lo cual permitió un seguimiento en tiempo real de la velocidad de toma de electrones por parte de los microorganismos. Mediante la técnica electroquímica de voltametría cíclica se pudieron evaluar los potenciales electroquímicos para la toma de electrones. Se obtuvieron corrientes en promedio de 0,07 A/m² para los reactores aeróbicos, 0,02 A/m² para los anaeróbicos y 0,03 A/m² para *Thiobacillus denitrificans*, con un comportamiento voltamétrico compatible con el proceso evaluado, que tuvieron una remoción de nitrato atractiva para la implementación de este concepto en humedales bioelectroquímicos de entre 0,7 y 1,3 mM NO₃/día.

Palabras claves: ELECTROQUÍMICA; BIOREMEDIACIÓN; MICROORGANISMOS ELECTROACTIVOS.

2BIAR

*Tratamiento en biorreactor del colorante negro reactivo 5 con *Apiotrichum porosum* MM-4029*

VIEJOBUEÑO, Josefina^a; GAROLERA, Betsabé^b; FERNÁNDEZ, Pablo M^{b,c}; PAJOT, Hipólito F^{b,c}

a) Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria (INTA – Estación Experimental Agropecuaria Famaillá.

b) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI – CONICET). c) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Catamarca.

hipolito_pajot@yahoo.com

La contaminación ambiental producida en los cuerpos de agua por la descarga

efluentes textiles es un problema ampliamente distribuido a nivel mundial. El tratamiento biológico de estos efluentes es una estrategia interesante por su versatilidad y su bajo impacto ambiental. Sin embargo, a pesar del número de sistemas de tratamiento propuestos, estos bioprocesos siguen siendo costosos y difíciles de escalar. En este trabajo se evaluó la decoloración de Negro Reactivo 5 (un colorante modelo) con la levadura oleaginosa *Apiotrichum porosum* MM-4029, aislada de las Yungas (Tucumán – Argentina). Los ensayos se realizaron en biorreactor instrumentado LH Series 210 (Inceltech, France), equipado con un vaso de 1,5 L (volumen de trabajo 1L). Los ensayos se realizaron a 25°C, en medio NDM optimizado con una concentración inicial de 200 mg/L del colorante. Se compararon 2 regímenes de aireación (200 rpm y 2vvm vs 400 rpm y 4 vvm) y 3 temperaturas de trabajo (20, 25 y 30°C). Se midieron el porcentaje de decoloración a las 24 h, la biomasa por peso seco, pH y la glucosa residual. El crecimiento de la levadura y la decoloración fueron óptimos a 400 rpm y 4 vvm y a 25°C, condiciones en las que se obtuvo un porcentaje de decoloración final del 88%, con un pH de 1,5, 3,8 g/L de peso seco y 1,5 g/L de glucosa residual. A 30°C, sin embargo, el proceso fue poco eficiente, con una decoloración final 24,92%, pH 2,25, peso seco 0,65 g/L y glucosa residual de 6,8 g/L.

Los resultados obtenidos demuestran que el proceso pudo escalarse satisfactoriamente hasta volúmenes de 1 L. El proceso de decoloración demostró una marcada dependencia de las condiciones de aireación y temperatura, lo que sugiere la necesidad de evaluar el uso de otro tipo de reactores para obtener procesos más económicos. Se comprobó que la levadura oleaginosa *Apiotrichum porosum* MM-4039 también es efectiva en procesos de biodecoloración, lo que plantea la posibilidad de aprovechamiento

posterior de la biomasa producida para la obtención de otros bioproductos.

Palabras Claves: LEVADURAS; COLORANTES TEXTILES; BIORREMEDEIACIÓN; BIORREACTORES; APIOTRICHUM POROSUM.

3BIAR

*Biorremediación de efluentes porcinos en biorreactor de capa fina empleando *Nannochloropsis gaditana**

JIMÉNEZ VEUTHEY, Mariana^{a,b}; MORILLAS ESPAÑA, Ainoa^c; SÁNCHEZ ZURANO, Ana^c; FLORES, María L^d; ACIÉN FERNÁNDEZ, Francisco G^c.

a) Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, CP 3200, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

b) CONICET, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina.

c) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Experimentales, UAL, CP E04120, Almería, España.

d) CRIDECIT, Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, UNPS-JB, CP 9000, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

marianaup20@gmail.com

Los efluentes de la actividad porcina presentan elevados niveles de contaminantes, principalmente materia orgánica, fósforo, nitrógeno y bacterias, los cuales deben ser removidos, previo vertido, para prevenir la contaminación de los recursos naturales. Actualmente, los procesos tecnológicos para remover nitrógeno y fósforo de los efluentes

son muy costosos, con baja eficiencia y poca sustentabilidad, por lo que resulta indispensable el desarrollo de nuevas tecnologías. En este contexto, la biorremediación de aguas contaminadas empleando microalgas resulta ser prometedora. Empleando esta tecnología es posible lograr un doble beneficio; por un lado, dado que las microalgas utilizan los contaminantes (N, P, CO₂) como fuente de nutrientes, generar biomasa de interés industrial; por otro, reducir los niveles de contaminación ambiental. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de la microalga *Nannochloropsis gaditana* de biorremediar los contaminantes presentes en efluentes porcinos, empleando biorreactor externo de capa fina. Los experimentos fueron llevados a cabo en las instalaciones del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA, Almería, España) durante la estación otoño. Se empleó un biorreactor externo de capa fina de 63 m², conteniendo agua salada y 10% de efluente porcino como medio de cultivo e inoculado con un 20% de la microalga *Nannochloropsis gaditana*. Inicialmente, el biorreactor fue operado en modo batch durante 7 días para lograr la aclimatación de la cepa y luego en modo continuo a una tasa de dilución de 0,40 d⁻¹. Durante los experimentos, la radiación solar máxima registrada fue de 760 W/m², con un valor medio de temperatura de 25 °C y una producción máxima de oxígeno disuelto (OD) de 65% Sat. Los parámetros evaluados a la entrada y salida del proceso fueron nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), coliformes totales, bacterias heterótrofas y *Clostridium* spp. En condiciones de estado estacionario, la productividad de biomasa (P_b) y la concentración de biomasa (X_b) fueron 9,14 g/m² d y 0,60 g/L, respectivamente. La eficiencia de remoción de NT excedió el 90% y la de PT el 50%. Asimismo, se logró una reducción de coliformes totales, bacterias heterótrofas y *Clostridium* spp. superior al 40, 70 y 90 %, respectivamente.

Los resultados sugieren que el acople del tratamiento de efluentes porcinos con la producción de *N. gaditana* conduce a la recuperación de nutrientes y a la obtención de una biomasa valiosa para fines acuícola por su elevado contenido en ácidos grasos (6 g/100 g biomasa seca). De esta forma, los resultados alcanzados apoyan el desarrollo de procesos más sostenibles y sustentables como lo es la biotecnología de microalgas.

Esta investigación fue financiada por el proyecto SABANA del Programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea (subvención 727874) y el Proyecto AL4BIO, financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (RTI2018-099495-A-C22). Jiménez Veuthey M. contó con una beca AUIP a través de la UNPSJB.

Palabras claves: BIORREACTOR; BIORREME-
DIACIÓN; CAPA FINA; EFLUENTE PORCINO;-
NANNOCHLOROPSIS GADITANA.

4BIAR

Protocolo de obtención de Biodiésel a partir de aceites comestibles utilizados

LUCAS, Laura B.^a; REBAGLIATI, Inés R.^{a,b}

a) Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Industrial. Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Morón

b) Hospital de Clínicas Gral. San Martín, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

lucaslaurab@gmail.com

El carácter no renovable de los combustibles fósiles y las perspectivas de agotamiento

to de las reservas a mediano plazo, unidos al crecimiento permanente y sostenido de la demanda, generan una situación indudablemente problemática, lo que ha impulsado la investigación de fuentes de energía renovables. Una de ellas, la de los combustibles ecológicos. Frente a esto, Argentina tiene ventajas comparativas para el desarrollo de fuentes alternativas de energía, en particular provenientes de productos agrícolas, como el biodiésel, por ser un país altamente competitivo no sólo en la producción de soja y maíz y sus derivados, sino que también en su industrialización, y en el consiguiente mercado de combustibles, lo que permite abrir oportunidades para la participación de los biocombustibles. El biodiésel es un producto energético, ecológico, renovable y de alto rendimiento, constituido por ésteres metílicos, obtenidos mediante transesterificación. Este último es un proceso basado en la reacción de triglicéridos provenientes de los aceites vegetales y/o de grasas animales nuevos o usados, un alcohol de bajo peso molecular y un catalizador. En este proyecto, hemos elaborado un programa de recolección de aceites comestibles de domicilios y comercios de la localidad de Morón. El plan contempla una campaña de concientización en la población a fin de lograr incrementar la donación de aceite y que se comprenda que tal acción permite una correcta gestión del residuo, dado su elevado potencial como contaminante ambiental. Por otra parte, desarrollamos un método para la obtención de biodiésel por medio de transesterificación ácida o básica. Así, una vez recolectado el aceite, se lo someterá a un pretratamiento físico con el fin de eliminar sólidos suspendidos y sustancias químicas que puedan afectar las reacciones de transesterificación. Luego se procederá a realizar experiencias para determinar la preferencia del catalizador a emplear y, finalmente, se llevará a cabo el proceso de transesterificación empleando el aceite limpio y seco, metanol

(CH₃OH), y el catalizador seleccionado, teniendo en consideración, trabajar bajo una relación molar de alcohol/aceite 14:1, un rango de temperatura de 60 °C, un margen de concentración de 10% del catalizador¹. Se propone realizar la comparación de técnicas de transesterificación química y biotecnológicas, estableciendo ventajas y desventajas en sus respectivas aplicaciones y con las materias primas utilizadas. Asimismo, se determinará cualitativamente las propiedades del biodiésel obtenido y, cuantitativamente las cantidades de reactivos a utilizar para optimizar su producción y obtener rendimientos significativos. Por último, con la realización del proceso de conversión del aceite se determinará en qué condiciones resulta conveniente llevar a cabo las reacciones de transesterificación. Esto permitirá la optimización de los tiempos necesarios y el ahorro de reactivos y materia prima, logrando mejores rendimientos productivos.

Palabras claves: BIOCOMBUSTIBLES; BIOENERGÍA; ACEITES COMESTIBLES UTILIZADOS.

5BIAR

*Temperatura óptima de crecimiento de cepas del género *Pleurotus* nativas de Misiones*

RESTELLI, María F. ^a; CONIGLIO, Romina O. ^b; GRASSI, Emanuel M. ^a

a) Instituto Misionero de Biodiversidad- Gobierno de la Provincia de Misiones

b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

Instituto de Biotecnología Misiones "María Ebe Rea". Laboratorio de Biotecnología Molecular. frestellli@imibio.misiones.gov.ar

La alta tasa demográfica mundial tiene como consecuencia la necesidad de una gran producción de alimento, la cual está ligada, principalmente, a la agricultura. Esta actividad se encuentra íntimamente ligada con el cambio de uso del suelo, y la utilización de pesticidas y fertilizantes que afectan la biodiversidad. En consecuencia, se desarrollan modelos productivos que se lleven a cabo en equilibrio con el ambiente, de bajo impacto y que produzcan alimentos de un gran valor nutricional.

El cultivo de hongos comestibles es una alternativa productiva, que articula de manera óptima la producción amigable con el medio ambiente y la reutilización de residuos, generando un alimento rico en proteínas.

Dado este contexto es necesario relevar y estudiar cepas nativas de hongos comestibles de Misiones que tengan un crecimiento óptimo cercano a la temperatura promedio de la región.

Para ello se llevó a cabo un estudio con el fin de determinar la temperatura óptima de crecimiento de seis cepas de *Pleurotus sp.* nativas de la provincia de Misiones. Se cultivaron en medio agar malta (extracto de malta 12.7 g/L; agar 20g/L) cuatro cepas de *P. djamor* (IMiBio-cult #148; #191; #278; #283), una cepa de *P. albidus* (IMiBio-cult #117) y una cepa de *Pleurotus sp.* (IMiBio-cult #279) aisladas de Misiones, además de una cepa comercial de *P. ostreatus* (IMiBio-cult #51). Las mismas fueron sometidas a temperaturas de 25, 28, 30, 32 y 35°C. Cada cepa fue replicada cinco veces por tratamiento. Se midió el diámetro de crecimiento cada 48 horas durante 30 días o hasta la colonización total de las cajas (9,5 cm de diámetro). Las cepas IMiBio-cult #117 y IMiBio-cult #278 obtuvieron la mayor velocidad de crecimiento a los 30°C, colonizando las cajas

de Petri a los 8 y 12 días de incubación respectivamente. Las demás cepas IMiBio-cult #148 y #191 colonizaron las cajas de Petri en un rango de 14-21 días después de la inoculación en el rango de 25-30°C. Por otra parte, las cepas IMiBio-cult #279 e IMiBio-cult #283 tuvieron crecimientos lentos en comparación con las demás, ya que sus crecimientos a los 30 días de la inoculación no completaban los 9,5 cm de las cajas en todas las temperaturas testeadas. La cepa IMiBio-cult #51 presentó una velocidad de crecimiento constante en el rango de 25-30°C, colonizando las cajas de Petri a los 8 días de la inoculación. Ninguna de las cepas tuvo un crecimiento óptimo a la temperatura de 35°C, siendo la cepa comercial la única de sobrepasar el centímetro de diámetro a los 30 días. Esta diferencia de temperatura puede estar determinada por la adaptación al ambiente en el que se desarrollan las cepas en estudio, siendo que *P. ostreatus* es una especie de climas templados. Estos resultados reflejan la importancia de estudios sobre la fisiología de crecimiento de la funga nativa y la adecuación de los parámetros de cultivo, como es la temperatura de incubación, para los hongos lignocelulósicos nativos de la Selva Paranaense.

Palabras claves: PLEUROTUS SP.; TEMPERATURA ÓPTIMA; CRECIMIENTO; CEPAS NATIVAS; MISIONES.

Aspergillus sp. V1 como potencial alimento acuícola: evaluación de la composición proteica y la toxicidad de la biomasa obtenida a partir de vinaza

DEL GOBBO Luciana M; COLIN Verónica L

Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), Tucumán, Argentina.

veronicacollin@yahoo.com.ar

La acuicultura (conjunto de actividades humanas orientadas al cultivo de organismos acuáticos, incluyendo peces, moluscos, crustáceos, etc.) es el sector de producción de alimento de origen animal con mayor crecimiento en los últimos años, aumentando en un promedio de 5,3% por año entre 2001 y 2018. Con este rápido crecimiento, las harinas de pescado y soja utilizadas como principales ingredientes proteicos en alimentos piscícolas (rama de la acuicultura referida específicamente a la producción de peces) se han vuelto menos disponibles y más costosas. Por lo tanto, para que esta industria sea sostenible, es necesario buscar ingredientes alternativos económicamente viables y nutricionalmente similares a las fuentes de proteína tradicionales. Se han probado diversos ingredientes para reemplazarlas, incluyendo el micelio de diversos hongos filamentosos producidos a partir de residuos agroindustriales. En efecto, en un estudio previo realizado por nuestro grupo se demostró que el micelio del hongo *Aspergillus sp. V1* cultivado en vinaza de caña de azúcar suplementada con urea (2 g/L) presentaba un contenido de proteínas totales del 41%, el cual estuvo dentro del rango re-

querido para piensos acuícolas comerciales (21–55%). No obstante, el valor nutricional del alimento no solo depende de la cantidad de proteína sino también de su composición en términos de aminoácidos esenciales. Por otro lado, algunas especies del género *Aspergillus* son productoras de aflatoxinas (micotoxinas). Estos metabolitos secundarios con potente actividad carcinogénica pueden causar un deterioro crecimiento de los peces, provocando mayor tasa de enfermedad y mortalidad. En base a estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el perfil de aminoácidos esenciales para peces y el contenido de aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2) en micelio de *Aspergillus sp. V1* cultivado en vinaza. Para esto, se determinaron los diez aminoácidos esenciales para peces por HPLC/FLD en la biomasa liofilizada; mientras que el contenido de aflatoxinas totales se cuantificó empleando un kit de inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA, AgraQuant® Total Aflatoxin, 1–20 ppb). Los resultados obtenidos demostraron que el micelio contenía los diez aminoácidos esenciales para peces cuyos valores, en g/100g de micelio liofilizado, fueron: histidina 2,0; treonina 2,6; arginina 5,2; metionina 0,6; valina 4,5; fenilalanina 1,4; isoleucina 3,3; leucina 5,6; lisina 3,5 y triptófano < 0,1. Cabe destacar que la mayoría de los aminoácidos estuvieron en cantidades similares o incluso mayor a los niveles encontrados en harina de pescado y soja; y que solo metionina, fenilalanina y triptófano fueron ligeramente más bajos que en estos ingredientes. Finalmente, el contenido de aflatoxinas totales fue de 31,02 ppb. En base a la legislación chilena (resolución exenta de SAG, Chile 1966), ingredientes con hasta 50 ppb podrían emplearse en la formulación de piensos acuícolas. Por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren que el micelio de *Aspergillus sp. V1* producido a partir de vinaza podría emplearse como un ingrediente seguro para la formulación de dietas acuícolas, propor-

cionando una fuente adecuada de proteínas en términos de cantidad y calidad.

Palabras claves: VINAZA; AMINOÁCIDOS ESENCIALES; AFLATOXINAS; PIENSOS ACUICOLAS; BIOMASA FUNGICA.

7BIAR

*Potencial genómico de *S. Albus* para la degradación de celulosa en sustratos lignocelulósicos*

DIETRICH Julian^{a,b}; VELA GUROVIC María S.^{a,b}

a) CERZOS, UNS-CONICET, Bahía Blanca.

b) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (BBF UNS), Bahía Blanca.

juliandietrich97@hotmail.com.ar

La valorización de residuos agroindustriales cobra mayor interés a medida que los países reconocen la necesidad de cambiar el rumbo de la economía global, desde una economía lineal a una economía circular. En Argentina la cáscara de girasol es un residuo agroindustrial muy abundante, especialmente en el sudoeste bonaerense. La mayor parte del girasol es utilizado para la producción de aceite, lo que genera enormes cantidades de cáscara de girasol como residuo. Dentro del concepto de biorrefinería, una de las estrategias para la revalorización de estos residuos agroindustriales es la utilización de microorganismos descomponedores del material lignocelulósico para la producción de moléculas de interés comercial y sanitario. Los microorganismos filamentosos, como las actinobacterias, especialmente

Streptomyces spp., son capaces de sobrevivir en estos sustratos y transformarlos en la naturaleza. No obstante, los bioprocesos involucrados en la transformación del sustrato aún no han sido esclarecidos.

Los microorganismos celulolíticos secretan un conjunto de enzimas que les permiten degradar los polisacáridos estructurales del material lignocelulósico (celulosa y hemicelulosas) para utilizarlos como fuente de carbono. Estas enzimas forman parte de las llamadas Enzimas Activas sobre Carbohidratos (CAZymes, Carbohydrate Active Enzymes), ampliamente estudiadas y valoradas por su potencial aplicación en el aprovechamiento de biomasa no alimenticia, como son los residuos agro-forestal industriales, principalmente para la obtención de biocombustibles y alimento animal.

En trabajos recientes *Streptomyces albus* CAS922 fue aislada a partir de cáscara de girasol desechada de la industria aceitera (Tippelt et al. 2020). La secuenciación de su genoma completo evidenció la capacidad de esta cepa para producir metabolitos de alto valor (Dietrich et al. 2020). En este trabajo nos propusimos analizar la presencia de enzimas degradadoras de celulosa en el genoma de *S. albus* y su capacidad para crecer en el agroresiduo en su estado natural.

A los fines de identificar los factores críticos para el crecimiento de esta cepa en estado sólido, se estudió el crecimiento de *S. albus* en cáscara de girasol residual a 37°C y 45°C, a tres valores de pH inicial con 65% de humedad inicial. Los resultados demostraron un crecimiento óptimo de la cepa a 45°C y a pH inicial neutro.

Con el fin de conocer el potencial de la cepa para degradar biomasa lignocelulósica, se realizó una caracterización de las CAZymes empleando herramientas bioinformáticas. Para ello, se utilizó dbCAN2, un meta servidor integrado que incluye tres herra-

mientas diferentes usadas para la anotación del CAZome: (i) HMMER, (ii) DIAMOND y (iii) Hotpep.

Como resultado se detectaron 143 genes asociados a CAZymes, representando un 2.23% del proteoma de la cepa. Entre sus productos génicos se detectaron enzimas relacionadas filogenéticamente con enzimas celulolíticas de actinobacterias. Entre ellas, se puede mencionar enzimas celulolíticas de las familias GH1, GH6 y AA10.

En base a la información obtenida durante el crecimiento en estado sólido y a partir de los datos obtenidos *in-silico*, se concluye que esta cepa presenta un gran potencial biotecnológico para la bioconversión del residuo agroindustrial en su estado natural en productos con valor agregado.

8BIAR

Clarificación de jugo y pulpa de manzana por enzimas hidrolíticas naturales de *Aspergillus niger* de Misiones

BORDAQUIEVICH, Mayra F.^a, CONIGLIO, Romina O.^{a,b}, FONSECA María I.^{a,b}, DÍAZ Gabriela V.^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "María Ebe Reca". Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) CONICET

mayborda@gmail.com

Los bagazos de caña de azúcar y de mandioca son residuos lignocelulósicos que pueden utilizarse como sustratos económicos

para el crecimiento de organismos a fin de maximizar la secreción de enzimas para aplicarse en bioprocesos como la clarificación de jugos. Nuestro trabajo se enfocó en el uso de *Aspergillus niger* LBM 134 para producir enzimas hidrolíticas y emplearlas en el proceso de clarificación de jugo y pulpa de manzana. Este hongo se aisló de un ambiente natural y se cultivó en residuos lignocelulósicos de nuestra provincia.

A. niger LBM 134 se reactivó en medio agar papa dextrosa 39 gL⁻¹ e incubó a 28 ± 2 °C durante 5 días. A partir de este cultivo se obtuvo una suspensión de esporas a una concentración de 10⁷ esporas mL⁻¹. Se tomó 1 mL de esta suspensión y se inoculó en frascos Erlenmeyer de 100 mL conteniendo 25 mL de medios líquidos previamente optimizados a condiciones estandarizadas (Díaz *et al.*, 2019). Luego, se filtraron y se centrifugaron a 10.000 g, 4 °C durante 15 min para obtener los sobrenadantes en los cuales se determinaron las siguientes actividades enzimáticas (sobre papel de filtro, endoxilanasas, β-xilosidasas, celobiohidrolasas, β-glucosidasas, amilasas y pectinasas). Estos sobrenadantes se aplicaron en ensayos de clarificación de jugo y pulpa de manzana (*Malus domestica*) en una proporción 1:1. Como controles, el jugo y la pulpa se incubaron con agua. Los ensayos se incubaron a 45 °C durante 120 min y a 50 °C por 60 min. Luego, se centrifugaron a 10.000 g durante 15 min y la absorbancia de los sobrenadantes se evaluó a 650 nm.

Los niveles de las actividades (U mL⁻¹) endoxilanasas (144 ± 5,65), sobre papel de filtro (0,381 ± 0,00), endoglucanasas (0,372 ± 0,25), β-glucosidasas (0,28 ± 0,00), celobiohidrolasas (0,43 ± 0,00), amilasas (8,64 ± 0,47) y pectinasas (10,51 ± 0,40) fueron mayores (p<0.05) en el sobrenadante proveniente del cultivo conteniendo bagazo de mandioca. La actividad β-xilosidasas fue mayor (0,74 ± 0,05 U mL⁻¹) en el sobrenadante del cultivo

con bagazo de caña de azúcar ($p < 0.05$).

Las enzimas de los sobrenadantes provenientes del bagazo de mandioca lograron el mayor porcentaje de clarificación en el jugo y en la pulpa de manzana ($p < 0.05$). Se obtuvo un $60,15 \pm 5,63$ % de clarificación de la pulpa cuando estas enzimas se incubaron a 45 °C durante 120 min y un $36,66 \pm 4,01$ % de clarificación del jugo cuando se incubaron a 50 °C durante 60 min. La clarificación se debe a la hidrólisis del material hemicelulósico. Las enzimas que utilizamos demostraron ser efectivas para dicha hidrólisis, por lo que pueden utilizarse como catalizadores naturales para este bioproceso.

Palabras claves: CLARIFICACIÓN; BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR; BAGAZO DE MANDIOCA; ENZIMAS HEMICELULOLÍTICAS; SOBRENADANTES.

9BIAR

Bacteriocinas de Yersinia sp: obtención y evaluación de su efecto antimicrobiano

PASCUAL, Lourdes I.; FAVIER, Gabriela I.; IRIARTE, Hebe J.; ARISMENDI SOSA, Andrea C.; MATTAR DOMINGUEZ María A.

Área de Microbiología e Inmunología. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis.

lourdes.p.97@gmail.com

Yersinia enterocolitica es una enterobacteria patógena para humanos que se transmite por agua o alimentos contaminados y puede causar manifestaciones clínicas como enteritis y trastornos inmunológicos crónicos. Ésta y otras especies del mismo género consideradas no patógenas, como *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii* y *Y. intermedia*, han sido reportadas como productoras de bacteriocinas por varios autores. Las bacteriocinas son péptidos extracelulares de origen ribosomal, capaces de inhibir el crecimiento o matar bacterias estrechamente relacionadas. Su aplicación en la industria alimentaria representa una alternativa a los tratamientos basados en el uso de conservantes químicos, antimicrobianos o térmicos, para evitar la contaminación y preservar la calidad sensorial y nutricional de los alimentos. En este trabajo se evaluó la producción de bacteriocinas por cepas de *Yersinia* aisladas de muestras de alimentos, animales, medioambiente, en nuestra región. Se ensayaron 80 cepas de *Y. enterocolitica* biotipo (B) 1A pertenecientes a diferentes serotipos (O), *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* y *Y. kristensenii* para la producción de bacteriocinas. Cepas de referencia de *Y. enterocolitica* B2, B3 y B4, asociadas a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), fueron utilizadas como cepas indicadoras para evaluar el efecto antimicrobiano de las primeras. Previo al ensayo, todos los microorganismos fueron cultivados en caldo Luria Bertani por 18 h a 28 °C, con agitación. La producción de bacteriocinas fue evaluada mediante la técnica de "punteado en césped". Brevemente, se colocaron inóculos de 10 µl de la suspensión de la cepa a ensayar en concentración de $1,5 \times 10^8$ ufc/ml, sobre placas de Petri que contenían una capa de agar semisólido inoculado con la cepa indicadora en concentración de 1×10^6 ufc/ml. Como controles positivo y negativo se utilizaron nisina (bacteriocina aprobada por FDA como GRAS) y solución fisiológica, respectivamente. Las placas fueron incubadas por 18 h a 25 °C. La producción de bacteriocinas se determinó por la presencia de halos de inhibición sobre el crecimiento de las cepas indicadoras alrededor de los inóculos. Se realizaron 3 réplicas de cada ensayo. Se identificaron 38 cepas productoras de bacteriocinas, entre ellas: 10 de *Y. interme-*

rikseenii, *Y. kristensenii* y *Y. intermedia*, han sido reportadas como productoras de bacteriocinas por varios autores. Las bacteriocinas son péptidos extracelulares de origen ribosomal, capaces de inhibir el crecimiento o matar bacterias estrechamente relacionadas. Su aplicación en la industria alimentaria representa una alternativa a los tratamientos basados en el uso de conservantes químicos, antimicrobianos o térmicos, para evitar la contaminación y preservar la calidad sensorial y nutricional de los alimentos. En este trabajo se evaluó la producción de bacteriocinas por cepas de *Yersinia* aisladas de muestras de alimentos, animales, medioambiente, en nuestra región. Se ensayaron 80 cepas de *Y. enterocolitica* biotipo (B) 1A pertenecientes a diferentes serotipos (O), *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* y *Y. kristensenii* para la producción de bacteriocinas. Cepas de referencia de *Y. enterocolitica* B2, B3 y B4, asociadas a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), fueron utilizadas como cepas indicadoras para evaluar el efecto antimicrobiano de las primeras. Previo al ensayo, todos los microorganismos fueron cultivados en caldo Luria Bertani por 18 h a 28 °C, con agitación. La producción de bacteriocinas fue evaluada mediante la técnica de "punteado en césped". Brevemente, se colocaron inóculos de 10 µl de la suspensión de la cepa a ensayar en concentración de $1,5 \times 10^8$ ufc/ml, sobre placas de Petri que contenían una capa de agar semisólido inoculado con la cepa indicadora en concentración de 1×10^6 ufc/ml. Como controles positivo y negativo se utilizaron nisina (bacteriocina aprobada por FDA como GRAS) y solución fisiológica, respectivamente. Las placas fueron incubadas por 18 h a 25 °C. La producción de bacteriocinas se determinó por la presencia de halos de inhibición sobre el crecimiento de las cepas indicadoras alrededor de los inóculos. Se realizaron 3 réplicas de cada ensayo. Se identificaron 38 cepas productoras de bacteriocinas, entre ellas: 10 de *Y. interme-*

dia, 1 de *Y. frederiksenii* y 3 de *Y. enterocolitica* B1A, que mostraron inhibición sobre *Y. enterocolitica* B2 O:9, B3 O:3 y B4 O:3. Las bacteriocinas producidas por *Y. intermedia* B1 O:35-37-40, *Y. enterocolitica* B1A O:5 y *Y. intermedia* B1 O:4,32-4,33/16-16,29 produjeron los mayores halos, con diámetros de $14,83 \pm 0,29$ mm para las dos primeras y de $14,00 \pm 0,50$ mm para la última. Los medios de cultivo que presentaron los halos de inhibición más visibles y definidos fueron: Trip-teína Soya Agar, Agar para Recuento en Placa y Agar Sabouraud (sin antibiótico). Estos resultados demuestran la capacidad de producción de bacteriocinas por cepas locales de *Yersinia* y su interesante potencial para ser aplicadas como inhibidores de cepas patógenas de *Y. enterocolitica* sobre alimentos.

Palabras claves: YERSINIA; BACTERIOCINAS; INHIBICIÓN.

10BIAR

Biocatalizadores fúngicos para la remediación de pesticidas organofosforados en frutas y verduras

SANTILLAN, Julia Y.^{a, b}; LEWKOWICZ, Elizabeth S.^a; IRIBARREN, Adolfo M.^a; ROJAS, Natalia L.^b.

a) Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones. Departamento de Ciencia y Tecnología. CONICET. Universidad Nacional de Quilmes.

b) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular-Área virosis de insectos. Instituto de Microbiología Básica y Aplicada. Departamento de Ciencia y Tecnología. CONICET. Universidad Nacional de Quilmes.

Julia.santillan@unq.edu.ar

Los pesticidas son compuestos químicos utilizados en la agricultura para el control de plagas y enfermedades que afectan a los cultivos y, si bien permiten importantes mejoras en la agricultura, su uso continuo plantea una preocupación sobre su impacto en el medio ambiente y la salud pública. En particular, los pesticidas organofosforados (OPs) son altamente tóxicos y pueden afectar a la población a través de sus remanentes en alimentos y agua. En este marco, el desarrollo de sistemas biológicos para la eliminación de estas sustancias tóxicas -tales como enzimas capaces de degradar pesticidas OPs, OP hidrolasas- surgen como una alternativa económica y ambientalmente amigable en comparación con los métodos convencionales para su remediación.

En este trabajo se estudiaron cuatro biocatalizadores fúngicos categoría GRAS como fuente de OP hidrolasas para la eliminación de residuos de pesticidas de frutas. *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium nalgiovense* permitieron obtener entre un 65% y un 92% de degradación de 500 mg L^{-1} de metil paraoxon tras 30 días de reacción en medio ácido (pH 2 y 5). Estos resultados son plausibles de destacar ya que son pocas las OPs hidrolasas reportadas activas en estas condiciones, lo que conlleva a su potencial aplicación en la industria alimenticia. A partir de extractos extracelulares, parcialmente purificados y liofilizados, se destacó el de *P. chrysogenum* que permitió la degradación de 50 mg L^{-1} de metil paraoxon en 5 días. Este extracto enzimático fue aplicado en el lavado de manzanas contaminadas con metil paraoxon alcanzándose su degradación completa tras 47 h. Además, considerando las condiciones de lavado de frutas a nivel industrial, las manzanas también fueron tratadas con el biocatalizador en presencia de SDS y pH 5.0, observándose la degradación completa tras 27 h. Estos resultados y las ventajas que ofrecen estos

biocatalizadores como la fácil manipulación, conservación y aplicabilidad, indican que podrían incluirse en las soluciones de lavado de frutas y vegetales para la eliminación de residuos de pesticidas OPs.

11BIAR

Influencia de una β -glucosidasa antártica sobre precursores glicosídicos presentes en vino moscatel

BEZUS Brenda^a; CAVELLO Ivana A.^a; DE OVALLE Stefani^b; GONZALEZ-POMBO Paula^b; CAVALITTO Sebastián F.^a

a) *Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (CONICET -La Plata, UNLP). Calle 47 y 115. (B1900ASH) La Plata, Argentina.*

b) *Área Bioquímica, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo (11800), Uruguay.*

brendabezus.bb@gmail.com

Los aromas se encuentran entre las principales características del vino y dentro de estos se encuentran los aromas varietales que son aquellos que provienen de moléculas volátiles de la propia uva y confieren tipicidad aromática. Gran parte de estas moléculas se encuentran, además de sus formas libres volátiles, ligadas a glucósidos (precursores glicosídicos) o conjugados cisteinilados, siendo los glucósidos los más abundantes. Estos precursores glicosídicos (no odorantes) están presentes en mostos, jugos de frutas y vinos jóvenes. Las β -glucosidasas catalizan la escisión de estos enlaces-glicosídicos promoviendo la liberación de la agli-

cona volátil incrementando así el aroma del vino. Si bien el uso de estas enzimas en la industria del vino es potencialmente interesante, una gran limitante que presentan las enzimas endógenas presentes en el mosto en el proceso de producción del vino, es que son poco estables o inactivas en condiciones enológicas. Es por ello que, en los últimos años, se ha estudiado el efecto de enzimas β -glucosidasas exógenas sobre estos precursores, buscando producir vinos más aromáticos. En este trabajo se estudió el efecto de una β -glucosidasa Antártica, producida por la levadura *Mrakia* sp. LP 7.1.2016, en un vino rosado Moscatel joven. Se estudió el efecto de las siguientes condiciones enológicas en la actividad de la enzima: azúcares, pH, etanol y metabisulfito. Para evaluar el efecto sobre los precursores aromáticos, se incubó durante 14 días un vino Moscatel rosado joven (pH 4.0) con la enzima pura (1 U l⁻¹) y un control sin tratamiento. Para la captación de los compuestos volátiles se empleó fibra 50/30 μ m DBV/CAR/PDMS (Stableflex, SUPELCO, Bellefonte, PA). La naturaleza de los volátiles se determinó mediante GC-MS (cromatografía de gases-espectrometría de masas), utilizando una columna cromatográfica Carbowax. Se relativizaron las áreas de los compuestos obtenidos en cada muestra con estándar interno 30 ppm de n-heptanol. La enzima demostró ser activa en presencia de 0-25% v v⁻¹ etanol (entre 96-113% de actividad relativa) pero sensible a la presencia de 2% p v⁻¹ glucosa (6% de actividad relativa). Por otro lado, la fructosa (10% p v⁻¹) demostró un efecto estimulante sobre la actividad enzimática (245% de actividad relativa). La actividad enzimática no se vio afectada por metabisulfito de potasio (60 mg l⁻¹). La enzima fue inestable a pH 3.0, con una vida media de 4,2 h a 20 °C. A pH 4.0, la actividad se retuvo en un 100% luego de 14 días a la misma temperatura. Se observaron diferencias significativas en el contenido total de terpenos en el vino tratado respecto al con-

trol. Los terpenos alfa terpineno, linalool, alfa terpineol, oxido de trans y cis linalool, nerol y geraniol se encontraron en mayor concentración en el vino tratado respecto al control. Particularmente, nerol y geraniol se incrementaron 10 y 7 veces, respectivamente, respecto al vino control. Estos terpenos son típicos de esta variedad de vino, conocidos por otorgar notas florales y cítricas. Los resultados de este trabajo demuestran que la β -glucosidasa Antártica producida por la levadura *Mrakia* sp. LP 7.1.2016 posee potencial en esta área de aplicación.

Palabras Claves: AROMA DEL VINO; ENZIMAS PSICRÓFILAS; VINO MOSCATEL; MONOTERPENOS.

12BIAR

Bioprospección de cepas bacterianas nativas productoras de biopolímeros aisladas de desechos olivícolas

SOLOAGA, María A.^a; ASSAD, Fodda^a ; ROSSO, María C.^a; SPANO CRUZ, María A.^a; CORDOBA, Patricia A. ^a; ROJAS, Laura N.^b; GHIRINGUELLI, Pablo D.^{b†}

a) Laboratorio de Microbiología. DACEFyN – (UNLaR) Universidad Nacional de La Rioja

b) Instituto de Microbiología Básica y Aplicada (IMBA) – Departamento de Ciencia y Tecnología. (UNQ) Universidad Nacional de Quilmes

soloagaa@gmail.com

La industria olivícola genera gran cantidad de residuos líquidos, sólidos y semisólidos en sus procesos de transformación, aptos para ser utilizados como fuente de carbono de bajo costo para la biosíntesis de polímeros naturales que presentan propiedades físicas

similares a los plásticos derivados del petróleo siendo, además, termoestables y biodegradables, lo que supone una ventaja ecológica frente a los plásticos tradicionales. Algunas especies de bacterias son productoras de estos polímeros. La bioprospección de la microbiota propia de estos residuos, aparece entonces como solución para su biorremediación. Representa a la vez, un enfoque basado en la innovación tecnológica para la economía circular y el desarrollo sostenible de la agroindustria en la región. Cuatro cepas de los morfotipos bacterianos aislados de residuos olivícolas producidos en La Rioja, Argentina, presentaron potencial para producir biopolímeros intracelulares polihidroxialcanoatos (PHA) y extracelulares (EPS). El objetivo del presente trabajo es caracterizar a nivel molecular y biológico funcional para la producción de PHA, a las bacterias aisladas en residuos olivícolas de La Rioja. Para ello se realizó un análisis filogenético de las secuencias de ADNr 16S con MEGA 7.0. La producción de PHA se determinó mediante microscopía óptica de campo claro y epifluorescencia con tinciones lipofílicas, *a priori* con Sudan Black y posteriormente con Azul Nilo. La producción de EPS se determinó por la capacidad de formar biopelículas *in vitro*, según lo descrito por O’Toole y Kolter con modificaciones, y la intensidad de la producción se realizó según el análisis estadístico propuesto por Stepanovic. Las cepas se criopreservan en medio LB y glicerol al 10% a -80°C, en el cepario del Laboratorio de Microbiología General de la UNLaR para análisis posteriores. El análisis filogenético de secuencias de ADNr 16S indicó que las cepas pertenecen a las especies *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter iwoffi*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aerococcus viridans* (GenBank PopSet: 1418575285). Todas las cepas estudiadas fueron positivas para las tinciones, Sudan Black y Azul Nilo, y fueron capaces de formar biopelículas *in vitro* aunque con diferente intensidad. La

cepa *E. cloacae* se determinó como formadora fuerte de biopelículas mientras que *P. aeruginosa* como moderada. En conclusión, las bacterias aisladas del residuo olivícola riojano *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter iwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aerococcus viridans*, son todas productoras de PHA y EPS con diferente intensidad. El conocimiento básico generado, ofrece una perspectiva de futuros temas de investigación sobre la producción de biopolímeros de interés industrial producidos por estas cepas, para generar valor agregado a la industria olivícola regional y la posible biorremediación de los residuos que origina.

Palabras claves: BIOPOLÍMEROS; RESIDUOS OLIVÍCOLAS; BIOPROSPECCIÓN; CEPAS AUTÓCTONAS.

13BIAR

Bioprocesamiento de efluentes de la industria del queso

ERMILIO, Alejo E.; MORELLI, Matías N.

Laboratorio de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. Facultad de Bioquímica y de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del litoral.

alejoermilio@hotmail.com

Dentro de nuestros consumos de alimentos, los derivados de animales ocupan una gran proporción de la dieta habitual de nuestra sociedad. La producción de dichos alimentos genera una enorme cantidad de productos secundarios, cualquiera sea el origen, de forma constante y, normalmente, creciente, siendo el lactosuero uno de ellos. El lactosuero es un remanente de la precipitación y eliminación de la caseína de la leche durante la elaboración del queso. Este

subproducto representa aproximadamente el 85-95% del volumen de leche y a su vez retiene el 55% de los nutrientes, por lo que se puede aprovechar como fuente de valiosos productos finales. Los sólidos totales del lactosuero están formados principalmente por lactosa, la cual representa un 4,8% m/v, además de 0,9% m/v de proteína, 0,8% m/v de minerales y menos de 0,05% m/v de grasa. La mayoría del lactosuero se desecha en muchos países en todo el mundo y es la causa de varios problemas de contaminación debido a su alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la cual es de 30.000-60.000 mg/L, valor el cual va a depender del proceso específico que se utilice a la hora de elaborar quesos y también mayoritariamente del contenido de lactosa que posea la leche. El cultivo aeróbico de microorganismos en lactosuero propone una alternativa al problema de la disposición del mismo. Dicho proceso permite reducir en un 90-95% su DBO y a la par, generar biomasa y derivados de valor agregado. La levadura *Kluyveromyces marxianusha* mostrado un gran potencial para el cultivo en lactosuero debido a su capacidad de degradar lactosa. Además, posee otras características biotecnológicas deseables para su utilización en procesos fermentativos a nivel industrial, como los es una tasa de crecimiento extremadamente alta, termotolerancia, una alta capacidad secretora de enzimas y crecimiento en un alto rango de pH.

Para estudiar el crecimiento de la levadura en lactosuero crudo, sin acondicionamiento previo, se propuso un diseño de experimental donde se evaluaron diferentes condiciones de pH inicial (4; 7), temperatura (25°C; 35°C; 45°C) y la influencia de la cantidad de inóculo (Sin inóculo; Con inóculo de levadura: 5×10^8 UFC/ml y 1×10^9 UFC/ml). Las variables respuesta analizadas fueron: pH, biomasa seca y concentraciones de azúcares reductores, α -aminoácidos y proteínas tota-

les. El cultivo se llevó a cabo con agitación orbital (130rpm). El análisis de las respuestas se realizó a tiempo final, equivalente a 16hs de cultivo. Se observó que, inoculando el lactosuero con levaduras, sin importar el pH o la temperatura, la concentración de lactosa se redujo en un 95% y también se registró mayor crecimiento de biomasa en los tratamientos con inóculo respecto de los que no fueron inoculados. A 35°C, independientemente de la presencia de levaduras o del pH, la concentración de α -aminoácidos, proteínas totales se redujeron un 75% y un 48%, respectivamente. En función de los resultados obtenidos se concluye que la cepa es capaz de crecer en lactosuero sin la necesidad de hacer un acondicionamiento previo del mismo, en un amplio rango de temperatura y de pH.

Palabras claves: LACTOSUERO; BIOPROCESAMIENTO; KLUYVEROMYCES MARXIANUS.

14BIAR

Caracterización de levaduras de Kefir para su aplicación en alimentos como biopreservantes

MOURE, M. Candela^{a,b}; ALCONADA, Teresa^a; LEÓN PELÁEZ, Ángela^b

a) CINDEFI- CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

b) Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata, Argentina.

candelamoure1@gmail.com

El kefir es una bebida probiótica que presenta varias propiedades entre las que se encuentra su capacidad antifúngica. El estudio del rol de las levaduras en dicha capaci-

dad, ha permitido la selección de aislamientos, con acción inhibitoria sobre especies de *Aspergillus* y con capacidad de secuestro de aflatoxina AFB1. En este trabajo se profundiza su estudio, evaluando sus propiedades probióticas y posibles rasgos patogénicos, con el objetivo final de ser utilizados como posibles agentes de biocontrol en alimentos.

En el análisis se emplearon 8 aislamientos, pertenecientes a las especies *Pichia membranifaciens*, *P. kudriavzevii*, *Geotrichum candidum* y *Saccharomyces cerevisiae*, y se analizó su potencial probiótico determinando su supervivencia a condiciones gastrointestinales in vitro. Preliminarmente, se analizó la supervivencia en buffer PBS al pH correspondiente a cada etapa (pH=2,5 para la fase gástrica y pH=8 para la fase intestinal) con lavados y recuentos en placa al finalizar cada etapa. Los recuentos no disminuyeron significativamente para casi la totalidad de los aislamientos, excepto para *P. membranifaciens*, el cual disminuyó en un orden de magnitud luego de la etapa intestinal. Se procedió a analizar la resistencia al pasaje gastrointestinal, en donde la fase gástrica consistió en una solución de sales y el agregado de pepsina 0,3%p/v a pH 2,5 y la intestinal en una solución de sales con pancreatina 0,1%p/v y sales biliares 7%p/v. Los resultados obtenidos fueron similares a los del ensayo en PBS, siendo el aislamiento de *P. membranifaciens* el más afectado luego de la etapa intestinal. En relación con la virulencia, se analizó la capacidad de adhesión al modelo de células intestinales Caco-2 (Pérez-Torrado et al., 2012), el crecimiento a temperaturas 37 y 42°C y la presencia de actividad proteolítica y lipolítica (se cuantificó en los casos positivos según Macedo, 1997). Todos ellos son atributos relacionados a levaduras patogénicas, por lo que la presencia simultánea de varios de ellos podrían ser un indicio de virulencia de la cepa. La capacidad de adhesión a células intestinales se

cuantificó entre 0,4 y 2,2%; valores considerablemente inferiores a los obtenidos para *Candida albicans* SC5314, patógeno empleado como control positivo, cuya adhesión fue del 62%. Únicamente los aislamientos de *G. candidum* presentaron actividades enzimáticas positivas y su actividad lipolítica se cuantificó entre 32,5 y 96,3 μ moles de ácido graso liberado/ml.h. De los 8 aislamientos, 3 pertenecientes a las especies *S. cerevisiae* y *P. kudriavzevii*, crecieron a altas temperaturas, y sólo *P. kudriavzevii* creció a 42°C.

En base a los resultados obtenidos los aislamientos podrían aplicarse potencialmente a alimentos; ya que además de su actividad antifúngica (biocontrol), sobreviven a las condiciones del pasaje gastrointestinal y ninguno presenta más de un atributo ligado a la patogenicidad.

Palabras claves: LEVADURAS; KEFIR; BIOCONTROL; PROBIÓTICO.

15BIAR

Hidrólisis enzimática de proteínas de suero lácteo utilizando proteinasas de *Solanum tuberosum*

TITO, Florencia R. ^a; PEPE, Alfonso ^b; GUEVARA, María G. ^a

a) Laboratorio de Bioquímica Vegetal. Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. CONICET-UNMdP.

b) División de Polímeros Biomédicos. Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA). Facultad de Ingeniería. CONICET-UNMdP

gguevara@mdp.edu.ar
ftito@mdp.edu.ar

El suero es el subproducto más importante en la industria láctea, obteniéndose a partir de la producción de quesos u otros productos coagulados. Este subproducto representa alrededor del 85% del volumen de leche utilizado y retiene aproximadamente el 55% de los nutrientes de la leche, principalmente proteínas. En los últimos años la producción de péptidos derivados de proteínas alimenticias ha tenido una gran importancia industrial debido a que tienen asociadas propiedades beneficiosas para la salud, como antihipertensiva y antioxidante.

En este trabajo, se llevó a cabo la hidrólisis enzimática de un concentrado de proteínas de suero utilizando tres aspartil proteasas: dos purificadas de *Solanum tuberosum*, StAP1 y StAP3, y StAP3 expresada en el sistema heterólogo *Kluyveromyces lactis* (StAP3r). Los objetivos planteados fueron: 1. Comparar la hidrólisis del suero entre las distintas enzimas y 2. Obtener las condiciones óptimas de pH y temperatura para llevar a cabo la hidrólisis. En ambos casos, la evaluación de la eficacia de la hidrólisis se llevó a cabo determinando el grado de hidrólisis (%DH) por medio de ensayos con *o*-ftalaldehído.

La hidrólisis del lactosuero con las StAPs se llevó a cabo a valores de pH 4, 7 y 9 y temperaturas de 20, 37 y 50 °C. Se incubó durante 18 hs y se utilizó para cada enzima una concentración final de 0,33 UCA /g proteína. Para evaluar el %DH se utilizó un diseño factorial de 3 niveles con dos variables numéricas (pH y temperatura) y una variable categórica (enzima). A partir de los resultados obtenidos se pudo determinar que, para las 3 enzimas, el factor pH resultó ser significativamente importante en las hidrólisis, a diferencia de los valores de temperatura. En todos los casos, los %DH más altos se determinaron para las incubaciones realizadas a valores de pH 7. En cuanto a la naturaleza de la enzima, tanto la StAP3 como StAP3r mos-

traron los valores más altos de %DH (2,6 y 2,3 % respectivamente) en el modelo predicho respecto a la StAP1 (1,6 %). Sin embargo, todos los valores obtenidos se encontraron dentro del rango reportado para otras enzimas vegetales, siendo entre 0,5 y 4 % de grado de hidrólisis.

Los resultados obtenidos resultan alentadores para seguir adelante en el estudio de posibles péptidos bioactivos generados a partir de proteínas alimenticias hidrolizadas con enzimas de *S. tuberosum*. Ensayos posteriores de la composición peptídica de los hidrolizados nos permitirán evaluar sus potenciales actividades biológicas.

Palabras claves: LACTOSUERO; HIDRÓLISIS; PÉPTIDOS BIOACTIVOS; ENZIMAS VEGETALES.

16BIAR

Optimización de condiciones lumínicas para el cultivo mixótrofo de *Chlorella Vulgaris*

CASÁ, Nahuel^a; OLMOS, Nahuel^a; LOIS-MILEVICICH, Julieta^a; ÁLVAREZ Paola^a; MATEUCCI, Ricardo^a; ESCALADA PLÁ Marina^b; GUTIÉRREZ, María del Carmen^a

a) Centro de Tecnologías Químicas (CTQ), Departamento de Ingeniería Química, UTN-FRBA, Argentina.

b) Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ), UBA-CONICET FCEyN, CABA, Argentina.

ncasa@est.frba.utn.edu.ar

El suero de ricota es el coproducto de la fabricación de queso ricota. Dado su gran volumen de generación, sus altos niveles de

carga ambiental y su bajo valor agregado, este suero representa un riesgo ambiental. En este contexto, se propuso su utilización para el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*. En ensayos previos se optimizaron las condiciones de pretratamiento del suero, ajuste del pH y concentración inicial del inóculo. El objetivo de este trabajo fue establecer el efecto de las condiciones lumínicas en la cinética de crecimiento de *C. vulgaris* en un medio de cultivo mixótrofo, empleando suero de ricota microfiltrado como sustrato. Para ello se construyeron sistemas de iluminación LED tubulares, provistos con un kit ArduinoTM para la configuración de ciclos, intensidades lumínicas y coloración de las luces. Los sistemas se prepararon con 45 mL de suero de ricota microfiltrado en Erlenmeyers de 250 mL y fueron inoculados con 5 mL de una suspensión de *C. vulgaris* en medio BG11. Se evaluó el crecimiento microalgal en condiciones de exposición a luz LED y luz Fluorescente, ambas blancas. Se aplicaron fotoperiodos de 12/12 h de luz/oscuridad, una radiación PAR aproximada de 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, una agitación orbital continua de 100 rpm y un tiempo de cultivo de 96 h. El seguimiento del crecimiento se realizó por recuento celular en cámara de Neubauer (Recuento) y densidad óptica (DO) mediante espectrofotómetro. Los datos obtenidos en este ensayo fueron ajustados al Modelo de Gompertz Modificado. Los sistemas se realizaron por duplicado y se tomaron nueve puntos a lo largo del periodo de incubación para el ajuste. Los resultados mostraron el máximo cambio registrado (C) = $2,90 \pm 0,05$, velocidad específica de crecimiento (μ) = $0,21 \pm 0,01 \text{ día}^{-1}$ y fase lag o de retardo (λ) = $5 \pm 1 \text{ h}$, para DO y $C = 2,4 \pm 0,1$, $\mu = 0,5 \pm 0,2 \text{ día}^{-1}$ y $\lambda = 31 \pm 2 \text{ h}$, para Recuento en los sistemas expuestos a luz LED. Mientras que para los sistemas expuestos a luz Fluorescente los valores fueron $C = 2,74 \pm 0,03$, $\mu = 0,18 \pm 0,01 \text{ día}^{-1}$ y $\lambda = 6 \pm 1 \text{ h}$, para DO y $C = 1,8 \pm 0,2$, $\mu = 0,5 \pm 0,3 \text{ día}^{-1}$ y $\lambda = 33 \pm 3 \text{ h}$, para Re-

cuento. Mayores periodos de retardo y velocidades específicas de crecimiento se registraron mediante el recuento en cámara. Los sistemas expuestos a luz LED blanca presentaron una tendencia no significativa ($p > 0.05$) a mayores valores de C y m y menores periodos de retardo. Desde el punto de vista del proceso productivo, considerando estos resultados y teniendo en cuenta que el consumo energético de las luces LED es menor que el de las Fluorescentes, se concluye que es conveniente trabajar con las primeras con el fin de aumentar la eficiencia energética del cultivo. Resulta necesario profundizar en el estudio de condiciones lumínicas de este cultivo mixotrófico, con el fin de mejorar las condiciones de crecimiento y la productividad celular de *C. vulgaris*.

Palabras claves: MICROALGAS, CHLORELLA VULGARIS, CONDICIONES LUMÍNICAS, SUERO DE RICOTA, MICROFILTRACIÓN.

17BIAR

Aprovechamiento de salvado de avena como sustrato y soporte de *Lactobacillus acidophilus*

SILVA Noelia E. ^{a, b}; FLORES Silvia K. ^{a, b};
DE ESCALADA PLA Marina F. ^{a, b}

a) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Industrias. Buenos Aires. Argentina.

b) CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ). Buenos Aires, Argentina

nnoesilva@gmail.com

Cada año se pierden y desperdician alrededor de un 30% de cereales, un 40–50% de

tubérculos, frutas y hortalizas, y un 20% de semillas oleaginosas. La molienda abrasiva de granos genera una pérdida considerable de nutrientes, como minerales, fibra dietaria y otros compuestos bioactivos. El salvado de avena, subproducto de la molienda de este cereal se destina principalmente a la elaboración de piensos y alimentos balanceados. El objetivo del siguiente trabajo fue evaluar el salvado de avena como sustrato/ soporte de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356). Para ello, se empleó la metodología de fermentación en estado sólido. Sistemas conteniendo 1 gramo de salvado de avena fueron hidratados, esterilizados e inoculados $\approx 2.10^4$ UFC de *L. acidophilus*/g salvado de avena. Los sistemas se incubaron a 37°C, posteriormente fueron lavados, centrifugados y sometidos a deshidratación y posterior envasado al vacío. Los efectos del nivel de hidratación y del tiempo de incubación fueron analizados empleando un diseño factorial completo en tres niveles (24, 48 y 72 hs; 5, 12,5 y 20 mL/g salvado de avena) con el punto central medido por cuadruplicado. Las variables de respuesta analizadas fueron el recuento celular y pH del sobrenadante luego de la incubación, por otro lado se midió el rendimiento de producto final y el decaimiento celular debido a la deshidratación y almacenamiento de 7 días a 25°C. Se observó un efecto lineal significativo ($p < 0,05$) del tiempo tanto para el recuento como para el pH, siendo positivo y negativo respectivamente. Además, hubo un efecto cuadrático negativo ($p = 0,0071$) del tiempo sobre el recuento celular, que indicaría que en el rango estudiado se ha superado la etapa de crecimiento exponencial en las condiciones ensayadas. El nivel de hidratación tuvo un efecto significativo y positivo sobre el rendimiento del producto final, mostrando además un efecto cuadrático negativo que indicaría que en el rango estudiado hay un nivel de hidratación que optimiza esta variable. Ni el nivel de hidratación ni el tiempo de incuba-

ción tuvieron efectos sobre el decaimiento celular posterior a la deshidratación; sin embargo, se observó una correlación momento de Pearson con el recuento celular y el pH (0,8488, $p=0,0005$ y $-0,8269$, $p=0,0009$, respectivamente). Estos resultados muestran la factibilidad de utilizar el salvado de avena como sustrato/soporte de este probiótico, sin embargo, las condiciones de hidratación y tiempos adecuados de incubación deben ser optimizados a fin de maximizar el recuento celular y su estabilidad final.

Palabras claves: SALVADO DE AVENA; LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS; INGREDIENTE FUNCIONAL.

18BIAR

Mejora del modelo matemático BNRM2: incorporación de microorganismos Lignocelulolíticos y Metanótrofos

ASTORGA, Marcos^a; GATTI, Marcela^b; CAMACHO, Alberto^{a,c}.

a) Laboratorio de Bioprocesos. Facultad Regional del Neuquén. Universidad Tecnológica Nacional. Plaza Huinca, Neuquén, Argentina. CP: 8318.

b) Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue. CONICET. Universidad Nacional del Comahue. Neuquén, Argentina. CP:8300.

c) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional del Comahue. Neuquén, Argentina. CP: 8300.

marcos.ad.as@gmail.com

La economía circular (EC) está ganando cada vez más interés en la sociedad debido a todos los beneficios que puede ofrecer, desde el aprovechamiento de residuos, hasta la reducción del impacto negativo en el medioambiente que tienen los procesos de manera individual. La digestión anaerobia (DA) es un bioproceso importante en la EC debido a su versatilidad para el tratamiento de sustratos de diversa naturaleza. Los modelos matemáticos que describen a los bioprocesos de DA son de gran utilidad, dado que mediante diferentes tipos de ajustes entre datos experimentales y aquellos teóricos, permiten conocer parámetros cinéticos que pueden ayudar a una mejor comprensión de los fenómenos presentes en la DA, como así también a la optimización del bioproceso. Actualmente, el modelo matemático de referencia corresponde al Modelo de Digestión Anaerobia N.º 1 (ADM1). De este modelo se derivan otros modelos, como es el caso del Modelo de reacción Acidogénica-metanogénica 2 (AM2), el cual intenta simplificar el planteo de ADM1, para generar un modelo sencillo que se ajuste a realizar tareas de control de procesos. También se derivan otros modelos que incluyen la incorporación de cosustratos a la DA, como puede ser el Modelo de simulación de referencia N.º 2 (BSM2). De particular interés nos resulta el Modelo de Remoción de Nutrientes N.º 2 (BNRM2), ya que fue elaborado con el objetivo de ser utilizado en plantas de tratamientos de aguas residuales, y también fue utilizado para ajustar parámetros cinéticos empleando resultados de la determinación de Potencial Bioquímico Metanogénico, obtenidos en nuestro laboratorio. Estos modelos matemáticos mencionados, consideran globalmente las etapas hidrolíticas, acidogénicas, acetogénicas y metanogénicas. No obstante, si bien estos modelos también consideran la materia orgánica lentamente biodegradable, carecen de la inclusión explícita de cosustratos lignocelulósicos y mi-

*Actividad antioxidante en hidrolizados de aislado de soja obtenidos con *Bromelia hieronymi**

SALESE, Lucía^{a,b}; LIGGIERI, Constanza S.^{a,c} ; BRUNO, Mariela A.^{a,b}

a) Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIPROVE), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

b) CONICET

c) CIC-PBA

luciasalese@biol.unlp.edu.ar

Las moléculas conocidas como ROS o especies reactivas del oxígeno son generadas como productos metabólicos en los procesos fisiológicos normales y su presencia en exceso puede ocasionar estrés oxidativo ocasionando numerosas enfermedades metabólicas, ya que provocan daño en las biomoléculas. En los sistemas alimenticios, la presencia de ROS puede provocar reacciones indeseables, causando deterioro por la aparición de sabores desagradables y carcinógenos. Industrialmente se utilizan antioxidantes sintéticos para neutralizar sus efectos, aunque son cuestionados por su posible toxicidad. Por esta razón existe un interés general en reemplazarlos por otros de origen biológico, más adecuados para ser incluidos en la alimentación humana. El empleo de hidrolizados proteicos en la industria alimentaria ha ganado relevancia en los últimos tiempos ya que tienen la capacidad de modificar las propiedades de los alimentos. Si bien para su preparación suelen utilizarse enzimas comerciales de origen animal o microbiano, también pueden emplearse fitoproteasas. El objetivo del presente trabajo fue obtener un hidrolizado de aislado

croorganismos que los hidrolicen, como así también de microorganismos metanótrofos, siendo éstos últimos reportados en estudios recientes de DA. Ambos parámetros son importantes para evaluar el rendimiento metanogénico de bioprocesos de DA.

En el presente trabajo se propone como objetivo general, mejorar el modelo matemático BNRM2, incluyendo las etapas hidrolíticas de sustratos lignocelulósicos, junto a microorganismos que los hidrolicen, como así también la inclusión de microorganismos metanótrofos. Para ello, se plantea el desarrollo de funciones moduladoras, las cuales incorporan diversos parámetros cinéticos. Para el caso de los compuestos lignocelulósicos, se consideró agregar constantes cinéticas correspondientes a hidrólisis de algas y residuos de la agroindustria. Los microorganismos metanótrofos considerados, corresponden tanto al dominio de las bacterias como al dominio de las arqueas, en donde principalmente se consideran dos reacciones: la oxidación de metano a metanol, y la oxidación de metano a dióxido de carbono.

Las mejoras realizadas al modelo BNRM2, permiten llevar a cabo simulaciones que contemplen más fenómenos que tienen lugar durante los bioprocesos de DA. Además, se pueden explicar más eficientemente los resultados experimentales que emplean, principalmente, sustratos de diferente contenido lignocelulósico.

Palabras claves: DIGESTION ANAEROBIA; SIMULACIÓN; BNRM2; METANÓTROFOS; LIGNOCELULOSA.

proteico de soja (*Glicine max* (L.) Merr.) con actividad antioxidante (AA) y fraccionarlo por exclusión molecular. Se prepararon hidrolizados empleando un extracto enzimático parcialmente purificado por precipitación etanólica (PER; $7,41 \pm 0,31$ Ucas/mg) preparado a partir de frutos inmaduros de *Bromelia hieronymi* Mez, una planta nativa del noroeste argentino. Se hidrolizó el sustrato (S) ($5,545$ mg/mL) durante 5, 10, 30, 60, 90 y 180 min a 45 y 55 °C, utilizando una proporción 1:10 de PER:S; la reacción se detuvo por shock térmico (10 min, 100 °C). Se realizaron dos controles correspondientes al tiempo 0 de hidrólisis o blanco de sustrato (BS) y al blanco de enzima (BE). El seguimiento de hidrólisis se llevó a cabo mediante SDS-PAGE con tricina, observándose en todos los casos una elevada degradación de las proteínas principales. Se determinó el grado de hidrólisis (TNBS) obteniéndose los mayores porcentajes en los hidrolizados de 180 min ($25,84 \pm 2,14$ % y $26,88 \pm 0,17$ %, para los hidrolizados de 45 y 55 °C, respectivamente). Empleando el método del ABTS se determinó que la AA fue más elevada respecto del BS en el hidrolizado de 180 min de 45 °C ($1,86 \pm 0,016$ mg/ml de Trólox), el cual fue seleccionado para posteriores estudios. La AA se midió también por el método de inhibición del β -caroteno, sin obtener resultados concluyentes. Con el objetivo de identificar las fracciones más activas, el hidrolizado fue separado por cromatografía de exclusión molecular empleando una columna Superdex Peptide 10/300 GL (GE). Se midió la AA de las distintas alícuotas por el método del ABTS, resultando más activa la correspondiente a 27-33 min de retención ($0,32 \pm 0,04$ mg/ml de Trólox) la cual será analizada a futuro por MALDI MS/MS con el objetivo de identificar los péptidos responsables de la actividad biológica. Consideramos relevante el estudio de nuevos antioxidantes de origen vegetal que sean más adecuados para su uso en alimentación humana y reemplacen a los sintéticos am-

pliamente utilizados en la industria. Por otra parte, los hidrolizados podrían ser empleados directamente en la formulación de alimentos, aportando a la conservación y mejorando la calidad de los productos.

Palabras claves: FITOPROTEASAS; HIDROLIZADOS PROTEICOS; ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

20BIAR

Producción de pectina a partir de orujo de manzana

PÉREZ, María de los Ángeles; RAMÍREZ, Noelia S.; FILIPPI, Marcela V.

Escuela de Producción, Tecnología y Medio Ambiente. Universidad Nacional de Río Negro.

ramireznoeliasoledad5@gmail.com

Argentina es un país productor y exportador de una gran variedad de frutas, entre ellas las manzanas, cuya producción promedio las 900 mil toneladas anuales, donde Río Negro y Neuquén representan el 85% de dicha producción. Aproximadamente el 43% de producción de manzanas se envía para ser procesada en la industria con destino principal el jugo, donde hasta el año 2013 se registró alrededor de 45.000 toneladas de manzana destinadas a tal producto (*Jorge o. Toranzo, Producción mundial de manzanas y peras, Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle, Río Negro, Argentina 2016*). En este procesamiento industrial se generan grandes volúmenes de bagazo, los cuales se vuelven inestables y permiten la proliferación de insectos, hongos, bacterias y olores por descomposición, constituyendo así una fuente de contaminación para la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén.

Este bagazo, que se concentra mayoritariamente de Marzo a Septiembre, se genera en el proceso de producción de jugo concentrado, sidra y mermeladas. Es un material residual sólido o semisólido (pasta) y está conformado por agua (80%), pectina, glúcidos, fibras y otros compuestos minoritarios. Las pectinas se encuentran catalogadas dentro del Código Alimentario Argentino como un Aditivo Alimentario, con poder gelificante y espesante y de amplio uso en la industria Alimenticia y Farmacéutica. Actualmente este insumo se importa desde diferentes partes del mundo, principalmente Brasil.

De acuerdo al método planteado por Zarei, M y col. "Effect of microwave-assisted extraction on the yield and quality of apple pomace and lemon peel pectins"(Año 2017) es posible extraer pectina a partir del orujo de manzana, ofreciendo de esta manera una alternativa sustentable para solucionar problemáticas que afectan a la región, generando un producto versátil, de amplia aplicación, con un precio muy por encima comparado con el precio del orujo, y que podría competir en el mercado con productos extranjeros.

Para ello se optó por utilizar un método químico para la extracción de pectinas, donde inicialmente se procedió a una inactivación enzimática, donde se combinó bagazo y agua a 100°C (relación 1 en 2) y se dejó actuar durante 10 min. Luego se realizó una hidrólisis ácida, agregándole HCl 1N a la mezcla de bagazo y agua. El tiempo de esta hidrólisis fue de 60 minutos a 80°C. Posteriormente se filtró la mezcla, obteniéndose una masa líquida a la cual se le adicionó etanol al 96% en una proporción 2 a 1. Nuevamente se filtró la mezcla, obteniéndose pectina húmeda la cual se sometió a secado en estufa a 40°C durante 12 horas. Como resultado se obtuvieron 5,33 gr de pectina seca en 200 gr de orujo, obteniéndose un rendimiento de 2,665%. Además, la pectina ex-

traída fue identificada como pectina de Alto Metoxilo con un grado de esterificación del 64%, convirtiendo esto a la pectina extraída en una de las más cotizadas en el mercado.

Palabras claves: BAGAZO; PECTINA; HIDRÓLISIS ÁCIDA; ALTO METÓXILO.

21BIAR

Efecto de atrazina sobre recuentos de poblaciones microbianas en biomezclas bioaumentadas con actinobacterias

GONZALEZ, Samanta K.^a; OCANTE, Teresa A.^a; BENIMELI, Claudia S.^{a,b} y SAEZ, Juliana M.^{a,c}

a) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI)- CONICET. San Miguel de Tucumán

b) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Catamarca.

c) Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán

jsaez@conicet.gov.ar

La atrazina (ATZ) es un herbicida utilizado para el control de malezas en cultivos de maíz, trigo, caña de azúcar, entre otros. Posee baja afinidad por los componentes del suelo, moderada persistencia y solubilidad en agua. La contaminación puntual por plaguicidas ha sido abordada en las últimas décadas a través de la aplicación de sistemas de biopurificación (SBP).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la ATZ sobre diferentes poblaciones microbianas en biomezclas, componente principal de los SBP, y su bioaumentación

con *Streptomyces* sp. M7 (*S. M7*), una actinobacteria con capacidad para degradar diversos plaguicidas.

Para la preparación del inóculo, *S. M7* se cultivó en caldo tripteína de soja (72 h, 30°C, 150 rpm). Las células se cosecharon por centrifugación (10 min, 10.000 rpm) y se lavaron 3 veces con agua destilada estéril. Se prepararon biomezclas (BM) combinando suelo, turba y un residuo/subproducto de la industria azucarera (1:1:2): BM1, bagazo; BM2, cachaza; y BM3, residuo agrícola de cosecha. Las biomezclas se estabilizaron (30 días) y luego se realizaron los siguientes tratamientos: BM + ATZ (50 mg kg⁻¹); BM + *S. M7* (2 g kg⁻¹); BM + ATZ + *S. M7*; y BM control (sin inocular ni contaminar). Las biomezclas se incubaron por 28 días (30°C, 60% de la capacidad de retención de agua) y se tomaron muestras periódicamente. Se realizó el recuento de microorganismos en medios de cultivo diferenciales: para hongos, Diclorán Rosa de Bengala-Cloranfenicol (25°C, 72 h); para bacterias cultivables totales, Agar de Recuento en Placa con cicloheximida (100 µg/mL) (30°C, 48 h); para actinobacterias, Caseína Almidón Agar con cicloheximida (100 µg/mL) y ácido nalidíxico (25 µg/mL) (30°C, 120 h).

La población fúngica mostró mayor sensibilidad a la ATZ que los demás microorganismos estudiados en todas las biomezclas. Las actinobacterias presentaron recuentos variables en las distintas biomezclas y tratamientos; sin embargo, en BM2 y BM3 los recuentos de actinobacterias fueron significativamente mayores en los sistemas bioaumentados con *S. M7* respecto a los sistemas sin bioaumentar, al final del ensayo.

En la BM1 se observó un perfil ascendente en el recuento de bacterias totales en todos los tratamientos, alcanzando una biomasa de aproximadamente 2 x 10⁷ UFC/g al final del ensayo. En la BM2 inoculada y con-

taminada con ATZ el desarrollo bacteriano fue similar al del control, con una biomasa de 2 x 10⁹ UFC/g a los 28 días de incubación. Esta biomezcla presentó los mayores recuentos para todos los grupos microbianos estudiados. Además, se evidenció que la inoculación con *S. M7* en los sistemas contaminados mejoró el desarrollo de actinobacterias y hongos respecto a la BM contaminada con ATZ.

La BM3 contaminada y bioaumentada con *S. M7* presentó un mayor recuento bacteriano al final del ensayo (4 x 10⁸ UFC/g) respecto al inicio, mientras que la BM3 contaminada con ATZ mostró un marcado descenso en el desarrollo bacteriano.

Se destaca la BM2 por su mayor proliferación microbiana, como así también el potencial de *Streptomyces* sp. M7 para la bioaumentación de BM en el tratamiento de atrazina.

Palabras claves: ATRAZINA; BIOMEZCLA; ACTINOBACTERIAS; BIOAUMENTACIÓN.

22BIAR

Tratamiento de efluente textil real mediante la levadura antártica Candida sake 41E

RUSCASSO, Florencia ^a; ARTURI, Tatiana ^b; CAVELLO, Ivana ^a; CURUTCHET, Gustavo ^c; CAVALITTO, Sebastian ^a

a) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900-La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

b) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata, Calle 1 y 47, 1900-La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

c) Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental -IIIA, UNSAM, CONICET, Campus Miguelete, 25 de mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Escuela de Ciencia y Tecnología e Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, UNASM, CONICET, Av. 25 de Mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

florenciaruscasso@gmail.com

La industria textil es una de las mayores generadoras de efluentes líquidos, fuertemente coloreados, que contienen altas concentraciones de sales, y gran variedad de productos químicos de difícil degradación (Ihsanullah et al., 2020). Por lo tanto, estos efluentes son uno de los más difíciles de tratar y requieren un tratamiento antes de que dichas aguas sean vertidas en cuerpos receptores. El objetivo de este trabajo fue caracterizar fisicoquímicamente un efluente de una industria textil ubicada en la localidad de Lanús (Pcia Bs As) la cual vierte sus efluentes tratados a la Cuenca Matanza Riachuelo. Además, se estudió la capacidad de decoloración de la levadura antártica *Candida sake* 41E al estar en contacto con dicho efluente. El punto de toma de muestra se encontraba en el equalizador de la industria. Para los ensayos de decoloración se utilizó al efluente textil real sin dilución, al cual se le adicionaron (en g l⁻¹): 5.0 KH₂PO₄, 0.5 MgSO₄, 0.13 CaCl₂, 20.0 glucosa, 2.5 extracto de levadura, 1.25 urea. Además, se realizó un cultivo abiótico, sin inocular. Cada cierto tiempo se realizó un espectro UV-Vis de cada sobrenadante, a fin de analizar la disminución de intensidad de absorbancia, así como la aparición de otros picos. El crecimiento de la levadura se siguió mediante la medida de densidad óptica (DO600). Al finalizar los cultivos se determinó la biomasa a través del método gravimétrico de peso seco.

Los valores obtenidos para los parámetros Demanda Química de Oxígeno (DQO) y

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) del efluente textil real en el equalizador excedieron los valores permisibles, 4793.8 y 1488.7 mg/l respectivamente, ya que los límites de descarga a agua superficial no deberían superar los 250 mg/l (DQO) y 50 mg/l (DBO) (Resolución N° 336/03, Autoridad del Agua). El efluente tuvo un valor de pH de 8.76, coincidiendo con los valores característicos reportado comprendidos entre 5.6-11.8 (Ihsanullah et al., 2020). Este valor se encuentra dentro del límite permitido por la Autoridad del Agua (entre 6.5-10, Resolución N° 336/03).

A las 48 horas de cultivo se pudo observar una marcada reducción en la absorbancia en el visible y una reducción de los picos a 220 y 260 nm, correspondientes a los anillos de benceno y benceno sustituido, respectivamente (Feng et al., 2000). No se observó la aparición de nuevos picos de absorbancia, asociados a nuevos metabolitos. El porcentaje de decoloración total obtenido a las 48 hs fue del 74,1%, calculado de acuerdo a lo reportado por Martorell et al. (2018). El valor del pH no se vio modificado a lo largo del tiempo de cultivo. En cuanto a la cinética de crecimiento de la levadura, se pudo ver un comportamiento diauxico, probablemente el primer sustrato consumido fue la glucosa y luego alguna fuente de carbono presente en el efluente ya que en el control biótico (medio de cultivo sin el efluente real) no se observó dicho comportamiento. Este estudio ha demostrado que la levadura seleccionada sería potencialmente útil para su aplicación en un proceso de decoloración del efluente real estudiado.

Palabras claves: EFLUENTE TEXTIL; COLORANTES; BIODECOLORACIÓN; CANDIDA SAKE.

Del sedimento contaminado de un humedal a su biorremediación

PRETZ, Florencia^a; PRADOS, Belén^b; FOUGA Gastón^c; LESCANO Mariela^b; PASQUEVICH Daniel^b; BOHÉ Ana^c; CURUTCHET Gustavo^a

a) Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San de Energía Martín

b) Instituto y Desarrollo Sustentable, Centro Atómico Bariloche

c) Gerencia Complejo Tecnológico Pilcaniyeu, División cinética química, Comisión Nacional de Energía Atómica

pretzflorencia@gmail.com

Un contaminante es un compuesto presente en el medio natural en una concentración mayor a la considerada normal para el mismo en ese contexto. Los metales pesados en particular resultan muy problemáticos pues son persistentes y tóxicos, incluso en bajas concentraciones. El Complejo Tecnológico Pilcaniyeu es una planta de enriquecimiento de uranio y próximo al mismo se encuentra un humedal natural que durante la década de los años noventa ha ido acumulando contaminación en sus sedimentos con metales, como uranio, níquel y cobre. El objetivo del presente trabajo fue analizar fiscoquímicamente estos sedimentos para conocer sus características, aislar bacterias endógenas del humedal y luego liberar metales por medio de biolixiviación. Esta técnica consiste en estimular el metabolismo de microorganismos acidófilos para conseguir generación de acidez y oxidación de sulfuros y Fe(II), llevando a la solubilización de metales de la matriz. Para llevar esto

a cabo se tomaron muestras de sedimentos de faldeo y cauce del humedal. Se caracterizaron exhaustivamente cuantificando pH, cantidad de humedad, materia orgánica, sulfuros, sulfatos y especiación de iones férrico y ferroso con técnicas estandarizadas. Luego las muestras se secaron y separaron en distintos tamaños mediante un tren de tamices. Algunas de estas fracciones se analizaron por SEM, DRX, FRX y se hicieron análisis de porosidad. También se realizaron digestiones microondas para la cuantificación de metales. Simultáneamente, se procedió a aislar bacterias autóctonas del humedal. Se buscaron bacterias acidófilas oxidantes de Fe(II) y azufre, como *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus thiooxidans* con medios 9K y 0K respectivamente; bacterias anaeróbicas Fe(III) reductoras y sulfato reductoras con medios Geobacter y Postgate; y bacterias electrogénicas, haciendo crecer aquellas aisladas en medio Geobacter desde la muestra de cauce en celdas electroquímicas, en las cuales usan acetato como donador de electrones y un electrodo como aceptor. Los ensayos de biolixiviación se realizaron con bacterias stock de *A. ferrooxidans* y *A. thiooxidans*, agregándolas a frascos agitados con sedimentos del cauce del humedal con varias combinaciones de agregados de fuentes de electrones (Fe(II) y azufre elemental), dado que no se encuentran en el humedal, y se realizaron controles sin inocular bacterias. Se destaca que se tiene una caracterización granulométrica del humedal y que la muestra proveniente del cauce tiene metales en mayor concentración a la del faldeo, por eso fue la elegida para realizar la biolixiviación. No fue posible aislar bacterias oxidantes, probablemente debido a la falta de donores electrónicos. Estos resultados indican que la comunidad microbiana es regulada por sustratos y no por aceptores electrónicos. En cambio, sí se aislaron bacterias reductoras y se pudieron seleccionar bacterias electrogénicas. Se encontraron

las condiciones preliminares óptimas para la biolixiviación de los metales estudiados, en condiciones de generación de ácido por agregado de azufre y Fe(II). Los resultados permiten diseñar lechos percoladores para lograr el escalamiento del proceso y los lixiviados se podrían tratar en un futuro en un sistema bioelectroquímico para la remoción y recuperación de uranio hexavalente presente.

Palabras claves: BIORREMEDIACIÓN; METALES; SEDIMENTO; HUMEDAL.

24BIAR

Tratamiento de efluentes urbanos con microalgas autoctonas en general San Martín-Chaco

PILA, Andrea N.; CUELLO, María C.; CHAMORRO, Ester R.^{a,b}

a) Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica (QuIMOBi) Facultad Regional Resistencia- Universidad Tecnológica Nacional.

b) Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (IMIT-CONOCET)

nataliapila.87@gmail.com

El aumento de la población mundial registrado durante las últimas décadas conlleva asociado un aumento en la generación de residuos como consecuencia de la actividad humana, como las aguas residuales urbanas. Las emisiones de efluentes con alto contenido en materia orgánica, nitrógeno, fósforo y otros componentes pueden resultar en el proceso de eutrofización. Existen tratamientos costosos e ineficaces que presentan in-

convenientes y podrían contaminar el medio ambiente. La biorremediación de estos efluentes con microalgas fotosintéticas es una tendencia creciente en todo el mundo, siendo particularmente atractiva para estos casos, debido a las capacidades de estos organismos unicelulares, foto-autotróficos, para asimilar nitrógeno y fósforo, reducir la demanda de oxígeno químico y bioquímico y realizar una desinfección indirecta de microorganismos patógenos. El objetivo de este trabajo es estudiar la capacidad de biorremediación de microalgas en efluentes urbanos de General San Martín (Chaco-Argentina) mediante el monitoreo de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. El efluente se recogió de la cámara de desbordamiento en la entrada de la planta de purificación en el sistema de saneamiento municipal. Se cultivó una especie nativa de microalgas, identificada como *Chlorella sp.*, presente en el efluente crudo. Se realizaron análisis microbiológicos y fisicoquímicos del efluente antes y después del tratamiento de microalgas. Se determinaron coliformes totales y fecales, aerobios mesófilos, mohos y levaduras, contenido de nitrógeno y fósforo, DBO, DQO entre otros. Los resultados muestran que después del tratamiento con microalgas la carga microbiana disminuyó significativamente, al igual que mejoran los parámetros fisicoquímicos. Eso indicaría que *Chlorella sp.* se puede utilizar para la biorremediación de aguas residuales.

Palabras claves: BIORREMEDIACIÓN, EFLUENTE, MICROALGA.

Queso de pasta blanda elaborado con extracto de alcaucil: evaluación de propiedades funcionales

CROSETTI, Valentina ^{a, b}; SOLA, Agustín^a; TORRES, María J. ^{a, b}

a) Laboratorio de Alimentos. Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

b) Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CIT-NOBA) – CONICET, UNNOBA, UNSAdA

valencrosetti@gmail.com

Desde hace varios siglos el queso tiene un rol importante en la alimentación humana. El desarrollo de nuevos productos con características sensoriales distintivas, a partir de la innovación en los insumos y procesos, es de interés para la industria quesera, dado que los consumidores buscan nuevas alternativas de sabor y texturas. En Argentina, el principal ingrediente es la leche vacuna y mediante el empleo de nuevos coagulantes o fermentos pueden desarrollarse quesos sensorialmente diferentes. En tal sentido, las especies vegetales son una fuente de interés en la obtención de extractos con actividad proteolítica que pueden emplearse como coagulantes alternativos a la quimosina, presente en los cuajos comerciales. El objetivo del trabajo fue obtener y caracterizar un extracto proteolítico a partir de la flor de alcaucil (*Cynara scolymus*) para desarrollar un queso de pasta blanda y comparar las propiedades funcionales del mismo con el elaborado con coagulante comercial en iguales condiciones de proceso.

A partir de las inflorescencias de alcaucil se obtuvo un extracto vegetal mediante solubilización de los pistilos en buffer fosfato

0,1 M (pH 7, conteniendo EDTA) seguido de clarificación por centrifugación. El extracto fue caracterizado en cuanto al contenido de proteínas y actividades proteolítica (sobre caseína de leche bovina) y coagulante (sobre leche bovina entera) en diferentes condiciones de pH (de 6,8 a 5,8) y temperatura (entre 25° y 45°C). Posteriormente, en simultáneo se elaboraron dos quesos tipo cremoso empleando 2 L de leche cruda pasteurizada (30 min a 63°C), en iguales condiciones de pH (6,4) y temperatura (37°C) previamente optimizadas; la única diferencia en el proceso de elaboración fue el coagulante: uno se elaboró con el extracto de flor de alcaucil y el otro con cuajo comercial (Chy Max FAR M Sticks, Chr. Hansen). En los quesos desarrollados se determinaron el rendimiento final y las propiedades funcionales: capacidad de fusión y flujo (derretibilidad), pardeamiento y liberación de aceite. El extracto obtenido, denominado Cs, presentó actividad proteolítica sobre caseína de leche bovina, con una actividad específica de 0,21 Ucas/mg de proteínas, y cuyo pH óptimo resultó 6,4. Su actividad coagulante fue comparable a la del coagulante comercial, aumentando al descender el pH de la leche o incrementando la temperatura en los rangos ensayados. El rendimiento del queso desarrollado con Cs fue menor que el elaborado con coagulante comercial, y presentó diferencias en las propiedades ensayadas: mayor derretibilidad y pardeamiento con formación de burbujas, y menor liberación de aceite. El análisis sensorial preliminar reveló un leve sabor amargo en el queso desarrollado con el extracto vegetal debido a una mayor proteólisis. Ajustando algunos parámetros del proceso, como temperatura y tiempo de coagulación, resulta promisorio el empleo del extracto Cs como potencial coagulante alternativo en el desarrollo de quesos de pasta blanda.

Palabras claves: CYNARA SCOLYMUS; COAGULANTE VEGETAL; QUESOS; PROPIEDADES FUNCIONALES

26BIAR

Influencia de la homogeneización de alta presión en la culturabilidad, viabilidad, actividad enzimática y potencial metabólico de Lacticaseibacillus paracasei 90

PERALTA, Guillermo H. ^{a,b}; AGUIRRE, Andrés ^c;
MENZELLA, Hugo G. ^c; BÜRGI, M.D. Milagros ^c;
MARTÍNEZ, Luciano J. ^d; ALBARRACÍN, Virginia
H. ^d; HYNES, Erica R. ^a; BERGAMINI Carina V. ^a

a) Instituto de Lactología Industrial (CONICET),
Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa
Fe, Argentina.

b) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNL),
Esperanza, Argentina

c) Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas
(FBCB-UNL), Santa Fe, Argentina

d) Centro de Investigaciones y Servicios de
Microscopía Electrónica (CONICET), Tucumán,
Argentina

e) Universidad Nacional de Rosario, IPROByQ-
CONICET, Rosario, Argentina
gperalta@fiq.unl.edu.ar

La homogeneización de alta presión (HPH por sus siglas en inglés) de fermentos utilizados en quesería puede contribuir a la maduración de los quesos mejorando la accesibilidad de enzimas intracelulares de los fermentos a sus respectivos sustratos en el queso. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del tratamiento de HPH sobre la culturabilidad, viabilidad, actividad enzimática y potencial metabólico de *Lacticaseibacillus paracasei* 90 (L90). La suspensión celular de L90 ($\sim 10^9$ ufc/mL) resuspendida en buffer fosfato de potasio 50mM se sometió a un tratamiento de homogeneiza-

ción a 1000 bares utilizando un homogeneizador de alta presión. Las células no tratadas y resuspendidas en el buffer se usaron como control. Las suspensiones celulares tratadas (H) y no tratadas (C) se almacenaron a -80°C hasta que se requirieron. La culturabilidad, viabilidad y arquitectura celular fue determinada mediante recuentos en placa, citometría de flujo (CF) y microscopía electrónica de barrido (ME), respectivamente. La actividad lactato deshidrogenasa (LDH) se midió en extractos libres de células (ELC) obtenidos después de la centrifugación de las suspensiones celulares. Finalmente, el impacto del tratamiento aplicado sobre el potencial metabólico de L90 se evaluó en elaboraciones de quesos semiduros a escala laboratorio en los que se incorporaron las suspensiones celulares (C y H) y el ELC de L90 como cultivos adjuntos o pool de enzimas, respectivamente. *Streptococcus thermophilus* fue utilizado como cultivo iniciador en todos los quesos. Cuatro tipos de quesos (Q) fueron elaborados por triplicado: un queso control sin adición de cultivo adjunto (Q_0) y tres quesos experimentales adicionados de la suspensión celular C (Q_1) y H (Q_2) en un nivel de $\sim 10^6$ ufc/mL, y el ELC obtenido a partir de 5 mL de la suspensión celular H (Q_3). Al finalizar el tiempo de maduración (4 meses) se analizó el nivel de diversos grupos bacterianos (bacterias totales, lactobacilos, enterococos, coliformes, hongos y levaduras), la composición global (pH, grasa, humedad y proteína), y los perfiles peptídicos (HPLC-UV y MALDI TOF). El nivel de culturabilidad no fue afectado ($p < 0,05$) por el tratamiento de HPH. Sin embargo, los resultados de CF, ME y LDH evidenciaron daños de las cubiertas celulares por el tratamiento aplicado, lo que podría favorecer la liberación de enzimas intracelulares. Los perfiles peptídicos determinados por MALDI TOF presentaron diferencias notorias entre los quesos, resaltando el potencial de L90 como cultivo adjunto con impacto en la peptidólisis. Un menor nivel

de enterococos se observó en Q_1 , Q_2 , y Q_3 respecto a Q_0 . Este efecto podría ser atribuido a una inhibición de los enterococos adventicios, potencialmente perjudiciales, por L90. Teniendo en cuenta la influencia de L90 en la peptidólisis, es posible que algunos de los péptidos producidos por las peptidasas de esta cepa tengan actividad antimicrobiana. Finalmente, la viabilidad de L90 en los quesos Q_1 y Q_2 no fue afectada por el tratamiento aplicado. El tratamiento de HPH demostró ser una tecnología eficiente para incrementar la accesibilidad de las enzimas intracelulares de L90, lo que tuvo un impacto durante la maduración de queso semiduro. Los resultados obtenidos resaltan el potencial de esta tecnología para diversificar/modular la actividad de fermentos utilizados en quesería.

Palabras claves: HPH, VIABILIDAD, LACTOBACILOS, QUESO, PÉPTIDOS.

27BIAR

Evaluación del proceso de digestión anaeróbica a escala piloto con orujo de manzana como único sustrato

ZANOVELLO, Lucas.^a; BARTUCCI, Sandra L.^{a,b}; CESANO, Margarita.^{b,c}; MARTÍNEZ, Irene.^d

a) Área de investigación y desarrollo tecnológico para la agricultura familiar región Patagonia, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

b) CONICET

c) CITAAC, Universidad Nacional del Comahue, Neuquén.

d) Universidad Nacional de Río Negro, Escuela de producción, tecnología y medio ambiente.

sandrabartucci@gmail.com

El orujo de manzana es un residuo orgánico proveniente de la molienda de la fruta para la producción de caldos de sidra, jugos y jugos concentrados. En la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, se producen aproximadamente 100.000 Tn anuales del mismo, el cual si no es tratado adecuadamente origina impactos negativos en el ambiente. Debido a la falta de antecedentes sobre producción de biogás con este sustrato, se propuso evaluar la estabilidad del proceso con el orujo como monosustrato a escala piloto.

El ensayo inició en Dic/2020. Se utilizó un biodigestor comercial marca Homebiogás, de 0,6 m³. Se inoculó con estiércol porcino diluido en agua, y en el día 47, luego de 2 semanas de carga diaria con estiércol porcino, comenzó la carga de orujo de manzana proveniente de una juguera local. El Tiempo de retención hidráulico fue de 67 días y la Carga Orgánica Volumétrica fue de 0.975 kg SV/m³*d. Diariamente se midió: temperatura ambiente, temperatura al interior del cobertor, temperatura dentro del reactor, presión del sistema, volumen y porcentaje de metano del biogás, pH, conductividad eléctrica y potencial redox del digerido. Periódicamente se monitoreó la alcalinidad parcial y total, ácidos grasos volátiles (AGV), y los indicadores alfa y FOS/TAC. La agitación se realizó mediante recirculación del digerido.

Los orujos de manzana tienen bajos pH y alto contenido de AGV (Bartucci et al., 2019), condiciones adversas para la digestión anaeróbica. Como estrategia para la estabilidad del pH se diluyó el orujo con el propio digerido del digestor (para lograr % de sólidos totales menor a 10%), que, al ser inoculado con estiércol porcino, poseería una capacidad buffer potencialmente adecuada para este propósito.

*Expresión y caracterización de una α L-ramnosidasa de *Actinoplanes missourensis* 431^T activa en ácido cítrico*

BAGLIONI Micaela^a, OMARINI Alejandra^{a,b}, BRECCIA Javier D.^a, MAZZAFERRO Laura S.^a

a) 1 Instituto de Ciencias de la Tierra y Ambientales de La Pampa (INCITAP), Universidad Nacional de La Pampa – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UNLPam-CONICET), FCEyN, Av. Uruguay 151, 6300 Santa Rosa, Argentina,

b) Institute of Food Chemistry and Food Biotechnology, Justus Liebig University Giessen, Heinrich-Buff-Ring 17, Giessen, 35392 Germany

mazzaferrolaura@gmail.com

Los desechos sólidos de los cítricos son ricos en materiales fermentables como azúcares y pectinas, además contienen altas concentraciones de glicósidos de flavanonas (hesperidina y naringina) y cantidades menores de otros flavonoides. El tratamiento de los mismos con α ramnosidasa representa una herramienta para su revaloración mediante la recuperación de monosacáridos de alto valor agregado, ramnosa, un intermedio quiral en la síntesis orgánica de moléculas bioactivas. Las α ramnosidasas (E.C. 3.2.1.40) son glicósidasas que escinden específicamente el enlace homo o heterosacárido, liberando el residuo de ramnosa. Sin embargo, se encuentran con el desafío de ser inhibidas por altas concentraciones de azúcares y ácido cítrico.

En este trabajo se identificó *in silico* una α ramnosidasa en el genoma de *Actinoplanes missourensis* 431^T. La misma se clonó y expresó de forma recombinante en *E. coli* y

Los resultados mostraron que la estrategia adoptada fue acertada, obteniéndose un rendimiento promedio de 167 L CH₄/Kg SV durante un período de 104 días de proceso estable. En el mes de Mayo, con temperaturas internas promedio de 8°C, se evidenció acumulación de AGV en el biodigestor, con valores de alfa y FOS/TAC fuera del rango óptimo. Sin embargo, el pH no bajó de 7 en ningún momento, demostrando que es un indicador muy tardío de fallas del proceso, pudiendo llevar a desestabilizaciones irreversibles del mismo. Luego de la suspensión de la carga, los parámetros se recuperaron.

Como conclusión, se puede observar que es posible un proceso estable utilizando el propio digerido para el control de la acidificación, incluso en regiones de clima frío, con temperaturas ambientes promedio de 15°C (último mes), obteniéndose rendimientos comparables a los expuestos por otros autores (en ensayos de laboratorio con temperatura mesofílica controlada). Sin embargo, es indispensable alguna estrategia para mantener la temperatura del biodigestor por encima de los 10°C en la época invernal.

Estos resultados tienen gran implicancia en la gestión del residuo, permitiendo su correcto tratamiento y valorizándolo, obteniéndose una energía limpia, que puede ser utilizada directamente en los procesos térmicos de las jugueras/sidreras, y el digerido, una enmienda orgánica que puede ser aplicada en los respectivos cultivos de manzana, para reemplazar parcialmente los fertilizantes químicos.

Palabras claves: ORUJO DE MANZANA, MONOSUSTRATO, DIGESTIÓN ANAERÓBICA, VALORIZACIÓN DE RESIDUOS.

se purificó mediante cromatografía de afinidad. Se evaluaron las condiciones de reacción definiéndose un pH óptimo de trabajo cercano a 6 y un rango óptimo de temperatura entre 25 y 45 °C (80 % actividad). La α ramnosidasa no mostró inhibición en presencia de 50 mM buffer citrato de sodio. Esta enzima se destacó por su promiscuidad, con actividad con el disacárido rutinosa, 7Orutinosilflavanonas, 3Orutinosilflavonoles y polisacáridos que contienen ramnosa, tales como goma karaya, arábica y gellan.

A fin de revalorizar residuos ricos en flavonoides, se caracterizó un residuo de naranja proporcionado por ECA Agroindustria (Concordia, Entre Ríos). El mismo consistió en (% sobre peso seco): 20.45 \pm 0.45 celulosa, 26.0 \pm 2.8 hemicelulosa, 7.09 \pm 0.37 lignina Klason, y 3.3 hesperidina (7Orutinosilhesperetina). El tratamiento de dicho residuo con la α ramnosidasa, resultó en la producción del monosacárido libre ramnosa. Por ende, la α ramnosidasa de *A. missourensis* 431^T representa un biocatalizador con potencial aplicación para la revalorización de subproductos de la industria citrícola.

29BIAR

Rol de sustancias poliméricas extracelulares en la agregación de microalgas

ALFONSO, Andrés J.^a; ARECO, María M.^{bd}; PASSESUCCI, Victoria^{bd}; FERRARO, Gisela^{cd}; CURUTCHET, Gustavo^{bd}

a) Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín, 25 de Mayo y Francia, San Martín, Pcia de Buenos Aires, Argentina.

b) Instituto de Investigación e Ingeniería Am-

biental -CONICET, Universidad Nacional de San Martín, 25 de Mayo y Francia, San Martín, Pcia de Buenos Aires, Argentina.

c) Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable, Comisión Nacional de Energía Atómica, Centro Atómico Bariloche, Av. Bustillo 9500, CP 8400, S. C. de Bariloche, Río Negro, Argentina.

d) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. CONICET. Godoy Cruz 2290. CABA - Argentina

andresalfonso1@gmail.com

Las microalgas son microorganismos eucariotas fotosintéticos con una gran variedad de aplicaciones y potencial biotecnológico debido a la producción de compuestos bioactivos como pigmentos, lípidos, proteínas y vitaminas, entre otros. Entre estos compuestos se encuentran las sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que las células excretan, y las que están compuestas principalmente por polisacáridos, así como por proteínas y lípidos. Las SPE podrían tener un rol importante en los procesos de aglomeración celular, lo que favorecería la cosecha de las microalgas, proceso que representa un alto costo en la aplicación biotecnológica de las mismas. Estudios previos han demostrado que en condiciones de estrés las células producen mayores cantidades de SPE. En función de las características fisicoquímicas que este tipo de compuestos presentan, pueden interactuar con metales presentes en solución, pudiendo favorecer los procesos de adsorción de los mismos por microalgas. No obstante, este tipo de interacciones no ha sido del todo estudiado. El objetivo del presente trabajo es evaluar y caracterizar las SPE producidas por una cepa de *Chlorella* sp. aislada del Río Reconquista, expuesta a Cu(II), Zn(II); Fe(III) y Cr(III). Para ello, se realizaron cultivos en batch de *Chlorella* sp. en medio BBM y a distintas concentraciones de Zn(II) (0, 0,08, 0,23, 0,38 y 1,9 mM), los que

Remediación de níquel utilizando algas unicelulares aisladas de sitios contaminados

GÓMEZ JOUSSE, Micaela; BAGNATO, Carolina; FERRARO, Gisela

Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable (IEDS), Centro Atómico Bariloche, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Av. Bustillo 9500, Bariloche, Rio Negro, ARGENTINA

jousseg.mica@gmail.com

fueron mantenidos en agitación constante (110 rpm), a 21°C y bajo ciclo de luz:oscuridad (16:8 horas). Luego de 15 días se evaluó la cantidad y composición de las SPE producidas por la microalga en cada una de las condiciones mencionadas. Por otro lado, a distintos cultivos concentrados de *Chlorella* sp. se les agregaron soluciones 1,9 mM de Zn(II), Cu(II), Fe(III) y Cr(III), luego de 24 hs. se separó la biomasa por centrifugación. Al final de cada experimento se determinó en las SPE, el contenido de carbohidratos y proteínas por el método de fenol-ácido sulfúrico y por Bradford, respectivamente, y su caracterización se realizó por FT-IR. Se evaluó también la adsorción de Zn(II) (0,38 mM) en solución por biomasa muerta de *Chlorella* sp con distinto contenido de SPE. Los resultados demostraron que en todas las condiciones estudiadas hubo excreción de SPE y que las mismas están compuestas principalmente por carbohidratos. Además, la presencia de los metales favoreció la formación de flóculos de microalgas y la precipitación de los mismos, lo que facilitó su separación. Los resultados demostraron el potencial de las SPE para ser aplicadas en procesos de biorremediación de Zn(II), así como para facilitar la cosecha de la biomasa en presencia de distintos cationes, ya que estos, en función de la composición de las SPE inducen la coagulación de los spe y la aglutinación de biomasa; además, permiten comprender preliminarmente importantes aspectos del proceso de aglomeración celular implicado, lo que eventualmente permitirá evaluar las distintas aplicaciones. Estos son los primeros de una serie de estudios tendientes a evaluar la formación de SPE por *Chlorella* sp. expuesta a distintos metales y su participación en procesos de remediación y de formación de biofilms con fines biotecnológicos.

La contaminación ambiental por metales es un problema que se da a nivel global. Los metales son altamente tóxicos y no son biodegradables. En los últimos años, el estudio de algas unicelulares para la remediación ha tomado un papel relevante. Las algas presentan altas eficiencias de remoción (E%), especialmente en soluciones con bajas concentraciones de metales (<100 mg/L) donde los métodos tradicionales se tornan ineficientes. Las estrategias de remoción consisten principalmente en la adsorción a grupos funcionales de la pared celular y/o la absorción intracelular. El níquel (Ni) es un metal ampliamente usado en la industria que puede provocar múltiples enfermedades. En este sentido, se debe tener especial consideración en el cumplimiento de las regulaciones para efluentes y en las concentraciones ambientales. Existen pocos estudios que aborden la remoción de Ni por medio de algas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la remoción de Ni²⁺ utilizando cepas de algas unicelulares aisladas de ambientes contaminados, identificadas como *Desmodesmus* sp. (cepas RR8, P1) y *Chlorella* sp. (cepa RR6): humedal del Complejo Tecnológico

Pilcaniyeu, CNEA (prefijo P); Río Reconquista (prefijo RR). Se realizaron ensayos de remoción con células vivas a distintos tiempos de contacto para evaluar la E% y la capacidad de remoción (q). La mayor remoción se dio durante los primeros minutos de ensayo, sugiriendo que la adsorción es el mecanismo predominante para la captación de Ni²⁺. Se obtuvieron E% de 86, 90 y 100% para las cepas P1, RR6 y RR8, respectivamente, a una concentración inicial de 55 mg/L Ni²⁺. La cepa RR8 alcanzó un estado estacionario a las 2 hs de ensayo, logrando una q máxima de 167.8 mg/g, mientras que P1 y RR6 removieron 140.6 y 190.3 mg/g, respectivamente, a las 24 hs. Los valores de q obtenidos superaron ampliamente a los encontrados en la literatura.

Adicionalmente, se estudió la capacidad de crecimiento (μ) y el rendimiento de la biomasa (Biomasa Seca Total final (BST)) de cada cepa; debido a que además de un alto valor de E% de metal, las cepas deben presentar características de crecimiento favorables, ya que esto influye en los costos generales del proceso. Los valores de μ obtenidos fueron 0.75, 0.56, 0.44 día⁻¹ y la BST fue 0.45, 0.83, 0.53 g/L para RR6, RR8 y P1, respectivamente. Aunque μ fue mayor en RR6, la BST fue superior para RR8 y P1, lo que se condice con un mayor tamaño y peso celular de estas dos cepas de *Desmodesmus* sp., con respecto a la cepa de *Chlorella* sp.. La cepa RR8 logró una E% máxima y un alto valor de q a un tiempo de contacto menor que RR6 y P1, además de un buen crecimiento en las condiciones de laboratorio ensayadas, por lo que parece ser una candidata favorable para la remoción de este metal. Los resultados obtenidos proporcionan importantes perspectivas sobre la potencial aplicación de estas cepas en el tratamiento de soluciones contaminadas con Ni²⁺, con el fin de reducir costos del proceso y generar una tecnología amigable con el ambiente.

Palabras claves: BIORREMEDIACIÓN; ALGAS; NÍQUEL.

31BIAR

Modelado tridimensional de una xilanasa de *Trichoderma atroviride* LBM 117

MARQUEZ, Rocío B.^a; MOLINA, Melisa A.^{ab}; AYALA SCHIMPF, Alan R.^{ab}; ZAPATA Pedro D.^{ab} FONSECA, María I.^{ab}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina

marquezrociobelen74@gmail.com

En la actualidad cada vez son más los procesos biotecnológicos que se llevan a cabo mediante la utilización de enzimas. En este sentido, dada su actividad hidrolítica, las enzimas xilanolíticas son de gran interés por sus diversas aplicaciones tales como el blanqueo de la pulpa en la industria papelera, la producción de biocombustibles y como suplemento dietario para la alimentación animal. En la industria alimentaria, y de panificados particularmente, permite mejorar las características organolépticas. Sin embargo, para su aplicación, las enzimas deben ser obtenidas en un corto periodo de tiempo, ser rentables económicamente y a su vez, hallarse reportadas de manera correcta. En este sentido el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar bioinformáticamente la xilanasa de *Trichoderma atroviride* LBM 117 obtenida por clonación previamente por el grupo de trabajo. Para ello se analiza-

ron parámetros que permitan predecir tanto su validez como modelo tridimensional y su comportamiento en la interacción con sustratos reportados en la bibliografía.

Para la obtención de la secuencia aminoacídica se utilizó el programa ExPASy *Bioinformatic Resource Portal* (<https://web.expasy.org/translate/>). Para la predicción de la estructura secundaria de la proteína se utilizó el programa PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>). El modelado teórico tridimensional de la proteína se realizó con SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) utilizando como templado una estructura de alta resolución de una xilanas II obtenida por el método de difracción de rayos X 1,50 Å. La evaluación de calidad cristalográfica y la caracterización del sitio activo de la enzima se realizaron mediante MolProbity y la herramienta perteneciente a *ProteinPlus*, DogSiteScorer, respectivamente.

Para el ensayo de acoplamiento se utilizó como sustrato a la D-xilosa, principal componente monosacárido del xilano, cuya estructura fue obtenida en *PubChem*; el docking molecular se realizó mediante el software Autodock VINA.

A partir de la secuencia nucleotídica, se tradujo a la secuencia de 222 aminoácidos. El modelo 3D teórico de la proteína consta de un dominio catalítico único constituido por dos hojas β anti-paralelas retorcidas y una α -hélice, lo cual coincide en un 78.95% con la estructura de una endoxilanas II de *Trichoderma reesi*, obtenida por el método de difracción de rayos X la cual se utilizó como templado. La proteína obtuvo un score de 1,49 respecto los parámetros geométricos, y un Clashcore de 3,85 en alusión al contacto entre átomos presentes en la molécula. De los residuos presentes en el cristal, el 95,5% se encontró en regiones favorecidas de acuerdo al diagrama de Ramachandran. Como sitio catalítico se reportó un *pocket* con

un volumen de 822,46 Å³ y una superficie de 974,21 Å². El potencial de unión a sustrato (DrugScore) fue de 0,83. Los resultados del acoplamiento indicaron una energía de afinidad de -5,2 kcal/mol, cuyos principales aminoácidos intervinientes fueron Tyr77, Pro 126, Trp 79 y Arg122.

Este trabajo confirma que la enzima endoxilanas pertenece a la familia G11, no solo a nivel estructural sino también funcional, evidenciado por los residuos conservados en la interacción con sustratos.

Palabras claves: ENDO- β -1,4-XILANASA; ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO; HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA.

32BIAR

Análisis de lacasas fúngicas en potencial acoplamiento con agrotóxicos mediante ensayos de docking molecular

AYALA SCHIMPF, Alan R.^a; CASTRILLO, María L.^{ab}; SALVATIERRA, Karina ^{ab}; FONSECA, María I.^{ab}; ZAPATA, Pedro D ^{ab}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina

schimpfalan92@gmail.com

El Clorpirifos y el 2,4D-diclorofenoxiacético son plaguicidas con participación muy activa en la agricultura misionera, siendo ésta la principal actividad productiva dentro

del sector agropecuario. Su uso intensivo produce la contaminación de los ecosistemas, provocando la intoxicación de seres vivos como el hombre, dado su capacidad de tornarse cancerígenos, mutagénicos y/o teratogénicos; es por ello que resulta fundamental el seguimiento de estos productos en el medio ambiente. En ese sentido, el hongo aislado en Misiones *Pleurotus pulmonarius* LBM 105 se caracteriza por su elevada tolerancia y degradación a compuestos altamente recalcitrantes, condición dada por los sistemas enzimáticos constituyentes dentro de los cuales las lacasas juegan un rol predominante. El objetivo del trabajo fue modelar, predecir y seleccionar las lacasas que mejor acoplamiento molecular in silico presenten con los pesticidas de interés para posteriores modificaciones estructurales que posibilite su uso futuro en el desarrollo de un sensor enzimático destinado al monitoreo ambiental de dichos contaminantes.

A partir del genoma secuenciado de *Pleurotus pulmonarius* LBM105, se obtuvieron las secuencias nucleotídicas de los genes de lacasa utilizando el software Geneius 12. Posteriormente se procedió a modelar las lacasas a partir de un template proporcionado por SwissModel como plantilla, con parámetros óptimos en Resolución (R) y R-Value Free que verifiquen su calidad cristalográfica. Para ello se hizo uso de la base de datos Protein Data Bank (PDB). Para evaluar la validez y calidad de las estructuras obtenidas se utilizó el servidor en línea MolProbity. Luego se procedió a identificar y caracterizar los sitios activos de cada enzima mediante DogSiteScorer, herramienta perteneciente a ProteinPlus; en cada caso se priorizó el valor "Drug Score" obtenido, el cual establece el potencial presente de cada *pocket* para interactuar con posibles ligandos. A su vez se registraron los aminoácidos pre-

sentes en cada sitio potencial de interacción, registrando parámetros tales como Volumen, Superficie y Profundidad de los *pockets*. Las estructuras 2D de los pesticidas se obtuvieron mediante PubChem y su preparación como ligandos se realizó con Avogadro. Para las lacasas se empleó el software Chimera, y el acoplamiento molecular se realizó con Autodock VINA.

Se han identificado tres lacasas en el genoma secuenciado. El cristal utilizado como template de referencia fue de 1,50 Å con un R-Value Free de 0,182. La puntuación MolProbity obtenida en los tres modelos fue de 1,58 (Lac I), 1,57 (Lac II) y de 2,28 (Lac III); de los *pockets* con mayor puntuación *Drug Score*, se utilizó para el acoplamiento aquellos que incluían los aminoácidos conformadores del sitio catalítico en las lacasas: 10 residuos Hys, 1 Cys y 1 Leu (Lac I/III) / 1 Phe (Lac II). Las energías de unión resultantes del docking determinaron que el Clorpirifos presenta mejor acoplamiento con Lac II (-4.5 kcal/mol) y el 2,4 D con Lac III (-6.2 kcal/mol). Los resultados obtenidos sientan las bases para la identificación de rasgos estructurales determinantes de la afinidad de las lacasas a los plaguicidas, permitiendo postular posibles mutaciones que mejoren su capacidad de unión a éstos sustratos.

Palabras claves: LACASA; PESTICIDAS; DOCKING MOLECULAR.

33BIAR

Obtención de compuestos fenólicos a partir de bagazo de caña de azúcar Utilizando cepas silvestres de *Auricularia fuscosuccinea*

LÓPEZ, Cinthya A. M.^a; CONIGLIO, Romina O.^{ab}; DÍAZ, Gabriela V.^{ab}; ALBERTÓ, Edgardo^c; ZAPATA, Pedro^{ab}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de biotecnología molecular. Misiones, Argentina

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

c) Universidad Nacional de San Martín-CONICET. Instituto Tecnológico de Chascomús. Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales. Buenos Aires, Argentina.

alicia_lopez_19@outlook.com

El bagazo de caña de azúcar es un subproducto de la industria azucarera y se destaca por ser una fuente natural de compuestos antioxidantes fenólicos. Sin embargo, estos compuestos están unidos a los componentes de la pared celular vegetal mediante enlaces glucosídicos, lo que reduce su habilidad para actuar como buenos antioxidantes. Estos enlaces pueden ser hidrolizados por enzimas como las β -glucosidasas, aumentando así los compuestos fenólicos libres. *Auricularia* es un género de hongos comestibles que se encuentran en la Selva Misionera, capaces de producir β -glucosidasas. Los objetivos de este trabajo fueron determinar molecularmente las cepas *Auricularia* SP aisladas de la Selva Misionera y analizar su eficiencia en el bioprocesamiento en estado sólido del bagazo de caña de azúcar en la

obtención de compuestos fenólicos. Se utilizaron 5 cepas de *Auricularia* SP., LBM 242, LBM 243, LBM 244, LBM 245 y LBM 246. Se extrajo ADN genómico de las 5 cepas, se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa utilizando los pares de cebadores ITS1-ITS4 y NL1-NL4, las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias disponibles en GenBank (*National Center for Biotechnology Information*) y se reconstruyeron los árboles filogenéticos utilizando los métodos *neighbor joining* y *maximum likelihood*. Luego, se evaluó la temperatura óptima del crecimiento micelial y la actividad cualitativa β -glucosidasa con el fin de seleccionar la cepa más promisoría. La cepa seleccionada se utilizó para bioprocesar bagazo de caña de azúcar en estado sólido durante 20 días. Se tomaron muestras cada 5 días, se realizaron extracciones en baño ultrasónico utilizando etanol 96% o metanol 100% y se determinó el contenido de fenoles totales, proteínas totales, actividad cuantitativa β -glucosidasa, y capacidad antioxidante. Las 5 cepas se determinaron como *A. fuscosuccinea*, mostraron actividad β -glucosidasa y se desarrollaron a una temperatura óptima de 30 °C. Se seleccionó la cepa *A. fuscosuccinea* LBM 243 por su mayor actividad β -glucosidasa y crecimiento micelial. Los valores más altos de fenoles totales ($507,5 \pm 9,05$ mg l⁻¹), proteínas totales ($51,58 \pm 6,26$ mg l⁻¹) y actividad β -glucosidasa ($12,2 \pm 0,62$ U l⁻¹) se encontraron el día 20, mientras que la capacidad antioxidante fue mayor el día 10 ($34,44\% \pm 11,20$). El aumento en el contenido de fenoles totales pudo deberse a la liberación de compuestos fenólicos por la acción de enzimas lignocelulolíticas, en este sentido, el contenido de fenoles totales estuvo positivamente correlacionado con la actividad β -glucosidasa ($r=0.9993$; $p<0.05$). A su vez, el contenido de fenoles extraídos fue mayor cuando se utilizó etanol, el cual, a diferencia del metanol, es un solvente seguro, eficiente y de bajo costo. De esta ma-

nera, desarrollamos una técnica efectiva, de bajo costo y amigable con el ambiente para obtener compuestos fenólicos bioactivos a partir de bagazo de caña de azúcar utilizando hongos comestibles silvestres de la Selva Misionera.

Palabras claves: AURICULARIA, BIOPROCESAMIENTO, ANTIOXIDANTES, SUBPRODUCTOS AGRÍCOLAS.

34BIAR

Producción de biomasa y pared celular de levaduras aisladas de residuos frutihortícolas

MONGE, María del Pilar^{a,d}, ASTORECA, Andrea^{b,d}; CHIOTTA, M. Laura^{c,d}; ROBLEDO, Sebastián^{a,d}; PEREYRA, Carina^{c,d}

a) Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba.

b) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP- CONICET, La Plata, Buenos Aires.

c) Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba.

d) Miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Argentina.

cpereyra@exa.unrc.edu.ar
carinapereyra06@gmail.com

Los polisacáridos de la pared celular (PC), entre ellos los β -glucanos, extraídos de levaduras han sido descritos como componentes

con propiedades biológicas como inmunomoduladoras, antiinflamatorias, antimicrobianas y antioxidantes. Teniendo en cuenta que la composición de la pared celular de la levadura puede variar con respecto a las diferentes condiciones de crecimiento, el objetivo de este estudio fue determinar la influencia de los aditivos (EDTA, SDS, NaCl) en la producción de biomasa, el porcentaje de pared celular (PC) y la composición de la misma de *Saccharomyces* sp., y *Candida* sp., con el fin de obtener β -glucanos. Ambas cepas fueron aisladas de residuo frutihortícola e identificadas a nivel de género usando el método de fingerprinting. Para la producción de biomasa se usó caldo extracto de levadura- peptona- dextrosa (YPD) suplementado con diferentes concentraciones de EDTA (5 y 50 ppm), SDS (10, 20 y 100 ppm) y ClNa (3000 y 30.000 ppm) para evaluar siete (7) tratamientos diferentes (T1: Control - YPD; T2: 100 ppm SDS; T3: 50 ppm EDTA; T4: 30.000 ppm ClNa; T5: 5 ppm EDTA y 10 ppm SDS; T6: 20 ppm SDS y 3000 ppm ClNa; T7: 5 ppm EDTA, 20 ppm SDS y 3000 ppm ClNa). La producción de biomasa para ambas cepas fue mayor en el T5 (EDTA y SDS), con valores de 8,6 g/L para *Saccharomyces* sp. y de 7,9 g/L para *Candida* sp. El porcentaje de PC más alto de *Saccharomyces* sp. y de *Candida* sp. se obtuvo en el T6 (36,1%) y en el T5 (40,5%), respectivamente. Para *Saccharomyces* sp. y *Candida* sp. se observó una correlación positiva entre la concentración celular y el contenido de PC, con valores de $R = 0,83$ y $R = 0,94$, respectivamente. Para verificar la variación en la composición de la PC bajo la influencia de diferentes tratamientos, se realizó espectroscopía infrarroja (IR). Los espectros de la PC de ambas cepas en los 7 tratamientos estudiados muestran tres regiones correspondientes a carbohidratos ($950-1185\text{ cm}^{-1}$), proteínas ($1480-1700\text{ cm}^{-1}$) y lípidos ($2840 - 3000\text{ cm}^{-1}$). En la región de los carbohidratos se muestran grupos químicos relacionados a los β -gluca-

nos y en la región de las proteínas podemos determinar la quitina, representada por las bandas amida I y amida II. Se realizó una comparación semicuantitativa de las principales bandas infrarrojas presentes en los 7 tratamientos para determinar cuál de los aditivos presentes en el medio de cultivo potencia la producción de β -glucanos. Se deben realizar futuros estudios para extraer los β -glucanos y determinar su concentración. La optimización de la producción de PC y sus componentes a partir de cepas de levaduras permitirá su aplicación en la obtención de β -glucanos para la industria alimentaria, farmacológica y cosmética.

35BIAR

*Pared celular de *Kluyveromyces marxianus* VM004 como adsorbente de aflatoxina B1*

PEREYRA, Carina^{a,d,e}, BONGIOVANNI, Silvestre^{b,d,e}, MONGE, María del Pilar^{b,d,e}, CRISTOFOLINI, Andrea^{c,d,e}, CAVAGLIERI, Lilia^{a,d,e}

a) Departamento de Microbiología e Inmunología.

b) Departamento de Química.

c) Departamento de Microscopía Electrónica.

d) Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km. 601. (5800) Río Cuarto. Córdoba. Argentina.

e) Miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Argentina.

lcavaglieri@exa.unrc.edu.ar

Kluyveromyces marxianus se utiliza en varias aplicaciones biotecnológicas, sin embargo, ningún estudio ha demostrado la influencia del medio de cultivo en la compo-

sición de la pared celular (PC) y su relación con la adsorción de micotoxinas. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de las condiciones de cultivo de *Kluyveromyces marxianus* VM004 sobre el espesor y la composición de la PC y su influencia en la adsorción de aflatoxina B₁ (AFB₁). La cepa fue inoculada en dos medios de cultivo, caldo extracto de levadura-peptona-dextrosa (YPD) y caldo extracto de granos de destilería secos con solubles (DDG) para la obtención de biomasa y PC. El test de adsorción de AFB₁ (150 ng/mL) se realizó usando una concentración de células de 1×10^7 cél/mL y 0,001 g de PC simulando pH gástrico y pH intestinal. La determinación del espesor de la PC y su composición se realizaron usando microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopia infrarroja (IR), respectivamente. La producción de biomasa fue similar en ambos medios de cultivos, para YPD (4,98 g/L) y para DDG (4,24 g/L). El porcentaje de PC obtenido en DDG (33,3%) fue superior al de YPD (8,6%). El diámetro de las células y el espesor de la PC aumentaron en 61,84% y 30%, respectivamente, utilizando caldo DDG. Los espectros IR de la PC provenientes de los dos medios de cultivo estudiados incluyeron tres (3) regiones: polisacáridos (950-1185 cm⁻¹), proteínas (1480-1700 cm⁻¹) y lípidos (2840-3000 cm⁻¹). El análisis indicó la presencia de los grupos C-O, O-H y N-H, los cuales están relacionados con los componentes principalmente quitina y β glucanos involucrados en la adsorción de AFB₁. La proporción de β -glucano y quitina fue mayor en la PC obtenida del medio YPD que del medio DDG. El porcentaje de adsorción fue influenciado por el pH ensayado. A pH 2, la adsorción fue mayor que a pH 8 en los dos medios de cultivo estudiados usando las células enteras y la PC. El porcentaje de adsorción (media \pm DS) usando la célula entera a pH 2 cultivadas en caldo YPD fue de $8,40 \pm 1,11\%$ y a pH 8 el porcentaje disminuyó hasta 1,63%. Las

células cultivadas en DDG adsorbieron $13,8 \pm 2,3\%$ a pH 2, mientras que a pH 8 la adsorción fue de $5,2 \pm 1,8\%$. La PC extraída de YPD adsorbió $45,3\%$ de AFB₁ a pH 2, mientras que a pH 8 fue $29,6\%$. La adsorción de la PC de DDG a pH 2 fue del $37,7\%$ y del $6,5\%$ a pH 8. En conclusión, la composición del medio de cultivo influyó en la composición de carbohidratos (β -D-glucano y quitina) y, en consecuencia, en la adsorción de AFB₁. Este es el primer estudio que reporta la capacidad de adsorción de AFB₁ por PC obtenida de una cepa probiótica de *K. marxianus* VM004. Además, el uso de DDG como fuente de carbono podría reemplazar un medio sintético como YPD para la producción de biomasa y PC destinada a un adsorbente de AFB₁.

36BIAR

Elaboración y caracterización de quesos de cabra con Yacon

FABERSANI Emanuel^{a,b}, CISINT Juan Carlos^{a,b}, SÁNCHEZ Sara^c, HONORÉ Stella^c, OLISZEWSKI Rubén^{a,b}

a) Laboratorio de Calidad de Lácteos y Alimentos Funcionales (LACALAC), Facultad de Agronomía y Zootecnia (FAZ), Universidad Nacional de Tucumán (UNT).

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

c) INSIBIO CONICET

biofaber9@gmail.com

En el mundo existe una creciente prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) asociadas a una mala alimentación, como obesidad, diabetes tipo II, y síndrome metabólico, que impactan de forma negativa sobre el sistema socioeconómico

y representan un problema de salud pública, en el que nuestro país se encuentra inmerso. El queso de cabra tiene un lugar destacado en la gastronomía del Noroeste Argentino, siendo un producto tradicional apreciado por los consumidores debido a sus atributos nutricionales y organolépticos. Representa por lo tanto una matriz ideal para vehicular compuestos funcionales como prebióticos y/o probióticos, que aporten mejores características organolépticas, nutricionales y mejoren la salud del consumidor. El Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), es una planta originaria de la región andina considerada un alimento con múltiples funciones que posee compuestos bio-activos como fructooligosacaridos (FOS) y antioxidantes que ejercen efectos beneficiosos sobre la salud. En base a esto el objetivo fue elaborar quesos caprinos simbióticos, combinando diferentes cultivos lácticos comerciales (FD-DVS-YC-X16-YO-FLEX, Chr. Hansen, Denmark) y cepas autóctonas (*Lactobacillus bulgaricus* LCLC-2, *Enterococcus durans* LCLC-6 y *Enterococcus faecium* LCLC-18) aisladas y caracterizadas en nuestro laboratorio con y sin agregado de Yacón. (QUESO A: Fermentos comerciales, QUESO B: Fermentos comerciales + Yacón, QUESO C: Fermentos Autóctonos + Yacón y QUESO D: Fermentos Autóctonos). Los quesos se fabricaron utilizando tecnología para tipo semiduro a partir de leche de cabra pasteurizada con adición de cultivos lácticos y se maduraron 60 días. Se caracterizaron microbiológica y nutricionalmente, y se evaluaron perfiles de azúcares, ácidos orgánicos y lípidos. Los resultados mostraron que la adición de Yacón favoreció el crecimiento de bacterias lácticas. Los parámetros composicionales presentaron diferencias significativas entre grupos, observándose aumento en humedad y carbohidratos y reducción de grasa, calorías totales y pH en los quesos B y C compa-

Producción enzimática de ciclodextrinas para remoción de colorante índigo en efluentes textiles

PARRA, Micaela^a; LIMA GONZALO, Laura G.^b; PARISI, Mónica G.^a; ROSSO, Adriana M.^a; GEI, Anabella^b, RODRIGUEZ GASTON, Jorgelina A.^a.

a) Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Luján, Buenos Aires, Argentina

b) Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Luján, Buenos Aires, Argentina.

micaelaparra85@gmail.com

Una alternativa novedosa para remover colorantes presentes en las aguas residuales de la industria textil es el uso de ciclodextrinas (CDs), moléculas cíclicas derivadas de la biocatálisis enzimática del almidón de 6, 7 y 8 unidades de glucosa, llamadas α , β y γ -CD, respectivamente. Las CDs son capaces de formar complejos de inclusión con una amplia variedad de compuestos, los que son alojados en su cavidad hidrofóbica. Nuestro grupo de investigación ha estudiado y purificado la enzima Ciclodextrina Glucosiltransferasa (CGTasa) y logrado la producción de una mezcla de α , β y γ -CD a partir de almidón de mandioca. A pesar de las ventajas de contar con esta mezcla de CDs, su solubilidad en agua no permite su uso en remediación sin ser inmovilizadas en un polímero.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue la producción de una mezcla de α , β y γ -CDs y su inmovilización en perlas de alginato de calcio para eliminar el colorante índigo de efluentes textiles. Se estudiaron diferentes proporciones y tiempos de contacto de CDs-polímero con el agua residual y se evaluó su porcentaje de remoción.

rados con A y D al día 60. El aumento de carbohidratos inducido por el agregado de Yacón estuvo representado por un aumento significativo de fructooligosacáridos (FOS) en los quesos B y C comparados con A y D, detectándose picos con diferentes grados de polarización (GP2 a G \geq 10). El grado de lipólisis resultó mayor en los quesos B y C, seguido por D y finalmente A, que mostró el menor nivel de lipólisis al día 60. En cuanto al perfil de ácidos orgánicos el agregado de Yacón (QUESOS B y C) mostró mayor contenido de ácido láctico, acético y propiónico que los quesos sin Yacón (A y D). Los resultados indican que el uso de fermentos autóctonos combinado con el agregado de Yacón acentúa a lipólisis, modifica el perfil fermentativo y mejora el perfil de azúcares (aumento de fructooligosacáridos) y ácidos orgánicos (principalmente propiónico), mejorando la calidad nutricional de los quesos y aportando compuestos bioactivos. Este trabajo permitió elaborar y caracterizar quesos caprinos simbióticos (prebióticos y probióticos) regionales y tipificar la acción diferencial de fermentos lácticos autóctonos seleccionados vs controles comerciales con y sin el agregado de Yacón, aportando información fundamental para la elección de cepas autóctonas y dando valor agregado a quesos caprinos locales.

Palabras claves: YACÓN; PREBIOTICOS; POROBIOTICOS; ALIMENTO FUNCIONAL.

Las CDs se prepararon a partir de una suspensión de almidón gelatinizado con 15 U de CGTasa por gramo de almidón a 56 °C durante 4 h a 100 rpm, obteniéndose una mezcla con una relación a : b : g / 1.0:1.3:0.3. Las esferas de gel se prepararon por el método de gelificación añadiendo una solución de alginato sódico y CDs gota a gota a una solución de cloruro de calcio. Se emplearon aguas residuales tomadas de la vertiente de efluentes de una empresa textil de la zona de Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina. El colorante presente es el índigo, utilizado en el proceso de teñido del hilado para tela de jean. Los ensayos con agua residual se realizaron con las siguientes relaciones CDs-polímero/agua residual: 1g/10 mL, 2g/10 mL y 4g/10 mL; agitando y midiendo cada 5 minutos durante los primeros 15 minutos, y luego cada 15 minutos durante 1 hora. La eficiencia del sistema se evaluó graficando espectros de absorción entre 400-700 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV1800.

Los resultados demostraron que en todas las relaciones de CDs-polímero/agua residual se obtuvo un significativo porcentaje de remoción del colorante a los 5 minutos de contacto, si bien se observó una leve disminución de la absorbancia a tiempo cero. Con la relación 4g/10 mL se logró la mayor adsorción del colorante respecto a las otras dos relaciones, y al control de perlas de alginato sin CDs.

El polímero CDs-alginato desarrollado permitió remover el colorante índigo de las aguas residuales de la industria textil en un porcentaje del 94% con la relación 4g/10 mL a los 5 minutos de contacto.

Palabras claves: CICLODEXTRINAS; ALGINATO DE CALCIO; POLIMERO; INDIGO.

Fermentación en estado sólido: obtención de enzimas para valorización de residuos agroindustriales

BUSTOS, Luciana B.^a; DURÁN, Ludmila^a; GIL, Rocío M.^{a, b}; KUCHEN, Benjamín^{a, b}; SANTANA, Anelise E.^a; RODRÍGUEZ Laura A.^a; MARTÍN, María L.^a

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

mlmartin@unsj.edu.ar

La actividad agroindustrial de la región de Cuyo se basa en el procesamiento de dos cultivos: la vid y el olivo. La industria del vino y del aceite de oliva generan grandes cantidades de residuos sólidos, como el orujo de uva (OU), escobajo, alpeorujo y orujo de aceituna (OA). La disposición final de estos residuos es dificultosa debido a sus altas concentraciones de sustancias fitotóxicas, provocando problemas ambientales por su acumulación. Por su composición química (carbohidratos, fibra, grasas, proteínas y sales minerales) resultan sustratos aptos para la generación de productos biotecnológicos con valor agregado. La Fermentación en Estado Sólido (FES) permite utilizar los residuos agroindustriales sólidos como materias primas para la producción de bioproductos y a la vez descontaminar esos residuos. En estudios previos se encontraron los valores óptimos de las variables para la FES. El objetivo de este trabajo fue realizar una FES a escala piloto utilizando una mezcla de OU y OA como sustrato para producir un complejo enzimático con actividades Exo-poligalacturonasa (Exo-PG), Exo-polimetilgalacturonasa (Exo-PMG) y Endo-poligalacturonasa (Endo-PG) y estudiar a su vez la cinética de

Estudio del potencial hidrocarbonoclástico de mohos aislados de ambientes contaminados con combustibles

ARAUJO SOLA, Evelyn N.^a; MANZO, Ricardo M.^{a,b}; FRISÓN, Laura N.^a

a) Cátedras de Microbiología y Biotecnología, Departamento de Tecnología de Alimentos y Microbiología, Facultad de Ingeniería Química (FIQ), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Santa Fe, Argentina.

b) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC)-UNL-CONICET, Santa Fe, Argentina.

araujoeve@hotmail.com

crecimiento del microorganismo. Para la FES se colocó en el reactor de 1,5 kg de sustrato (mezcla OU y OA), alcanzando una altura del lecho de 7 cm; para impedir la acumulación de calor en el medio de fermentación y permitir una apropiada transferencia de oxígeno. Se proporcionó al reactor un caudal de aire de 2 L/min y se hizo circular a través de un filtro de fibra de vidrio para su esterilización. Las condiciones de cultivo del reactor fueron: 1,5% p/p de glucosa, humedad inicial de 66% p/p, concentración de micronutrientes de 5 ml/100 g de sustrato húmedo, temperatura de 27°C, tiempo de incubación de 6 días, pH inicial de 4,5 e inóculo de 1×10^7 esporos/g seco. Las actividades enzimáticas se midieron en los extractos acuosos de FES. Para la determinación del contenido de Glucosamina, a cada muestra de la FES, se le realizó una hidrólisis ácida de la quitina fúngica a N-acetil glucosamina. Como resultados se obtuvieron las cinéticas de producción de las actividades enzimáticas (Exo-PG, Exo-PMG, Endo-PG) y la cinética de crecimiento del microorganismo, en el reactor de lecho fijo. Se observa que hay un pico de crecimiento entre las 72 y 96 horas de cultivo, luego el microorganismo entra en fase estacionaria. Estos resultados se relacionan con los valores de producción de las actividades enzimáticas, determinando que la biomasa fúngica aumenta a medida que se liberan las enzimas. Este comportamiento indica la actuación de las enzimas que degradan el residuo lignocelulósico entre las 24 y las 72 horas de cultivo. Es posible producir un complejo enzimático con actividades pectinolíticas, usando fermentación en estado sólido de orujos de uva tinta y aceituna, por acción del hongo filamentoso *A. niger*. Sería de interés estudiar el aumento de escala para futuros ensayos de FES.

Palabras claves: FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO, ENZIMAS PECTINOLÍTICAS, RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

Uno de los principales y continuos problemas ambientales es la contaminación del suelo con hidrocarburos resultantes de las actividades relacionadas con el petróleo y sus productos derivados los que provocan un daño excesivo a los sistemas locales. Se ha propuesto reducir la contaminación del suelo por hidrocarburos mediante el desarrollo de alternativas sustitutivas del combustible fósil a partir de la incorporación de biocombustibles. Asimismo, en las últimas décadas se desarrollaron distintas tecnologías para la remediación de los suelos contaminados con la intención de corregir y reducir la concentración de hidrocarburos en los mismos. En particular, la biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el uso de microorganismos capaces de degradar compuestos que provocan desequilibrios en el medio ambiente y en los ecosistemas. Dado que los hongos son descomponedores por exce-

lencia cuyo micelio es capaz de secretar enzimas extracelulares y ácidos que poseen la capacidad de descomponer compuestos orgánicos complejos, la micorremediación se presenta como un acercamiento para lograr la depuración biológica de entornos contaminados con compuestos recalcitrantes.

En el presente trabajo se tomó como objetivo general ampliar el conocimiento sobre el potencial hidrocarbonoclástico de mohos aislados de suelos contaminados con biocarburos provenientes de diversas áreas geográficas (ciudad de Santa Fe, provincia de Santa Fe y Vaca Muerta, provincia de Neuquén), con énfasis en la región Santa Fe. Específicamente se efectuó el análisis de la biodiversidad cultivable de mohos presentes en diversos suelos contaminados con combustibles y en muestras de combustible diésel líquido comercial contaminado; se los identificó empleando diversas claves taxonómicas; se comparó si existen diferencias en cuanto al recuento y riqueza fúngica entre las diversas regiones geográficas; y, se realizaron estudios de crecimiento en medios con agregado de biocombustibles.

Para ello se aislaron e identificaron hongos filamentosos de muestras contaminadas con hidrocarburos. Se estudió la riqueza específica, la similitud/disimilitud (índice de Jaccard) de las muestras y se determinó la frecuencia porcentual de los géneros aislados e identificados. A los hongos filamentosos identificados se les realizaron estudios de crecimiento empleando un medio Agar Mineral Inorgánico con agregado de diésel comercial Infinia Mezcla B10.

Se identificaron 10 géneros de hongos filamentosos en las muestras de la provincia de Santa Fe y 5 géneros en las muestras de la provincia de Neuquén. Asimismo, no hubo especies compartidas entre las muestras pertenecientes a cada provincia. De las once especies con las que se realizó los estudios

de crecimiento en medio AMI con el agregado de un 2% (v/v) de diésel comercial Infinia Mezcla B10, solo la especie *Aureobasidium pullulans* no creció en dicho medio.

Todas las especies sometidas al estudio de crecimiento, con la excepción de *A. pullulans*, pueden ser considerados como mohos hidrocarbonoclásticos, ya que utilizan el diésel comercial Infinia Mezcla B10 como fuente de carbono y energía. Resulta promisorio la utilización de estas cepas en estudios de degradación de hidrocarburos en forma aislada o combinadas en futuros trabajos.

Palabras claves: HIDROCARBUROS; MICODEGRADACIÓN; MOHOS HIDROCARBONOCLÁSTICOS; BIODIÉSEL.

40BIAR

Caracterización de sedimentos anaeróbicos fluviales para desarrollo de procesos de biorremediación

GRIMOLIZZI, María C.^a; MEDINA, Mariano L.^a; TUFO, Ana E.^a; VAZQUEZ, Susana.^{b,c} CURUTCHET, Gustavo A.^a

Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental-III, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), CONICET, Campus Miguelete, San Martín 1650, Argentina.

b) Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires 1123, Argentina.

c) Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIO-TEC), CONICET-Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires 1113, Argentina.

mcgrimolizzi@gmail.com

La Cuenca Reconquista se ubica en el área metropolitana de Buenos Aires. Su cuerpo de agua principal, el Río Reconquista, presenta las características típicas de un río urbano altamente contaminado. Estudios realizados por nuestro grupo en diferentes puntos, evidenciaron un incremento en la acumulación de metales pesados en sedimentos a lo largo de su recorrido. Asimismo demostraron que los bioprocesos que ocurren en sedimentos y agua son fundamentales para determinar el destino de los contaminantes y su posterior depuración y biorremediación.

El presente trabajo plantea la caracterización de un sitio no estudiado previamente, denominado "Troncos del Talar" (TT), ubicado en la cuenca baja (34°27'22.1"S 58°35'55.3"W), el cual aparenta presentar las condiciones necesarias para la acumulación de metales pesados en los sedimentos. Por lo tanto, se define como objetivo caracterizar los bioprocesos que ocurren en la interfase agua-sedimento, para implementar en el mediano/largo plazo técnicas de biorremediación.

A su vez, se observa en el sitio la presencia de urbanización aledaña y una asidua actividad de cooperativas encargadas de la limpieza de los márgenes, ambos grupos con permanente exposición a contaminantes presentes en agua y sedimentos. Se propone, por lo tanto, generar datos que sean útiles a la población afectada, particularmente en la toma de decisiones sobre el manejo del recurso.

En este marco, se realizó una campaña de muestreo en abril de 2021, en la que se recolectaron muestras de agua (A1-A2) y sedimentos (SA-SB). Además, se cuantificaron *in situ*, con un equipo de campo multiparamétrico en agua superficial: pH, conductividad, temperatura, sólidos disueltos y turbidez.

En el laboratorio, se reservaron las muestras de agua para determinar la concen-

tración de metales pesados por EAA y la concentración de aniones y cationes mayoritarios por titulación. Sobre las muestras de sedimento se midió el pH, Eh, % humedad (gravimetría), sulfuros volátiles en ácido (método de purga y trampa), %MO (calcinación), $[SO_4^{2-}]$ (turbidimetría), concentración de metales pesados por digestión pseudo-total (EPA 3051A) y especiación de metales por extracción secuencial (BCR). Se realizaron enriquecimientos en bacterias clave en los procesos de movilización e inmovilización de metales, aeróbicas y anaeróbicas.

El agua superficial *in situ* presentó un pH de 7,1, temperatura de 14,68°C, Eh de -449mV, conductividad de 3,89 mS/cm y turbidez de 147 NTU. En el laboratorio, las muestras de agua presentaron un pH de 7.2 y dureza total de 365,85 mg/L de $CaCO_3$. Por otra parte, el sedimento presentó un pH 6,7, Eh de -311 mV, 68% de humedad, 1000 mg/kg de S^{2-} , 12,6% MO y 1558,87 mg/Kg de SO_4^{2-} .

En base al análisis de los resultados, pueden observarse condiciones que favorecen la acumulación de contaminantes, particularmente metales pesados, en los sedimentos. Se requiere un estudio exhaustivo de la concentración y especiación de los mismos como base para el planteamiento y planificación de estrategias de remediación, con el objetivo de mitigar una problemática ambiental acuciante.

Palabras claves: RÍO RECONQUISTA; CONTAMINACIÓN; TRONCOS DEL TALAR; BIORREMEDIACIÓN

Evaluación de la capacidad de remoción de Cr(VI) de Trichoderma LBM 252

TATARIN, Ana S.^{a, b}; SADAÑOSKI., Marcela A.^{a, b}; POLTI, Marta A.^{c, b}; FONSECA, M.I.^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina. CONICET. Buenos Aires, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

c) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI). Tucumán, Argentina.

anasilvia2705@gmail.com

El Cr(VI) y sus compuestos son motivo de estudio debido a los efectos adversos que provocan en la salud humana y el ambiente. La micorremediación mediada por hongos provenientes de suelos contaminados con metales es una estrategia prometedora para remover esos contaminantes.

El presente estudio tuvo como objetivo analizar la capacidad de crecimiento y remoción de Cr(VI) de una cepa fúngica tolerante, aislada de suelo contaminado, en medio de cultivo líquido mínimo. Para ello se emplearon Erlenmeyers de 100 mL con 50 mL de medio de cultivo Lee modificado esterilizado en autoclave a 105°C durante 20 min y suplementado con 200 mg/L de Cr(VI), previamente esterilizado por filtración. La cepa fúngica se activó en placas con MEA durante 7 días a 28°C con luz. Para la obtención del inóculo se utilizaron dos placas y se resuspendieron las esporas en Tween 80 al 0,1%. Los Erlenmeyers se inocularon con 1 mL de suspensión de esporas ($2,4 \times 10^4$) y se

incubaron a 28°C. Se tomaron muestras destructivas al día 4, 8 y 12 de incubación. Se realizaron los siguientes controles de medio de cultivo: con el hongo sin Cr(VI) y con Cr(VI) sin el hongo.

Luego de la extracción de cada muestra, el micelio se separó del sobrenadante por centrifugación a 8000 rpm por 15 min. La biomasa se determinó mediante gravimetría. Para evaluar la capacidad de remoción de Cr(VI) en el sobrenadante de cultivo, se determinó colorimétricamente su concentración por reacción con 1,5-difenilcarbazida (DFC). Para ello se tomaron 950 µL de muestra y se agregaron 20 µL de DFC (0,5 % p/v) y 30 µL de H₂SO₄ 10%. Se realizó el barrido espectral de la curva de calibración de 400 a 800 nm. Posteriormente se midieron todas las muestras a 543 nm. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los datos se evaluaron mediante Análisis de Varianza (ANOVA).

Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la biomasa obtenida en los ensayos con y sin Cr(VI). El mayor valor de biomasa se registró al día 8 de cultivo en ausencia de Cr(VI) ($p < 0,05$). Los tratamientos con Cr(VI) no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ellos. En general se observó una disminución de la biomasa en los tratamientos en presencia de Cr(VI).

Con respecto a los ensayos de remoción de Cr(VI), se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. La mayor remoción se alcanzó al día 4 de cultivo ($p < 0,05$) observándose una remoción de Cr(VI) mayor al 50%. En cambio, para los días 8 y 12 de cultivo la remoción de Cr(VI) fue superior al 20%.

Los resultados obtenidos confirman que la capacidad de remoción de Cr(VI) fue independiente de la biomasa y que la cepa de *Trichoderma* sp. fue capaz de crecer en

presencia de Cr(VI) y de alcanzar la máxima remoción el día 4 de cultivo (50%), lo cual es prometedor dada la alta concentración empleada en este trabajo. Sin embargo, se requieren estudios posteriores para determinar los mecanismos involucrados (reducción y/o adsorción).

Palabras claves: CROMO; MICORREMEDIACIÓN; REMOCIÓN

42BIAR

*Análisis enzimático de una lacasa recombinante proveniente del hongo de pudrición blanca *Phlebia brevispora* BAF633*

Molina, M. A^{ab}, Sgroppo S.^c, Milde LB.^d, Zapata P. D.^{ab}, Fonseca, M. I.^{ab}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Eberca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

c) Laboratorio de Tecnología Química y Bromatología. FACENA-UNNE

d) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Misiones, Argentina

antonella.molina.lesiw@gmail.com

Las lacasas son enzimas de la familia de las multi-cobre oxidasas que han suscitado mucho interés debido a su amplia especificidad de sustrato. Las propiedades de las lacasas las hacen buenas candidatas para diversas apli-

caciones biotecnológicas, que van desde la industria textil hasta la industria de alimentos. Estas enzimas han sido encontradas en hongos aislados en la provincia de Misiones, uno de ellos es *Phlebia brevispora* BAF633.

Nuestro grupo ha logrado expresar con éxito la enzima lacasa proveniente del hongo de pudrición blanca *Phlebia brevispora* BAF633 en la levadura GRAS *Kluyveromyces lactis*.

El objetivo fue realizar el análisis enzimático de una lacasa recombinante presente en el sobrenadante de cultivo de *Kluyveromyces lactis*. Para lo cual se partió de las condiciones de cultivo optimizadas para la producción de lacasa previamente. Esta consistió en medio YPGal (20% extracto levadura, 40% peptona, 20% galactosa), en un volumen final de 20 ml incubado durante cuatro días (día que se obtuvo el pico de actividad) a 28°C a 450 rpm suplementado con 0,5 mmol l⁻¹ de sulfato de hierro. Éste se centrifugó durante 40 minutos a 6000 g y el sobrenadante se utilizó para las determinaciones.

En primera instancia se realizó un zimograma y la actividad se reveló incubando el gel en tampón de acetato de sodio con 5 mmol l⁻¹ de 2,6 dimetoxifenol. También se evaluó la estabilidad de la enzima frente a diferentes condiciones de pH (en un rango de 3 a 6,5) y temperatura (en un rango de 20 a 90°C), para ello, fue sometida a cambios de pH y temperatura a distintos tiempos durante 5 h y se midió la actividad en un espectrofotómetro a 469 nm con 5 mmol l⁻¹ de 2,6 dimetoxifenol como sustrato.

El zimograma permitió visualizar la actividad de la enzima recombinante. El valor de pH óptimo para la actividad de la enzima fue de 3,6, y la temperatura óptima fue de 40°C. La lacasa recombinante fue más estable a una temperatura de 40°C manteniendo 40% de actividad por 4 h, mientras que a las

2 h conservó un 85% de su actividad, pero al cabo de 5 h, retuvo sólo el 5% de la actividad. Al aumentar la temperatura de incubación, la actividad enzimática fue disminuyendo. La enzima mostró mayor estabilidad a pH 3,6 manteniendo el 80% de la actividad después de 2 h de incubación, disminuyendo su actividad a 0% después de 5 h.

El análisis de las características bioquímicas de la enzima lacasa, posibilitará una aplicación biotecnológica regional y sustentable. De esta manera, éstos resultados sentarán las bases para futuras investigaciones de la proteína como así también para su aplicación en diferentes procesos.

Palabras claves: LACASA ENZIMA-CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA-PH- TEMPERATURA-ESTABILIDAD.

43BIAR

Lacasas inmovilizadas en óxido de aluminio nanoporoso para su aplicación biotecnológica

KRAMER, Gustavo R.^{a,c}, BRUERA, Florencia A.^{b,c}, SADAÑOSKI, Marcela A.^{b,c}; VELÁZQUEZ, Juan E.^{b,c}, ZAPATA, Pedro D.^{b,c}, ARES, Alicia E.^{a,c}.

a) Universidad Nacional de Misiones - CONICET. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM). Misiones, Argentina.

b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reza" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Misiones, Argentina.

c) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

guskramer@gmail.com
brueraflorencia@gmail.com

Los bioprocesos basados en reacciones de catálisis heterogénea enzimática requieren de una inmovilización efectiva de las enzimas intervinientes en un soporte sólido. La inmovilización enzimática tiene como finalidad la maximización de los ciclos de utilización del biocatalizador, el aumento de la eficiencia de contacto enzima/sustrato, el mejoramiento de la recuperación del biocatalizador y la disminución de los costos involucrados en el proceso. La inmovilización de enzimas en soportes sólidos combina la alta selectividad de las reacciones enzimáticas con las propiedades mecánicas del soporte. Entre los diversos soportes desarrollados, el óxido de aluminio anódico (OAA) es un nanomaterial auto-organizado, conformado por conjuntos hexagonales de poros estrechamente empaquetados, con propiedades estructurales ajustables en función de las condiciones de síntesis anódica. Las enzimas lacasas (bencenodiol oxidorreductasa de oxígeno) son polifenol oxidasas que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos y aminas aromáticas, ampliamente utilizadas en procesos como biopulpado, eliminación de colorantes textiles, biodetección y eliminación de compuestos fenólicos, tratamiento de efluentes industriales y eliminación de micro contaminantes. Estas enzimas pueden obtenerse a través del cultivo del hongo *Phlebia brevispora* BAFC 633, una cepa autóctona de la Provincia de Misiones. En este sentido, es posible combinar estos catalizadores biológicos con materiales nanotecnológicos como el OAA, a través de la inmovilización física, para lograr un biocatalizador mejorado que optimice los bioprocesos actuales y permita el desarrollo de nuevas aplicaciones en el campo de la biodetección y tratamiento de efluentes. El objetivo de este trabajo es inmovilizar enzimas la-

Agaricomycetes inmovilizados en biomasa lignocelulósica para la bioadsorción de un efluente citrícola

**BENITEZ, Silvana F.^{ab}; ZAPATA, Pedro D.^{ab}; SADA-
ÑOSKI, Marcela A.^{ab}; LEVIN, Laura N.^c; FONSE-
CA, María I.^{ab}**

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

c) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Laboratorio de Micología Experimental, INMIBO-CONICET. Buenos Aires, Argentina.

flopybeniteza3@gmail.com

La industria citrícola genera grandes volúmenes de aguas residuales durante el procesamiento de la fruta. La gran cantidad de materia orgánica presente en estos efluentes y la variabilidad de sus características físico-químicas representan un desafío para su tratamiento considerando factores económicos y medioambientales. Para minimizar el impacto ambiental y el costo asociado al tratamiento, diferentes estrategias físico-químicas y biológicas han sido estudiadas. En este sentido la bioadsorción mediante la inmovilización de Agaricomycetes en sustratos de bajo costo ha cobrado relevancia en los últimos tiempos. En el presente trabajo se evaluó la inmovilización de *Irpep lacteus* LBM 037, *Phlebia brevispora* LBM 036, *Pleurotus pulmonarius* LBM a05 y *Trametes sanguinea* LBM 023, para el tratamiento de un efluente citrícola, tomando la demanda química de oxígeno (DQO; APHA,

casas por adsorción física sobre recubrimientos de OAA nanoporosos y evaluar el rendimiento y reutilización del catalizador. Para ello, se sintetizaron recubrimientos de OAA por duplicado, mediante un paso de anodización de a h, empleando ácido oxálico como electrolito a diferentes concentraciones y temperaturas y variando el voltaje de anodización. Las enzimas lacasas obtenidas del sobrenadante de cultivo de *P. brevispora* BAFC 633 se inmovilizaron sobre el soporte de OAA, a través de la inmersión del soporte en una solución compuesta por 2,5 ml de extracto enzimático y 5 ml de buffer. Para evaluar las mejores condiciones de inmovilización se variaron el tiempo de inmovilización en a, 2 y 3 h, y el pH del buffer, empleando acetado de sodio pH 3,6 y 5 y fosfato de sodio pH 6,2. Además, se evaluó el efecto de la morfología del óxido sobre el rendimiento de inmovilización de lacasa y los ciclos de utilización. Se demostró que las mejores condiciones de inmovilización por adsorción física se observaron a pH 3,6 y 5, siendo poco significativo la variación del tiempo de inmovilización. Además, se comprobó que la morfología del óxido no afecta el rendimiento de inmovilización obteniéndose actividades en el orden de 2.990 U/cm². Por último, se evaluaron 3 ciclos de reutilización para la muestra anodizada en ácido oxálico 0,9 M a 20 °C y 40V, observándose pérdidas en la actividad enzimática entre el a0 y 20 % por ciclo.

Palabras claves: NANOESTRUCTURAS DE ÓXIDO DE ALUMINIO ANÓDICO; INMOVILIZACIÓN; ENZIMAS; LACASA.

a992) como variable respuesta. Se utilizaron tres sustratos lignocelulósicos (bagazo de caña de azúcar, esponja vegetal y semillas de *Panicum*) los cuales fueron acondicionados mediante lavado y secado. En el caso del bagazo, éste se tamizó tomando la porción superior a a mm y la esponja vegetal fue cortada en cubos de a cm³. La inmovilización se llevó a cabo por triplicado en Erlenmeyers de 250 mL con 50 cm³ de sustrato, cuya humedad inicial se ajustó al 75 % p p^a con medio Czapek (en g L^{-a}, sacarosa 30; K₂HPO₄ a; KCl 0,5; MgSO₄ 7H₂O 0,5; NaNO₃ 20). Cada Erlenmeyer se inoculó con 3 tacos de 5 mm de diámetro de hongo cultivado en medio MEA (en g L^{-a}, extracto de malta a2,7; agar a7) y se incubó por a4 días a 28 ± a °C. Luego del periodo de incubación, se agregó 50 mL de efluente puro previamente filtrado y se incubó por tres días a 28 ± a °C en condiciones estáticas. Las muestras se centrifugaron a 5500 rpm por a0 min. La variación de DQO se calculó como:

$$\% DQO = a00 - \left(\frac{A * a00}{B} \right)$$

Donde A es la DQO luego del tratamiento y B corresponde a la DQO del efluente sin tratar. Se observó una disminución significativa de la DQO para *P. brevispora* y *P. pulmonarius* inmovilizados en esponja vegetal (28,74 ± 3,98 % y 4a,38 ± a3,79 % respectivamente). Para *I. lacteus*, *T. sanguinea* y *P. brevispora* inmovilizados en bagazo de caña se observó un aumento de la DQO de alrededor del a5 %. En el caso de *I. lacteus*, *T. sanguinea* y *P. pulmonarius* inmovilizados en semillas de *Panicum* la DQO aumentó entre 20 y 50 %. El aumento observado puede deberse a la liberación de carbohidratos productos de la degradación del sustrato lignocelulósico. Estos resultados nos permiten seleccionar a *P. brevispora* y *P. pulmonarius*

inmovilizados en esponja vegetal como una alternativa promisorio para el desarrollo de estrategias de bioadsorción de efluentes de la industria citrícola.

Palabras claves: AGARICOMYCETES; BIOMASA LIGNOCELULÓSICA; INMOVILIZACIÓN; EFLUENTE CITRÍCOLA; BIOADSORCIÓN.

45BIAR

Tratamiento de lisozi- ma para incrementar el potencial metabólico de Lactobacilos mesófilos autóctonos

PERALTA, Guillermo H. ^{a,b}; BÜRGI, M.D. Milagros^c; MARTÍNEZ, Luciano J.^d; ALBARRACÍN, Virginia H.^d; HYNES, Erica R.^a; BERGAMINI Carina V.^a

a) Instituto de Lactología Industrial (CONICET), Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa Fe, Argentina.

b) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNL), Esperanza, Argentina

c) Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB-UNL), Santa Fe, Argentina

d) Centro de Investigaciones y Servicios de Microscopía Electrónica (CONICET), Tucumán, Argentina

gperalta@fiq.unl.edu.ar

El tratamiento de fermentos con lisozi-
ma (LZ) previo a la elaboración de queso
ha sido sugerido como una estrategia para
lisar las envolturas celulares favorecien-
do la liberación de enzimas intracelulares
y de esta manera acelerar y/o mejorar la
maduración de los quesos. En este traba-

jo se estudió la influencia de la lisozima sobre la integridad celular y potencial metabólico de dos cepas autóctonas: *Lactiplantibacillus plantarum* 29 (L29) y *Lacticaseibacillus rhamnosus* 77 (L77). Ambas cepas fueron sometidas a un tratamiento con lisozima (25ppm) durante 22h a 37°C. Al finalizar la incubación se determinó la densidad óptica (DO) a 600 nm, recuentos microbiológicos, viabilidad por citometría de flujo (CF) y la arquitectura celular por microscopía electrónica de barrido (ME). Además, se analizaron las actividades lactato deshidrogenasa (LDH) y β -galactosidasa (β -GAL) en extractos libres de células. La cepa L29, que mostró mayor sensibilidad a la lisozima, fue utilizada como cultivo adjunto o fuente de enzimas en la elaboración de queso duro. Cuatro quesos fueron elaborados por triplicado utilizando *Streptococcus thermophilus* como cultivo primario: i) Q_a-queso control sin adición de cultivo adjunto; ii) Q₂-queso experimental con incorporación de L29 (a0⁶ufc/mL), iii) Q₃-queso experimental con L29 (a0⁶ufc/mL) y LZ (25ppm), y iv) Q₄-queso experimental con la incorporación de extracto libre de células de L29 obtenido luego del tratamiento con LZ. Los quesos fueron madurados 8 meses a a2°C. Al finalizar la maduración se determinaron los recuentos microbiológicos, composición global, azúcares, ácidos orgánicos y perfiles peptídicos.

La DO y el recuento de las suspensiones de L29 y L77 tratadas con LZ disminuyeron durante la incubación. La DO disminuyó 8,2 y a,2 para L29 y L77, respectivamente, en relación a los controles sin LZ. En el mismo sentido, los recuentos microbiológicos de L29 y L77 disminuyeron 3,24 y 0,2 log ufc/mL, respectivamente. La lisis de ambas cepas también fue evidenciada por un aumento de los niveles de LDH y

β -GAL; que para el caso de la LDH también fue significativamente mayor en el extracto de L29. Los resultados obtenidos muestran una mayor sensibilidad de la cepa L29 al tratamiento con LZ, lo que fue también confirmado por ME y CF. En los quesos, se destacan las diferencias en los perfiles peptídicos, principalmente entre los quesos Q_a y los quesos Q₂ y Q₃. Además, se observaron diferencias en los perfiles de estos dos últimos quesos, indicando que la incorporación de LZ a la leche de elaboración tuvo un impacto en la maduración del queso. Un menor nivel de lactobacilos se observó en Q₃ respecto a Q₂. Estos resultados sugieren que L29 fue lisada por la LZ y sus peptidasas liberadas en la matriz del queso. El queso Q₄ no evidenció grandes cambios respecto al control.

En conclusión, el tratamiento con LZ sobre la cepa L29 afectó su viabilidad e integridad celular impactando positivamente en la liberación de sus enzimas, fenómeno que fue evidenciado *in situ* en queso. El uso racional de fermentos y LZ podría ser una estrategia simple para acelerar la maduración de quesos duros.

Palabras claves: LISOZIMA, ENZIMAS, LACTOBACILOS, QUESO DURO, PÉPTIDOS.

Aplicación de tecnologías de remediación amigables sobre suelos con contaminación mixta

APARICIO, Daniel^{abc}; ROSALES SORO, Milagro^a, COSTA GUTIERREZ, Stephanie^a, BENIMELI, Claudia^{ad}; POLTI, Marta A.^{ac}

a) PROIMI-CONICET, Tucuman, Argentina;

b) Universidad de Tierra del Fuego

c) Universidad Nacional de Tucumán

d) Universidad Nacional de Catamarca

dani_aparicio@hotmail.com.ar

El ambiente es impactado permanentemente por la liberación masiva de compuestos tóxicos, principalmente de origen antropogénico. Estos se diseminan en aguas y suelos provocando un deterioro del equilibrio ecológico. Para depurar estos ambientes se pueden utilizar Tecnologías de Remediación Amigables (TRAs), como la bioestimulación, bioaumentación, fitorremediación y vermiremediación. Las TRAs son soluciones rentables y ecológicas, sin embargo, también tienen efectos sobre la movilidad y biodisponibilidad de otros constituyentes del suelo.

El objetivo del presente trabajo fue comparar el desempeño de diversas TRAs para la restauración de suelos contaminados con compuestos orgánicos e inorgánicos.

Se realizó un ensayo de invernadero, en frascos con a kg de suelos, naturales o contaminados con Cr(VI) (a00 o 300 mg/kg) y lindano (a0 µg/kg), y se aplicaron los siguientes tratamientos: (a) sin tratamiento; (b) bioaumentación con un consorcio de actinobacterias (inóculo de 2 g/kg); (c) vermiremediación con *Eisenia fétida* (a0 in-

dividuos/frasco); (d) fitorremediación con *Brassica napus* (a plántula/frasco). Además, para cada tratamiento se analizó el efecto de la bioestimulación, utilizando dos tipos de suelo: sin enmienda, y enmendando con residuos orgánicos.

La restauración del suelo se determinó en base a las concentraciones de lindano, Cr(-VI), Al, Fe y Pb, al final del ensayo (a4 días). El lindano se determinó por cromatografía gaseosa. Para los metales, se determinaron las fracciones soluble e intercambiable. La primera se extrajo por centrifugación a 5000 g. La fracción intercambiable se obtuvo por el agregado de a00 ml de solución fisiológica a a0 g de la muestra, con posterior agitación y centrifugación. Los metales se determinaron por espectroscopia de absorción atómica.

La concentración de lindano al final del ensayo disminuyó entre 40 y 70%. El sistema más efectivo para su remoción fue la bioaumentación, sin enmienda. La enmienda orgánica provocó una disminución del 95% en la concentración de Cr(VI). En ausencia de enmienda, la máxima remoción de Cr(VI) se alcanzó por la bioaumentación, llegando hasta 80% cuando la concentración inicial del mismo fue de 300 mg/kg.

La movilidad de los metales intrínsecos del suelo también se vio afectada por los distintos tratamientos. La concentración del Al aumentó significativamente en presencia de enmienda orgánica, sin embargo, disminuyó en los sistemas con microorganismos o plantas. La concentración de Fe intercambiable disminuyó significativamente durante la fitorremediación, sin enmienda. Por el contrario, este metal aumentó en todos los otros sistemas, principalmente durante la vermiremediación. Por otro lado, se observó un aumento significativo de la concentración de Pb intercambiable por la adición de enmienda, sin embargo, este efecto fue

contrarrestado por la biorremediación microbiana y la fitorremediación. En todos los casos, al final de los tratamientos se observó una correlación inversa entre la concentración de Cr(VI) y la de los metales intrínsecos.

El tratamiento más efectivo para la remoción de Cr(VI) fue la bioestimulación, que también incrementó la disponibilidad de Fe y Al. Para la remoción de Pb y lindano, fueron más eficientes la fitorremediación y la bioaumentación, respectivamente.

Los sistemas TRAs mostraron versatilidad y eficiencia en la restauración de suelos contaminados.

Palabras claves: METALES; LINDANO; BIORREMEDIACIÓN; VERMIRREMEDIACIÓN; FITORREMEDIACIÓN.

47BIAR

*Evaluación de la composición proteica y la toxicidad de la biomasa de *Aspergillus sp. V2* producida a partir de Vinaza y su potencial uso como ingrediente para piensos acuicola*

RULLI Macarena M; COLIN Verónica L.

Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), Tucumán, Argentina.

veronicacollin@yahoo.com.ar

El crecimiento de la acuicultura a nivel mundial para la producción de especies valoradas económicamente presagia una ace-

leración significativa en la demanda de alimentos acuícolas debidamente formulados y de costos aceptables. Como consecuencia, se prevé una escasez y consiguiente necesidad de reemplazo de la harina de pescado y harina de soja comúnmente utilizados en la formulación de alimentos piscícolas (específicamente destinados a la producción de peces), los cuales tienen una disponibilidad incierta y costos elevados. En algunos casos, los costos de los piensos para peces pueden representar entre el 40% y el 60% del costo total de producción, donde aproximadamente el 67% del costo real del alimento se atribuye a la fracción de proteína. En este contexto, el desarrollo de nuevas prácticas de formulación requiere el uso de ingredientes alimenticios no tradicionales y de menor costo tales, como el micelio de algunos hongos filamentosos, obtenidos a partir de subproductos agroindustriales. En estudios previos, nuestro equipo de trabajo cultivó un hongo filamentoso denominado *Aspergillus sp. V2*, empleando como medio de producción vinaza de caña de azúcar al 50% adicionada con sulfato de amonio (2 g/L) y fosfato de potasio monobásico (ag/L). Bajo tales circunstancias, se obtuvo una biomasa con un contenido de proteínas totales del 34%, el cual se encuentra dentro del rango requerido para dietas piscícolas comerciales (2a-55%). No obstante, además de la cantidad de proteína, la composición de esta en términos de aminoácidos esenciales para peces determina en gran medida la calidad del alimento acuícola. Además, se advirtió que el género *Aspergillus* presenta algunas especies productoras de micotoxinas, metabolitos secundarios que pueden alterar el desarrollo de los peces y aumentar su mortalidad. En base a estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el perfil de aminoácidos esenciales para peces y el contenido de aflatoxinas totales (Ba, B2, Ga y G2) en micelio de *Aspergillus sp. V2* cultivado en vinaza. Para esto,

los diez aminoácidos esenciales se determinaron por HPLC/FLD en la biomasa liofilizada mientras que el contenido de aflatoxinas totales se cuantificó empleando un kit de inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA, AgraQuant® Total Aflatoxin, a–20 ppb). Respecto al perfil de aminoácidos esenciales, los valores obtenidos en porcentaje (g/100g de micelio liofilizado) fueron: histidina 1,42%; treonina 1,49%; arginina 3,18%; metionina 0,66%; valina 2,87%; fenilalanina 2,8%; isoleucina 2,34%; leucina 3,4%; lisina 3,07% y triptófano 0,47%. Cabe destacar que la mayoría de estos valores estuvieron dentro del requerimiento dietario para los peces, mostrando gran similitud con el perfil de aminoácidos esenciales de la harina de soja. Por otro lado, el contenido de aflatoxinas totales del micelio fue de $7,73 \pm 0,36$ ppb. En América Latina, el rango de aflatoxinas totales en alimentos abarca valores desde 0 a 35 ppb, dependiendo del país, con un pico marcado en los 20 ppb. Con lo cual el micelio podría emplearse en la formulación de piensos para acuicultura. Los resultados anteriormente mencionados, nos permiten inferir que el micelio liofilizado de *Aspergillus sp. V2* obtenido a partir de un residuo agroindustrial como la vinaza, cumple con los requisitos requeridos para ser utilizado en la formulación de piensos acuícolas, proporcionando una fuente rica en proteínas.

Palabras claves: PIENSOS ACUICOLAS, VINAZA, ASPERGILLUS SP. V2, AMINOÁCIDOS ESENCIALES, AFLATOXINAS.

Obtención de un sustrato vermicompostado a partir del residuo cama de pollo

CLEBOT, Aldana C. ^a; FERNANDEZ, Maria E. ^a y ZALAZAR, Cristina S. ^{a,b}

a) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC, UNL-CONICET), Ruta Nacional 68 Km 0, 3000 Santa Fe, Argentina.

b) Dep. Medioambiente, FICH-UNL, Ruta Nacional 68 Km, Ciudad Universitaria, 3000 Santa Fe, Argentina.

aldana.clebot@gmail.com

En Latinoamérica, las principales actividades socio-económicas son la agricultura y la ganadería, las cuales se relacionan con la generación de residuos agropecuarios y efluentes contaminados con plaguicidas. Su tratamiento y disminución resultan prioritarios. Específicamente, los residuos agropecuarios pueden ser transformados mediante vermicompostaje que facilita la bio-oxidación, degradación y estabilización de estos residuos por la acción combinada de microorganismos y lombrices. El sustrato obtenido puede ser empleado posteriormente como enmienda orgánica de cultivos agrícolas y suelos, pero también como parte de una biomezcla biológicamente activa para sistemas de biopurificación diseñados para tratar efluentes contaminados con plaguicidas. En particular, la cama de pollo (cáscara de arroz + estiércol de pollo) es un residuo que sin tratamiento puede llevar a la contaminación de aguas subterráneas y aportar microorganismos patógenos. El objetivo de este trabajo es el reciclado de residuos agropecuarios disponibles localmente mediante compostaje y vermicompostaje para la reducción de su impacto ambiental y su posterior reutilización. Para la obtención del

sustrato, se realizó una mezcla de aserrín de eucalipto y cama de pollo en proporciones volumétricas de 3:4. Inicialmente, la mezcla se compostó al aire libre durante 20 días en un recipiente de 45 L, manteniendo la humedad al 70%. Se registró periódicamente la temperatura de la mezcla, alcanzándose los 47°C en la etapa termófila. Posteriormente, el sustrato estabilizado fue dividido en 3 réplicas y en cada una de ellas se incorporaron 20 lombrices adultas cliteladas de la especie *Eisenia fetida* previamente pesadas. El vermicompostaje se llevó a cabo en condiciones controladas de humedad y temperatura durante 75 días. Cada 5 días se evaluó el peso de los individuos adultos (biomasa promedio) y se registró el número total de individuos (adultos más juveniles). Para determinar las características del sustrato final se midieron los siguientes parámetros: nitrógeno amoniacal, hidrólisis de la Fluoresceína Diacetato (FDA), pH y conductividad eléctrica.

A los 5 días de vermicompostaje se registró un aumento del peso promedio de *E. fetida* de 55% respecto del inicial, manteniéndose constante hasta el día 30 y reduciéndose luego para finalizar a los 75 días con un valor similar al de partida. A los 30 días se contabilizaron 65 juveniles, incrementándose hasta 392 en el final del vermicompostaje. El buen desempeño obtenido en la biomasa y la producción de juveniles se acompañó con una transformación en la apariencia del sustrato, lográndose una mezcla más homogénea y de una granulometría menor. Los valores de los parámetros físico-químicos hallados estuvieron comprendidos dentro de lo requerido para este tipo de sustrato.

En conclusión, se lograron estabilizar los residuos agropecuarios empleando lombrices *E. fetida* como herramienta biotecnológica. Éstas homogeneizaron el sustrato, mejoraron sus propiedades físico-químicas,

y mantuvieron activos los consorcios microbianos presentes, generando un sustrato adecuado como enmienda orgánica y para formular biomezclas que reduzcan la contaminación por plaguicidas. La estabilización de residuos agropecuarios como la cama de pollo, mediante la obtención de un sustrato orgánico funcional, contribuirá al desarrollo de una agricultura más sostenible en la región, que permitirá la remediación de residuos y efluentes, de forma económica y eficiente.

Palabras claves: LOMBRICES; COMPOSTAJE; VERMICOMPOSTAJE; ASERRÍN; CAMA DE POLLO.

49BIAR

Evaluación de estrategias de cultivo de actinobacterias para optimizar su monitoreo y manipulación

BAZÁN, Lucas A.^a; ADET, Cyntia^a; FUENTES, M. Soledad^a y BENIMELI, Claudia S.^{a,b}

a) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI)- CONICET. San Miguel de Tucumán

b) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Catamarca.

cbenimeli@yahoo.com.ar

Las actinobacterias tienen gran versatilidad metabólica, por lo que son importantes herramientas para aplicaciones biotecnológicas, tales como la biorremediación. Sin embargo, su manejo en el laboratorio requiere cierto cuidado, por lo que se deben desarrollar estrategias que permitan un mo-

nitoreo rápido y confiable de su fisiología y crecimiento celular.

El objetivo del trabajo fue estudiar comparativamente el crecimiento microbiano de *Streptomyces* sp. M7, en diferentes condiciones, incluyendo cultivo tradicional o adicionado con Tween 80, en presencia o ausencia de resortes de acero inoxidable, inoculando diferentes concentraciones iniciales del microorganismo.

Se utilizó como modelo de estudio *Streptomyces* sp. M7, una actinobacteria capaz de degradar diversos plaguicidas. Se realizaron cultivos inoculando diferentes concentraciones iniciales de células vegetativas (a, 2, 4, 8 g L^{-a}) en medio mínimo adicionado con glucosa como fuente de carbono (a0 g L^{-a}), en presencia o ausencia de Tween 80 (0,0a N) y de resortes de acero inoxidable, en el fondo del Erlenmeyer. Los cultivos se incubaron 7 días a 30 °C y a50 rpm. Se tomaron muestras diarias para determinar crecimiento microbiano (peso seco, recuento de UFC, espectrofotometría) y concentración de glucosa residual (kit enzimático).

En los cultivos tradicionales, en ausencia de Tween 80 y resortes, no se observaron diferencias significativas en el crecimiento microbiano al cabo de 7 días de incubación, cuando se emplearon las dos concentraciones de inóculo menores, determinado tanto por peso seco como por recuento de UFC. Sin embargo, a mayor concentración de inóculo inicial se obtuvo mayor crecimiento microbiano, lo cual fue corroborado empleando ambas técnicas analíticas. La biomasa final fue $5,58 \times 10^7$; $4,47 \times 10^7$; $2,65 \times 10^9$ y $1,27 \times 10^{10}$ UFC mL^{-a} para los inóculos de a, 2, 4 y 8 g L^{-a}, respectivamente. Para esta técnica de cultivo no se determinó el crecimiento por espectrofotometría debido a que las hifas microbianas formaron agrupaciones de fila-

mentos de diferentes tamaños, los cuales se adhirieron a las paredes de vidrio de los Erlenmeyers, debido a la producción de exopolisacáridos.

En los cultivos realizados empleando resortes y Tween 80 se determinó el crecimiento microbiano mediante espectrofotometría, observándose al final del ensayo mayor biomasa al inocular mayor concentración inicial de microorganismo. La DO (505 nm) final obtenida para los inóculos de a, 2, 4 y 8 g L^{-a}, fue a, a6; 0,23; 0,5a y 0,55, respectivamente.

En ambos ensayos se observó mayor velocidad de consumo de glucosa al incrementar la concentración inicial de inóculo, detectándose un consumo total de esta fuente de carbono a las a68 y a44 h para inóculos de a y 2 g L^{-a} y a las a20 h para los inóculos de 4 y 8 g L^{-a}.

Teniendo en cuenta estos resultados y la producción de exopolisacárido en los dos cultivos con mayor concentración inicial de inóculo, incluso en presencia de Tween 80, se seleccionó la concentración de 2 g L^{-a} para posteriores ensayos de biorremediación. El empleo de resortes y la técnica espectrofotométrica para la determinación de crecimiento microbiano resultaron más apropiadas, por su rapidez y sencillez, desde el punto de vista operativo.

Palabras claves: CULTIVO; ACTINOBACTERIAS; INÓCULOS; PELLETS.

50BIAR

Humedal bioelectrogénico para tratamiento de agua residual urbana

ZERBATTO, Mariel G; PIZARRO, Ana V;
MODINI, Laura B

Cátedra Tratamiento de Efluentes. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

lmodini@fbc.unl.edu.ar

Los humedales construidos (HC) representan una alternativa para el tratamiento descentralizado de efluentes sanitarios en áreas urbanas con baja densidad poblacional debido a la extensa superficie de tierra requerida. Para minimizar esta limitación, es importante investigar distintas configuraciones que optimicen la capacidad del humedal para remover contaminantes del agua, especialmente nutrientes.

En este trabajo se evaluó la eficiencia de HC combinados con una Celda de Combustible Microbiológica (HC-CCM) para tratar agua residual urbana y producir simultáneamente electricidad.

Para ello se construyó un humedal a escala micropiloto, de tipo subsuperficial vertical, con un tubo de PVC de 20 cm de diám. y se situó en un ambiente semiprotectado, con luz y ventilación natural. Desde la base hacia arriba se dispusieron 4 capas: 20 cm de arena gruesa, 10 cm de gránulos coque (diám.: 2-5 cm) contenidos en una malla de acero inoxidable (ánodo), 20 cm de arena gruesa y 5 cm de gránulos de coque y anillo de acero inoxidable (cátodo). Los electrodos se conectaron con cables de acero inoxidable a una resistencia externa de 1000 ohm. Como control, se construyó un humedal con lecho de arena (HCA). En cada sistema se

plantaron 3 ejemplares de *Schoenoplectus* sp obtenidos de un ambiente acuático natural de la ciudad de Santa Fe (Argentina). Se utilizó efluente real crudo suministrado por la planta depuradora de líquidos cloacales de la ciudad de Santo Tomé (Santa Fe, Argentina), previamente sedimentado durante 2 h. Los sistemas fueron alimentados durante 2 meses, con un único pulso, y se dejaban drenar libremente hasta que el nivel del líquido descendía a 5 cm por debajo de la superficie, sin vaciarlos previamente. El tiempo de residencia hidráulica (TRH) fue 48 h y la frecuencia de muestreo semanal ($n=10$). En el cloacal crudo y tratado se midió: pH, turbiedad, conductividad, color, Sólidos Suspendedos totales (SST), DQO, OD (oxígeno disuelto), Fósforo Reactivo total (FRT), Nitrito, Amonio, Coliformes totales y *E. coli*. Además, se registró el voltaje, en forma continua, a través de la resistencia externa usando un multímetro digital.

HC-CCM logró remover significativamente la DQO (57%-87%) y el valor de salida fue inferior a 80 mgO₂/L durante todo el periodo de ensayo. Además, removió entre 55% y 86% de FRT, siendo la concentración final promedio $\leq 0,32$ mg/L. La concentración del amonio de entrada varió entre 49,27 mg/L y 72,27 mg/L y se redujo entre 60% y 87%. También se observó una nitrificación significativa ($p<0,001$). En cuanto a la carga bacteriológica se lograron 2,6 y 2,4 log de remoción de CT y *E coli* respectivamente.

HCA presentó eficiencias de remoción similares. Sin embargo, HC-CCM fue capaz de generar electricidad en forma continua, con picos de 700 mV, que lo convierten en una fuente potencial de energía verde alternativa y, por ende, resulta una opción de tratamiento más atractiva, al generar valor agregado.

Palabras claves: ELECTROHUMEDAL; ENERGÍA; CLOACAL; COQUE.

51BIAR

DetECCIÓN DE LA HABILIDAD HIDROLÍTICA/OXIDATIVA EN HONGOS COMESTIBLES/MEDICINALES DE MISIONES

BARUA, Celeste^{a, b}; CONIGLIO, Romina^{a, b}; FONSECA, María^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe-Reca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET. Buenos Aires, Argentina

baruaceleste@gmail.com

El uso de enzimas hidrolíticas y oxidativas es muy amplio, y particularmente en la industria alimentaria, se las utiliza para mejorar el rendimiento de los productos y la calidad. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue determinar cualitativamente la capacidad hidrolítica y oxidativa de hongos comestibles y medicinales silvestres, provenientes de Misiones.

Para ello se utilizaron aa hongos comestibles/medicinales identificados como *Pleurotus sajor-cajú* (LBMa05), *Pleurotus sp.* (LBM266), *Trametes sp.* (LBM267), *Oudemansiella sp.* (LBM268), *Auricularia fuscosuccinea* (LBM242; LBM243; LBM244; LBM245, LBM246) y *Schizophyllum sp.* (LBM223, LBM026).

Los hongos se activaron en medio MEA (agar a5 g/L y malta de extracto a2,7 g/L) e incubaron a 28°C por 7 días, luego se cortaron asépticamente tacos de agar cubiertos de micelio joven (5mm²) que se colocaron en diferentes medios de cultivo sólidos. La actividad endoglucanasa se evaluó en medio agar-Czapek (NaNO₃ 2 g/l, KH₂PO₄ a g/l, KCl 0,5 g/l, MgSO₄ 7H₂O 0,5 g/l, FeSO₄.7H₂O

0,0a g/l, agar 20 g/l) suplementado con carboximetilcelulosa ag/L y extracto de levadura 0,a% p/v a pH 4,5. Para la detección de la actividad endoxilanasas, las cepas crecieron en placas con agar-Czapek con xilano a% p/v y extracto de levadura 0,25 g/L a pH 4,5. En ambos casos, las placas se tiñeron con Rojo Congo 0,a% p/v y se midió el diámetro de crecimiento y halos de decoloración en las placas. Se calculó el índice de eficiencia celolítica (IEC) mediante la ecuación: donde: hc=halo de degradación y dc=diámetro de la colonia. La actividad β-glucosidasa se evaluó en placas con medio agar (a5 g/L) suplementado con 4-metilumbeliferil glucósido 0,a mM, carboximetilcelulosa 0,a% p/v y extracto de levadura 0,a% p/v a pH 4,5 y se reveló bajo luz U.V. La detección de las actividades endoglucanasa, β-glucosidasa y endoxilanasas se realizó sobre las placas inoculadas e incubadas a 28°C durante 7 días o hasta que el micelio alcanzara un diámetro ≥ 60 mm. Para evaluar la actividad lacasa se utilizaron MEA y MEA adicionado con CuSO₄ 0,5 mM. Estas se incubaron durante 7 días o hasta que el diámetro de crecimiento de la colonia alcanzara los bordes de la placa. Luego se tiñeron con 2,6 dimetoxifenol a g/L en buffer acetato de sodio 0,a M pH 3,6.

Todas las cepas presentaron actividad endoglucanasa positiva, siendo LBMa05, LBM223 y LBM026 las que presentaron mayor IEC (>a,4). Asimismo, todas las cepas evidenciaron actividad β-glucosidasa. En cuanto a la actividad endoxilanasas, las cepas LBM242, LBM223, LBM026 y LBM268 mostraron los valores IEC más altos (>a,4). Todas las cepas evidenciaron actividad lacasa de manera constitutiva siendo que para LBM242, LBM244, LBM245 y LBM246 la actividad se vio incrementada por la presencia de CuSO₄. Las cepas LBM223 y LBM026 mostraron baja actividad.

Todas las cepas ensayadas poseen la capacidad de producir enzimas hidrolíticas y oxidativas, sin embargo, para seleccionar las más promisorias para utilizar en procesos biotecnológicos, se debe complementar con ensayos que permitan cuantificar la producción enzimática.

Palabras clave: HONGOS; COMESTIBLES, ENZIMAS.

52BIAR

Caracterización parcial de un catalizador innovador para la producción de leche reducida en lactosa

RAMÍREZ, Andrea C^a; BRACHO, Juan P^{a,b}; CAVALITTO, Sebastián F^a; ORTÍZ, Gastón E^a

a) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y aa5, a900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

b) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), Calle 526, a900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

ac.ramirez@conicet.gov.ar

La β -galactosidasa o lactasa es la enzima que hidroliza lactosa en glucosa y galactosa. Dicha enzima, es ampliamente utilizada por la industria láctea en producir leche reducida en lactosa (LRL) y galactooligosacáridos (GOS) los cuales poseen actividad prebiótica. Para su empleo, esta enzima debe obtenerse con alto rendimiento y pureza. Dado que, la presencia de otras proteínas contaminantes como proteasas conducen a la formación de productos secundarios que conduzcan a propiedades organolépticas no deseadas. Sin embargo, la obten-

ción de una enzima con alto grado de pureza requiere de técnicas cromatográficas de afinidad las cuales conducen a un aumento significativo en el costo final del producto (catalizador). En nuestro grupo de trabajo, hemos desarrollado una nueva herramienta biotecnológica para la producción, purificación e inmovilización de proteínas recombinantes empleando un novedoso sistema de etiquetado molecular. En este sistema, las proteínas recombinantes expresadas en sistemas heterólogos son fusionadas al dominio C-terminal de las proteínas de Capa-S de *Lactobacillus sp.* Luego, se emplea la afinidad intrínseca que posee dicho dominio por las membranas de las bacterias Gram + para realizar la purificación o inmovilización de las proteínas de interés. Considerando lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el sistema de etiquetado e inmovilización, para desarrollar un catalizador innovador que permita la producción de β -galactosidasa de *Bifidobacterium bifidum* y su purificación en un único paso de una forma eficiente y económica. Para ello, se realizó la síntesis de una variante truncada de *Bb-gII* de *B. bifidum* fusionada al C-terminal del SlpA de *L. bacillus* y se transformaron *E. coli* Bl2aCodonPlus. La producción de la enzima se hizo en cultivos de *E. coli* con medio LB a escala Erlenmeyer e induciendo con 0,5 mM de IPTG. Posteriormente, los cultivos fueron cosechados por centrifugación durante 5' @5000 g, luego los pellets fueron lavados 2 veces con PBS y reconstituidos en buffer de lisis con Lisozima. Para obtener el homogenato, la suspensión de células fue sonicada y centrifugada durante 20' @ a2000 g. A continuación, el lisado se clarificó por filtración y fue incubado en batch durante 2 horas a 25°C con una matriz constituida por *B. subtilis* inactivado con formol 3%. De este modo se logró obtener, la enzima inmovilizada sobre la superficie de *Bacillus subtilis*. Posteriormente, se realizó la caracterización bioquímica de la enzima inmovilizada. Para

ello, se evaluó el efecto de la temperatura, pH y cationes en la estabilidad y actividad de la enzima. Como resultado, se obtuvo que la enzima inmovilizada presenta actividad óptima a pH 6,2 y resulta estable en el rango de pH (4,6-8) durante dos horas reteniendo el 70% de su actividad máxima. Por otro lado, el catalizador presentó actividad óptima en un rango de temperatura de 40-60 °C y mostró buena actividad residual a bajas temperaturas. Finalmente bajo condiciones óptimas de pH 6,2 y temperatura de 50°C, se determinó la actividad enzimática de forma comparativa con formulados comerciales, como resultado pudo obtenerse valores de actividad comparables entre ambas enzimas. Estos resultados sugieren que, la β -galactosidasa recombinante de *B. bifidum* inmovilizada sobre *B. subtilis* posee un comportamiento similar a las formulaciones comerciales y por lo tanto, la misma resulta promisoría para la producción de LRL.

Palabras claves: β -GALACTOSIDASA; BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM; LACTASA; PREBIÓTICO; LECHE REDUCIDA EN LACTOSA.

53BIAR

Recobro e hidrólisis de proteínas desechadas en efluentes de curtiembres

LOPEZ, Laura M.I.^{a, b}; ERRASTI, Marí E.^{a, b, c}; CORTIZO, Lorena V.^a

a) Centro de Investigación en Tecnología del Cuero (CITEC-INTI)

b) Universidad Nacional Arturo Jauretche

c) Centro de Investigación en Proteínas Vegetales (CIPROVE-UNLP-CIC)

llopez@unaj.edu.ar

Los efluentes líquidos de las curtidurías se caracterizan por altos contenidos de componentes orgánicos que dan lugar a una alta demanda química de oxígeno (DQO). De estos componentes, el nitrógeno orgánico correspondiente a las proteínas solubilizadas representa una parte significativa de la carga orgánica en las aguas residuales. Por lo tanto, la eliminación de proteínas solubles de las aguas residuales reduciría considerablemente el contenido de nitrógeno orgánico con la consiguiente disminución de la contaminación, al mismo tiempo que se logra la recuperación de un material biológico muy valioso.

Este trabajo se centra en la recuperación de proteínas del efluente de la etapa de depilado (efluente de pelambre con oxidación de sulfuros) del proceso de curtiduría mediante precipitación y el desarrollo de un proceso de hidrólisis enzimática controlada capaz de producir pequeños péptidos y aminoácidos. La recuperación de proteínas se optimizó mediante una estrategia de precipitación por el agregado de ácido clorhídrico 0,1 N hasta alcanzar diferentes valores de pH dentro del rango (9,4 – 3,0). Los precipitados obtenidos en cada caso se separaron por centrifugación (4000 g por 5 min) fueron disueltos con agua destilada hasta un volumen igual al original y la concentración de proteínas fue determinada por el método de Bradford. Las proteínas recuperadas se hidrolizaron enzimáticamente usando papaína en diferentes relaciones enzima/sustrato y condiciones de reacción (pH y temperatura y tiempo). La enzima papaína fue obtenida en nuestro laboratorio a partir del látex de *Carica papaya*, la preparación liofilizada fue caracterizada en cuanto a su actividad empleando caseína como sustrato ($6U_{Cas}/mg$). Las muestras de proteínas recuperadas fueron caracterizadas por electroforesis (SDS-PAGE) antes y después de la hidrólisis. El mejor desempeño en cuanto

Hongos queratinolíticos aislados en suelos de Tucumán

GUZMÁN Cristian E.; ÁLVAREZ Christian

Laboratorio de Micología del Laboratorio de Salud Pública de Tucumán.

cristianguzman_a8@hotmail.com.ar

a recuperación de proteínas se obtuvo empleando la precipitación a pH ácido (pH 3,6). Las principales proteínas recuperadas fueron identificadas a través de la determinación de sus huellas peptídicas (PMF) para lo cual fueron digeridas con tripsina y los péptidos resultantes analizados por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masas con tecnología Orbitrap (CEQUIBIEM). El análisis de los datos obtenidos permitió identificarlas como las cadenas alfa 1 y alfa 2 del colágeno vacuno tipo I. La hidrólisis con papaína (0,0a%) a pH 7,0 durante a20 minutos a 60 °C permitió degradar totalmente las proteínas recuperadas para obtener pequeños péptidos (menores a a000 Da de acuerdo a los resultados de espectrometría de masas) y aminoácidos libres (Pro 35%, Cys 26%, Ala a2%, Gly 6%, Glu 6%, Asp 3%, Ile 3%, Ser 2%, Asn a%, Arg a%, Phe a%, Val a%, Tyr 0,6 %). De esta manera la aplicación del proceso de precipitación permitió disminuir el contenido de proteínas solubles y la DQO del efluente original en un 90% y 40%, respectivamente. El proceso diseñado permite obtener un efluente mucho menos contaminante y genera un producto valioso como potencial bioestimulante que podría ser empleado en prácticas sostenibles de producción vegetal para reducir el uso de fertilizantes sintéticos y otros agroquímicos, debido a sus efectos positivos en el rendimiento de los cultivos, especialmente en condiciones de estrés ambiental.

Palabras Claves: PROTEÍNA; HIDROLIZADOS; PAPAÍNA; CUERO; EFLUENTE

Introducción: la queratina se encuentra presente en piel, pelo, plumas, cuernos, pezuñas de animales que se faenan. Dicha proteína no es biodegradable lo cual ocasiona contaminación ambiental. Una opción biotecnológica para reciclar subproductos derivados de animales es la hidrólisis mediante la acción de queratinasas con actividad queratinolítica provenientes de microorganismos que se encuentran en los suelos.

Objetivo: Aislar y tipificar aislados fúngicos queratinolíticos de suelos de Tucumán.

Metodología: las muestras de suelo se recogieron entre octubre de 2020 y diciembre de 2020 en distintos espacios públicos de San Miguel de Tucumán- Argentina. El material se obtuvo por debajo de la superficie de la tierra aproximadamente a cm. En el laboratorio se aplicó la técnica de azuelo queratínico a fin de poder visualizar hongos capaces de crecer sobre la queratina del pelo de caballo estéril. Luego de tener un cultivo puro de los aislados fúngicos visualizados se procedió a su identificación mediante taxonomía clásica. Posteriormente se examinó cuál aislado tenía actividad proteolítica mediante la siembra en placa de Agar leche e incubación a 28°C por 7 días. Se consideraron positivos aquellos aislados que formaron un halo alrededor de la colonia. Los mismos, luego se inocularon en tubos de ensayo que contenían pelos de caballo estéril con el

agregado de solución fisiológica y se incubaron a 28°C por 7 días para visualizar microscópicamente el desarrollo y degradación del material queratinoso. Cabe destacar que se utilizaron además en estas pruebas aislados fúngicos provenientes de muestras clínicas que se correspondían con los géneros y especies recuperados de tierra.

Resultados: A partir de 30 muestras de tierra se aislaron e identificaron diferentes géneros *Microsporum*, *Fusarium*, *Chrysosporium*, *Mucor*, *Ctenomyces* y *Trichopyton*. Del total de aislados fúngicos recuperados del suelo, 5 expresaron actividad proteolítica en el Medio Agar Leche, mientras que los aislados clínicos no fueron capaces de poner en evidencia. Por último, la capacidad de crecer en los pelos como única fuente de C, N, S y de degradar la queratina se observó en las siguientes cepas: *Microsporum gypseum*, *Microsporum gallinarum*, *Chrysosporium* sp., *Fusarium solani*, *Ctenomyces serratus*, *Mucor rasemosus* y *Trichopyton terrestre*. No así en los aislados clínicos.

Conclusión: en base a los experimentos realizados se demostró que en los suelos de Tucumán crecen hongos geófilos con capacidad queratinolítica. Los aislados fúngicos *Microsporum gypseum*, *Microsporum gallinarum* y *Chrysosporium* sp. son los más prometedores para reciclar y revalorizar los subproductos derivados de animales.

Importancia: Todos los aislados fúngicos identificados, excepto *Microsporum gypseum*, no tienen acción patógena sobre hombre y animales, por lo que pueden ser utilizados con fines comerciales a nivel agropecuario para disminuir la contaminación.

SESIÓN 6

ENSEÑANZA DE LOS PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

1EPB

Congresos en el aula virtual como estrategia de enseñanza

VÁZQUEZ, Susana C.^{a,b}; GIUDICESSI, Silvana L.^{a,b},
BARREDO VACCHELLI, Gabriela R.^{a,b}; MARTÍNEZ
CERON, María C.; CAMPERI, Silvia A.^{a,b}

a) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biotecnología, Buenos Aires, Argentina

b) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Buenos Aires, Argentina
scamperi@ffyba.uba.ar

La enseñanza virtual, durante la pandemia que actualmente nos azota, hoy se ve en gran medida facilitada por las nuevas tecnologías y plataformas que permiten el encuentro de docentes con gran cantidad de alumnos. Sin embargo, es un gran desafío mantener el entusiasmo y el interés en la cursada, detectar dificultades en la comprensión de los diferentes temas y lograr una comunicación fluida ya que son todas herramientas indispensables para que se logre el aprendizaje.

Entre otras estrategias, hemos implementado tanto en cursos de grado como de posgrado el desarrollo de "Congresos" como cierres de las cursadas. En el caso particular de la materia "Biotecnología de Alimentos", donde día a día surgen nuevos productos obtenidos por biotecnología de última generación, es de gran interés que los alumnos investiguen sobre las últimas novedades en el mercado y que, al hacerlo, revisen e integren todos los temas que se ven en la cursada.

Al inicio de la cursada, se detallaron las consignas para armar el encuentro final, el cual simularía un congreso en el área de la biotecnología de alimentos, con las últimas novedades en la temática. Se formaron

grupos de no más de 5 alumnos a los que se les asignó un tutor docente. El trabajo se elaboró a lo largo de la cursada con encuentros sincrónicos y foros de consultas por medio del aula virtual. Cada grupo eligió un alimento o un organismo involucrado directa o indirectamente (por producir algún metabolito como ser enzimas o aditivos) en la producción de alimentos obtenidos por biotecnología de última generación. Cada grupo investigó sobre la idea que llevó al diseño/proceso, y las ventajas y desventajas de su introducción al mercado y describieron las modificaciones genéticas aplicadas, detallando el proceso de producción del producto genéticamente modificado. Prepararon un resumen escrito que subieron en el aula virtual y una presentación oral para compartir con los demás grupos y docentes el último día de clases.

El día del congreso, organizado en aula ZOOM, cada grupo dispuso de 10 min para su presentación oral y 5 min para preguntas donde hubo gran participación de los demás compañeros y docentes de la cátedra, generándose discusiones muy enriquecedoras. La preparación de los trabajos junto con el foro de consultas en el aula virtual y encuentros sincrónicos con los tutores ayudó a revisar, comprender e integrar los diversos temas dados durante la cursada. Los alumnos mostraron un gran compromiso con el trabajo y se logró una comunicación muy fluida entre pares y docentes. En la encuesta final en general los alumnos coincidieron en la gran utilidad del trabajo final para la comprensión de los diversos temas y también para facilitar la comunicación entre pares. Sin embargo, argumentaron que el tiempo que le tuvieron que dedicar había sido excesivo por lo que en este año se ajustarán y simplificarán las consignas.

Palabras claves: BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CONGRESO, ENSEÑANZA VIRTUAL, INTERCAMBIO.

Enseñanza y experimentación de la fermentación en estado sólido de residuos agroindustriales en diferentes escalas para alumnos de grado de bioprocesos

GIL, Rocio M.^{a, b}; KUCHEN, Benjamin^{a, b}; ANDREOLLI, Luciana^a; RODRÍGUEZ, Laura A.^a

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan

b) CONICET

rocio.mariel.gil@gmail.com

Las materias Ingeniería de las Reacciones Bioquímicas e Ingeniería de Bioprocesos, pertenecientes a las carreras de grado de Ingeniería Química e Ingeniería en Alimentos, respectivamente (Fac. Ingeniería – UNSJ- San Juan), abordan el estudio de los bioprocesos desde el punto de vista Biotecnológico, permitiendo a los alumnos integrar conceptos ya adquiridos e introducir aspectos del diseño y comportamiento dinámico de un bioproceso. La fermentación en estado sólido (FES) es el proceso llevado a cabo por microorganismos, usualmente hongos filamentosos, en ausencia de agua libre. En la actualidad el interés en la FES como una tecnología de bioproceso ha tomado relevancia debido a que se obtienen diversos productos de valor agregado. Además, ha demostrado ser una tecnología probada para tratar residuos sólidos como orujos de uva tinta (OU) producidos en la industria vitivinícola muy relevantes en la Provincia de San Juan. Teniendo en cuenta lo mencionado, el equipo docente de las cátedras propuso además de la enseñanza teórica de bioprocesos, en-

tre ellos la FES, la realización de una práctica de laboratorio con la premisa de estudiar, analizar y aplicar una propuesta de la valorización del OU a través de la FES. El objetivo fue realizar y seguir FESs en dos sistemas de distinta complejidad, con el fin de observar la cinética de crecimiento del microorganismo y los perfiles de consumo de sustrato y actividad enzimática. Las FESs se realizaron en dos sistemas, uno de los reactores consiste en placas de Petri de 20cm de diámetro y el otro, un reactor de lecho fijo de 20 L (acero inoxidable con bandeja perforada). Se inocularon 1×10^7 conidios por gramo seco de orujo de uva tinta, de *Aspergillus Japonicus* (cepario del Instituto de Biotecnología de la UNSJ). El medio de cultivo se preparó con OU al 70% de Humedad con un volumen efectivo en ambos sistemas del 60%. Las fermentaciones fueron realizadas a 28°C con una velocidad de aire húmedo estéril que ingresó en el reactor a 2 L/min. El muestreo se realizó cada 12 hs por 7 días, el seguimiento se hizo a través del peso seco, azúcares totales, azúcares reductores y actividad exo-poligalacturonasa. La práctica les permitió a los alumnos integrar conocimientos, comprender el fundamento de una FES, observar cómo influyen en la cinética y en la actividad enzimática el cambio de escala y la configuración del reactor usado.

Palabras claves: ENSEÑANZA, BIOPROCESOS, ESCALADO.

GEPB

Impacto en la economía regional de la producción olivícola en el departamento arauco ocasionado por el complejo de las enfermedades que la afectan

BITTAR, Salimlssam; SANTADER, Estela del Valle; LUNA MERCADO, Luis Eduardo; GONZALEZ, Sergio Miguel; ZAPATA, Romina Elisabet

Instituto Técnico de Identificación Tributaria (ITIT) – Departamento Académico de Ciencias Sociales, Jurídicas y Económicas - Universidad Nacional de La Rioja (UNLaR) – Sede Regional Aimogasta

El presente Proyecto tiene como propósito conocer el origen del problema sobre la enfermedad causada por el hongo *Verticilliumdahliae* (Verticilosis) en las plantas de olivos en la ciudad de Aimogasta, Departamento Arauco, provincia de La Rioja, porque todavía no hay alguna solución concreta que se pueda emplear para combatir esta enfermedad y esto trae aparejado que la producción olivícola se encuentra perjudicada, más hablando de los pequeños y medianos productores.

En primera instancia, se realizará un análisis sobre la problemática que causa esta enfermedad en los olivos, para conocer detalladamente como se origina el hongo y cuáles son sus causas.

En segunda instancia, se estudiarán los factores ambientales, naturales y socio – económicos y contables que trae como consecuencia dicha problemática, para saber cómo invierten las empresas olivícolas en el tratamiento de la enfermedad y sus causas como así también los condicionamientos internos de la región.

En tercer lugar, se investigará si hay antecedentes que arrojen información referida a las consecuencias provocadas en otros lugares y determinar si hubo algún avance para brindar resultados que nos sirvan como indicadores.

Por último, se elabora una propuesta de mejoras para el sector en cuanto a cómo se resuelve esta problemática y que de ahora en más, tener los recaudos necesarios para cuando se presente esta enfermedad y los productores estén preparados para enfrentar esta situación conociendo como es la relación costo - beneficio de cada una de ellos.

Las plantas como biofábricas para la producción de vacunas

CLEMENTE, Mariana

*Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH),
CONICET-UNSAM, Intendente Marino Km 8,2; CC
164 (B7130IWA), Chascomús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.*

**marinaclemente@hotmail.com
mclemente@intech.gov.ar**

SESIÓN 7

BIOTECNOLOGÍA ANIMAL Y VEGETAL

La agricultura molecular se refiere a la producción de proteínas recombinantes en plantas (incluidos productos farmacéuticos, proteínas industriales y otros metabolitos secundarios). A lo largo de los años se demostró que las plantas tienen la capacidad de expresar proteínas funcionalmente activas de mamíferos y otros organismos eucariotas con actividad terapéutica como sueros humanos, factores de crecimiento, vacunas, hormonas, citocinas, enzimas y anticuerpos. Nuestro laboratorio está especializado en Biotecnología Vegetal y Vacunas Vegetales. Nuestro objetivo es desarrollar diferentes estrategias para optimizar la expresión de proteínas recombinantes en plantas. Nuestro estudio se centra en optimizar su uso para la producción de antígenos de vacunas y evaluar su potencial para la liberación de estos antígenos. Actualmente, estamos desarrollando estrategias basadas en la fusión de la proteína de interés con otro péptido o proteína que funciona como carrier. Seleccionamos una proteína de choque térmico de 90 kDa (Hsp90), que está relacionada con el correcto plegamiento durante la síntesis de determinadas proteínas, así como con el replegamiento de proteínas desnaturalizadas o parcialmente desnaturalizadas. Además, varios estudios demostraron que las

Hsp90 fusionadas con péptidos o proteínas antigénicas aumentan su respuesta inmunitaria humoral y celular demostrando su actividad como adyuvantes. Demostramos que las Hsp90 de origen vegetal son una alternativa innovadora como sustituto de los adyuvantes a base de toxinas, no solo por sus propiedades inmunomoduladoras sino también porque son excelentes carriers de proteínas antigénicas y péptidos expresados en plantas. Por ello, estamos desarrollando una plataforma basada en el uso de plantas de tabaco y lechuga para producir antígenos de vacuna fusionados a las Hsp90 de plantas como estrategia para mejorar la expresión de la proteína de interés.

Palabras claves: PLANTAS, BIOFÁBRICAS, VACUNAS VERDES, HSP90, UNA SALUD.

Edición génica para el mejoramiento de la producción en acuicultura

FERNANDINO, Juan I.^a, BOAN, Agustín F.^a

*a) Laboratorio de Biología del Desarrollo. Instituto Tecnológico de Chascomús. CONICET-UNSAM
fernandino@intech.gov.ar*

Los peces representan una fuente de proteína de alta calidad muy importante para la mayoría de personas, aunque aún son recogidos principalmente en la naturaleza, con graves consecuencias para el ambiente. A su vez, en los últimos años se ha observado que las poblaciones de peces de potencial importancia comercial han ido disminuyendo. Esta situación se debe fundamentalmente a un incremento en la presión de captura, a

características climáticas inusuales, a la contaminación ambiental o a una combinación de estos factores. Es por esto que la cría de peces es el rubro de producción animal con mayor crecimiento en el mundo, que supera incluso al ritmo de los sectores bovino, porcino y avícola. A escala global, el consumo mundial de peces provenientes de la acuicultura es de un 48 % y se espera que, en los próximos 15 años, alcance el 75 %. En este contexto, el cultivo y la propagación de especies de peces autóctonos pueden ser vistos como una actividad productiva con gran potencial económico que además se enmarca en la búsqueda de la diversificación de la producción con posible impacto en la economía de los productores agropecuarios pequeños y medianos.

Dentro de las alternativas para llevar a que una especie presente las características suficientes para ser atractiva para el cultivo con fines comerciales podríamos mencionar la selección artificial, que demanda enormes inversiones de tiempo, de entre 30 a 50 años. Una segunda alternativa es la generación de animales transgénicos, por ejemplo por el agregado de un transgen para la hormona de crecimiento (GH), principal promotor del crecimiento somático. Sin embargo esta alternativa presenta una enorme resistencia por parte de los consumidores. Una opción más novedosa es la edición específica de genes con el método de CRISPR/Cas9, que regulen algunos procesos clave en acuicultura, como la reproducción (generación de estériles), la respuesta inmune (subrogación de oocitos) o el crecimiento muscular. Además, la tecnología de edición génica puede promover los cambios evolutivos en productos acuícolas en un período breve, de 2 a 5 años, y sin entrar dentro de la regulación de OGM.

Palabras Claves: PISCICULTURA, CRISPR/CAS9, HORMONA DE CRECIMIENTO, REPRODUCCIÓN

Efecto de *Bacillus altitudinis* en el crecimiento de plantines de *Ilex paraguariensis*

CORTESE Iliana J.^{a,c}; SVIERCZ OLIVETTI Oriol A.^a; ONETTO Andrea L.^{a,c}; BICH Gustavo Á.^{a,c}; CASTRILLO María L.^{a,c}; ZAPATA Pedro D.^{a,c}; LACZESKI Margarita E.^{a,b,c}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reza" (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina.

b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Catedra de Bacteriología. Posadas, Misiones, Argentina.

c) CONICET. Posadas, Misiones, Argentina. cortesejulieta@gmail.com

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), es un árbol de la familia Aquifoliaceae que se distribuye en el noreste de Argentina, Paraguay y el sur de Brasil, regiones donde su cultivo se realiza con fines económicos. Las principales causas de disminución en la productividad de los cultivos son la edad de las plantas y el agotamiento de los nutrientes del suelo debido a prácticas de manejo de cultivos inadecuados. El uso de microorganismos nativos que promueven el crecimiento vegetal es una alternativa prometedora para mejorar su productividad y, paralelamente, la calidad del suelo. En el presente estudio se trabajó con dos cepas nativas de *Bacillus altitudinis* aisladas de plantines de *I. paraguariensis*, codificadas como T5S-T4 y 19RS3, seleccionadas por su capacidad de promoción del crecimiento vegetal (PGP) demostrada *in vitro* y en vivero. El objetivo fue monitorear el efecto de promoción del crecimiento vegetal en plantines de *I. paraguariensis* St. Hil. inoculados con

B. altitudinis T5S-T4 y 19RS3. Por tratamiento se utilizaron 50 plantines orgánicos de *I. paraguariensis* St. Hil. donados por la Fundación Alberto Roth (Santo Pipó-Misiones). Se ensayaron tres tratamientos que consistieron en *B. altitudinis* T5S-T4, *B. altitudinis* 19RS3, *B. altitudinis* T5S-T4 + *B. altitudinis* 19RS3 (en partes iguales) y un control negativo (sin inoculación). Los inoculantes bacterianos se prepararon a partir de cultivos de 24 h en medio sólido. El inóculo primario se realizó en tubos Falcon con 30 ml de caldo nutritivo y se incubó a 28 °C por 24 h. A partir de este inóculo se realizó una suspensión en agua corriente hasta llegar a la concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml correspondiente a la escala 0,5 de McFarland. Se inoculó cada plantín por la técnica de riego directo, con 5 ml de la suspensión bacteriana y se realizaron 3 inoculaciones cada 15 días. Durante un periodo de 6 meses (Septiembre 2019 - Marzo 2020) se realizó la medición de los parámetros altura, número de hojas y diámetro del cuello de cada plantín, cada 15 días. Se analizaron estadísticamente las mediciones obtenidas mediante un análisis de varianza (ANOVA) para cada uno de los parámetros y tratamientos aplicados utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XV.II con un nivel de significancia 95 %. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), utilizando el programa InfoStat. El ANOVA mostró diferencia significativa entre el tratamiento inoculado con *B. altitudinis* T5S-T4 y los demás tratamientos para cada parámetro evaluado ($p < 0,05$). En el ACP, las componentes principales CP1 y CP2, explicaron un 99% de la variabilidad total de los datos. Se observó una correlación positiva entre todos los parámetros de crecimiento y el tratamiento con *B. altitudinis* T5S-T4. El efecto de promoción del crecimiento vegetal fue comprobado en plantines de *I. paraguariensis* inoculados con *B. altitudinis* T5S-T4. La aplicación de bacterias PGP nativas, como *B. altitudinis* T5S-T4, es una práctica prome-

tedora que promueve el aumento de la producción de los cultivos de *I. paraguariensis* y la disminución del deterioro del suelo.

Palabras claves: INOCULANTES AGRÍCOLAS; PGPB; YERBA MATE.

2BAV

Obtención de lípidos de microalgas cultivadas en agua residual de origen porcino

HERRERA, Kevin F., MEDRANO, Johanna L., RAMÍREZ, José R.

Universidad Internacional SEK, Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas. Quito, Ecuador.
johanna.medrano@uisek.edu.ec

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos con altos contenidos de lípidos empleados desde hace algunos años en la obtención de lípidos con fines de obtención de biocombustibles como el biodiesel; sin embargo, los costes asociados al uso de agua en cultivos a gran escala son elevados, por lo que algunos investigadores han recurrido al uso de aguas menos costosas, tales como las aguas residuales de orígenes diversos. Las microalgas también son capaces de degradar nutrientes por lo que se han empleado como tratamiento en biorremediación de aguas residuales. En esta investigación se cultivó biomasa microalgal de *Chlorella vulgaris* en agua residual de faenamiento porcino con el propósito de extraer lípidos totales, AGL y FAMES para determinar su posible uso en la producción de biocombustibles. El agua residual fue previamente es-

terilizada; el cultivo se realizó en fotobiorreactores planos expuestos a las condiciones atmosféricas de Quito. Se midió crecimiento celular mediante conteo celular en cámara de Neubauer bajo el microscopio, se determinaron las variaciones en nitrógeno total, fósforo y carbono totales como parámetros fisicoquímicos del cultivo y finalmente se obtuvo la biomasa para la determinación de lípidos y su caracterización en forma de AGL y FAMES. Se encontró un crecimiento de biomasa de *Chlorella vulgaris* de 0,2 g/L, también se observó que esta especie puede emplearse potencialmente en procesos de biorremediación debido a los porcentajes de remoción de nutrientes alcanzados: 87,89% de nitrógeno total, 61,92% de fósforo total y 77,08% de carbono total; de acuerdo con la normativa ambiental nacional ecuatoriana; sin embargo, será necesario la determinación de más parámetros fisicoquímicos según lo exige dicha normativa. La extracción de lípidos se realizó con seis solventes extractores seleccionados a partir de la bibliografía consultada, a saber: hexano, etanol, metanol, metilciclohexano, acetato de etilo y cloroformo:metanol (1:2). De los diversos solventes extractores de lípidos probados solo metilciclohexano, cloroformo: metanol (1:2) y acetato de etilo presentaron buenos rendimientos de lípidos y AGL. Los porcentajes de FAMES a partir de AGL estuvieron en el rango de 51% a 80,5% en peso. Aunque los valores de lípidos, AGL y FAMES se encuentran por debajo del rango reportado por otros autores, no se descarta el uso de este medio cultivo en particular para la obtención de lípidos con miras a la producción de biocombustibles a partir de esta especie de microalga.

Palabras claves: CULTIVO; CHLORELLA VULGARIS; AGUA RESIDUAL; FAENAMIENTO PORCINO; LÍPIDOS.

Taxonomía molecular de diatomeas del ecuador mediante códigos de barras de ADN

PORTILLA, Daniela^a; MOYÓN, Jennifer^b; CHAMORRO, Susana^a; NAVARRO, Juan Carlos^c; RAMÍREZ-IGLESIAS, José R.^c

a) Universidad Internacional SEK. Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas. Quito, Ecuador.

b) Universidad Estatal Amazónica. Departamento de Ciencias de la Vida. Sucumbíos, Ecuador.

c) Grupo de enfermedades desatendidas, emergentes, epidemiología y biodiversidad. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Internacional SEK,

jose.ramirez@uisek.edu.ec

Las diatomeas son empleadas como microorganismos bioindicadores debido a su amplia diversidad de especies y a su respuesta rápida a variaciones en un ecosistema. La identificación de especies de diatomeas se ha basado en caracteres morfológicos como por ejemplo, la caracterización de las frústulas. Sin embargo, pueden ocurrir variaciones fenotípicas muy pequeñas en dichas estructuras, que dificulta la adecuada identificación de especies crípticas, lo cual complica el proceso de biomonitorio. En la búsqueda de resolver los límites intra e interespecíficos de esta variabilidad morfológica, se han implementado métodos de identificación molecular, mediante el uso de códigos de barras de ADN. Por lo tanto, es necesario comparar diferentes regiones del ADN para establecer una correlación fenotipo-genotipo y evaluar su capacidad de identificación de especies a nivel molecular y su implementación en procesos de biomonitorio. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar códigos de barras de ADN de las regiones 18S e ITS (ribosomal) y *rbcl* (cloro-

plasto) en diatomeas colectadas en diferentes ecosistemas del Ecuador. Se aislaron e identificaron por microscopía óptica un total de 3 especies de diatomeas: *Nitzschia linearis* W.Smith y *Mayamaea permitis* (Hustedt) K.Bruder & Medlin provenientes del río Rumiupamba ubicado en Quito, y *Nitzschia perminuta* Grunow de los lagos del glaciar de Antisana. La identificación molecular se llevó a cabo por medio de PCR. Los amplicones de las regiones evaluadas fueron secuenciadas por Sanger. Secuencias de referencia de especies y géneros relacionados obtenidas de NCBI-GenBank y las secuencias propias fueron alineadas mediante ClustalW con parámetros altos de homología. Posteriormente se realizaron análisis filogenéticos mediante algoritmos de Parsimonia Máxima y Máxima Verosimilitud para identificar las especies concordantes con clados monofiléticos. Las regiones 18S e ITS se amplificaron para todas las especies, aplicando gradientes de temperatura en el caso de ITS. La amplificación de la región *rbcl* fue inconsistente o nula con los primers usados en este estudio. Al realizar los árboles filogenéticos, se obtuvo una mayor divergencia y estructura con ITS y menor con 18s y *rbcl*, siendo en todos los casos suficiente para lograr una identificación de diatomeas a nivel de especie. No obstante, debido a la limitada información de secuencias de nucleótidos de especies de diatomeas en la región ITS, no fue posible la identificación de las especies aisladas en el presente estudio utilizando el código de barras perteneciente a esta región. Los resultados de la identificación molecular de *N. linearis* y *N. perminuta* tuvieron concordancia con la identificación morfológica; sin embargo, en el caso de *M. permitis* no se logró una identificación morfológica clara por lo que hubo que recurrir a la identificación molecular. Nuestros resultados muestran regiones genómicas confiables para la taxonomía molecular de estas especies y óptimas para llevar a cabo un biomonitorio en cuerpos de

agua ecuatorianos, que a su vez puedan en un futuro masificarse y automatizarse empleando tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS).

Palabras claves: DIATOMEAS; BIOINDICADORES; BIODIVERSIDAD; CÓDIGOS DE BARRAS; IDENTIFICACIÓN MOLECULAR; HERRAMIENTAS FILOGENÉTICAS.

4BAV

Identificación y síntesis de epitopes de toxina del veneno de *Phoneutria nigriventer* para su aplicación como inmunógenos

IGLESIAS-GARCÍA Lucía C.^{a,b}; BARREDO VACHELLI Gabriela R.^{a,b}; ACOSTA, Gerardo^{c,d}; MINOIA, Juan M.^{a,b}; ALBERICIO, Fernando^{c,d}; CAMPERI, Silvia A.^{a,b}

a) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biotecnología, Buenos Aires, Argentina

b) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Buenos Aires, Argentina

c) CIBER-BBN, Networking Centre on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, and Department of Organic Chemistry, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

d) Institute of Advanced Chemistry of Catalonia (IQAC-CSIC), Spanish National Research Council (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain.

scamperi@ffyb.uba.ar

Los envenenamientos provocados por la araña *Phoneutria nigriventer* (araña del baño) constituyen una emergencia médica

tratable con antidotos adecuados. Para su producción se requiere la captura de las arañas y la extracción del veneno por electroestimulación, método engorroso, peligroso y de bajo rendimiento. Son necesarios, por lo tanto, nuevos enfoques para una producción más eficiente que satisfaga la demanda a nivel nacional y regional. La neurotoxina Tx2-6 (δ -ctenitoxina-Pn2a) es la principal causante de los síntomas de envenenamiento por *Phoneutria nigriventer* en humanos (Foneutrismo o Ctenismo). Tx2-6 es un péptido cíclico altamente estable frente a proteasas debido a sus numerosos puentes disulfuro, los cuales forman estructuras similares a nudos (nudos de Cys). Debido a su alta estabilidad, se dificulta su digestión en las células presentadoras de antígenos, la cual es necesaria para desencadenar la respuesta inmune adaptativa, por lo que es poco inmunogénico.

En el presente trabajo, se identificaron los epitopes de la neurotoxina Tx2-6 y se diseñaron y sintetizaron derivados de los mismo para su utilización como inmunógenos en la producción de antiveneno para picadura por *Phoneutria*.

Para identificar los epitopes en la toxina se utilizó la herramienta "MHC-II Binding Predictions" del programa "Immune Epitope Database Analysis Resource". La zona más inmunogénica se sintetizó en fase sólida empleando la química Fmoc/tBu sobre la resina Rink-Amide-MBHA con aminoácidos protegidos. Una vez elongado cada péptido, se escindió de la resina y desprotegeron las cadenas laterales por acidólisis con ácido trifluoroacético (TFA). Además, se diseñaron y sintetizaron péptidos ramificados o MAPs "Multiple antigenic peptides" y lipopéptidos, incorporando ácido palmítico en el N-terminal. Los péptidos se caracterizaron por RP-HPLC con columna de C-18 Utilizando como eluyentes Agua/acetónitrilo con 0,045% y 0,036% respectivamente de TFA. y por MALDI-TOF MS.

Tanto los péptidos lineales con y sin ácido palmítico como los péptidos ramificados fueron obtenidos con alta pureza. El lipopéptido ramificado se obtuvo con baja pureza por lo que se deberá optimizar su síntesis. Todos estos péptidos serán evaluados como inmunógenos para reemplazar o complementar el uso de venenos crudos para la producción de antiveneno para picadura por *Phoneutria*.

Palabras claves: PHONEUTRIA NIGRIVENTER; ANTIVENENO; ARAÑA; SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA; ENVENENAMIENTO.

5BAV

*Aislamiento, identificación y evaluación del contenido de lípidos de *Desmodesmus communis**

ENCALADA-ROSALES, Paula^a; MEDRANO-BARBOSA, Johanna L.^a; RAMÍREZ-IGLESIAS, José R.^b; AGUIRRE, Alberto^a; NAVARRO, Juan Carlos^b; MOYÓN, Jennifer^c

a) Universidad Internacional SEK. Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas. Quito, Ecuador.

b) Grupo de enfermedades desatendidas, emergentes, epidemiología y biodiversidad. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Internacional SEK

c) Universidad Estatal Amazónica. Departamento de Ciencias de la Vida. Sucumbíos, Ecuador. johanna.medrano@uisek.edu.ec

La generación de energía en el mundo depende principalmente de los combustibles fósiles, cuya implementación deriva en las emisiones de gases de efecto invernadero como el CO₂ contribuyendo a la contaminación y al calentamiento global. Con base en

esto, existen varios estudios orientados a desarrollar fuentes de energía alternativas y de menor impacto ambiental, tal como el biodiesel obtenido a partir de biomasa de microalgas. La capacidad productora de lípidos de las microalgas hace que estos microorganismos despierten un gran interés como materia prima para la producción de energía limpia. En Ecuador son muy pocos los estudios que evalúan el potencial biotecnológico de microalgas autóctonas para la generación de biocombustibles líquidos como el biodiesel. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la generación de biomasa y determinar el contenido de lípidos totales de *Desmodesmus communis*, una microalga aislada de la laguna de la Reserva Biológica Limoncocha (RBL), Ecuador, e identificada morfológica y molecularmente mediante el uso de códigos de barras, con el fin de evaluar si esta especie de microalga autóctona posee un contenido de lípidos apto para la potencial de generación de biodiesel. Se realizó una identificación morfológica mediante comparaciones bibliográficas y una identificación molecular por PCR, utilizando códigos de barras moleculares y la construcción de árboles filogenéticos basados en las regiones ITS y 18S. El crecimiento se evaluó en un cultivo por lotes de diez días, utilizando medio BG11, en el que diariamente se determinó la remoción de nutrientes. Posteriormente, se evaluó el porcentaje de lípidos totales y ácidos grasos libres (AGL) con los solventes cloroformo:metanol (1:2) y acetato de etilo. La remoción de DQO, nitratos (NO₃⁻) y fosfatos (PO₄³⁻) fue de 75,43%, 60,84% y 13,88%, respectivamente. La biomasa generada por la microalga fue de 2,4±0,12 g/L, mientras que los mejores porcentajes de extracción fueron 19,70% de lípidos y 63,46% de AGL, ambos en base seca y con el solvente cloroformo:metanol (1:2). Los resultados sugieren una mejor extracción de lípidos de esta microalga con cloroformo:metanol (1:2) en comparación con el solvente acetato de eti-

lo. Aun cuando los resultados de lípidos y AGL no alcanzan los límites requeridos (mayor a 20% y 70%, respectivamente), la productividad de biomasa y de lípidos es comparable con especies que sí se usan para la producción de biodiesel, según la revisión bibliográfica realizada. Considerando que esta investigación no toma en cuenta factores como un pretratamiento de la biomasa y condiciones ambientales controladas de las microalgas, se hace necesaria la implementación de diseños experimentales adicionales para confirmar su potencial generador de biocombustibles líquidos.

Palabras claves: DESMODESMUS; MICROALGAS; LÍPIDOS; BIODIÉSEL; ENERGÍA.

6BAV

Identificación morfológica y molecular de microalgas y evaluación del contenido de lípidos

GONZÁLEZ-LOYO, Juan F.^a, MEDRANO-BARBOZA, Johanna L.^a, NAVARRO, Juan C.^b; MOYÓN, Jennifer^b, RAMÍREZ-IGLESIAS, José R.^c

a) Universidad Internacional SEK. Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas. Quito, Ecuador.

b) Universidad Estatal Amazónica. Departamento de Ciencias de la Vida. Sucumbíos, Ecuador.

c) Grupo de enfermedades desatendidas, emergentes, epidemiología y biodiversidad. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Internacional SEK.

jose.ramirez@uisek.edu.ec

El uso constante de los combustibles fósiles y el impacto ambiental que estos producen ha despertado el interés en nuevas fuentes de energía renovables. Existe actualmente una fuerte tendencia hacia el

desarrollo de biocombustibles a partir de biomasa de tercera generación, como las microalgas. Se sabe que los géneros de microalgas con mayor producción de lípidos para la elaboración de biocombustibles son *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.*, pero pocos estudios han usado especies del género *Desmodesmus sp.* Por lo tanto, el uso de microalgas autóctonas se considera una alternativa para la producción de biocombustibles líquidos como el biodiésel. En este estudio identificó molecularmente la microalga *Desmodesmus armatus*, aislada de una muestra de agua de la laguna de Limoncocha, Ecuador y se determinó el contenido de lípidos de dicha especie para evaluar su potencial uso en la generación de biodiésel. Se identificó morfológicamente la microalga mediante microscopía óptica y la identificación molecular se llevó a cabo mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para obtener amplicones de las regiones ITS y 18S, junto con su correspondiente análisis filogenético. Se realizó un cultivo por triplicado de diez días en fotobiorreactores por lotes de 1L con medio BG11 y se determinó la remoción de nutrientes (nitratos NO_3^- , fosfatos PO_4^{3-} y demanda química de oxígeno DQO) diariamente como parte del crecimiento de la microalga. Se evaluó el contenido de lípidos a partir de biomasa húmeda y seca; y ácidos grasos libres (AGL) con biomasa seca, usando los solventes orgánicos cloroformo:metanol (1:2) y acetato de etilo, grado HPLC. Se obtuvo como resultado 2,5 g/L de biomasa microalgal con una remoción de nutrientes de 81,13%, en el 45,95% y 17,35% para DQO, nitrato y fósforo, respectivamente. En el contenido de lípidos se obtuvo mejores resultados con la mezcla de solventes cloroformo:metanol (1:2), cuyos porcentajes de a partir de biomasa seca fueron de 21,50%, respectivamente; mientras que el rendimiento en peso para AGL resultó de 52,80%. Estos resultados preliminares indican parámetros de rendimiento relativamente ba-

jos comparados con especies normalmente usadas para generar biodiésel. Sin embargo, es necesario realizar más estudio para estimular el aumento de lípidos para mejorar su aplicabilidad biotecnológica.

Palabras claves: DESMODESMUS ARMATUS; BIOMASA; LÍPIDOS; ÁCIDOS GRASOS LIBRES (AGL); BIODIÉSEL.

7BAV

HLB: análisis del Gen3-hidroxi-3-metilglutaril CoA sintasa en Diaphorina citri

MACSEMCHUK, Nazarena A.; FIORAVANTE, Cynthia A.; LITWIŃIUK, Sergio L.; MIRETTI Marcos M.; BLARIZA, María J.

Universidad Nacional de Misiones (UNaM) – CO-NICET, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Instituto de Biología Subtropical, Laboratorio GIGA. Misiones, Argentina.
nazarenamacsemchuk98@gmail.com

La enfermedad de Huanglongbing (HLB) es causada por la bacteria *Candidatus liberibacter ssp.*, agente transmitido por el psílido *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en América. *D. citri* es considerada como la plaga más destructiva y consecuentemente la más importante de todas las plagas de cítricos. Posee hábito fitófago y la gama de huéspedes está restringida a cítricos y especies de Rutáceas. La transmisión de la enfermedad se lleva a cabo cuando el psílido se alimenta de la savia de las plantas hospederas y es en ese momento cuando estos insectos adquieren el patógeno, si al alimentarse lo hacen de plantas infectadas.

En Argentina, el HLB fue detectado por primera vez en el año 2012 en la Provincia de Misiones y donde además se encuentra presente el insecto vector. Hasta el momento la enfermedad no tiene cura, por lo que las plantas afectadas deben erradicarse y destruirse. Entre las medidas actualmente utilizadas, se destaca el control químico del vector mediante aplicaciones de insecticidas. A efectos de aportar bases que podrían orientar en el futuro el desarrollo de nuevas estrategias de control se analizó el gen 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA sintasa (HMG-CoAS). Este gen, codifica para una enzima involucrada en la regulación de síntesis de precursores isoprenoides, entre ellos, la Hormona Juvenil (JH) clave en el desarrollo y reproducción en insectos. Con este propósito, se extrajo ARN total de hembras y machos adultos de *D. citri*, se procedió a su cuantificación y posterior síntesis de ADNc. Se diseñaron cebadores específicos. Posteriores ampliaciones y secuenciación de fragmentos de ADNc del gen permitieron amplificar tanto en hembras como en machos adultos un fragmento de 508 pares de bases (pb) con un marco abierto de lectura (ORF) de 186 nucleótidos que codifican para 62 aminoácidos. Utilizando información disponible en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) se realizaron alineamientos múltiples de las secuencias nucleotídicas de *D. citri* con otras especies de insectos, donde se evidenciaron regiones conservadas. Por otra parte, el análisis comparativo de las secuencias de aminoácidos deducidos a partir de las secuencias nucleotídicas de ADNc de *D. citri* reveló un porcentaje de aminoácidos idénticos del 57% con *Aedes aegypti*, 59% con *Blattella germanica* y un 53% con *Ips pini*. También se logró identificar 6 residuos de Serina, 2 residuos de Treonina y 2 residuos de Tirosina que representan potenciales sitios de fosforilación. La relación evolutiva en-

tre taxones señaló que *D. citri* y *B. germanica* derivan de un antecesor común, en cambio *A. aegypti* e *I. pini* derivan de otro antecesor. *D. citri* y *B. germanica* han divergido antes en el pasado evolutivo que *A. aegypti* e *I. pini*. Este estudio pretende hallar genes blanco prometedores y eficaces para futuras estrategias de control que permitan reducir eficientemente el impacto que la enfermedad produce en la región.

Palabras claves: HLB; DIAPHORINA CITRI; HMGCAS.

8BAV

Síntesis de nanopartículas de plata de extracto foliar de Podocarpus Lambertii Klotzch ex Endl

BANDEIRA, Debora M.^a; CORRÊA, Juliana M.^a; LASKOSKI, Larissa V.^a; BATISTA, Joelma M.^a; EISING, Renato^b; ROSSET, Jéssica.^a; CANTON Andressa G.^a; PINTO, Fabiana G. S.^a;

a) Laboratorio de Microbiología y Biotecnología. Programa de Maestría Conservación y Manejo de Recursos Naturales - PPRN. Universidad Estatal del Oeste de Paraná - UNIOESTE/ Campus de Cascavel/PR.

b) Universidad Tecnológica Federal de Paraná, Toledo, Brasil.

dm-bandeira@hotmail.com

La síntesis verde de nanopartículas (nps) presenta un costo bajo, biocompatibilidad, ausencia/baja toxicidad y un menor impacto al medio ambiente, haciendo así que su popularidad aumente y se destaque en los sectores industrial, comercial, farmacéutico y medicinal. Algunos métodos de producción de nanopartículas

presentan riesgos para el medio ambiente por la formación de residuos tóxicos, además del uso de solventes y agentes estabilizantes nocivos. Con el propósito de beneficiar a los seres humanos, disminuir los impactos generados al ecosistema y a la necesidad de reducción de efectos colaterales y surgimiento de microorganismos resistentes, los métodos de síntesis verde de nanopartículas asociadas a extracto de plantas, se presentan como una alternativa sostenible en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. Nanopartículas metálicas como las de plata (AgNP) han presentado diversas actividades biológicas, tales como el potencial como agente antimicrobiano y su síntesis utilizando extractos vegetales pueden incrementar ese potencial bactericida. El presente estudio tuvo como objetivo sintetizar la AgNP utilizando extracto etanólico de *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. (Pino Bravo) y evaluar su actividad antimicrobiana frente a las bacterias *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y la levadura *Candida albicans* (ATCC 10231). Para obtener el extracto, el material foliar seco se añadió en una proporción de 1:10 (p/v) en etanol (P.A), se mantuvo en un agitador rotatorio durante 24 horas y se sometió a rotoevaporación para eliminar el disolvente. Los extractos convencionales y nanoparticulados (AgNP) se analizaron en concentraciones que variaron de 200mg.mL a 0,09 mg.mL y 1,25 µg.mL a 0,009 µg.mL, respectivamente. Para la síntesis de AgNP se preparó una solución de NaOH 0,001 mol/L⁻¹, añadida en solución de extracto de *P. lambertii* en el rango de concentración de 0,1 a 10 mg.mL⁻¹ y solución de AgNO₃ entre 1,0 y 5,0 x 10⁻³ mol.L⁻¹ como precursor de los iones de plata y manteniendo la solución resultante bajo calentamiento constante. Posteriormente, se realizó la prueba de microdilución en caldo para determinar

la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida y fungicida mínima (CBM/CFM) para los extractos convencional y nanoparticulado (AgNP). El extracto convencional presentó actividad bacteriostática y bactericida (CIM/CBM) sobre todas las cepas analizadas, en las concentraciones que varían de 50 a 0,78 mg.ml. Ya el extracto AgNP presentó actividad bacteriostática y bactericida para *E. coli* y *S. aureus* (CIM/CBM de 1,25 a 0,625 µg.mL), y actividad bacteriostática sobre la levadura *Candida albicans*. El extracto AgNP presentó mayor inhibición cuando comparado al convencional, siendo más eficiente en concentraciones más bajas para los microorganismos probados. La síntesis AgNP presentó cambio en la coloración del medio reaccionario (de incoloro a amarillo), un indicativo que ocurrió la reducción de los iones Ag⁺ y la formación de las AgNPs y confirmada por análisis de espectrofotometría de UV-vis, en las que todas las síntesis presentaron bandas cercanas a 400 nm. En este ensayo inicial, los resultados fueron prometedores en cuanto a la utilización de las nanopartículas de plata obtenidas por síntesis verde, usando hojas de *P. lambertii* con potencial uso para control de microorganismos patógenos, aunque deben realizarse más pruebas para verificar la estabilidad de las nanopartículas.

Palabras claves: ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA; EXTRACTO VEGETAL; NANOPARTÍCULA DE PLATA.

9BAV

*Dinámica poblacional de *Sinorhizobium meliloti* en semillas pildoradas de alfalfa (*Medicago sativa* L.)*

BRIGNOLE, Tomás A.^{a,b}, ROSSI, Alejandro O.^c, ANDRIOLO, Luisina^c, CACCIATORE, Luis C.^{a,b}

a) Facultad de Agronomía y Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Morón.

b) Laboratorio de análisis de semillas Aletheias Bioseedlab. (LAS 10207/I RNCyFS INASE).

c) Laboratorio de Control de Calidad de Biotecnológicos. RIZOBACTER.

claudiocacciatore72@gmail.com

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la principal especie forrajera del país. Su capacidad para la fijación de nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con *Sinorhizobium meliloti* la convierte en un importante componente de la sustentabilidad de los sistemas productivos. Se ha postulado una carga mínima de 1×10^3 rizobios/semilla para una correcta nodulación. Uno de los principales problemas después de la inoculación es la rápida muerte bacteriana. Los objetivos del presente trabajo fueron: a. Estudiar la pérdida de viabilidad de *Sinorhizobium meliloti* en semillas de alfalfa pildoradas en función del tiempo de almacenamiento, a dos temperaturas diferentes, mediante el método de recuento en placa; b) Evaluar el efecto de osmoprotectores sobre la viabilidad de los rizobios. Se partió de lotes de semillas pildoradas inoculadas por el fabricante y un lote de semillas pildoradas que se inoculó en el laboratorio. El recuento de rizobios viables se realizó mediante extracción del inoculante adsorbido por suspensión de 10 gramos de semillas en 90 ml de solución fisiológica estéril adicionada de Tween 80. Se sembraron por triplicado 100 µl de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} en medio ALM rojo congo adicionado de vancomicina 0,67 µM. El cul-

10BAV

Hacia un ideotipo de trigo doble propósito para alimento y biogás

GABBANELLI, Nadia^{ab}; ERBETTA, Elisa^{ab}; SANZ SMACHETTI^a, María E; LORENZO, Maximo^a; ECHARTE, Mercedes^{ab}

a) Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), CC 276, 7620 Balcarce, Argentina.

b) Unidad Integrada Balcarce (Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata); CC 276 (7620); Balcarce, Argentina
gabbanelli.nadia@inta.gov.ar

tivo de las placas se efectuó durante 7 días a 30 °C. Se contaron las placas que contenían entre 30 y 300 colonias. El peso de 1000 semillas pildoradas se hizo por recuento por repeticiones según ISTA. La carga inicial de rizobios, a temperatura de (22 ± 2) °C, fue de (6,8x10⁵ ± 6,4x10³) UFC/g al momento de recepción del lote (tiempo cero). Se repitió el recuento a los 7, 14, 21 y 28 días. La pérdida de viabilidad de los rizobios se ajustó a una ecuación de decaimiento exponencial de primer orden: $UFC/g = 6,72 \times 10^5 \times e^{-t(\text{días})/5,37} + 5,78 \times 10^3$, $R^2 = 0,99851$. El tiempo de vida media fue de 3,8 días. A la temperatura de conservación de (7 ± 1) °C no se observó pérdida de viabilidad significativa durante los primeros 14 días; en cambio, se verificó una disminución de la viabilidad de los rizobios del 36% a los 21 días. La inoculación en el laboratorio de un lote de semillas pildoradas con o sin agregado de osmoprotector a los 10 min produjo en ambos casos un aporte similar de rizobios de 2,7x10⁴ UFC/semilla. El aporte teórico del inoculante fue de 3,8x10⁴ UFC/semilla. El Factor de recuperación = (Recuento en semilla) x 100/Aporte teórico fue del 70,5%. A los 7 días y a temperatura de conservación de (22 ± 2) °C la pérdida de viabilidad de rizobios fue de un 15% con el agregado del osmoprotector y un 47% sin el agregado del mismo al inoculante. Conclusiones: a. El método de recuento en placa es útil para evaluar la viabilidad de los rizobios en formulaciones de inoculantes y semillas pildoradas de alfalfa; b. La disminución de la temperatura de almacenamiento y el agregado de osmoprotectores durante la inoculación aseguran una carga de rizobios adecuada en cada semilla para una correcta nodulación.

Palabras claves: SINORHIZOBIUM MELILOTI; ALFALFA; SEMILLAS PILDORADAS; VIABILIDAD; NODULACIÓN.

La paja de trigo (*Triticum aestivum* L.) es uno de los residuos agrícolas más abundantes en la tierra y puede ser utilizado para la producción de bioenergía en forma sostenible. Entre las tecnologías de producción de energía a partir de la biomasa, la producción de biogás es considerada una de las más eficientes ya que puede alcanzar una alta recuperación de energía y, al mismo tiempo, generar beneficios económicos y ambientales. Recientemente se introdujo un concepto innovador sobre el uso de cereales como doble propósito para la alimentación y generación de biocombustibles 2G. Un genotipo ideal (ideotipo) para estos propósitos se caracterizaría por presentar 4 rasgos clave: altos rendimientos de grano, alto rendimiento de paja, buena resistencia al vuelco y alta digestibilidad de la paja, entendida en este caso como la conversión de paja en biogás. Con este propósito, se cultivaron 36 genotipos de trigo utilizados actualmente en los programas de mejoramiento en Argentina conteniendo germoplasma

de tres orígenes diferentes (CIMMYT, Criollo y francés). Se determinó el rendimiento de grano y de paja y la susceptibilidad al vuelco según Mirabella *et al.* (2019). La conversión de la paja en biogás se midió en términos de producción potencial de biogás y de los parámetros cinéticos B_{max} (producción máxima de biogás específico) y k (constante cinética de primer orden). Para ello, se realizaron experimentos de digestión anaeróbica en batch en botellas de 120 cm³ a 37°C. Se realizó un análisis de componentes principales de las variables más relevantes (rendimiento de paja, rendimiento de grano, susceptibilidad al vuelco, B_{max} y k) y se determinaron umbrales para cada una de ellas con el fin de categorizar los genotipos e identificar aquellos que se destacaron en dicha variable. Varios genotipos presentaron un desempeño sobresaliente en algunos de los rasgos, pero ninguno de los genotipos exhibió valores por encima de un umbral aceptable en todas las categorías analizadas. En particular, dos genotipos de origen francés (Baguette 31 y SNR Nogal) mostraron alto rendimiento de grano, alto rendimiento de paja, baja susceptibilidad al vuelco y B_{max} y k con valores que van de moderados a altos. Los genotipos Buck Guapo y Buck Baqueano (origen Criollo) se destacaron por su rendimiento de grano, rendimiento de paja y B_{max} y k . Sin embargo, su alta susceptibilidad al vuelco imposibilita su producción en suelos poco profundos o sistemas de alta demanda de insumos. El mejoramiento de trigo para producir el ideotipo de doble propósito aparece como una estrategia atractiva para perfeccionar el proceso de producción de biocombustible 2G, ya que los esfuerzos de mejoramiento en esta dirección podrían aumentar los recursos disponibles para la producción de biocombustible lignocelulósico sin comprometer la producción de alimentos existente.

Palabras claves: BIOCMBUSTIBLES 2G; PAJA DE TRIGO; DIGESTIÓN ANAERÓBICA; CALIDAD DE LA PAJA DE TRIGO.

11BAV

*Incrementando la capacidad de síntesis de proteínas heterólogas en hojas de *Nicotiana benthamiana* mediante el uso de LEC2*

OCAMPO, Carolina Gabriela^{a, b}, PETRUCCELLI, Silvana^{a, b}

a) Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata

b) CONICET

carolina.g.ocampo@gmail.com

Las plantas son el sistema más económico y seguro para la producción de proteínas farmacéuticas e industriales. La producción de proteínas recombinantes en la vía secretoria de la mayoría de sistemas como células de mamíferos y levaduras está limitada por la capacidad de plegamiento y transporte, utilizándose diversas estrategias de ingeniería celular para incrementar la capacidad de sintetizar proteínas que requieren de un procesamiento típico de esta vía. En cambio, en células vegetales este tipo de estrategias no han sido exploradas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de un factor de transcripción vinculado a la síntesis de reservas en semillas, LEC2, en la producción de proteínas foráneas en hojas. La hipóte-

sis planteada es que la expresión ectópica del mismo produciría cambios en el desarrollo de la vía secretoria que aumentarían los niveles de acumulación de proteínas reporteras. Para evaluar esta hipótesis se emplearon genes reporteros dirigidos por el promotor CaMV35S y el factor de transcripción LEC2 como efector los cuales fueron introducidos en hojas de *Nicotiana benthamiana* mediante agroinfiltración y se compararon los resultados obtenidos con y sin efector. Cabe aclarar que LEC2 no es capaz de unirse al promotor CaMV35S y los posibles efectos observados serían indirectos. Inicialmente se estudió el impacto de LEC2 en la localización de marcadores fluorescentes de la vía secretoria: GFP-HDEL (Retículo Endoplásmico, ER), ST-GFP (Golgi), GFP-BP80 (compartimientos prevacuolares, PVC) y RFP-AFVY (vacuola) mediante microscopia confocal de barrido laser (CLSM). No se observaron diferencias en los patrones de fluorescencia de ER-GFP y ST-GFP, en cambio GFP-BP80 y RFP-AFVY son secretados en presencia de LEC2, indicando una alteración post-Golgi del funcionamiento de la vía secretoria. Los niveles de acumulación se evaluaron por inmunoblot, observándose incrementos de 2,5-3,5 veces en la acumulación de proteínas retenidas en el ER y de 3-6 veces para proteínas vacuolares en presencia del efector. La presencia fluorescencia correspondiente a GFP-BP80 en el apoplasto llamó la atención debido a la inestabilidad de GFP a pH ácido. Por ello se estimó el pH del apoplasto in vivo mediante CLSM en plantas de *Arabidopsis thaliana* Apo-pHusion que expresan de forma estable el sensor de pH mRFP1-EGFP direccionado a apoplasto, observándose un aumento del pH en hojas infiltradas con LEC2 respecto a controles sin infiltrar o infiltrados con un vector vacío a los 5 posinfiltración. Teniendo en cuenta que se ha informado que el apoplasto es un compartimiento

proteolítico y que el uso de inhibidores de proteasas incrementa los rendimientos de proteínas foráneas secretadas se decidió evaluar la actividad proteolítica. Empleando azocaseína como sustrato se evaluó la actividad de extractos de hojas de *N. benthamiana* infiltradas con un vector vacío o LEC2, siendo los valores obtenidos de un 50% y 25%, respectivamente, respecto a extractos sin infiltrar. En conclusión, demostramos que la expresión de LEC2 incrementa significativamente entre 3 – 6 veces los niveles de acumulación de reporteros en la vía secretoria y disminuye la actividad proteolítica, siendo una estrategia novedosa potencialmente aplicable tanto en plataformas de producción de proteínas transitorias como estables.

Palabras claves: VÍA SECRETORIA; LEC2; INGENIERÍA CELULAR; PLANTAS COMO BIOREACTORES.

12BAV

*Impacto de la iluminación con distinta composición espectral en la expresión de proteínas recombinantes de manera transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana**

VIGNOLLES, Florencia^{a, b}, REY, Constanza^{b, c}, MAZZINI, Flavia^d, PETRUCCELLI, Silvana^{a, b}

a) Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata

b) CONICET

c) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata

florencia.vignolles@gmail.com

Los sistemas de expresión basados en plantas llevan más de 30 años de desarrollo habiéndose consolidado en diversos nichos y con tecnologías variadas. Entre ellas se encuentran los sistemas de expresión transitorios que utilizan plantas jóvenes crecidas en instalaciones de agricultura vertical. El crecimiento de plantas en ambientes controlados ha evolucionado junto con el desarrollo de la tecnología LED (*light emitting diode*) que, al hacer uso más eficiente de la energía, permite la construcción de granjas verticales. Esta tecnología también permite manipular el espectro de luz, para regular las condiciones de crecimiento y así obtener plantas con la apariencia y perfiles metabólicos buscados. En el campo de *molecular farming* se han montado varias instalaciones de este tipo, pero existe escasa información sobre las características de los sistemas de iluminación empleados. Algunos de ellos, basándose en el espectro de absorción de la clorofila utilizan

fundamentalmente luz roja y azul pero no hay estudios publicados sobre el impacto de los cambios en la composición espectral de la luz en la producción de proteínas recombinantes utilizando sistemas de expresión transitorios.

El objetivo de este trabajo consistió en investigar el impacto de los cambios en la composición espectral de la fuente de iluminación en la producción de proteínas recombinantes utilizando sistemas de expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana*.

Para ello se ensayaron dos sistemas de iluminación tradicional: tubos fluorescentes (TF) y lámpara de sodio de alta presión (HSP) y cuatro sistemas de iluminación LED: tubos LED blanco fríos (CW), chips Full Spectrum (FS), chips rojos (625-660nm) y azules (450-465nm) en proporciones 2:1 (2R:1B) y 3R:1B). La distancia de las plantas a la fuente de luz fue ajustada de manera de que reciban una intensidad de flujo fotónico fotosintético entre 150-200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Las plantas de *N. benthamiana* fueron crecidas bajo los tubos fluorescentes durante 4-5 semanas. Posteriormente fueron infiltradas con *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 llevando plásmidos conteniendo los genes codificantes para las proteínas reporteras GFP y la β -glucuronidasa (GUS) dirigidos por el promotor constitutivo CaMV-35S. Las plantas infiltradas se colocaron en los distintos sistemas de iluminación y se analizaron entre 4-8 días posinfiltración. Las plantas mantenidas bajo iluminación LED mostraron hojas más expandidas y fueron más bajas que las mantenidas bajo las fuentes convencionales. El contenido relativo de agua en todas las condiciones fue similar. Los niveles de GFP y de GUS fueron más altos en la condición 2R:1B y los más bajos se obtuvieron para los FS. Los rendimientos con los tubos CW fueron similares a los obtenidos con TF y HSP y tienen la ventaja de su facilidad de instalación, consumo energético un 50% menor y utilidad tanto en la fase de crecimiento de plantas como en la expresión.

Palabras claves: MOLECULAR FARMING; PROTEÍNAS RECOMBINANTES; NICOTIANA BENTHAMIANA.

13BAV

Análisis del Gen vitelogenina en el vector del HLB Diaphorina citri

FIORAVANTE, Cynthia A.; MACSEMCHUK, Nazarena A.; LITWIŃIUK, Sergio L.; MIRETTI, Marcos M.; BLARIZA, María J.

Universidad Nacional de Misiones (UNaM) – CONICET, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Instituto de Biología Subtropical, Laboratorio GIGA. Misiones, Argentina.

agustinafioravante@gmail.com

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), constituye la principal amenaza para la industria citrícola en todo el mundo, ya que es el vector de la bacteria *Candidatus liberibacter ssp.*, agente causal de la enfermedad “Huanglongbing” (HLB). El HLB es una de las enfermedades de los cítricos más devastadoras del mundo que hasta el momento no tiene cura, por lo que las plantas afectadas deben erradicarse y destruirse causando pérdidas en la producción en las regiones afectadas. No existen métodos de control eficaces para el HLB; sin embargo, técnicas biotecnológicas emergentes tales como, el ARN de interferencia (ARNi), podrían servir como una posible estrategia sostenible y respetuosa con el medio ambiente para el manejo de esta plaga citrícola. Ciertas características tales como las aplicaciones fáciles y focalización altamente específica, hacen que los enfoques de ARNi sean deseables para el desarrollo de nuevas estrategias contra muchos insectos plaga. A efectos de aportar bases

que podrían orientar en el futuro el desarrollo de nuevas estrategias de control, se analizó el gen que codifica para vitelogenina (Vg), fosfoglicoproteína precursora de la vitelina que constituye el principal componente de la yema del huevo. Con el propósito de analizar a este gen involucrado en el proceso de ovogénesis, se realizó una extracción de ARN total de hembras y machos adultos de *D. citri* por separado, se cuantificó la concentración obtenida, posteriormente se realizó la síntesis de ADNc empleando 1 µg de ARN total y luego se diseñaron cebadores que se amplificaron mediante sucesivas reacciones de PCR *end point*. Con el fin de corroborar la correcta amplificación de los segmentos de ADNc, los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa. Aquellos productos de PCR que revelaron banda única del tamaño esperado, se purificaron y se enviaron para su secuenciación directa. Se logró amplificar 3194 pb correspondientes a la porción N-terminal del gen. El análisis de las secuencias de aminoácidos deducidos a partir de las secuencias nucleotídicas de ADNc de *D. citri* permitió localizar un sitio de clivaje altamente conservado en el extremo N-terminal, RXXR (RSRR), donde el producto primario de Vg se escinde por endoproteasas. Este sitio se encuentra flaqueado por dos regiones poliserinas, las cuales corresponden a sitios de fosforilación imprescindibles para la interacción entre Vg y su receptor en la superficie del ovocito en desarrollo. Por otra parte, el análisis comparativo de las secuencias de aminoácidos deducidos a partir de las secuencias nucleotídicas de ADNc de *D. citri* y de otras especies, reveló un porcentaje del 48.46% de identidad con *Nilaparvata lugens*, 50.42% con *Triatoma infestans*, 43.18% con *Plautia stali* Vg1, 43.61% con *Plautia stali* Vg2, 46.78% con *Plautia stali* Vg3, 45.88% con *Graptosaltria nigrofuscata*, 48.29% con *Riptortus clavatus*, 48.17% con *Lethocerus deyrollei*, y 56.06% con *Cimex lectularius*. Este estudio tiene como ob-

jetivo detectar genes involucrados en el desarrollo y la reproducción del insecto vector, potencialmente *targets* para silenciamiento mediante ARNi y de esta manera aportar estrategias alternativas de control.

Palabras claves: DIAPHORINA CITRI; HLB; VITELOGENINA.

14BAV

Utilización de nanopartículas de hierro para potenciar la simbiosis *Bradyrhizobium-Soja*

SPAGNOLETTI, Federico^{a,c}, GIACOMETTI, Romina^{b,c}

a) Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.

b) Cátedra de Bioquímica. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.

b) Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA-CONICET).

rgiacometti@agro.uba.ar

El incremento de la población mundial conlleva a una mayor demanda alimentos y otros insumos, por lo tanto, el mayor desafío que enfrenta el sector agrícola es innovar y generar tecnología para producir alimento en la cantidad y calidad necesaria. Entre las últimas innovaciones tecnológicas, se encuentra la implementación de la nanotecnología en el agro. Una de las NPs más prometedoras para la agricultura son las de hierro (FeNPs); esto se debe a que podrían promover el crecimiento vegetal y afectar el proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN). En este trabajo, se analizó la potencial

utilización de las FeNPs como promotor del crecimiento de *Bradyrhizobium japonicum* e inductor de la FBN en soja. Se incorporaron FeNPs al medio de cultivo bacteriano en las dosis de 0, 5, 10, 20, 50, 100 y 200 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y se analizó la cinética de crecimiento, la actividad metabólica y la producción de exopolisacáridos y de ácido indolacético. Los resultados obtenidos demuestran que la dosis de 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de FeNPs incrementa los parámetros analizados. A nivel de planta, se realizaron experimentos en condiciones controladas evaluando la aplicación de las FeNPs sobre semillas de soja inoculadas con *B. japonicum*. Los resultados obtenidos evidencian que la incorporación de 100 o 200 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de FeNPs incrementa el número y peso de los nódulos, así como el contenido de leghemoglobina y actividad nitrogenasa. Los datos obtenidos en estos experimentos sugieren que las FeNPs tienen la capacidad tanto de incrementar la tasa de crecimiento de *B. japonicum*, como la eficiencia de la simbiosis con soja.

15BAV

Estudio de la actividad probiótica *Lactobacillus plantarum* ‘pulquensis’ para su utilización en diferentes modelos de enfermedades

DRUMOND, Mariana M^a; DE PAULA, Carolina^b; CASTELO BRANCO, Paulo^b; LOPES, Pedro^b; PADRÃO Eduarda^b; VERGARA Silvia Cristina^c; MATTURANO, Yolanda Paola^c; MANCHA-AGRESTI, Pamela^b

a) Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), Departamento de Ciências

Biológicas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

b) Faminas-BH, Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

c) Conicet IBT UNSJ Instituto de Biotecnología Universidad Nacional de San Juan.

El estudio de probióticos representa un amplio campo de estudio, el cual es importante tanto para la medicina como para la industria. Diferentes cepas de bacterias lácticas tienen acción probiótica comprobada y citada en la literatura. Varias son las características que esas cepas deben presentar para poder ser clasificadas como probióticos. Dentro de esas características se destaca la resistencia y persistencia en el tracto gastrointestinal. Los ensayos *in vitro* son interesantes debido a la facilidad de ejecución y al bajo costo. Así resultados de estos análisis permiten identificar y caracterizar entre varias cepas las más prometedoras para diferentes abordajes. En este contexto, este trabajo pretendió evaluar las características probióticas de *L. plantarum "pulquensis"*, extraída de una bebida fermentada denominada pulque, con ensayos funcionales sugeridos por directrices de agencias reguladoras nacionales e internacionales con el objetivo de direccionarla para el tratamiento de diferentes enfermedades. Fueron realizados ensayos *in vitro* para caracterizar la resistencia de las cepas a los ácidos biliares, tolerancia a pH ácido, susceptibilidad a antibióticos, potencial hemolítico y de degradación de mucina, producción de sustancias antimicrobianas, adhesión a células intestinales e inmuno estimulación a través de análisis de la expresión génica de: TNF α , TLR-2, MUC2, TGF- β e Inf- γ utilizando q-RT-PCR. En el test de antibiograma, la cepa mostró ser resistente a: gentamicina, estreptomina, tetraciclina y vancomicina, y sensible a clindamicina. También se constató que no degrada mucina, siendo ésta un importante componente de la barrera intestinal. En lo que

refiere al potencial hemolítico, fue posible observar patrón de hemólisis tipo α , lo que es reportado para otras cepas de bacterias lácticas. Se observó que *L. plantarum "pulquensis"* fue capaz de resistir al jugo gástrico y a las sales biliares demostrándose altamente resistente presentando reducción de 5,9% y 17,19% para la mayor concentración testada (1%, de oxigall), respectivamente; características que demostraron, la capacidad de resistir a los diferentes estreses encontrados en el trato gastrointestinal. En los ensayos de actividad antimicrobiana, la cepa presentó resultados bastante significativos, con inhibición de crecimiento, frente a todas las cepas patogénicas evaluadas, con halos superiores a 20 mm, lo que es esperado para un microorganismo probiótico, de acuerdo con las exigencias de las agencias reguladoras. La adhesión a las células Caco-2, reveló un porcentaje de 6,08%, índice considerado alto, siendo altamente deseado, ya que esta característica puede estar relacionada a un aumento en los efectos inmunomoduladores de la cepa, como también a la exclusión de microorganismos patogénicos. Al evaluar el perfil inmunomodulador, en cultivo celular eucariota, fue observado significativo aumento en la expresión de TLR-2, lo que puede estar relacionado a la activación de diferentes vías de señalización, como a NF- κ B. También se observó significativa reducción en la expresión génica de IL-6, importante citocina proinflamatoria. Todos estos resultados, demuestran el importante potencial probiótico de la cepa *L. plantarum "pulquensis"*. Así estos hallazgos permiten marcar un punto de partida para futuras aplicaciones de esta cepa en diferentes modelos de enfermedades.

Palabras claves: PROBIÓTICOS, LACTOBACILLUS, ENSAYOS IN VITRO, INMUNOMODULACIÓN.

16BAV

Construcción de una Vacuna de adn contra Estreptococosis vehiculizada por Bacterias Lácticas

MANCHA-AGRESTI, Pamela^a; SILVA, Bruno^b; LEIVA, María José^c; DE PAULA Carolina^a, CASTELO BRANCO, Paulo^a; LOPES, Pedro^a, PADRÃO Eduarda^a; DRUMOND, Mariana M^d.

a) Faminas-BH, Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

b) IBB- Institute for Bioengineering and Biosciences, Instituto Superior Técnico Universidad de Lisboa, Portugal.

c) Conicet IBT UNSJ Instituto de Biotecnología Universidad Nacional de San Juan.

d) Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), Departamento de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

p.mancha.agresti@gmail.com

La estreptococosis genera grandes pérdidas económicas en la producción de tilapias. La antibiótico-terapia es en la actualidad la única fuente de control. Por lo tanto, resulta necesario el desarrollo de nuevas estrategias que garanticen la producción animal frente a un posible brote de estreptococosis. El empleo de bacterias como vehículos para el transporte de plásmidos, por vía oral, constituye una estrategia de vacunación promisoriosa. *Lactococcus lactis* es la bacteria láctica modelo debido a sus propiedades y por ser ampliamente utilizada en la industria, siendo también, una alternativa segura para la entrega de plásmidos.

Objetivo: Construir una vacuna génica vehiculizada por bacterias lácticas, evaluar su funcionalidad en células eucarióticas y su eficacia en animales desafiados.

Métodos: La ORF (*Open Reading Frame*) *bibaA* de *Streptococcus agalactiae* fue clonada en dos vectores: (i) para expresión heteróloga de la proteína recombinante. *Escherichia coli* C43 fue transformada con 100 ng de plásmido y la inducción se realizó con IPTG. La expresión de la proteína recombinante fue visualizada en gel de SDS-PAGE (15%) y fue separada por electroelución cuantitativa a partir del gel de SDS-PAGE y fue cuantificada por Bradford. Seguidamente, los ratones fueron inmunizados por vía subcutánea con 50 µg de la proteína recombinante, durante los días 15, 30 y 45. Se colectó sangre de los animales en los días 0 y 50. Se realizó electroforesis de las proteínas del suero y también la titulación de los anticuerpos. (ii) vector pExu (vector de expresión en células eucarióticas) fue utilizado para la construcción de la vacuna de ADN, para lo cual fue diseñado un par de *primers* y el amplicón (extremidades *Not I* y *BamHI*) fue clonado. Luego de confirmar la clonaje por PCR y digestión será evaluada la funcionalidad de la construcción pExu:*bibaA*. Para esto, células eucarióticas CHO (*Chinese Hamster Ovary*) serán transfectadas con lipofectamina 2000 y 4 µg del plásmido. Por Inmunoquímica será evaluada la expresión de la proteína BibA en las células eucarióticas. Serán inmunizadas, por vía oral, tilapias con 1×10^9 UFC de *Lactococcus lactis* MG1363 (pExu:*BibA*) recombinante, la que será incorporada al alimento comercial y esta mezcla, se ofrecerá a los animales en los tanques de agua a cada 3 días durante un período de 15 días. Finalizado ese tiempo los peces serán desafiados con $1,7 \times 10^6$ UFC/100mL de *S. agalactiae* por la vía intraperitoneal. Durante 60 días los animales serán monitoreados y consecuentemente, también se evaluará la eficacia de protección de la vacuna génica.

Resultados Parciales: La proteína recombinante se expresó en células *E. coli* C43, la cual fue purificada, cuantificada e inyecta-

da en ratones Balb/C. Los anticuerpos policlonales fueron producidos y titulados. Se confirmó que la secuencia codificadora de la ORF *BibA* fue amplificada y clonada en el vector pExu.

Conclusiones: La construcción del vector pExu:*bibA* provee perspectivas para que este sistema sea probado como una posible vacuna génica para estreptococosis en peces, generando nuevas perspectivas en el campo de la piscicultura.

Palabras-claves: PISCICULTURA; PROTEÍNA BIBA; STREPTOCOCCUS AGALACTIAE; VACUNA DE ADN.

17BAV

Factibilidad de depurar aguas residuales con macroalgas

ARBINI, Gianina^a; TORRES, Fabiana R.^a; MUÑOZ, Silvina V.^b; CAMACHO, Alberto G.^a;

GATTI, Marcela N.^b

a) Facultad Regional del Neuquén, Universidad Tecnológica Nacional

Av. Reverendo Pedro Rotter S/N - Plaza Huinca, Neuquén, Argentina

b) Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Universidad Nacional del Comahue

Buenos Aires Nº 1400 - Neuquén, Neuquén, Argentina

arbinigianina@gmail.com

El vertido de efluentes a cuerpos de agua, sin un tratamiento adecuado, ocasiona graves problemas para el medio ambiente. Uno de ellos corresponde al proceso de eutrofización, impulsado por la incorporación de materia orgánica y nutrientes, tales como el nitrógeno y el fósforo (Romero Rojas, 2010). Actualmente se proponen diversos tipos de tecnologías que permiten el tratamiento de las aguas residuales para dar cumplimiento a los límites de vertido establecidos por la normativa vigente. Dentro de las tecnologías disponibles, las macroalgas de agua dulce cuentan con importantes ventajas debido a su gran disponibilidad, así como menores costos de separación y secado (Ge et al., 2018).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad depuradora de la macroalga *Spirogyra spen* aguas residuales urbanas y efluentes tratados en una planta de fangos activados convencional. Para esto se procedió primeramente a la recolección de macroalgas cosechadas en orillas del Río Limay (Neuquén, Argentina). Las mismas se caracterizaron a partir de un microscopio óptico identificando su naturaleza taxonómica como *Spirogyra sp.* Posteriormente se practicó el tratamiento de los dos tipos de efluentes estudiados. La experiencia se desarrolló durante un periodo de 83 días, con una modalidad continua y un tiempo de retención hidráulica de 10 días. La iluminación se realizó durante los primeros 14 días a partir de luz natural, continuando con iluminación artificial LED de 15 W con ciclos intermitentes de una hora para el resto del estudio. En relación a la aireación, se trabajó con dos modalidades diferentes: una aireación elevada (5 ± 0.5 mg O₂/L) y una aireación baja (0.5 ± 0.5 mg O₂/L). Las muestras de agua se analizaron al ingresar al sistema de tratamiento, y posteriormente con una frecuencia de tres días semanales, cuan-

tificando las concentraciones de amonio ($N-NH_4$), nitrato ($N-NO_3$), fosfato ($P-PO_4$), y materia orgánica (DQO total y DQO filtrada) de las mismas.

Los resultados obtenidos demostraron el potencial de *Spirogyra sp.* para el tratamiento efectivo de aguas residuales urbanas, lográndose una eliminación máxima de amonio, nitrato, fosfato, DQO total y DQO filtrada del 96.2 %, 70%, 70.88%, 80.51% y 75.40% respectivamente. Análogamente, se pudo evidenciar que *Spirogyra sp.* fue capaz de mejorar el efluente de la planta de tratamiento, siendo las máximas eliminaciones de amonio, nitrato, fosfato, DQO total y DQO filtrada del 100%, 56.52%, 62.81%, 65.35%, 41.84% respectivamente. Estos datos indican que la macroalga estudiada tiene una gran capacidad depuradora y puede implementarse no solo para el tratamiento de agua residual urbana, sino también como acción correctiva o post-tratamiento en las plantas de tratamiento de fangos activados y lagunas que se encuentran en la zona. Esto evitaría que los efluentes lleguen a los ríos con elevadas cargas de nitrógeno y fósforo. Debido a su composición, las macroalgas se posicionan como un sustrato aprovechable en términos energéticos, lo que resulta aún más atractivo desde el punto de vista energético-ambiental, dada la posibilidad de cultivar macroalgas en un sistema de depuración de efluentes para luego poder utilizarlas en la digestión anaeróbica, constituyendo así un ciclo autosustentable.

Palabras claves: SPIROGYRA SP.; MACROALGA DE AGUA DULCE; ALGAS FILAMENTOSAS; TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES; ELIMINACIÓN DE NUTRIENTES.

18BAV

Micropropagación de *Cedrela balansae* a través de organogénesis somática

MEDINA, Sandra^a; CUELLO, Diego^a; VENEGAS TARANCÓN, Stefanía^b y FILIPPONE, María Paula^{ab}

a) Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán

b) CONICET

safamedina@hotmail.com

Las Yungas y la Selva Misionera son el mayor ecosistema de Selva Subtropical de Argentina, contienen más del 50 % de la biodiversidad del país y es hábitat de diferentes especies del género *Cedrela*. En la Selva Pedemontana de Salta y Jujuy, *C. balansae* habita naturalmente en lugares accesibles y está sometido a una elevada depredación, por lo cual resulta imperioso restaurar el bosque dañado con material saneado, disponible en forma masiva y originado de árboles élite. El objetivo de este trabajo fue optimizar una técnica de micropropagación para la producción masiva de plantines de alta calidad de *C. balansae*. Para esto, semillas provenientes de la colección de INTA-Famailá, Origen BY13: Yuto (Jujuy), fueron desinfectadas con diferentes tratamientos, siendo el más efectivo el lavado con agua corriente y detergente, agua destilada 10min, luego 40min en 15% de NaOCl y tres enjuagues finales con agua destilada estéril. Las semillas desinfectadas se germinaron en el medio WPM (*Woody Plant Medium*) al 75%, 4% de agar, con 0% y 1,5% de sacarosa. Paralelamente se realizó una siembra en sustrato estéril *ex vitro*. La condición de germinación en ambos casos fue a 25°C con 16hs de luz. En el medio con sacarosa se obtuvo

19BAV

Sensibilidad de levaduras antagonistas y *Fusarium* a fungicidas químicos de síntesis

PESCE Virginia M.^{a,b}; SÁNCHEZ Gonzalo E.^d;
NALLY Maria.C.^{a,b}; LENCINAS Marcos^{a,b};
PEDROZO Lina P.^{a,b}; FLORES Cintia.B.^{a,b};
CASTELLANOS DE FIGUEROA Lucía.I.^{b,c};
VAZQUEZ Fabio^{a,d}

a) Instituto de Biotecnología-Facultad de Ingeniería-UNSJ

b) CONICET

c) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI)

d-) Departamento de Agronomía-Facultad de Ingeniería-UNSJ

virgi_pesce@yahoo.com.ar

Introducción: San Juan es una de las principales provincias productora de semillas de cebolla. *Fusarium* es un hongo fitopatógeno causante de enfermedades en cebolla tanto en el cultivo como en condiciones de almacenamiento. Básicamente, el control de este patógeno consiste en el empleo de fungicidas químicos. Sin embargo, su uso desmedido puede afectar negativamente la salud humana, el medio ambiente y favorecer la aparición de cepas resistentes a la acción tóxica de los mismos. Por lo tanto, es necesaria la búsqueda de alternativas para el control de *Fusarium* en cultivos de cebolla. Una de las propuestas incorpora el manejo integrado de enfermedades, combinando bajas dosis de fungicidas con agentes de biocontrol. El **objetivo** es determinar la tolerancia de levaduras antagonistas y de *Fusarium* a dos fungicidas de síntesis química, en un contexto de manejo integrado de enfermedades fúngicas en cultivos de cebolla.

el mayor porcentaje promedio de germinación *in vitro* del 75%, y del 80% en sustrato *ex vitro*. Cuando los plantines (germinados *in vitro* y *ex vitro*) alcanzaron los 4 nudos, se cortaron segmentos nodales de 1cm de largo y se colocaron en los medio WPM al 75%, 3% de sacarosa y 4% de agar, suplementado con 1 y 2 mg/L de Bencilaminopurina (BAP), los cuales fueron mantenidos en oscuridad a 25°C durante 10 días y luego en 16hs de luz. A las dos semanas, en los segmentos provenientes de germinación *in vitro*, se comenzaron a formar callos embriogénicos en los extremos de los segmentos, a partir de los cuales se generaron brotes, en un promedio de 3 y 2 brotes/callos en el medio con 1 y 2mg/L de BAP, respectivamente. Los segmentos de plantines *ex vitro* no mostraron respuesta *in vitro*. A las 6-8 semanas los brotes fueron transferidos a cuatro medios de enraizamiento contenido WPM 75% suplementados con diferentes concentraciones de Ácido Indolbutírico (AIB, 0;1 y 0,1 mg/L) y en sustrato directo. A las cuatro semanas los brotes solo desarrollaron raíces en el sustrato y en WPM sin AIB, sin embargo, el desarrollo radicular fue más rápido y abundante en sustrato directo. La aclimatación de los brotes enraizados en sustrato se inició a las cuatro semanas, y en los enraizados *in vitro* recién a partir de los 6 a 8 semanas, en que fueron trasplantados en sustrato manteniéndolos en condiciones controladas de 25°C, 70%HR y 16hs de luz. El porcentaje de sobrevivencia fue del 100% y 90%, respectivamente. La importancia de generar conocimientos y tecnologías adecuadas para lograr una eficiente multiplicación será un valioso aporte para la propagación, conservación y manejo sostenible de *Cedrela balansae*.

Palabras claves: YUNGAS; MULTIPLICACIÓN; SEGMENTOS NODALES.

Materiales y Métodos: Microorganismos: Se emplearon 10 aislamientos de *Fusarium* (*Fusarium proliferatum* BC1, BC9, BC11, BC12, BC13, BC14, BC15, BC19, BC20 y *Fusarium* sp. BC10)., provenientes de cultivos locales de cebolla destinado a la producción de semilla. Las levaduras antagonistas ensayadas pertenecen a la especie *Saccharomyces cerevisiae* (PB62, PB69, PB70, PB71, PB72, PB73, PB74, PB78 BSc56, BSc92) y fueron previamente seleccionadas *in vitro* como antagonistas de *Fusarium*. Los fungicidas utilizados fueron Carbendazim® (Carbendazim 50%), e Infinito® (Fluopicolide 6.25% y Propamocarb 62.5%). En medio YEPD-Agar y en PDA, para levaduras antagonistas y hongos filamentosos, respectivamente, se colocaron concentraciones crecientes hasta dosis recomendada de los fungicidas Carbendazim® (0,46; 0,90; 1,80; 2,70; 3,60 mL/L) e Infinito® (0,31; 0,62; 1,25; 1,87; 2,50 mL/L). Sobre la superficie del medio se inoculó puntualmente un cultivo de levaduras (10^8 células/mL) y para evaluar *Fusarium* se sembró un disco de micelio en el centro de la placa. Las placas se incubaron 7 días a 25°C, en oscuridad. Como control se sembraron los microorganismos en medio agarizado sin fungicida. Se calculó el porcentaje (%) de inhibición del crecimiento micelial para cada hongo y concentración de fungicida ensayada. En levaduras se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) evaluando la presencia o ausencia de crecimiento en cada una de las dosis.

Resultados: En todas las concentraciones ensayadas de Carbendazim®, se observaron inhibiciones del 100% del crecimiento micelial para los patógenos ensayados, excepto para *F. proliferatum* BC19, que fue inhibido entre 81,42% y 82,96% en las diferentes concentraciones ($p \leq 0,05$). Cinco aislamientos (*F. proliferatum* BC1, BC9, BC11, BC12 y BC15) mostraron diferencias significativas con respecto al control en todas las

concentraciones ensayadas del fungicida Infinito® ($p \leq 0,05$). *F. proliferatum* BC20, fue resistente a la acción fungicida de Infinito®, ya que no mostró diferencias significativas con el control ($p \geq 0,05$). Todas las levaduras antagonistas ensayadas fueron tolerantes a los fungicidas Carbendazim® e Infinito®, en todas las concentraciones ensayadas, hasta la dosis recomendada.

Conclusiones: El fungicida Carbendazim® podría combinarse, en dosis menores a la recomendada, junto con levaduras antagonistas, para el manejo integrado de enfermedades fúngicas, logrando una posible estrategia de control para una producción sostenible de semillas de cebolla en la provincia.

Palabras claves: MANEJO INTEGRADO; CEBOLLA; CONTROL BIOLÓGICO; FUNGICIDAS QUÍMICOS

20BAV

Inhibición del crecimiento de hongos productores de aflatoxinas aislados de pistachos mediante el uso de levaduras nativas de San Juan, Argentina

FLORES, Cintia B; ^{a, b} LENCINAS, Marcos; ^{a, b} PEDROZO, Paula; ^{a, b} PESCE, Virginia; ^{a, b} MATURANO, Paola; ^{a, b} NALLY, Cristina. ^{a, b}

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET

beluflores06@gmail.com

El pistacho es uno de los frutos secos más populares del mundo, se cultivan alrededor de 1.024.997 ha de pistachos en el mundo. En Argentina, existen alrededor de 1.007 ha cultivadas con pistachos. Los pistachos pueden contaminarse con aflatoxinas (toxinas cancerígenas) producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La aflatoxina B1 es considerada la más tóxica y es producida por ambas especies. Existen diferentes métodos de descontaminación como físicos, químicos y biológicos. En pistachos existen algunos antecedentes sobre el uso de microorganismos como inhibidores de hongos productores de aflatoxinas y/o reductores de micotoxinas. El objetivo del trabajo es evaluar la capacidad inhibitoria de aislamientos de levaduras nativas frente al crecimiento de hongos productores de aflatoxinas *in vitro*. Mediante la técnica de antibiosis en *lawn* se ensayaron 32 levaduras frente a 2 hongos *A. flavus* H5 y *A. flavus* H19 aislados de pistachos. Una suspensión de levaduras (100 µL, 1x10⁶ cel/mL) se inoculó en forma de césped en cajas de Petri con medio de cultivo PDA. Luego se sembró una suspensión de conidios de *A. flavus* H5 y H19 (10µL, 1x10⁴ conidios/mL) en forma puntual y superficial en el centro de la placa. Las placas se incubaron durante 5 días a 25°C y 30°C. El control negativo consistió en sembrar en el centro de la placa con medio PDA conidios fúngicos (sin levadura). Se realizaron dos replicas por tratamiento. Finalizado el periodo de incubación se tomaron 2 medidas perpendiculares del radio micelial fúngico con calibre digital. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico:

$$\% \text{ crecimiento} = \frac{\text{crecimiento hongo con levadura (mm)}}{\text{crecimiento hongo control (mm)}} \times 100$$

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento}$$

De las 32 levaduras ensayadas frente a *A. flavus* H5 y H19 a 25°C fueron 10 las levaduras que presentaron un porcentaje de inhibición del 100%. Las levaduras pertenecen a la especie *Metschnikowia pulcherrima* (PB37, PB39, PB42, PB44, PB64, PB65, PB66, PB67 y PB69) aisladas de mostos en fermentación y *M. pulcherrima* (Mp36) aislada de uva de mesa. A 30°C la levadura *Candida sake* (BCs54) aislada de mostos en fermentación inhibió al 100% el crecimiento del hongo *A. flavus* H5. Por otra parte, *Saccharomyces cerevisiae* (PB65) aislada de mostos en fermentación con posibles aptitudes probióticas inhibió al 100% al patógeno *A. flavus* H19.

Por último, 19 levaduras inhibieron entre el 60% y 90% el crecimiento radial de ambos patógenos en ambas temperaturas ensayadas (25°C y 30°C). Las levaduras pertenecen a aislamientos de mostos en fermentación *S. cerevisiae* (BSc97, BSc109, BSc149, BSc172), *C. sake* (Bcs54), *Kluyveromyces marxianus* (BKm145) y *S. kluyveri* (BSk11); levaduras aisladas de uva de mesa *M. pulcherrima* (Mp22 y Mp43) y de mostos en fermentación con posibles aptitudes probióticas pertenecientes a las especies *M. pulcherrima* (PB33, PB34) y *S. cerevisiae* (PB70, PB71, PB72, PB73, PB74, PB75, PB76, PB77). Los resultados revelan el potencial inhibitorio de las levaduras nativas en condiciones *in vitro*. Es importante destacar la efectividad de estas levaduras frente a *A. flavus* H5 y H19 para su posible aplicación como biocontroladoras en pistachos.

21BAV

Protocolo para la micropropagación *in vitro* de la especie *Aloe Barbadensis* Miller

RIVERO, ROMINA E. A., GONZÁLEZ, ARIELA J., MAGUNA, FABIANA P.

a) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) EEA Sáenz Peña

b) Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAus)

erikaantonella93@gmail.com

Aloe barbadensis Miller es una especie fanerógama; tiene gran importancia a nivel salud e industrial. Sin embargo, presenta ciertas limitaciones al llevar la producción a escala comercial, debido a su lenta velocidad de propagación. Dicha propagación mediante clones es más rápido, fácil y económico que hacerlo por semillas. Dados los avances alcanzados con el cultivo *in vitro* de aloe vera, estos permiten diseñar plantas con mejores características fenotípicas, entre otras.

El objetivo general del trabajo fue desarrollar un protocolo de micropropagación eficiente para el cultivo *in vitro* de la especie *Aloe barbadensis* regional, con su posterior aplicación y optimización a escala post-laboratorio.

La metodología y los materiales utilizados fueron: las plantas de *Aloe barbadensis* utilizadas como plantas madres fueron recolectadas en la región geográfica que rodea Roque Sáenz Peña. Dichos ejemplares fueron mantenidos en invernaderos y controlados para optimizar su crecimiento. En el laboratorio los explantes se lavaron con NaClO y soluciones hidroalcohólicas, luego se redujo el tamaño del explante a 1 cm aproximadamente para luego ser sembrado en el medio

de cultivo MS (medio basal de Murashige y Skoog), al que se le añadió Acido Indol Acético (AIA) 1mg/L y Bencilaminopurina (BA) 0,1 mg/L. También se preparó el medio MS con 1mg/L y 1.5 mg/L BA y MS sin los reguladores de crecimiento como control.

Se evaluó el número de brotes por explante, también los explantes contaminados y los que presentaron signos de necrosis.

Para determinar la Eficiencia de regeneración, que permita evaluar la respuesta obtenida se utilizó la siguiente ecuación:

$$\frac{N_{\circ} \text{ de explantes con brotes}}{N_{\circ} \text{ de explantes}} = \frac{144}{105} \times 100 = 137,14\%$$

A partir de los 7 días posteriores a la siembra de los explantes en el medio correspondiente, se comenzaron a observar respuestas de regeneración directa a partir de los explantes de hijuelos en MS conteniendo 1 mg/L y 1.5 mg/L de BA.

Al mismo tiempo que se observaron las respuestas regenerativas, se presentaron contaminaciones frecuentes. Dado que este problema fue persistente se adicionó al medio de cultivo, en los siguientes ensayos, el antifúngico PPM a razón de 0.5 ml/L.

A los 15 días los brotes aumentaron de tamaño y comenzó el desarrollo de raíces, lo que permitió que los 35 días ya sea pasado a tierra para iniciar su evolución en condiciones *ex vitro*. Sin embargo, una vez realizado el trasplante no se lo expuso al brote directamente al ambiente externo, se los mantuvo en cámara de cultivo y se les colocó en una bolsa de nylon a la cual se la rociaba con agua para mantener la humedad del entorno, después de 14 días en dichas condiciones fueron llevados al invernadero.

Las hojas alcanzaron los 5 cm a los 25 días demostrando que fue exitosa la fase de aclimatación en estas condiciones.

Considerando las experiencias y los resultados del trabajo se establece que el explante que presenta mejores resultados para la micropropagación *in vitro* de *Aloe barbadensis* son hijuelos de plantas madre, y en relación a los reguladores de crecimiento adicionados al MS los mejores resultados fueron con 1.5 mg/L BA.

22BAV

Control de enfermedades de postcosecha en uva con bicarbonato de sodio

LLADÓ, Cecilia^a, PEDROZO, Paula^{ab}, RODRÍGUEZ, Leticia^a, FLORES, Belen^{ab}, LENCINAS, Marcos^{ab}, PESCE Virginia^{ab}, MATURANO, Paola^{ab}, NALLY, Cristina^{ab}, VAZQUEZ, Fabio^a.

a) Instituto de Biotecnología. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de San Juan.

b) CONICET.

paulapedrozo17@gmail.com

Introducción: La eficacia de fungicidas de síntesis química disminuye con la generación de cepas resistentes de hongos fitopatógenos, afectando económicamente la producción de uva para consumo en fresco durante su conservación en cámaras frigoríficas. En el marco de un manejo integrado de enfermedades de postcosecha existen alternativas para combatir esta problemática, como la aplicación de sales inorgánicas. Diversos estudios han demostrado que el bicarbonato de sodio (NaHCO_3) reduce el crecimiento de diferentes especies de hongos fitopatógenos.

Objetivo: Determinar si la aplicación de bicarbonato de sodio reduce el crecimiento micelial *in vitro* de *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*, patógenos de uva de mesa en postcosecha.

Metodología: Se ensayaron 4 aislamientos de *P. expansum* (PSS4, PSS6, PRG2 y PRG3) y 2 aislamientos de *B. cinerea* (B87 y B97). Se prepararon placas de Petri con medio PDA suplementado con diferentes concentraciones de NaHCO_3 (0.25, 0.5, 0.75 y 1% p/v). Se sembraron puntualmente 20 μL de cada suspensión fúngica (2×10^3 conidios. mL^{-1}). Los controles del ensayo se realizaron inoculando los 6 aislamientos patógenos en placas que contenían únicamente PDA. Todos los tratamientos se incubaron en oscuridad a $2 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 4 semanas. Al finalizar el ensayo se tomaron dos medidas perpendiculares del diámetro del micelio para calcular el porcentaje de crecimiento micelial (PCM) en relación con el tratamiento control. Los resultados se analizaron usando el análisis de la varianza (ANOVA) y las medias separadas de acuerdo al test de Tukey ($p < 0.05$). Además, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de NaHCO_3 , registrando la menor concentración de sal que impidió el desarrollo visible de cada patógeno.

Resultados: Se observó que la aplicación de NaHCO_3 afectó el crecimiento de todos los aislamientos de *B. cinerea* y *P. expansum*, en al menos una de las concentraciones ensayadas. La CMI encontrada fue de 1% p/v, concentración que inhibió por completo el desarrollo de los patógenos ensayados. En cuanto a los aislamientos B87 y B97, los tratamientos con concentraciones de 0.5% y 0.75% de NaHCO_3 resultaron efectivos, reduciendo significativamente ($p < 0,05$) el PCM en relación a los respectivos controles. La aplicación de bicarbonato al 0,25% no inhibió significativamente el crecimiento fúngico de B87 (PCM: 93%), mientras que el mismo tratamiento en B97, el desarrollo micelial no superó el 50%. Los resultados sobre el desarrollo de micelio de *P. expansum* indican que los aislamientos más tolerantes a las diferentes concentraciones de sal ensa-

yadas fueron PRG2 y PRG3, ya que con bicarbonato al 0.75% v/v, ambos patógenos alcanzaron un porcentaje de crecimiento igual a 60%. Sin embargo, los aislamientos PSS4 y PSS6 fueron significativamente inhibidos desde la menor concentración empleada (0.25% p/v), con una reducción del micelio mayor al 50%.

Conclusión: La aplicación de compuestos generalmente reconocidos como seguros (GRAS), como el bicarbonato de sodio, representa una herramienta complementaria viable para el control de hongos fitopatógenos en condiciones de postcosecha.

Palabras claves: POSTCOSECHA; FITOPATÓGENOS; BICARBONATO DE SODIO.

24BAV

Etapa inicial para la micropropagación in vitro de Zingiber Officinale en Chaco

ZARATE, Iris P., MAGUNA, Fabiana P.

a) Universidad Nacional del Chaco Austral, Lab. 4 – PA.

b) INTA Sáenz Peña, Lab. de Genética.
Zarateiris1@gmail.com

Zingiber officinale Roscoe, conocido como jengibre, es una especie ancestral proveniente de Asia. Actualmente su producción aumentó por su uso medicinal, como materia prima para la industria farmacéutica, alimenticia e incluso en la vida cotidiana. La alta demanda hace necesario contar con protocolos para su propagación “in vitro” que garantice un elevado número de plantas con calidad genética y fitosanitaria para iniciar con éxito una plantación.

En Argentina la producción de jengibre es casi exclusiva de la provincia de Misiones, debido a los requerimientos de la especie y al clima subtropical húmedo de la misma. Misiones abastece el mercado interno y externo; y resulta insuficiente para abastecer la demanda de nuestro país, razón por la cual, muchas veces es necesario importar, esencialmente de Brasil.

La provincia del Chaco cuenta con algunas de las características climáticas en ciertas regiones, como ser la temperatura y en otras las precipitaciones. Sin embargo, para poder obtener un cultivo viable, es indispensable el establecimiento de un protocolo que se ajuste a las características de la región. Es por ello que este trabajo propone como meta final el diseño de un protocolo de micropropagación “in vitro” de jengibre adecuado a las condiciones climáticas, de suelo y fitosanitarias de la zona centro chaqueña, que permita establecer los parámetros apropiados para el crecimiento de plantas enteras con calidad genética y fitosanitaria. Éste permitirá obtener una mayor cantidad de plantas de jengibre uniformes, sanas, en menor tiempo y espacio, propiciando el abastecimiento regional que existe.

El diseño metodológico está enfocado en generar conocimiento respecto a las variables que afectan el desarrollo del cultivo “in vitro” de jengibre en nuestra región. Se manipularán las variables independientes (pH, temperatura, humedad, cantidad de luz, concentración de hormonas y sacarosa), para medir sus efectos sobre variables dependientes (promedio de brotes por explante, tamaño y biomasa de los microrizomas). Esto permitirá conocer la combinación óptima para el establecimiento del protocolo de cultivo “in vitro” del jengibre para la región centro chaqueña.

Debido al contexto actual, este trabajo se encuentra en etapa inicial, hasta el momento los resultados que podemos mencionar

son los obtenidos del proceso de cultivo al estilo tradicional de ejemplares que serán usados como plantas madre. Para el cultivo se usaron rizomas seleccionados de la oferta comercial de la localidad de Roque Sáenz Peña, de ellos se tomaron como explantes iniciadores las yemas axilares del rizoma. Esos explantes, se mantuvieron en agua corriente, y al mostrar inicio de desarrollo se lo llevó a tierra colocándolos en macetas con sustrato conteniendo tierra con fertilizante GrowMix multipropósito. Éste proceso mostró alto índice de contaminación en la mayoría de las plántulas iniciadas, además de ser afectadas lo parte foliar por las temperaturas de la región. Luego se las colocó en espacios exteriores, al reguardo de las temperaturas superiores a 35°C y con riego cada 48hs. Esta última modificación de parámetros nos permitió obtener ejemplares foliados de 20 cm de altura. De los ejemplares que se desarrollen adecuadamente se tomarán los explantes para el establecimiento del cultivo “*in vitro*” de la especie.

Palabras claves: JENGIBRE, MICROPROPAGACIÓN, CULTIVO IN VITRO, ZINGIBER OFICINALE.

25BAV

*Efecto antimicrobiano de nanopartículas de plata sintetizadas con *Myrsine umbellata**

LASKOSKI, Larissa V.^a; BATISTA, Joelma M.^a; BANDEIRA, Débora M. ^a; CORRÊA, Juliana M.^a; EISING, Renato^b; ROSSET, Jéssica^a; CANTON, Andressa G.^a;PINTO, Fabiana G. S.^a

a) Laboratorio de Microbiología y Biotecnología. Programa de Maestría Conservación y Manejo de Recursos Naturales - PPRN. Universidad Estatal del Oeste de Paraná - UNIOESTE/Campus de

Cascavel/PR.

b) Universidad Tecnológica Federal de Paraná, Toledo, Brasil.

lari_laskoski@hotmail.com

Actualmente con el surgimiento de microorganismos resistentes a las drogas sintéticas, se intensificó la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos. Una de las alternativas es la síntesis verde que investiga compuestos bioactivos de extractos vegetales y su interacción con nanopartículas de plata (AgNP), ya que presentan amplio espectro de acción antibacteriana, incluso en concentraciones muy bajas. El objetivo de este trabajo fue sintetizar AgNP utilizando extracto etanólico de *Myrsine umbellata* y evaluar el potencial antimicrobiano frente a las cepas estándares *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231. Para la obtención de los extractos etanólicos convencional y el nanoparticulado (AgNP), las hojas se secaron a 40 °C y se molieron en molino de cuchillos y el material foliar seco se añadió en una proporción de 1:10 (p/v) en alcohol etílico (P.A), mantenidos en un agitador rotatorio durante 24 horas y sometidos a rotoevaporación para eliminar el disolvente. Para la síntesis de AgNP se preparó una solución de NaOH 0,001 mol L⁻¹, añadida en solución de extracto etanólico de *M. umbellata* en el rango de concentración de 0,1 a 10 mg mL⁻¹ y solución de AgNO₃ entre 1,0 y 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ como precursor de los iones de plata y manteniéndolos la solución resultante bajo calentamiento constante. Posteriormente, se realizó la prueba de microdilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida y fungicida mínima (CBM/CFM) para los extractos convencional y nanoparticulado (AgNP). Como control positivo se utilizó gentamicina para bacterias y nistatina para levadura. El metabolismo bacteria-

Potencial antimicrobiano de extractos vegetales etanólico y nanoparticulado de *Musa X paradisiaca L.*

CORRÊA, Juliana M.^a; BANDEIRA, Débora M.^a; LASKOSKI, Larissa V.^a; BATISTA, Joelma M.^a; ELSING, Renato.^b; ROSSET, Jéssica.^a; CANTON Andressa G.^a; PINTO, Fabiana G.S.^a;

a) Laboratorio de Microbiología y Biotecnología. Programa de Maestría Conservación y Manejo de Recursos Naturales – PPRN. Universidad Estatal del Oeste do Paraná – UNIOESTE/Campus de Cascavel/PR.

b) Universidad Tecnológica Federal de Paraná, Toledo, Paraná, Brasil.

fabiana.pinto@unioeste.br

no se verificó a simple vista con el uso de cloruro de trifeniltetrazóico (TTC) al 0,5%. En cuanto al potencial antimicrobiano, se observó actividad bacteriostática y bactericida del extracto etanólico convencional sobre la cepa *E. coli* (CIM de 3,12 mg/mL y CBM de 25 mg/mL), seguidas de las cepas *C. albicans* (CIM de 6,25 mg/mL y CBM de 25 mg/mL) y *S. aureus* (CIM de 12,5 mg/ml y CBM de 200 mg/ml), respectivamente. Ya el extracto AgNP demostró actividad bacteriostática (CIM de 0,125 µg/mL) sobre *E. coli* y *S. aureus*, pero no demostró actividad bactericida para ninguna de las cepas testadas. Por lo tanto, el extracto AgNP presentó mayor inhibición cuando comparado al convencional, siendo más eficiente en concentraciones más bajas para las bacterias testadas. Los resultados sugieren que el extracto de *M. umbellata* representa una fuente alternativa sostenible en la producción de nanopartículas con aplicaciones biotecnológicas como antimicrobianos. Además, el extracto AgNP presenta elevada actividad antimicrobiana debido a la sinergia entre los compuestos bioactivos vegetales y la plata, potenciando el efecto bacteriostático sobre las células microbianas. Aunque los resultados con el extracto de AgNP son prometedores, todavía son necesarios estudios adicionales para confirmar el potencial antimicrobiano de *M. umbellata* y evaluar la estabilidad del extracto de AgNP.

Palabras claves: SÍNTESIS VERDE; NANOPARTÍCULA DE PLATA; EXTRACTO VEGETAL.

La búsqueda por conocimiento y utilización de elementos químicos de fuentes naturales en sustitución de los de orden químico convencional, viene siendo cada vez más aplicado en diferentes áreas para mejor aprovechamiento de los elementos disponibles en la naturaleza. La aplicación de estos compuestos para control sanitario se pretende para diferentes cadenas productivas de animales con finalidad de consumo humano. Dentro de esa perspectiva, ese estudio tuvo por objetivo sintetizar la AgNP utilizando extracto etanólico de *Musa x paradisiaca L.* y evaluar el potencial antimicrobiano frente a las cepas de bacterias patógenas de interés comercial como Gram negativa *Escherichia coli* - ATCC 25922 y *Salmonella Enteritidis* - ATCC 13076; Gram positiva *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923. Para obtener el extracto, el material foliar seco se añadió en una proporción de 1:10 (p/v) en etanol (P.A), se mantuvo en un agitador rotatorio durante 24 horas y se sometió a rotoevaporación para eliminar el disolvente. Los extractos convencional y nanoparticulado (AgNP) se

analizaron en concentraciones que variaron de 200mg/mL a 0,09 mg/mL y 1,25 µg/mL a 0,009 µg/mL, respectivamente. Para la síntesis de AgNP se preparó una solución de NaOH 0,001 mol L⁻¹, añadida en solución de extracto de *Musa x paradisiaca* L. en el rango de concentración de 0,1 a 10 mg mL⁻¹ e solución de AgNO₃ entre 1,0 e 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ como precursor de los iones de plata y manteniendo la solución resultante bajo calentamiento constante. Posteriormente, se realizó la prueba de microdilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida y mínima (CBM) para los extractos convencional y nanoparticulado (AgNP). La caracterización fitoquímica detectó en el extracto la presencia de compuestos de las clases de los alcaloides, flavonoides esteroides. En cuanto al potencial antimicrobiano, se observó actividad bacteriostática tanto del extracto etanólico convencional (CIM 50 a 12,5 mg/mL) como del AgNP (CIM 1,25 a 0,625 µg/mL) sobre todos los microorganismos analizados. No se ha demostrado la actividad bactericida del extracto convencional sobre *S. Enteritidis* y el extracto AgNP frente a *S. aureus*. El extracto AgNP de *Musa sp.* fue superior y eficaz promoviendo la acción bactericida total y acción bacteriostática en el 75% de los microorganismos probados. La principal ventaja de aplicación de extractos nanoparticulados es la posibilidad de mejor performance y disminución en la concentración de uso en los ensayos, por presentar rendimiento superior cuando comparado al extracto convencional. Aunque el uso del extracto de *Musa X paradisiaca* L. resultó prometedor, ya que dio lugar a partículas en la escala nanométrica, y con acción antimicrobiana contra patógenos resistentes a diversos antimicrobianos convencionales, más estudios son necesarios para evaluar la estabilidad del extracto de AgNP.

Palabras claves: SÍNTESIS VERDE; NANOPARTÍCULA DE PLATA; ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

SESIÓN ESPECIAL

BIO – START UP

Conferencia Sesión Especial: BioStart Ups

Vinculación entre la ciencia y el medio productivo: impacto y beneficios mutuos

BINETTI, Ana G.

Instituto de Lactología Industrial, INLAIN (UNL-CONICET). Facultad de Ingeniería Química (FIQ, UNL). Santiago del Estero 2829, 3000, Santa Fe, ARGENTINA.

anabinetti@fiq.unl.edu.ar

La aplicación de la investigación, de algún modo, permite a los investigadores un cambio de actitud, dando otro sentido al trabajo de laboratorio. Esta charla pretende dar un enfoque sobre la importancia de impulsar la vinculación entre los grupos de investigación y el sector productivo, planteando algunas pautas para lograr exitosamente este acercamiento a través la comunicación efectivas y la adaptación del trabajo de investigación a las necesidades puntuales de cada industria (respuesta rápida, confianza, prudencia en la difusión de resultados, etc.). Estos cambios en la forma de pensar y abordar las ideas permiten lograr un acercamiento a la realidad industrial, y favorecen el surgimiento de nuevas líneas de investigación, con un fuerte correlato práctico.

Conferencia Sesión Especial: BioStart Ups***Desarrollé una tecnología interesante.
¿Y ahora? ¿Transfiero o emprendo?*****FELDMAN, Pablo**

*Director de Vinculación Tecnológica en Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas,
Univ. Nacional de Rosario.*

Esta presentación intentará disparar una conversación desestructurada, pero no por ello menos necesaria, sobre el rol de la transferencia de tecnología en el Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SNCTI). Para ello, se abordarán estas y otras preguntas:

i) Por qué la mayor parte de nuestros desarrollos muere dentro de las paredes del laboratorio, o en un paper, o en una presentación a un Congreso (como este!)? Qué alternativas propone la transferencia de tecnología para devolverle a la sociedad una parte de lo que se invirtió en nuestro trabajo?

ii) Vale la pena patentar? Quién es el titular de la propiedad intelectual que nosotros desarrollamos? Qué alternativas tengo? Qué ventajas tengo? El arte imitando a la vida: el caso real que inspiró el episodio de Los Simpsons "Llamarada Moe".

iii) Vale la pena emprender? Factores a tener en cuenta. Buenas y malas noticias. La trampa de los incentivos estatales: el "Triángulo de Sábato-Botana" vs el "Diagrama de Venn de la Innovación". Consiguiendo 2 recursos fundamentales: gente y dinero. Apoyo de programas de innovación abierta, companybuilders, incubadoras y/o aceleradoras.

1BSU

Desarrollo de un inmunoensayo de flujo lateral para detección de anticuerpos COVID19

BEZUS Brenda^a, BRACHO Juan P.^{a,b}, RAMÍREZ Andrea C.^a, HARGUINDEGUY Inés.^c, MANESE Victoria.^c, CAVALITTO Sebastián F.^{a,c}, ORTIZ Gastón E.^{a,c}

a) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900-La Plata 1900, Provincia de Buenos Aires, Argentina

b) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), Calle 526, 1900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

c) BambooBiotech SAS, RomuloNaón 3237, 1430 CABA, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

info@bamboobiotech.com

El Coronavirus SARS-CoV2 causa el síndrome respiratorio COVID-19, declarado pandemia por la OMS en el año 2020, se caracteriza por tener una nucleocápside proteica que envuelve el ssARN viral. Estas proteínas, generan una buena respuesta humoral de anticuerpos IgG/IgM que pueden ser utilizados para identificar personas infectadas. La proteína Np de la nucleocápside SARS-CoV2 posee poca homología con nucleoproteínas de otros coronavirus y por ello se convierte en un blanco ideal para el desarrollo de sistemas diagnósticos basados en inmunoensayos. En particular, el desarrollo de tecnologías del tipo point of care (PoC) permiten detectar rápidamente personas infectadas en los puntos de atención primaria. Por ello, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un inmunoensayo de flujo lateral (IFL) que permita la detección de anticuerpos IgG/IgM anti-Np en muestras serológicas de forma rápida y sencilla. Para ello, la secuencia de la proteína Np fue clonada y expresada en *Es-*

cherichiacoli. La producción fue realizada a 37°C y 250 rpm empleando Erlenmeyer conteniendo medio LB e IPTG 1 mM como inductor. Posteriormente, la proteína fue purificada mediante cromatografía de afinidad (IMAC-Ni⁺²) y empleada en la puesta a punto del inmunoensayo. Al efecto, se utilizó un diseño sandwich en donde los anticuerpos anti-Np IgG/IgM (humanos) reaccionan con el oro coloidal conjugado a anticuerpos anti-humano (cabra) y posteriormente capturados por el antígeno recombinante Np dispensado en la línea de testeo. Como control del ensayo se dispuso anticuerpo anti-cabra (conejo) en las líneas de control. Para optimización del ensayo se realizó un diseño experimental de tipo compuesto central, cuyas variables fueron: concentración de BSA en el bloqueo del conjugado (0,75-1,25 %p/v); BSA en el bloqueo de la membrana (0,5-1,5 %p/v), BSA en la formulación de la proteína Np (0,25-0,75 %p/v) y caseína en el bloqueo de la membrana (0,25-0,75 %p/v). Las tiras reactivas resultantes, se ensayaron empleando sueros reactivos (SR) y no reactivos (SNR) para COVID-19 y se registró la intensidad de color (señal) en la línea de testeo como señal específica en SR e inespecífica en SNR. La condición óptima se determinó como aquella que minimiza la señal inespecífica y maximiza la específica. Como resultado, se obtuvo de forma recombinante la proteína Np de SARS-CoV2 y pudo ser empleada con éxito en la elaboración de un prototipo de prueba diagnóstica. Del diseño factorial, se determinó que las condiciones óptimas para la elaboración de las tiras reactivas son: 0,75 %p/v de BSA en el bloqueo del oro conjugado; 0,6 %p/v de BSA en la formulación de la proteína y 0,6 %p/v caseína más 1 %p/v de BSA para el bloqueo de membrana. En estas condiciones, se logró la detección de anticuerpos IgG/IgM en muestras serológicas con una especificidad y sensibilidad diagnóstica del 87% y 95%, respectivamente. Finalmente, la rapidez y sencillez

del ensayo aquí presentado surge como una alternativa para la detección de personas infectadas en los puntos de atención primaria.

Palabras Claves: COVID-19; SARS COV-2; INMUNOENSAYO DE FLUJO LATERAL (IFL); POINT OF CARE (POC).

2BSU

*Biofertilizantes: validación y ensayos de trazabilidad de las cepas PGPB *Bacillusaltitudinis* 19RS3 y T5ST4 sobre cultivos de yerba mate*

CORTESE Iliana J.^{a,b}; ONETTO Andrea L.^{a,b}; BICH Gustavo A.^{a,b}; GORTARI Fermin^{a,b}; SVIERCZ OLIVETTI Oriel A.^a; BOYCHO Marisa^a; ZAPATA Pedro D.^{a,b}; CASTRILLO María L.^{a,b}; y LACZESKI Margarita E.^{a,b,c}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María EbeReca" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina.

b) CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas). Buenos Aires, Argentina.

c) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Cátedra de Bacteriología. Posadas, Misiones, Argentina.

**mlaczeski@gmail.com
mlc_827@hotmail.com**

En la provincia de Misiones, la yerba mate (*Ilexparaguariensis* St. Hil.) es un cultivo de gran importancia económica. Sin embargo, el sistema agrícola de monocultivo adoptado, sobre todo en Argentina y Paraguay, presenta inadecuadas prácticas de manejo de suelo, que aceleran su erosión, compactación, progresiva pérdida de materia orgánica

y nutrientes. La aplicación de biofertilizantes a base de microorganismos con propiedades que promueven el crecimiento vegetal (PGP) se presenta como una alternativa prometedora para la producción sustentable de cultivos y la regeneración de suelos degradados. En estudios previos se seleccionaron y estudiaron dos cepas endófitas esporulantes de *Bacillusaltitudinis* aisladas de plantines de yerba mate en la provincia de Misiones. Estas cepas presentaron propiedades capaces de estimular el crecimiento vegetal, evaluadas *in vitro* y en vivero en plantines de yerba mate. Para continuar con la investigación se propusieron como objetivos generales validar el efecto de las cepas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 en cultivos a campo y realizar estudios de trazabilidad que permitan monitorear la colonización y persistencia de ambas cepas en plantines de yerba mate.

Para ello, se ensayó el efecto de las cepas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 sobre plantines de yerba mate en condiciones de vivero que luego fueron llevados a campo, como así también sobre plantaciones adultas en condiciones de suelos aptos para el cultivo y en suelos degradados. A partir de cultivos bacterianos de 24 h en medio líquido (caldo nutritivo), se realizó una suspensión en agua corriente hasta llegar a la concentración de 1×10^8 UFC/ml correspondiente a la escala 0,5 de McFarland. En los ensayos sobre plantaciones adultas se evaluaron tres tratamientos (*B. altitudinis* T5S-T4, *B. altitudinis* 19RS3, y *B. altitudinis* T5S-T4 + *B. altitudinis* 19RS3 en partes iguales), y un control negativo (sin inoculación). En los ensayos en vivero se incluyeron además un control positivo biológico (cepa PGPR comercial, *Azospirillum brasiliense* sp. 245), y un control positivo químico consistente en la aplicación de 1 gr/plantín de Minicote® (13-6-16 +1,4 MgO + 10 S) por única vez al inicio de las inoculaciones. Para los ensayos en vivero se emplearon 50 plantines con buen aspecto fi-

tosanitario para cada tratamiento, mientras que para los ensayos a campo se emplearon 45 plantas adultas ubicando cada tratamiento en iguales condiciones de intensidad lumínica. Los plantines de vivero fueron inoculados por la técnica de riego directo y las plantaciones a campo fueron inoculadas por aspersión utilizando la dilución bacteriana. El procedimiento de inoculación fue repetido en 3 ocasiones con 2 semanas de diferencia. A los plantines de vivero se les realizaron mediciones de parámetros asociados al crecimiento vegetal: altura, número de hojas, número de ramificaciones, diámetro de cuello, contenido de clorofila, área foliar y pesos secos; mientras que en las plantas adultas se midieron: cantidad de hojas y ramas cosechadas, contenido de clorofila (Clorofilio, Cavadevices) e intersección de radiación solar (Ceptómetro, Cavadevices).

A partir del ensayo realizado sobre plantines de yerba mate en condiciones de vivero, se observó que los tratamientos con bioinoculantes podrían reemplazar al fertilizante químico con el cual no se observaron diferencias estadísticamente significativas para los parámetros de altura, diámetro de cuello, número de hojas, número de ramificaciones, peso seco de parte aérea, peso seco de raíz, volumen radical y clorofila medidos previamente a su pasaje a campo. Se destaca además que los tratamientos con los bioinoculantes ensayados individualmente mostraron diferencias estadísticamente significativas y positivas con respecto al fertilizante químico al evaluar la sobrevivencia de los plantines previo al pasaje a campo. Para el ensayo en plantaciones adultas en condiciones de suelos aptos para el cultivo y en suelos degradados se comenzaron a observar diferencias estadísticamente significativas para algunos parámetros medidos en forma periódica como la clorofila; sin embargo, este tipo de ensayo requiere de un seguimiento más prolongado de los cultivos,

por lo que se seguirán realizando mediciones periódicas en el futuro.

Por otra parte, a efectos de realizar estudios de trazabilidad de las cepas evaluadas se secuenció, ensambló (mediante los programas SPAdes, ABySS, Velvet, Soap DeNovo2, Geneious y CLC GenomicsWorkbench) y anotó (utilizando PROKKA, RAST y KAAS) el genoma completo de las cepas *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3. Se buscaron secuencias génicas únicas para cada cepa mediante la comparación entre ambos genomas y otros genomas de *Bacillus* sp. disponibles en la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Se seleccionaron secuencias de una longitud adecuada como blancos de amplificación, y mediante el uso de la plataforma Primer3 se diseñaron los pares de cebadores específicos para cada cepa. Estos fueron analizados empleando el programa OligoAnalyzer 3.1, y se simuló una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *in silico* con los genomas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 para evaluar el correcto funcionamiento de los cebadores diseñados. Finalmente, se estableció un ensayo de inoculación sobre plantines en vivero siguiendo el procedimiento aplicado en los ensayos anteriores, y se realizaron muestreos sucesivos de suelo y tejido radical a fin de evaluar la persistencia de las cepas en el tiempo. A partir de la extracción de ADN de suelo y tejido radical, se optimizó la amplificación por PCR y se obtuvieron amplicones con el tamaño correspondiente a los esperados para los cebadores diseñados. Estos resultados sugieren que los cebadores diseñados permiten la detección de las cepas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 en raíces y suelo inoculados, por lo que serán aplicados en futuros ensayos de trazabilidad del bioinoculante en condiciones de campo.

Palabras claves: BACILLUSSPP., BIOINOCULANTE, ILEXPARAGUARIENSIS ST. HIL, ENSAYOS IN VITRO E IN VIVO, CEBADOR CEPA-ESPECÍFICO

Índice de Autores

A

ACIÉN FERNÁNDEZ, FRANCISCO G. -116
ACOSTA, GABRIELA A. -94
ACOSTA, GERARDO -183
ADACHI, O. -62
ADET, CYNTIA -80,167
AGUIRRE, ALBERTO -184
AGUIRRE, ANDRÉS -141
AJOT, HIPÓLITO F. -115
ALBARRACÍN, VIRGINIA H. -141,162
ALBERICIO, FERNANDO -183
ALBERTÓ, EDGARDO -149
ALCONADA, TERESA -128
ALDERETE, MICAELA E. J. -75
ALE, ELISA C. -52
ALFONSO, ANDRÉS J. -144
ALNOCH, ROBSON C. -55,57,58
ALONSO, LEONARDO G. 98
ALVARENGA, ADRIANA E. -27,61
ÁLVAREZ, CHRISTIAN -173
ÁLVAREZ, PAOLA -130
ÁLVAREZ SERAFINI, M.S. -48
ALVES, LUIS F. A. -33,34
AMARANTO, MARILLA -95,96
AMERIO, NATALIA S. -23,31,59
AMORÓS, LESLIE -103
ANDREOLLI, LUCIANA -88,176
ANDRIOLO, LUISINA -188
ANTUÑA, SEBASTIÁN -16
APARICIO, DANIEL -164
AQUINO, M. D. -15
ARAUJO SOLA, EVELYN N. -155
ARBINI, GIANINA -197
ARECO, MARÍA M. -144
AREDES FERNÁNDEZ, PEDRO A. -51
ARES, ALICIA E. -160
ARGUMEDO MOIX, MAXIMILIANO C. J. -89
ARISMENDI SOSA, ANDREA C. -123
ARTURI, TATIANA -136
ASSAD, FODDA -126
ASTORECA, ANDREA -150
ASTORGA, MARCOS -132
AYALA SCHIMPF, ALAN R. -146,147

B

BAGLIONI MICAELA -143
BAGNATO, CAROLINA -145
BANDEIRA, DEBORA M. -187,205,206
BARENGO, MARCELA P. -23,31,59
BARRA, JOSÉ L. -95,96
BARREDO VACCHELLI, GABRIELA R. -175,183
BARRIO, DANIEL A. -112
BARROETAVERÑA, CAROLINA -45
BARTUCCI, SANDRA L. -142
BARUA, CELESTE -170
BATISTA, JOELMA M. -187,205,206
BATISTELA, MARA E. 72

BAZÁN, LUCAS A. -80,167
BECCARIA, ALEJANDRO -22,50,73,90
BENEDETTI, GONZALO -47
BENIMELI, CLAUDIA -80,135,164,167
BENITEZ, SILVANA F. -161
BENZZO, MARÍA T. -25,28
BERGAMINI, CARINA V. -52,72,79,141,162
BERGOTTINI, VERÓNICA M. -111
BERNHARDT, DANA C. -111
BESBES, N. -48
BEZUS, BRENDA -110,125,210
BICH, GUSTAVO A. -23,31,53,59,180,211
BINETTI, ANA G. -52,208
BIRENBAUM, JOAQUÍN -98
BITTAR, SALIMISSAM -177
BLARIZA, MARÍA J. -186,193
BLASCO, MARTIN -68,114
BÓ, GABRIEL -16
BOAN, AGUSTÍN F. -179
BOHÉ, ANA -138
BOLÍVAR, J.M. -48
BONANNI, PABLO S. -114
BONGIOVANI, NATALIA -38,77
BONGIOVANNI, SILVESTRE -151
BORDAQUIEVICH, MAYRA F. -122
BOYCHO, MARISA -211
BRACHO, JUAN P. -110,171,210
BRECCIA, JAVIER D. -143
BRIGNOLE, TOMÁS A. -188
BRUERA, FLORENCIA A. -160
BRUNO, MARIELA A. -133
BÜRGI, M.D. MILAGROS -18,141,162
BURNS, PATRICIA -52
BUSALEM, JUAN -114
BUSTILLO, SOLEDAD -93
BUSTO, VÍCTOR D. -89
BUSTOS, LUCIANA B. -154
BUTIUK, ANA P. -62

C

CABALARO, LUDMILA M.L. -40
CABALLERO, MARÍA. S -79
CABEZUDO, I. -26
CACCIATORE, LUIS C. -188
CAMACHO, ALBERTO G. -132,197
CAMPERI, SILVIA A. -175,183
CAMPOS, ELEONORA -68
CANTON ANDRESSA G. -187,205,206
CAPRIOTTI, NATALIA -103
CARDOSO SCHWINDT, VIRGINIA -38
CARMARÁN CECILIA C. -35
CARRARA, CARLOS R. -54
CASÁ, NAHUEL -130
CASTELLANOS DE FIGUEROA, LUCÍA -199
CASTELLI, MARÍA V. -70
CASTELO BRANCO, PAULO -194,196
CASTRILLO, MARÍA L. -23,31,53,59,147,180,211

CATTANEO, LUCIANO -16
CAVAGLIERI, LILIA -151
CAVALITTO, SEBASTIÁN F. -110,125,136,171,210
CAVELLO, IVANA A. -125,136
CEAGLIO, NATALIA -16,101,105
CERIANI-NAKAMURAKARE, ESTEBAN D. -35
CESANO, MARGARITA -142
CHAMORRO, ESTER R. -139
CHAMORRO, SUSANA -182
CHELALICHE, ANÍBAL S. -61
CHIOTTA, M. LAURA -150
CISINT, JUAN CARLOS -152
CLAVER, SANTIAGO -104
CLEBOT, ALDANA C. -166
CLEMENTE, MARIANA -178
CLEMENTZ, ADRIANA -24
COLETTI, MAURICIO -38
COLIN, IVANA -38,77
COLIN, VERÓNICA L. -120,165
COMELLI, RAÚL N. -25,28,40,46
CONDE MOLINA, DEBORA -78
CONIGLIO, ROMINA O. -118,122,149,170
CORDOBA, PATRICIA A. -126
CORREA OLIVAR, GABRIELA -52
CORRÊA, JULIANA M. -187,205,206
CORTESE, ILIANA J. -180,211
CORTIZO, LORENA V. -172
COSTA GUTIERREZ, STEPHANIE -164
COTABARREN, JULIANA -104
CRISTOFOLINI, ANDREA -151
CROSETTI, VALENTINA -140
CUELLO, DIEGO -198
CUELLO, MARÍA C. -139
CURUTCHET, GUSTAVO -136,138,144,156

D

DE ESCALADA PLA, MARINA F. -130,131
DE OVALLE, STEFANI -125
DE PAULA, CAROLINA -194,196
DE SOUSA, ELISA -103
DEL GOBBO, LUCIANA M. -120
DI SANTO MEZTLER, GABRIELA P. -41
DÍAZ, GABRIELA V. -122,149
DÍAZ-BARRERA, ALVARO -20
DIETRICH, JULIAN -121
DONDO, RODOLFO -22
DRUMOND, MARIANA M. -194,196
DURÁN, LUDMILA -154

E

ECHARTE, MERCEDES -189
EISING, RENATO -187,205,206
ENCALADA-ROSALES, PAULA -184
ERBETTA, ELISA -189
ERMILIO, ALEJO E. -127
ERRASTI, MARÍ E. -172

F

FABERSANI EMANUEL -152
FAIT, MARÍA E. -41
FARIÑA, JULIA I. -94

FAVIER, GABRIELA I. -123
FELDMAN, PABLO -209
FERNÁNDEZ LAHORE, MARCELO -92
FERNANDEZ, MARIA E. -166
FERNÁNDEZ, PABLO M. -115
FERNANDINO, JUAN I. -179
FERRARO, GISELA -144,145
FERREIRA, MARÍA L. -55,57,58
FERREIRA, TIAGO T. -33,34
FERRELLI, M. LETICIA -103
FETTER, ISABELA -33,34
FILIPPI, MARCELA V. -134
FILIPPONE, MARÍA PAULA -198
FIORAMONTI, SILVANA -54
FIORAVANTE, CYNTHIA A. -186,193
FLORES CINTIA -199
FLORES SILVIA K. -131
FLORES, BELEN -203
FLORES, CINTIA B. -200
FLORES, MARÍA L. -116
FONSECA, MARÍA I. -65,76,94,122,146,147,158,
159,161,170
FONTANA, DIEGO S. -13
FONTICELLI, MARIANO -103
FOUGA GASTÓN -138
FRESCURA, JULIETA M. -39
FRISÓN, LAURA N. -155
FUENTES, M. SOLEDAD -80,167

G

GABBANELLI, NADIA -189
GALETTI, CECILIA S. -26
GALVAGNO, MIGUEL A. -78
GARAY, ERNESTO S. -13
GARCÍA-OCHOA, FÉLIX -48,82
GAROLERA, BETSABÉ -115
GARRIDO, MERCEDES -68
GATTI, MARCELA -132,197
GEI, ANABELLA -153
GEIER, FLORENCIA -104
GEORGE, GUILLERMO A. -79
GHIRINGUELLI, PABLO D. -126
GIACOMETTI, ROMINA -194
GIL ROLÓN, MARTÍN E. -46
GIL, ROCÍO M. -66,87,88,154,176
GIMÉNEZ CLAUDIA Y. -108
GIMÉNEZ, PAULA -79
GIUDICESSI, SILVANA L. -175
GIULIETTI, ANA M. -89
GIUNTA, VALERIA -114
GODINO, AGUSTINA -95,96
GÓMEZ JOUSSE, MICAELA -145
GOMEZ, EMILIO -82
GONZALEZ HOLC, VICTORIA G. -61
GONZÁLEZ, ARIELA J. -202
GONZÁLEZ, GABRIELA C. -45
GONZALEZ, MATÍAS -14
GONZALEZ, SAMANTA K. -135
GONZALEZ, SERGIO MIGUEL -177
GONZÁLEZ-LOYO, JUAN F. -185
GONZALEZ-POMBO, PAULA -125

GORTARI, FERMIN -211
 GRASSELLI, MARIANO -108
 GRASSI, EMANUEL M. -118
 GRILLO, PATRICIA D. -41
 GRIMOLIZZI, MARÍA C. -156
 GROFF, MARÍA C. -67
 GUERRA, LAUREANA -24
 GUEVARA, MARÍA G. -129
 GUGLIOTTA, AGUSTINA -13
 GUTIÉRREZ, MARÍA DEL CARMEN -89,130
 GUZMÁN, CRISTIAN E. -173
 GUZMÁN, VICTORIA M. -25

H

H Aidar, Carla N. -21,37,47
 HARGUINDEGUY, INÉS -110,210
 HEINRICH, JOSUÉ M. -83,84,86
 HERMET, MELISA -41
 HERRERA SEITZ, MARÍA K. -50
 HERRERA, KEVIN F. -181
 HINTERMEISTER, EMILIA -90
 HONORÉ, STELLA -152
 HYNES ERICA R. -72,79,141,162

I

IANNONE, LEOPOLDO J. -78
 IBAÑEZ, MANUEL V. -83,84,86
 IGLESIAS-GARCÍA LUCÍA C. -183
 IRIARTE, HEBE J. -123
 IRIBARREN, ADOLFO M. -124
 ITURMENDI, FACUNDO -38,77

J

JIMÉNEZ VEUTHEY, MARIANA -116
 JOCHEN, SCHMID -9
 JUNCAL, LUCIANA -103

K

KHAWAM, JORGE N. -28
 KRAMER, GUSTAVO R. -160
 KRAMER, LUIS F. -53
 KRATJE, RICARDO B. -13,18
 KRIEGER, NADIA -55,57,58
 KUCHEN, BENJAMÍN -66,74,87,88,154,176

L

LACZESKI, MARGARITA E. -180,211
 LADERO, M. -48
 LAIGLECIA, JUAN I. -38,77
 LASKOSKI, LARISSA V. -187,205,206
 LAVORATO, GABRIEL -103

LEGISA, DANILO -68
 LEIVA ALANIZ MARÍA J. -63,64,69,74,196
 LENCINAS, MARCOS -199,200,203
 LEÓN PELÁEZ, ÁNGELA -128
 LEONARDI, RODRIGO J. -40,46,83,84,86
 LEOPOLD, MARÍA J. -105
 LESCANO MARIELA -138
 LEVIN, LAURA N. -161
 LEWKOWICZ, ELIZABETH S. -124
 LIGGIERI, CONSTANZA S. -133
 LILLIO, CRISTIAN -103
 LIMA GONZALO, LAURA G. -153
 LITWIŃIUK, SERGIO L. -186,193
 LLADÓ, CECILIA -203
 LOIS-MILEVICICH, JULIETA -130
 LOPES, PEDRO -194,196
 LOPEZ DÍAZ, FERNANDO -13
 LOPEZ SILVIA N. -70
 LÓPEZ, ANA C. -27
 LÓPEZ, CINTHYA A. M. -149
 LÓPEZ, DÉBORA N. -21
 LOPEZ, LAURA M.I. -172
 LOPEZ, M. FLORENCIA -103
 LORENZO, MAXIMO -189
 LOYEAU, PAULA A. -54
 LUCAS, LAURA B. -117
 LUNA MERCADO, LUIS EDUARDO -177
 LUNA, MARÍA F. -27

M

MACSEMCHUK, NAZARENA A. -186,193
 MAGUNA, FABIANA P. -202,204
 MAIDANA, SILVANA A. -62
 MANASSERO, AGUSTINA -95
 MANCHA AGRESTI, PAMELA -63,74,194,196
 MANESE VICTORIA -210
 MANUALE, DEBORAL. -90
 MANZO, RICARDO M. -155
 MARQUEZ, ROCÍO B. -146
 MÁRQUEZ, VANINA -22,73
 MARTÍN, MARÍA L. -87,154
 MARTÍNEZ CERON, MARÍA C. -175
 MARTINEZ JIMÉNEZ, ALFREDO -30
 MARTÍNEZ, IRENE -142
 MARTÍNEZ, LUCIANO J. -141,162
 MARTINI, GEORGINA -93
 MARTOS, MARÍA A. -62
 MATEUCCI, RICARDO -130
 MATTAR DOMINGUEZ, MARÍA A. -123
 MATURANO, PAOLA -63,64,69,74,194,200,203
 MAZZAFERRO, LAURA S. -143
 MAZZINI, FLAVIA -192
 MC CALLUM, GREGORIO J. -98
 MEDINA, MARIANO L. -156
 MEDINA, SANDRA -198
 MEDRANO, M. -102
 MEDRANO-BARBOZA, JOHANNA L. -181,184,185
 MEINI, MARÍA R. -26,70
 MELNICHUK, NATASHA -70
 MENDOZA ZELIS, PEDRO -103
 MENEGON, MALEN -101

MENZELLA, HUGO G. -141
MESTRE FURLANI, MARÍA V. -63,64,69,74
MICHALUK, ARIEL -99
MILDE, LB. -159
MINOIA, JUAN M. -183
MIRANDA, MARÍA V. -98
MIRETTI, MARCOS M. -186,193
MODINI, LAURA B. -73,169
MOLINA, MELISA A. -146,159
MONGE, MARÍA DEL PILAR -150,151
MORCELLE, SUSANA R. -41
MORELLI, MATÍAS N. -127
MORILLA, ESTEBAN A. -43,44
MORILLAS ESPAÑA, AINO A -116
MOURE, M. CANDELA -128
MOYÓN, JENNIFER -182,184,185
MUÑOZ, SILVINA V. -197
MUSSIO PABLO E. -106
MUTTI STEGMANN, PAULA -43,44

N

NALLY, CRISTINA -200,203
NALLY, MARÍA C. -74,199
NAVARRO, JUAN CARLOS -182,184,185
NERLI, BIBIANA B. -21,93
NORIEGA, SANDRA E. -67
NOVELLI POISSON, GUIDO -78
NUÑEZ, MARÍA A. -75

O

OBREGÓN, WALTER D. -104
OCAMPO, CAROLINA GABRIELA -190
OCANTE, TERESA A. -135
OGGERO, MARCOS R. -10,18,105
OLISZEWSKI RUBÉN -152
OLMOS, NAHUEL -130
OMARINI, ALEJANDRA -143
ONETTO, ANDREA L. -180,211
ONS, SHEILA -103
ORTELLADO, L. E. -65
ORTÍZ, GASTÓN E. -32,35,110,171,210
ORTIZ, OSCAR A. -67
OZÓN, BRENDA -104

P

P. MALPIEDI, LUCIANA -21,93
PADRÃO, EDUARDA -194,196
PALMIER, MAXIMILIANO -83,86
PARISI, MÓNICA G. -153
PAROLDI, EMILIO H. -66
PARRA, MICAELA -153
PASCUAL, LOURDES I. -123
PASQUEVICH DANIEL -138
PASSUCCI, VICTORIA -144
PEDREGAL, T. -48
PEDROZO, LINA P. -199
PEDROZO, PAULA -200,203
PELLEGRINI MALPIEDI, LUCIANA -37,43,47
PEPE, ALFONSO -129
PERALTA, GUILLERMO H. -52,72,14,162

PERETTI CANALE, MARÍA V. -50
PEREYRA, CARINA -150,151
PÉREZ ZAMORA, CRISTINA -99
PÉREZ, MARÍA DE LOS ÁNGELES -134
PERÍA, MARA E. -32,35
PERNIGOTTI, MARTÍN -95
PEROTTI, MARÍA C. -79
PESCE, VIRGINIA M. -199,200,203
PESCUMA, MICAELA -20,45
PETRIGNANI, DIEGO B. -63,64,69,74
PETRUCCELLI, SILVANA -109,190,192
PIDHIRNYJ, MARÍA I. -50
PIDRE, MATIAS -103
PIERMARIA, J. -102
PILA, ANDREA N. -139
PILDAIN, M BELÉN -15,45
PINTO, FABIANA G. S. -187,205,206
PIZARRO, ANA V. -169
POLTI, MARTA A. -158,164
PORTILLA, DANIELA -182
PRADOS, BELÉN -138
PRAT, AGUSTINA -41
PRETZ, FLORENCIA -138
PRIETO, CÉSAR C. -106
PRIETO, CLAUDIO -13,16

Q

QUINTERO, JUAN P. -79
QUIROGA ZINGARETTI, ADRIANA E. -76
QUIROGA, MARINA -76

R

RAMÍREZ, ANDREA -110,171,210
RAMÍREZ, JOSÉ R. -181
RAMÍREZ, NOELIA S. -134
RAMÍREZ-IGLESIAS, JOSÉ R. -182,184,185
REBAGLIATI, INÉS R. -117
RESELLI, MARÍA F. -118
RESTUCCI, FERNANDO. E. -109
REY, CONSTANZA -192
RIPETTA, SOL -112
RIVERO, ROMINA E. A. -202
RIVERO, S. -102
ROBLEDO, SEBASTIÁN -150
ROCHA PARRA, ANDRES F. -38,77
ROCHA PARRA, DIEGO F. -77
RODRIGUEZ GASTON, JORGELINA A. -153
RODRIGUEZ SIMÓN, CARLOS N. -114
RODRIGUEZ TORRES, CLAUDIA -103
RODRÍGUEZ, AILÉN N. -50
RODRÍGUEZ, LAURA A. -66,87,88,154,176
RODRÍGUEZ, LETICIA -203
RODRIGUEZ, MARÍA C. -16,101,106
RODRÍGUEZ, MARÍA E. -108
ROJAS, LAURA N. -126
ROJAS, M. FLORENCIA -52
ROJAS, NATALIA L. -30,32,35,39,124
ROMANINI, DIANA -24,26,70
ROMANOWSKI, VÍCTOR -103
ROMERO, EDUARDO R. -75
ROSALES SORO, MILAGRO -164

ROSSET, JÉSSICA -187,205,206
 ROSSI, ALEJANDRO O. -188
 ROSSO, ADRIANA M. -153
 ROSSO, MARÍA C. -126
 ROSSOTTI, MARTINA -104
 RULLI, MACARENA M. -165
 RUSCASSO, FLORENCIA -136
 RUSCITTI MARCELA -14

S

SABATIÉ, ALEJANDRO -41
 SADAÑOSKI, MARCELA A. -158,160,161
 SAEZ, JULIANA M. -135
 SALESE, LUCÍA -133
 SALVATIERRA, KARINA -147
 SAMAN, CANDELA -104
 SÁNCHEZ CARNERO, MARÍA A. -54
 SÁNCHEZ ZURANO, ANA -116
 SÁNCHEZ, DANIEL A. -55,57,58
 SANCHEZ, ESTEBAN A. -90
 SÁNCHEZ, GONZALO E. -199
 SÁNCHEZ, MIRNA L. -108
 SÁNCHEZ, SARA -152
 SANTADER, ESTELA DEL VALLE -177
 SANTANA, ANELISE -87,154
 SANTILLAN, JULIA Y. -124
 SANZ SMACHETTI, MARÍA E. -189
 SAPARRAT, M. C. N. -15
 SCAGLIA, GUSTAVO -67
 SCHAPOVALOFF, MARIA E. -33
 SCHILARDI, PATRICIA -103
 SEDE LUCENA, BRENDA -45
 SELUY, LISANDRO G. -25,28,46
 SGROPPO, S. -159
 SIERRA-IBARRA, ESTEFANÍA -30
 SILVA, BRUNO -196
 SILVA, FERNANDA M. -99
 SILVA, NOELIA E. -131
 SMITH, IGNACIO -98
 SNOUSSI, Y. -48
 SOLA, AGUSTÍN -140
 SOLOAGA, MARÍA A. -126
 SPAGNOLETTI, FEDERICO -194
 SPANO CRUZ, MARÍA A. -126
 SPOTTI, MARÍA -54,79
 STIVALA, MARIA G. -51
 STUDDERT, CLAUDIA A. -50
 SVIERCZ OLIVETTI, ORIEL A. -180,211

T

TADDIA, ANTONELA -37
 TARDIVO, BELÉN -16
 TARGOVNIK, ALEXANDRA M. -98
 TARIFA, MARÍA C. -77
 TATARIN, ANA S. -158
 TITO, FLORENCIA R. -129
 TOMASSI, ARIEL H. -25
 TONETTO, GABRIELA M. -48,55,57,58
 TOPALIAN, JULIANA -68
 TORRES, FABIANA R. -197
 TORRES, MARÍA J. -140

TORRESI, PABLO A. -90
 TORTORA, MARÍA L. -75
 TOSSOLINI, ILEANA -13
 TRAVERSO, LUCILA -103
 TUBIO, GISELA -43,44,47
 TUFO, ANA E. -156

U

UTHURRY, CARLOS -38

V

VAILLARD, SANTIAGO E. -101
 VAILLARD, VICTORIA A. -101
 VALDEZ HUGO A. -108
 VALENTI MELINA -14
 VARGAS MERCEDES -64
 VAZQUEZ FABIO -63,64,69,199,203
 VAZQUEZ, SUSANA. -156,175
 VELA GUROVIC, MARÍA S. -100,121
 VELÁZQUEZ, JUAN E. -160
 VENEGAS TARANCÓN, STEFANÍA -198
 VERGARA, PRISCILLA -82
 VERGARA, SILVIA CRISTINA -63,64,69,74,194
 VERICAT, CAROLINA -103
 VICECONTE, FÁTIMA R. -100
 VIEJOBUENO, JOSEFINA -115
 VIGNOLLES, FLORENCIA -192
 VILLALBA LAURA L. -27,31,53,59,65
 VILLAR, JUAN C. -82
 VILLARRAZA, CARLOS J. -16
 VILLECCO, MARGARITA B. -51
 VINDEROLA, GABRIEL C. -54
 VITALE, IGNACIO -22
 VOGET, CLAUDIO -38

W

WAGNER EVELYN -30,32,35
 WANDEL PETERSEN, VALENTINA -18
 WOLMAN, FEDERICO J. -98

Y

YORI, JUAN C. -90

Z

ZALAZAR, CRISTINA S. -166
 ZANOVELLO, LUCAS -142
 ZAPATA PEDRO DARÍO -23,27,31,53,59,61,65,76,94,
 147,149, 159, 160,161,180,211
 ZAPATA, ROMINA ELISABET -177
 ZARATE, IRIS P. -204
 ZERBATO, MARIEL G. -169
 ZURBRIGGEN, ABRIL -25



Facultad de
Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales



InBioMis
Instituto de Biotecnología Misiones
María Ebe Reza



Agencia I+D+i

Agencia Nacional de Promoción
de la Investigación, el Desarrollo
Tecnológico y la Innovación

CONICET



FBCB

**UNL • FACULTAD DE
BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS**

CiN

Consejo
Interuniversitario
Nacional



CONBIOTEC



Biofábrica
MISIONES S.A.



POSADAS
linda de nuevo



ISBN 978-95-766-183-9



9 | 7 8 9 5 0 7 | 6 6 1 8 3 9 |