

**Libro de Resúmenes**

PRIMER TALLER

**BIOTECNOLOGÍA  
APLICADA A LA  
TECNOLOGÍA DE  
ALIMENTOS**

16 Y 17 DE JULIO 2019



**UTN.BA**

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL  
FACULTAD REGIONAL BUENOS AIRES

Centro de Tecnologías Químicas

Libro de Resúmenes. Primer Taller Biotecnología aplicada a la tecnología de alimentos / 1a ed . - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Centro de Estudiantes de Ingeniería Tecnológica - CEIT, 2019.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-1978-50-2

1. Biotecnología. 2. Tecnología de los Alimentos. I. Título.

CDD 660.6

Fecha de catalogación: 29/10/2019

© **Editorial CEIT** - Centro de Estudiantes de Ingeniería Tecnológica –  
Medrano 951 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

**TEL:** (011)4867-7608

**Mail:** editorialceit@gmail.com

**Website:** [www.ceit.frba.utn.edu.ar/servicios/editorial](http://www.ceit.frba.utn.edu.ar/servicios/editorial)

**Diseño de Tapa:**

Queda hecho el depósito que previene la Ley 11.723

Impreso en Argentina.

ISBN 978-987-1978-50-2



## **Comité Científico**

Dra. Ana María Giulietti  
Dra. Patricia Della Rocca  
Dra. Stella Maris Alzamora  
Dr. José Luis Boiardi  
Dra. María del Pilar Buera  
Dra. Carmen Campos  
Dr. Marcos Cohen  
Dra. Marina De Escalada Pla  
Dra. Gabriela Inés De Noya  
Dra. María Claudia Degrossi  
Dra. Alicia Gallo  
Ing. María del Carmen Gutiérrez  
Dr. Rodolfo Mascheroni  
Dra. Roxana Beatriz Páez  
Dra. Silvia Mónica Raffelini  
Dr. Sergio R. Vaudagna

*Agradecemos a las autoridades, docentes, investigadores y personal no docente de la Facultad Regional Buenos Aires quienes desde distintos lugares colaboraron para el desarrollo de este primer Taller.*

*Así mismo, expresamos nuestro agradecimiento a todos los participantes, expositores, y conferencistas por sus valiosos aportes.*

## Índice de Trabajos

Antimicrobianos naturales de origen vegetal: algunas estrategias para su aplicación comercial.....	9
Bacterias lácticas como fuente de bacteriocinas y biosurfactantes: su empleo en la preservación de alimentos.....	12
Inhibición de virulencia bacteriana de patógenos de alimentos con productos naturales .....	13
Producción y conservación de un fermento láctico capaz de mejorar panes sin gluten .....	16
Optimización de la técnica PMA-qPCR para cuantificación de <i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga (STEC) viable en hamburguesas de carne vacuna.....	17
Efecto de la composición del sistema sobre la acción antimicrobiana de la natamicina .....	18
Bacterias lácticas autóctonas: alternativas para la biopreservación o el agregado de valor en alimentos de origen vegetal .....	20
Herramientas biotecnológicas para obtener aromas y mejorar sabores aprovechando residuos frutihortícolas.....	23
Valorización de subproductos de la industria frigorífica bovina. Obtención de péptidos antioxidantes mediante hidrólisis enzimática de pulmón .....	25
Hidrolizados enzimáticos de proteína de suero lácteo: influencia de factores fisicoquímicos sobre la actividad biológica observada .....	28
Bagazo de yacón para la crioconservación de bacterias lácticas de interés industrial.....	29
Efecto de altas presiones hidrostáticas sobre parámetros de calidad y microbiológicos en una bebida fermentada utilizando suero lácteo .....	30
Obtención de ingredientes funcionales a partir de harina desgrasada de chía mediante proteólisis con papaína.....	31
Revalorización de residuos fibrosos provenientes de raíces tuberosas: efecto de tratamiento térmico y ultrasonido.....	32
Caracterización química del producto de fermentación del expeller de soja con <i>Lactobacillus casei</i> .	33
Revalorización de bagazo cervecero a partir de fermentaciones en sustrato sólido para la producción de bioetanol .....	34
Diseño de medios de cultivo a partir de hidrolizados de plasma bovino.....	35
Ensayo de estabilidad en recubrimientos comestibles a base de lactosuero para extender la vida útil de manzanas.....	36
Compuestos fenólicos en subproductos de soja fermentados con <i>L. casei</i> .....	37
Selección del solvente para la recuperación de compuestos bioactivos de diferentes orujos de vino tinto de Cafayate .....	38
Optimización de la metodología de la extracción de polifenoles de orujo varietal Malbec.....	39
Aprovechamiento del suero de ricota para la producción de biomasa de <i>Chlorella vulgaris</i> . .....	40
Escalado de la producción de <i>Chlorella vulgaris</i> utilizando un subproducto de la industria cervecera artesanal como sustrato.....	41
Fortificación de alimentos vegetales con hierro y probióticos .....	44
Kefir: desde la preparación artesanal a sus aplicaciones biotecnológicas.....	46
Alimentos naturalmente más frescos y seguros .....	48
Aplicación de técnicas moleculares en la detección de patógenos en alimentos .....	51

Aprovechamiento del lactosuero mediante hidrólisis enzimática de sus proteínas con Alcalasa®: obtención de un ingrediente potencialmente funcional .....	53
Producción, purificación e inmovilización de inulinasa fúngica .....	54
Producción de Fructoligosacáridos y Fructopolisacáridos a Partir de la Levansacarasa de <i>Gluconacetobacter Diazotrophicus</i> . .....	55
Bombón gelificado a base de calabaza ( <i>Cucurbita moschata</i> ) tratada enzimáticamente .....	56
Extracción de pigmentos antocianos a partir de frutilla, frambuesa y zarzamora .....	57
Capacidad emulsificante de biosurfactantes producidos por bacterias lácticas .....	58
Efecto de la hidrólisis enzimática en las propiedades fisicoquímicas de galactomananos y su reactividad.....	59

***Herramientas Biotecnológicas  
Utilizadas para la Preservación de  
Alimentos***

# **Conferencias**



## Antimicrobianos naturales de origen vegetal: algunas estrategias para su aplicación comercial

Stella M. Alzamora\*, Paula L. Gómez, María B. Coronel

Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ-CONICET)

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428 CABA.

\*smalzamora@gmail.com

El uso de agentes antimicrobianos de ocurrencia natural para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y de deterioro ha recibido especial atención en los últimos 20 años debido a las preferencias del consumidor hacia alimentos con bajo nivel de antimicrobianos sintetizados químicamente y características de “natural”. Estos compuestos se aíslan de varias fuentes, incluyendo animales, vegetales y microorganismos, en los cuales constituyen parte de los sistemas de defensa. Esta presentación versa sobre el uso de compuestos bioactivos de plantas para mejorar la estabilidad microbiológica de alimentos. Se discuten las principales limitaciones que presentan dichos antimicrobianos naturales y se presentan algunas estrategias en estudio para favorecer su aplicación industrial [1].

### Principales factores que afectan la actividad antimicrobiana

#### Variación en la composición química

La composición/contenido de los compuestos antimicrobianos derivados de plantas están influenciados por el origen botánico, las condiciones pre- y pos cosecha y los pasos de preparación y técnicas de extracción [2].

Dichos compuestos, incluyendo aceites esenciales, proteínas, terpenoides, flavonoides y fenoles, entre otros, pueden ser obtenidos de una o más partes de la planta (hojas, flores, piel, semillas, raíces, frutos, rizomas, y exudados), variando su composición química según la parte de la planta de origen.

Los compuestos bioactivos derivados de plantas son metabolitos secundarios cuyo rol es proteger a la planta de predadores y patógenos; estos metabolitos varían debido a factores ambientales y genéticos que influyen la expresión genética. Algunos están preformados, pero otros son inducidos por infección y factores ambientales adversos (i.e. estrés hídrico, estrés salino, estrés por frío o por calor). La actividad antimicrobiana cambia debido a las diferencias en la composición química de dichos compuestos. Por ejemplo, los aceites esenciales son líquidos hidrofóbicos conteniendo más de 200 compuestos: la fracción volátil (90-95 % p/p) contiene mono y sesquiterpenos y sus derivados oxigenados junto con ésteres, alcoholes y aldehídos alifáticos, mientras que la fracción no volátil está constituida por hidrocarburos, ácidos grasos, esteroides, carotenoides y flavonoides. Estudios comparativos sobre la eficacia antimicrobiana de diferentes aceites esenciales indican mayor efectividad a mayor contenido de fenoles totales.

La extracción es el primer paso para separar los compuestos naturales de la matriz vegetal. Las técnicas de extracción clásicas (extracción por solventes, maceración e hidrodestilación) son las más usadas a nivel comercial y se basan generalmente en el poder extractor de varios solventes y la aplicación de calor y/o mezclado. Entre las desventajas que presentan pueden mencionarse largos tiempos de extracción, requerimiento de altos volúmenes de solventes, baja selectividad, daño a sustancias termolábiles (oxidación y degradación de compuestos no saturados o esterificados) y bajo rendimiento. Para superar estas desventajas se están planteando técnicas no convencionales de extracción, caracterizadas por mayor selectividad y por necesitar menor cantidad de solventes y energía y menores tiempos de extracción. Entre ellas pueden mencionarse extracción con fluidos supercríticos, extracción líquida presurizada, extracción asistida por microondas o ultrasonido o enzimas o pulsos eléctricos. Dichas técnicas pueden acoplarse a otros procesos de extracción. Las técnicas de extracción y los parámetros del proceso pueden afectar las propiedades físico-químicas y la proporción natural de los compuestos bioactivos, e incluso las condiciones operativas pueden modularse para cambiar la selectividad de acuerdo al compuesto(s) deseado(s) [3].

La variabilidad natural e inducida en la composición química y en el contenido de compuestos bioactivos afecta dramáticamente las propiedades antimicrobianas y conduce a la necesidad de estandarizar la composición de los mismos y los procesos de obtención.

#### Interacción con la matriz alimenticia y estabilidad físico-química

Dependiendo de la estructura y los ingredientes del alimento, los antimicrobianos pueden requerir hasta 1000 veces la dosis *in vitro* (caldo, medios planctónicos) para ser igualmente efectivos en situaciones *in vivo* (alimento), superándose el valor umbral sensorial de estos compuestos. Los compuestos activos pueden interaccionar con proteínas, grasas, azúcares y sales y/o pueden adsorberse en la múltiples interfaces de los alimentos, quedando sólo una parte de la cantidad total del mismo disponible para ejercer su efecto antimicrobiano [4].

Unido a esto, muchos compuestos presentan baja solubilidad en agua, alta volatilidad, estabilidad limitada a la degradación física y/o química y liberación no controlada.

### **Incrementando la eficacia de antimicrobianos derivados de plantas**

Entre las estrategias sugeridas para superar estas limitaciones, al menos parcialmente, puede mencionarse la aplicación de los aceites esenciales en fase vapor, el uso de los antimicrobianos en combinación con otros factores de estrés y el empleo de nuevos sistemas de suministro o entrega.

#### Aplicación de aceites esenciales en fase vapor

Muchos compuestos de los aceites esenciales son volátiles, propiedad conveniente para su uso en alimentos almacenados. Debido a la naturaleza hidrofóbica de los aceites esenciales, el agua no es un buen solvente y por lo tanto se logra una mayor efectividad a relativamente menores concentraciones que en fase líquida, con menor efecto en las propiedades sensoriales.

Es interesante mencionar que en general se ha detectado un efecto sinérgico cuando dos o más aceites esenciales se usan en forma combinada, lo cual reduce el impacto organoléptico. Además del efecto en los lípidos de membrana y los cambios en la permeabilidad de la membrana celular de hongos patógenos de plantas, algunos aceites esenciales utilizados para prolongar la vida poscosecha estimularían los mecanismos de defensa de vegetales y frutas [5,6].

#### Combinación con otros antimicrobianos y/o factores de conservación

La actividad antimicrobiana de los compuestos activos de plantas es usualmente moderada cuando se aplican como único factor de conservación. Por ello, el uso de combinaciones de compuestos bioactivos con otros antimicrobianos u otros factores de estrés (tecnologías de “barrera”) ha sido intensivamente estudiado/aplicado [7]. Si bien el efecto de las combinaciones depende del tipo y concentración de microorganismos, la dosis de los factores de estrés y del alimento, puede concluirse que:

- muchos aceites esenciales muestran actividad sinérgica cuando se aplican simultáneamente combinados entre sí o con otros antimicrobianos sintéticos, probablemente por su efecto en diferentes blancos celulares. Pero también la interacción puede ser antagonista o aditiva, dependiendo de la matriz, el microorganismo considerado y el tiempo, siendo difícil la predicción [1]
- los aceites esenciales combinados con otras tecnologías “no térmicas” o con tratamiento térmico suave pueden resultar en efectos letales sinérgicos, asociados con modificaciones en la cubierta celular.
- se ha observado sinergia o aditividad debido al efecto microbicida de factores de estrés “no térmicos” y subsecuente efecto microstático de los antimicrobianos naturales durante el almacenamiento.

#### Sistemas de suministro

En los últimos años se han empezado a desarrollar sistemas de administración de estos antimicrobianos naturales con varios beneficios potenciales comparados con la adición directa de los antimicrobianos: mayor estabilidad físico-química, mayor solubilidad en agua, menor impacto sensorial, liberación controlada, mayor uniformidad en la dispersión y rápida penetración del activo hasta el blanco celular [8,9]. Estos sistemas pueden clasificarse en emulsiones, nano transportadores y películas de envasado activas. Muchos de estos sistemas son de desarrollo reciente y no hay todavía mucha información disponible sobre la interacción con la matriz alimenticia, el impacto sensorial, los aspectos tecnológicos de su incorporación, los aspectos toxicológicos de las nanoestructuras generadas y la estabilidad de los sistemas a lo largo de la vida útil del producto. Sin embargo, dado el interés suscitado, se espera en pocos años disponer a nivel comercial de estos antimicrobianos encapsulados.

### **Bibliografía**

- [1] Lopez-Malo, A., Paris, M. J., Lastra-Vargas, L., Palou, E., Alzamora, S.M., Gómez, P. L., Coronel, M. B. (2019). Naturally occurring compounds – Plant sources. En *Antimicrobials in foods*, ed. M. Taylor, M. Davidson, David, ch. 14. 4th ed, CRC Press, in press.
- [2] Mukherjee, P. K., Harwansh, R. K., Bahadur, S., Duraipandiyar, V., and Al-Dhabi, N. A. (2017). Factors to consider in development of nutraceuticals and dietary supplements. En *Pharmacognosy: fundamental applications and strategies*, ed. S. Badal, Delgoda, R., 653-661. UK: Academic Press.
- [3] Gallego, R., Bueno, M., and Herrero, M. (2019). Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – An update. *Trends in Analytical Chemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>.
- [4] Weiss, J., Gaysinsky, S., Davidson, M., and McClements, J. (2009). Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In *Global Issues in Food Science and Technology*, ed. G. Barbosa-Canovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess, K. Buckle, P. Colonna, 425-79. New York: Academic Press.
- [5] Reyes-Jurado, F., Cervantes-Rincón, T., Bach, H., and López-Malo, A. (2019). Antimicrobial activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*), thyme (*Thymus vulgaris*) and mustard (*Brassica nigra*) essential oils in gaseous phase. *Industrial Crops & Products* 131: 90-5.
- [6] Tzortzakis, N. G. (2010). Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology* 142: 14-8.

- [7] Alzamora, S. M., Guerrero, N. S., Raffellini, S., Ferrario, M., Schenk, M. (2017). Hurdle technology in fruit processing. En Fresh-cut fruits and vegetables. *Technology, Physiology and Safety*, 101-38. Boca Raton: CRC Press.
- [8] Fu, Y., Sarkar, P., Bhunia, A. K., and Yao, Y. (2016). Delivery systems of antimicrobial compounds to food. *Trends in Food Science & Technology* 57: 165-77.
- [9] Prakash, A., Baskaran, R., Paramasivam, N., and Vadivel, V. (2018). Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review. *Food Research International* 111: 509-23.

## **Bacterias lácticas como fuente de bacteriocinas y biosurfactantes: su empleo en la preservación de alimentos**

**Carmen Campos**

Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ-CONICET)

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428 CABA.

carmen@di.fcen.uba.ar

En la actualidad los consumidores prefieren alimentos de fácil preparación, seguros, naturales y sin aditivos de origen “químico”. Esto ha incentivado la búsqueda de aditivos naturales, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. En particular, los microorganismos producen distintos aditivos como respuesta a diversas situaciones fisiológicas a las que se enfrentan resultando de especial relevancia y potencial los sintetizados por las bacterias lácticas (BL), ya que su uso en la elaboración de alimentos fermentados ha demostrado que su consumo es seguro. Las BL durante su metabolismo sintetizan distintos compuestos, entre ellos, ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, vitaminas, péptidos bioactivos, bacteriocinas y biosurfactantes. Las bacteriocinas son un grupo heterogéneo de péptidos sintetizados en los ribosomas y que presentan actividad antimicrobiana contra diversos microorganismos tanto patógenos como deteriorativos de importancia en la industria alimentaria. Su acción antimicrobiana se debe a que desestabilizan y vuelven más permeable la membrana celular. Se pueden incorporar a los alimentos de diferentes formas; i) como cultivo protector, en este caso la producción ocurre *in situ*, ii) como aditivo, en forma purificada o semi-purificada, iii) como ingrediente, el cual contiene la bacteriocina formada en el proceso de fermentación previa del ingrediente. En cualquier caso, la cepa productora debe ser GRAS (*generally recognized as safe*) para poder ser aceptada por la legislación para su uso en alimentos; el espectro de inhibición debe ser el adecuado para la finalidad que se propone su uso y debe ser compatible su incorporación al alimento. Se han propuesto diversas aplicaciones de las bacteriocinas como antimicrobianos en distintos alimentos y se han realizado numerosísimos estudios en el tema. Sin embargo, a nivel de reglamentaciones, se ha aprobado el uso de unas pocas bacteriocinas para algunos alimentos específicos. Queda mucho trabajo por hacer para lograr la aplicación a nivel industrial: se debe continuar con la identificación de cepas productoras, de nuevas bacteriocinas y optimizar su actividad antimicrobiana mediante distintas estrategias. Además, es importante establecer el efecto de los distintos componentes del alimento sobre su actividad y estabilidad. Para ejemplificar algunos avances en el área se comentan los resultados de trabajos realizados por el grupo de investigación en relación al aislamiento y caracterización de cepas bacterioinogénicas a partir de embutidos artesanales y pescado, su caracterización y aplicación en la preservación de alimentos.

Los biosurfactantes son compuestos anfifílicos de diversa composición química (lipopéptidos, glicolípidos, glicoproteínas) y que tienen el potencial de ser empleados como aditivos multifuncionales en la elaboración de alimentos ya que pueden actuar como agentes antimicrobianos, anti-adhesivos y emulsificantes. Entre sus ventajas frente a los surfactantes sintéticos, cabe mencionar que presentan baja toxicidad y son biodegradables. Sin embargo, tienen un alto costo de producción. Para solucionar este hecho se ha propuesto el uso de desechos agroindustriales como sustrato y se vienen realizando investigaciones para optimizar su producción y evaluar sus posibles usos como antimicrobianos, emulsificantes, agentes anti-adhesivos y disruptores de biofilms. A nivel industrial en la actualidad se produce el producto Pre-liminate® para prevenir la formación de biofilms en superficies en contacto con alimentos. En el grupo de investigación se han realizado algunos estudios sobre la selección de BL productoras de biosurfactantes y la caracterización de la actividad superficial y la capacidad antiadherente y emulsificante de los biosurfactantes producidos.

Es de destacar que tanto las bacteriocinas como los biosurfactantes presentan un gran potencial para su empleo como aditivos en la industria alimentaria. En cuanto a los biosurfactantes falta información acerca de su acción antimicrobiana sobre la flora deteriorativa presente en alimentos, sobre las interacciones con otros aditivos o componentes presentes.

# Inhibición de virulencia bacteriana de patógenos de alimentos con productos naturales

**Mario Eduardo Arena**

Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria (INBIOFAL-CONICET)  
Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán  
marioarena@yahoo.com

Las enfermedades transmitidas por alimentos y el deterioro de los mismos son procesos complejos con gran impacto en la salud y la economía, de hecho, la conservación de los mismos preocupó a la humanidad desde épocas remotas. Tradicionalmente, en cada región se usaban productos naturales del lugar con el fin de condimentar o conservar un alimento.

En el siglo pasado hubo un abrupto cambio hacia conservantes sintéticos de uso universal. La tendencia actual es reducir o mejor aún eliminar el uso de antimicrobianos químicos, con miras a adoptar alternativas naturales. Desde el Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria (INBIOFAL), nos propusimos buscar productos de origen natural y regional para inhibir los mecanismos de resistencia bacteriana. Nuestro objetivo está basado en los antecedentes propios de la convivencia entre bacterias patógenas contaminantes de alimentos y el ser humano. Desde el descubrimiento de los antibióticos y desinfectantes el hombre ha logrado disminuir notablemente la elevada tasa de morbi-mortalidad debida a infecciones agudas. Por otro lado, el desarrollo de conservantes químicos y nuevos métodos de conservación han alargado la vida útil de los alimentos. En el siglo pasado muchas sustancias han sido ensayadas, contra bacterias en vida libre o estado planctónico en búsqueda de su capacidad antimicrobiana y varias de ellas han demostrado su poder antibiótico o desinfectante. Sin embargo, fueron inefectivas en procesos infecciosos crónicos o en contaminaciones difíciles de erradicar en la industria de alimentos.

Con el descubrimiento del sistema de comunicación bacteriano llamado *Quorum sensing* (QS), y el entendimiento de que más del 90% de las bacterias viven en estado sésil dentro de biopelículas y no en vida libre, se ha podido entender el porqué de esos fracasos. Una sustancia puede necesitar una dosis 1000 veces superior para matar bacterias dentro de una biopelícula o biofilm que, en vida libre, esto se debe a muchos factores, entre ellos la dificultad de penetrar el mismo, los distintos fenotipos que expresan los clones celulares dentro del biofilm y porque está ralentizado el crecimiento bacteriano. Por otro lado, al activarse el QS, las bacterias cambian su metabolismo, se activan las islas de patogenicidad e intrincados sistemas de comunicación, regulados por diversas moléculas autoproducidas, llamadas autoinductores, que hacen que las bacterias expresen diversos factores de virulencia. Así, por ejemplo, se activa la formación de una biopelícula o biofilm. El biofilm presente en las superficies de industrias alimentarias es la principal fuente de enfermedades transmitidas por alimentos. Esto ha sido respaldado por diversos estudios en los cuales se ha reportado la presencia de autoinductores bacterianos en alimentos contaminados.

El QS también induce distintos tipos de adhesión bacteriana a superficies bióticas y abióticas, lo que permite el establecimiento y colonización microbiana. Los mecanismos de diseminación y escape también se relacionan con la comunicación bacteriana, por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* codifica para un total de cuatro sistemas de quimiotaxis y motilidad. Entre ellos el swarming es un desplazamiento coordinado y grupal sobre una superficie semisólida que permite la diseminación de bacterias en distintas matrices. Está comprobado además que para facilitar su difusión las bacterias producen distintos tipos de biosurfactantes, los cuales a su vez aumentan la resistencia natural de las bacterias a metales y otros compuestos.

Se activan adicionalmente diversos sistemas enzimáticos (elastasa, lipasa, fosfolipasa), capaces de degradar tejidos, proteínas, lípidos, con el consiguiente deterioro de alimentos y la propagación microbiana. A modo de ejemplo el QS controla la producción de enzimas hidrolíticas producidas por *Pseudomonas* que deterioran la leche. También inducido por QS se forman metabolitos secundarios pigmentados, tóxicos y altamente difusibles, conocidos como fenazinas, por ejemplo, piocianina que produce apoptosis rápida en neutrófilos. Existe una clara correlación entre la comunicación química bacteriana y la formación enzimática de coágulos o lisinas como mecanismos de protección y diseminación de bacterias Gram positivas.

Adicionalmente la sola presencia de autoinductores de QS en alimentos es un peligro sanitario debido a que a nivel del epitelio gástrico estas moléculas tienen un efecto supresor del sistema inmune. Por lo tanto, la inhibición de la producción de autoinductores de QS en alimentos puede considerarse un objetivo higiénico sanitario.

Hoy la ciencia debe enfocarse en la inhibición de virulencia bacteriana de patógenos, más que en la eliminación propiamente dicha de los mismos, puesto que el uso de antibióticos, tarde o temprano desencadena resistencia a los mismos y lo que se consigue es seleccionar patógenos más poderosos que luego serán difíciles de eliminar.

Una estrategia actual consiste en volver a los contaminantes no virulentos y susceptibles a simples procesos de limpieza y desinfección, esto se puede lograr inhibiendo el sistema de comunicación bacteriana, la formación de biofilm y los principales factores de virulencia. ¿Cómo se podría lograr esto? La respuesta siempre estuvo en la naturaleza, los mamíferos poseemos un intrincado sistema inmune, en cambio las plantas, hongos y las mismas bacterias no lo poseen o no es tan complejo. Sin embargo, durante millones de años de evolución se las arreglaron para no ser infectadas, hoy se conoce que uno de los mecanismos involucrados sería justamente la inhibición del QS. Por lo tanto, existen productos naturales que pueden incrementar la seguridad y protección de alimentos mejorando la salud del consumidor al disminuir la virulencia y sobrevivencia de los microorganismos contaminantes y su capacidad de colonización y/o invasión intestinal.

Dado que el CODEX Alimentario es muy estricto en el uso de nuevas fuentes de compuestos bioactivos y que el ambiente condiciona los metabolitos producidos por cada organismo, nos focalizamos en especias, condimentos y aceites esenciales producidos en el norte el país, con el objetivo de validar una nueva aplicación de los mismos. Por otro lado, y teniendo en cuenta el desarrollo de una agroindustria sostenible y sustentable buscamos darle un valor agregado a subproductos y desechos de agroindustrias del país.

Tenemos resultados promisorios que nos pueden llevar al desarrollo de aditivos funcionales, a los cuales les investigamos además sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas, antiinflamatoria e inocuidad. Logramos resultados con potencial aplicación terapéutica o remediadora al disrumpir el biofilm previamente formados y donde los antibióticos no fueron eficaces e inclusive pudimos suprimir el metabolismo bacteriano en células remanentes de un biofilm.

Pensar en un nuevo concepto, llamado química comunicacional, focalizado en el estudio de metabolitos con capacidad de interrumpir el QS y los procesos de virulencia y resistencia microbiana, nos lleva al desafío de desarrollar productos más seguros y saludables y abolir o disminuir el uso de conservantes y desinfectantes químicos con conocidos efectos adversos. Así mismo, revalorizar los conocimientos ancestrales que llevaron a Colón en su búsqueda de especias a descubrir América o a Hipócrates a afirmar "Deja que tu alimento sea tu primer medicamento".

## ***Trabajos Presentados***

# Producción y conservación de un fermento láctico capaz de mejorar panes sin gluten

Florencia Geraldina Paulón<sup>a\*</sup>, Carlos A. Osella<sup>b</sup>, Andrea Quiberoni<sup>a</sup>, María Luján Capra<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET), Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

<sup>b</sup> Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

\*paulonflor@gmail.com

**Palabras claves:** biomasa, fermento láctico, conservación, funcionalidad tecnológica, pan sin gluten

## Resumen

El pan preparado con una premezcla comercial sin TACC mejoró en textura y organolepsis por fermentación con *Weissella cibaria* (W20), propagada en caldo MRS. Un paso crítico para usar microorganismos como fermentos es su producción a gran escala. Previamente, se seleccionó un medio de cultivo económico, sin TACC, apto para escala industrial. La tecnología de conservación de biomasa adoptada debe considerar que, aun cuando no ocurran modificaciones en la viabilidad celular, algunos parámetros de funcionalidad de los cultivos pueden afectarse por procesos a los que se someten durante la preparación del fermento. Los objetivos del estudio fueron (i) optimizar y simplificar condiciones operativas de un fermentador de laboratorio para maximizar producción de biomasa de W20, con una adecuada capacidad de desarrollo y a bajo costo; (ii) evaluar la estabilidad y vida útil durante el almacenamiento congelado del cultivo iniciador W20, y su funcionalidad tecnológica en elaboración de pan sin TACC. Se realizaron fermentaciones en un reactor tanque agitado de laboratorio con control de temperatura y pH (Sartorius Biostat A plus de 2 L), en un medio a base de permeado de suero de quesería (PSQ) inoculado (1 %) con W20. Se probaron dos fuentes de carbono, fermentaciones a pH libre o controlado a 5,6 (NaOH 8M), presencia/ausencia de burbujeo de CO<sub>2</sub>, tiempos y velocidades de agitación. Se determinaron: viabilidad por recuentos microbiológicos, DO<sub>560</sub> en un espectrofotómetro (Metrolab M1700, Mercosur), evolución del pH y del potencial de O<sub>2</sub>. La biomasa producida se centrifugó (8000 rpm, 10 min, 10 °C) y se determinó la masa del *pellet*. Cuando se agregó sacarosa como azúcar común Tipo A al medio, previa esterilización, el desarrollo de W20 (2,5.10<sup>9</sup> UFC/ml, 8 h) fue similar al obtenido con glucosa agregada en solución estéril post-esterilización, eligiéndose al medio con sacarosa (PSQS) por bajar costos y facilitar aspectos operativos. La cosecha de biomasa en PSQS (13,9 g) fue mayor que en PSQ glucosa (8 g), debido a que en presencia de sacarosa la cepa produce exopolisacáridos capsulares (EPC). A pH controlado (5,6) se logró el máximo (4,5.10<sup>9</sup> UFC/ml) a las 8 h y la biomasa producida (46,3 g) aumentó. El incremento de agitación (150 a 250 rpm) a la 5<sup>ta</sup> hora, produjo un máximo recuento (5,5.10<sup>9</sup> UFC/ml, 7 h), con mayor producción de células (21,5 g) por sobre la producción de EPC (17,4 g). El aumento de la velocidad de agitación (de 250 a 400 rpm) y el burbujeo de CO<sub>2</sub> (0 a 5 h), no mejoraron la producción, pero complejizaron y encarecieron la operación. La fermentación con W20 en PSQS a pH controlado y con aumento de agitación (de 150 a 250 rpm en la 5<sup>ta</sup> hora) logró capacidad de desarrollo apropiada, siendo esta condición utilizada en la producción de células de W20 para la prueba de conservación. La biomasa producida fue cosechada, lavada y concentrada 10X. Se ensayó a 2 temperaturas (-20 y -80 °C) y 4 medios de suspensión: leche descremada estéril (LDE), PSQS, *buffer* fosfato 50 mM, pH 7(BF) y sobrenadante de fermentación con ajuste a pH 6,5 (SN). La viabilidad celular (VC) y la funcionalidad tecnológica (FT) se determinaron pre-congelamiento y, cada mes para todos los congelados (VC) o cada 3 meses solo para el medio de suspensión y la temperatura en que se obtuvo mayor VC (FT). La VC se determinó por recuentos microbiológicos en agar MRS y la FT, por desempeño del cultivo iniciador W20 en elaboraciones de pan sin TACC, observando capacidad para reproducir mejoras ya demostradas. El pan control (PC) se preparó según el proveedor de la premezcla (solo fermentada con levadura) y los panes experimentales se fermentaron primero con W20 y luego, con levadura según se optimizó en un trabajo previo: PE1 con W20 propagada en MRS y PE2 con W20 propagada en fermentador y congelada en la opción de conservación con mayor VC. A -80 °C la VC se mantuvo para todos los medios y a -20 °C cayó levemente para LDE y SN. A -20 °C PSQS disminuyó 1,9 y 2,4 órdenes log al 1<sup>er</sup> y 3<sup>er</sup> mes, respectivamente, mientras que BF conservó VC original por 6 meses. Por ser BF el medio más económico y -20 °C, temperatura disponible en la industria, se seleccionó ese congelado para elaborar los PE2. La FT luego de 3 y 6 meses a -20 °C en BF se mantuvo en comparación con el PE1 mostrando para ambos (PE1 y PE2) mayor volumen específico, alveolos más pequeños y con distribución regular, y mejoras organolépticas -aroma y sabor suavizados, eliminación del gusto a almidones residuales y leve acidez que asemeja a “pan de campo”- respecto del PC. Los resultados indican que W20 se conserva en BF a -20 °C como cultivo iniciador al menos por 6 meses.



## Optimización de la técnica PMA-qPCR para cuantificación de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) viable en hamburguesas de carne vacuna

María de los Ángeles Rey<sup>a\*</sup>, Mariana Cap<sup>a</sup>, Sergio Ramón Vaudagna<sup>a,b</sup>, Marina Valeria Mozgovej<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto Tecnología de Alimentos, CIA, INTA Castelar, Argentina

<sup>b</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

\*rey.angeles@inta.gob.ar

**Palabras claves:** STEC, qPCR, hamburguesas, PCR de viabilidad

### Resumen

El PMA (*propidium monoazide*) es un colorante que se intercala entre las hebras de ADN de forma irreversible impidiendo su amplificación por PCR. La membrana bacteriana es impermeable al colorante por lo que este sólo puede penetrar células cuyas membranas se encuentren comprometidas y complejarse con el ADN gracias al paso de fotoactivación con luz azul LED. El complejo PMA-ADN así formado inhibe la acción de la polimerasa. De esta forma, la señal obtenida por qPCR solo es atribuible a células viables remanentes post tratamiento de inactivación bacteriana.

El objetivo del presente trabajo fue poner a punto la técnica PMA-qPCR para evaluar viabilidad de STEC en hamburguesas de carne vacuna. Para ello, se determinó la concentración mínima de PMA necesaria para inhibir la señal de bacterias muertas y la influencia del PMA en la amplificación de ADN de distintas concentraciones de bacterias vivas. En ensayos posteriores se verificó la capacidad de discriminar bacterias viables en un rango de concentraciones en presencia de una alta concentración de bacterias muertas inactivadas por calor, tanto en cultivo como en hamburguesa. La cepa seleccionada para los ensayos fue STEC O157:H7 (EDL 933). El PMA se incorporó a las muestras junto con el *PMA enhancer* y se sometió a la fotoactivación durante 15 min. Luego se realizó la extracción de ADN mediante kit comercial y se amplificó un fragmento del gen *stx2* por PCR en tiempo real.

La concentración de PMA necesaria para anular la señal de 5 log UFC/ml de bacterias muertas fue de 100 µM, concentraciones más altas no pudieron ser inhibidas con esta cantidad de colorante. Se demostró que el PMA no afectaba la señal de bacterias vivas comparando los valores de Ct (*cycle threshold*, ciclo umbral de señal) obtenidos entre un grupo de muestras con concentraciones crecientes de bacterias vivas (3 a 6 log UFC/ml) tratadas y sin tratar con el colorante. Los valores de Ct no variaron significativamente entre estos dos tipos de muestras por lo que se corroboró que el colorante no pudo penetrar las membranas bacterianas intactas. La capacidad de discriminar entre bacterias vivas y muertas se evaluó preparando un grupo de 9 muestras conteniendo 5 log UFC/ml de bacterias muertas combinadas con concentraciones crecientes de células vivas, desde 1 hasta 7 log UFC/ml, primero en cultivo y luego en homogenato de hamburguesa de carne vacuna. Los resultados de las muestras tratadas con PMA 100 µM mostraron una disminución del Ct consistente con el aumento de la concentración de células vivas, habiéndose anulado la señal de las bacterias muertas en cada una de las mezclas. Esto evidencia la capacidad del PMA para discriminar células viables de no viables, tanto en cultivo como en hamburguesa.

La técnica de PMA-qPCR resulta una alternativa novedosa y con gran potencial para detectar viabilidad de STEC en hamburguesas que hayan sido tratadas para inactivar este microorganismo.

## Efecto de la composición del sistema sobre la acción antimicrobiana de la natamicina

Laura I. Schelegueda<sup>a,b\*</sup>, Elizeth T. Herbas Vargas<sup>a</sup>, María F. Gliemmo<sup>a,b</sup> y Carmen A. Campos<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Industrias. Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> CONICET – Universidad de Buenos Aires, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROC). Buenos Aires, Argentina.

\*laura.schelegueda@conicet.gov.ar

**Palabras claves:** natamicina, goma gellan, xilitol, estevia, *Zygosaccharomyces bailii*

### Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de la composición del sistema sobre la acción antimicrobiana de la natamicina, antimicrobiano producido por *Streptomyces natalensis*. En una primera etapa, se determinó la mínima concentración inhibitoria (MCI) de la natamicina contra *Zygosaccharomyces bailii*, microorganismo utilizado como indicador durante todo el estudio. Para ello, se aplicó la técnica de dilución en caldo Sabouraud con pH 3,50. Se prepararon diluciones seriadas de una solución de natamicina. Se colocaron alícuotas de cada dilución en los pocillos de una microplaca y se inocularon con  $10^6$  UFC/ml de *Z. bailii*. Las microplacas se incubaron a 30°C durante 48 horas. Se definió la MCI como la mayor dilución a la cual se observó inhibición del crecimiento microbiano después de la incubación. En una segunda etapa, se formularon sistemas que modelan alimentos gelificados de reducido tenor glucídico y se evaluó el efecto de cada componente sobre la acción inhibitoria previamente observada. Se elaboraron sistemas líquidos (caldo Sabouraud) y sistemas gelificados (caldo Sabouraud; 1,80 % m/m de goma gellan). El pH se ajustó a 3,50 agregando ácido cítrico 50,0 % m/m. Todos los sistemas se adicionaron con la MIC de natamicina correspondiente al sistema líquido. Además, se estudió la incorporación de 20,0 % m/m de xilitol, de 0,175 % m/m de estevia y de la combinación de ellos. Se elaboraron sistemas control, sin la adición de aditivos. Todos los sistemas se inocularon con  $10^4$  UFC/gr de *Z. bailii*. Luego, se les agregó 0,075 % m/m de  $Cl_2Ca \cdot 2H_2O$  para inducir la gelificación y se incubaron a 25°C durante 5 días. Las muestras se tomaron los días 0, 1, 2 y 5. A cada tiempo, se realizó el recuento de la población de *Z. bailii* en placas de agar Sabouraud. Las placas se incubaron a 25°C por 5 días. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos obtenidos de los recuentos expresados como  $\log(N/N_0)$  se analizaron mediante un ANOVA de dos factores (sistema y tiempo) seguido por el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ). La natamicina fue capaz de inhibir el crecimiento de *Z. bailii*, obteniendo un valor de MCI de 6,25 ppm. El agregado de la MCI de la natamicina a los sistemas modelo produjo una notoria inhibición del crecimiento de *Z. bailii*, la cual se mantuvo durante todo el almacenamiento. Dicho efecto fue mayor en los sistemas gelificados, en los cuales se logró una inhibición de 2 ciclos logarítmicos al final del almacenamiento. El agregado de xilitol no afectó la inhibición que ejerce la natamicina sobre *Z. bailii* en los sistemas líquidos. Sin embargo, en los sistemas gelificados se encontró una inhibición menor en presencia de los dos aditivos que en presencia de natamicina sola. Una tendencia similar se observó al agregar estevia a los sistemas en estudio. La incorporación de la mezcla ternaria de los aditivos a los sistemas líquidos causó una inhibición del crecimiento de la levadura similar a la causada por la presencia de natamicina y xilitol. Por otra parte, en los sistemas gelificados, el efecto de la mezcla ternaria fue similar al de la mezcla de natamicina y estevia y menor que el producido por la mezcla de natamicina y xilitol. En todos los casos, la incorporación de otros aditivos disminuyó la acción antagonista ejercida por la natamicina sobre *Z. bailii*. La mezcla ternaria de aditivos no resultó efectiva, ya que es posible obtener resultados similares sin la necesidad de agregar los tres componentes. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la importancia del estudio de las interacciones de los distintos componentes de un alimento a fin de asegurar su inocuidad.

## Espicias cultivadas en Argentina inhiben el biofilm de *Staphylococcus aureus*

Andrea Estefanía Capetta\*, Rocío Daniela Inés Molina, María Rosa Alberto, Mario Eduardo Arena

Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria (INBIOFAL-CONICET-UNT), Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán

\*andycapetta@gmail.com

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*, biofilm, coriandro, pimentón, laurel.

### Resumen

*Staphylococcus aureus* es una causa importante de enfermedades transmitidas por alimentos porque puede contaminar los mismos durante su elaboración y procesamiento principalmente debido a que forma biofilms en equipos y superficies de la industria alimentaria. *S. aureus* es un microorganismo que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos, sumado a su capacidad para formar biofilms en dispositivos médicos, causa una gran variedad de enfermedades infecciosas, las que aún a altas dosis de antibióticos no se pueden controlar. Por todo lo mencionado es de gran importancia buscar alternativas naturales para combatir a este microorganismo. Las especias coriandro (*Coriandrum sativum*), laurel (*Laurus nobilis*) y pimentón (*Capsicum annum*), generalmente reconocidas como seguras (GRAS), poseen una amplia variedad de actividades biológicas, particularmente antioxidante y antimicrobiana. El objetivo de este trabajo fue determinar las propiedades antibacterianas y antibiofilm frente a *S. aureus* de extractos de coriandro (C), laurel (L) y pimentón (P) cultivados en Argentina provistas por la empresa Saborigal.

Los extractos se prepararon mediante maceración con solventes de polaridad creciente a temperatura ambiente. De cada especia se obtuvieron cuatro extractos (E) por agotamiento: hexánico (EHC, EHL, EHP), clorofórmico (ECC, ECL, ECP), acetato de etilo (EAC, EAL, EAP), metanólico (EM) y un extracto metanólico total (EMTC, EMTL, EMTP). Se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales expresados en equivalentes de ácido gálico por miligramo de extracto ( $\mu\text{g}$  EAG/mg) por el método de Folin-Cicolteau (DO 765 nm). La actividad antibacteriana se evaluó mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y mediante la medición de la absorbancia (DO 560 nm). Se analizó la inhibición del biofilm utilizando los métodos espectrofotométricos del cristal violeta (DO 580 nm) y del 3- [4, 5-dimetiltiazol-2-il] -2, 5-difeniltetrazolio (MTT) (DO 570 nm). El trabajo y deposición de los solventes potencialmente tóxicos se realizó de acuerdo a las normativas vigentes de bioseguridad.

En 11 de los 15 extractos analizados, se detectó la presencia de polifenoles siendo los más ricos los extractos EAL (77,07  $\mu\text{g}$  EAG/mg de extracto seco), EML (85,56  $\mu\text{g}$  EAG/mg) y EMTL (66,18  $\mu\text{g}$  EAG/mg). La mejor actividad antibacteriana frente a 8 cepas de *S. aureus* se observó con los extractos de laurel, siendo el más activo el EAL (CIM 125-500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). A concentraciones subCIM (10 y 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) las inhibiciones del crecimiento de *S. aureus* ATCC 25904 fueron menores al 30% en todos los casos. La mayoría de los extractos, a 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , fueron capaces de inhibir la formación del biofilm de *S. aureus* ATCC 25904 con porcentajes superiores al 30%, destacándose los extractos EMTC (42%) EHL (55%), EHC (60%), EAP (61%), ECP (73%) y EHP (75%), siendo estos últimos dos los más activos a 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (58 y 53%, respectivamente). Estos extractos también mostraron una fuerte inhibición de la actividad metabólica de un biofilm previamente formado, siendo los porcentajes 92 y 89% para EHP y ECP, seguidos de EMTC (87%) y EHC (76%).

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que en las 3 especias evaluadas el solvente de menor polaridad (hexano) fue el más efectivo para extraer metabolitos con capacidad inhibitoria de la formación de biofilm. De todas las muestras ensayadas, los extractos menos polares de pimentón (EHP y ECP) fueron los más efectivos para evitar la formación del biofilm e inhibir la actividad metabólica de las células de *S. aureus* en biofilm, sugiriendo una potencial aplicación en superficies de industrias alimenticias y en la industria farmacéutica.

## Bacterias lácticas autóctonas: alternativas para la biopreservación o el agregado de valor en alimentos de origen vegetal

Silvia G. Ortiz\*, Alicia Gallo, Silvia Raffellini

Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján (UNLu)

\*silunlu@yahoo.com.ar

**Palabras clave:** bacterias lácticas, bioprotección, microorganismos probióticos

### Resumen

Entre las herramientas que la biotecnología brinda a la industria alimentaria se destacan los cultivos microbianos constituidos por bacterias lácticas. Estos cultivos se aplican en diversos procesos de elaboración de alimentos donde pueden cumplir diferentes funciones, como por ejemplo la fermentación de las matrices, o el aporte de característica probióticas con la consiguiente diferenciación y agregado de valor del producto. En vistas a la generación de innovaciones en alimentos de origen vegetal, constituye un desafío la aplicación de microorganismos ya sea como bioprotectores para inhibición de microbiota deteriorante o patógena o bien como probióticos que brinden efectos benéficos a la salud de los consumidores. Por este motivo, el objetivo de este trabajo ha sido aislar, a partir de frutas y hortalizas frescas, cepas de bacterias lácticas autóctonas con características fisiológicas y adaptativas que posibiliten su utilización como cultivos bioprotectores o probióticos en alimentos de origen vegetal. Las cepas se aislaron en medio MRS a partir de arándanos, tomates, moras, brotes de soja, zanahoria y hortalizas de hoja, y se identificaron mediante métodos tradicionales y moleculares. Para seleccionar las cepas lácticas con capacidad inhibitoria se evaluaron los efectos antagonicos en co-cultivos celulares, por método de estrías cruzadas, y en los extractos de los cultivos lácticos libres de células (ELC), por el método de difusión en agar, contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus* y *Cronobacter sakazakii*. Para la caracterización preliminar de los metabolitos antimicrobianos, los ELC se sometieron a la acción de catalasa, proteasas y exposición a 100 °C durante 30 minutos. Para evaluar la potencialidad de ser empleadas como microorganismos probióticos, las cepas seleccionadas por su capacidad inhibitoria se sometieron a la determinación in vitro de la resistencia al pasaje por el tracto gastrointestinal, mediante la exposición secuencial a una digestión simulada. Los resultados obtenidos mostraron que, de las 213 cepas aisladas, 98 se identificaron en forma preliminar como bacterias lácticas, de las cuales 9 cepas se seleccionaron por su capacidad altamente inhibitoria contra bacterias patógenas e indicadoras. Estas cepas se identificaron como pertenecientes a las especies *Leuconostoc mesenteroides* (4 cepas), *Lactobacillus brevis* (2 cepas), *Enterococcus faecium* (2 cepas) y *Weissella confusa* (1 cepa). La mayor capacidad inhibitoria de las 9 cepas se observó contra *Listeria monocytogenes* (promedio de zonas de inhibición  $20,1 \pm 0,43$  mm). La actividad inhibitoria de los ELC de las cepas seleccionadas permaneció estable frente a la acción de la catalasa y el tratamiento térmico, pero fue afectada por la acción de las proteasas, lo cual indicaría que esta actividad puede ser debida a metabolitos termorresistentes de naturaleza proteica tipo bacteriocina. Por otro lado, 6 de estas cepas presentaron resistencia a la digestión gástrica simulada, destacándose especialmente la cepa *Lactobacillus brevis* LBL 1008 por haber presentado además la mayor actividad antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes* (promedio de halo de inhibición  $23 \pm 0,8$  mm) y contra *Salmonella* Enteritidis (promedio de halo de inhibición:  $23 \pm 2,1$  mm). Por consiguiente, se concluye que estas cepas lácticas autóctonas podrían emplearse en alimentos de origen vegetal como bioconservantes y presentan potencialidad para ser adicionadas como microorganismos probióticos, con el posible agregado de valor que esta incorporación aportaría al alimento en el que se incluyen.

# ***Revalorización de subproductos y residuos de la industria alimentaria***

# **Conferencias**

## Herramientas biotecnológicas para obtener aromas y mejorar sabores aprovechando residuos frutihortícolas

Pilar Buera

ITAPROQ-UBA, Departamento de Industrias, Argentina.  
pilar.buera@gmail.com

Recientemente, debido a la percepción de ser más seguros, más saludables y más sostenibles se ha impulsado el uso de sabores y fragancias obtenidas de fuentes naturales. Esto se verifica tanto para la elaboración de alimentos y bebidas como para el cuidado personal y cosmética.

Las legislaciones de la mayoría de los países han definido que los aromas "naturales" pueden prepararse tanto por procesos físicos (extracción de fuentes naturales) o por procesos enzimáticos o microbianos, que involucran precursores aislados de la naturaleza. Los compuestos del aroma etiquetados como "naturales" se convierten en productos rentables, mientras que otros que se producen en la naturaleza pero que se sintetizan mediante métodos químicos deben denominarse "idénticos al natural" y son menos apreciados. Estas diferencias han estimulado muchas investigaciones destinadas a desarrollar nuevos procesos biotecnológicos. En esta presentación se tratan varios de los enfoques biotecnológicos mencionados y metodologías para producir y recuperar aromas y mejorar sabores naturales.

Por ejemplo, la vainillina es el sabor más importante en términos de niveles de consumo. Este compuesto se obtiene de las vainas de orquídeas tropicales, a niveles del 2% p/p, pero menos del 1% del mercado mundial está cubierto por el compuesto extraído y toda la vainilla natural en el mundo no alcanzaría para otorgar este aroma a todos los productos deseados. El valor de la vainillina sintética, preparada principalmente a partir de guayacol, es mil veces menor que el de la vainillina extraída de las vainas que varía entre 1200 y 4000 US\$ /kg [1]. Por lo tanto, recientemente se han desarrollado varios procesos biotecnológicos para la producción natural de vainillina, incluida la bioconversión de lignina, fenilpropanoides (ácido ferúlico, eugenol, isoeugenol) y estilbenos fenólicos, además de la biosíntesis de *novo* [2, 3].

El aporte del metabolismo microbiano al desarrollo del sabor en bebidas fermentadas y productos lácteos ha sido explotado durante miles de años. El uso de cultivos microbianos para la síntesis de moléculas específicas aromáticas, que requiere el conocimiento de rutas metabólicas, ofrece varias ventajas sobre las metodologías tradicionales. Muchos procesos propuestos en cultivos microbianos o en tejidos vegetales tienen más valor académico que práctico y las aplicaciones industriales se limitan a algunos componentes del aroma: vainillina, benzaldehído, fenil-alanina, decalactona. La producción industrial a menudo carece de rentabilidad económica, sobre todo porque los sabores microbianos están presentes en bajas concentraciones en caldos de fermentación, que resulta en altos costos para el tratamiento *down-stream*. Existen otros problemas que dificultan la producción a gran escala: (i) la toxicidad de compuestos de aroma hidrófobos, que inhiben el metabolismo microbiano, incluso a concentraciones bajas; (ii) la volatilidad y la baja solubilidad en agua de muchos sabores hace que su recuperación sea difícil [2].

Para aumentar la diversidad de compuestos producidos y disminuir los costos de producción, el campo de los sabores biológicos requiere procesos altamente innovadores, como la explotación de la enantioselectividad de reacciones enzimáticas implicadas en las vías biosintéticas. Las enzimas constituyen claramente una poderosa caja de herramientas catalítica verde para muchas transformaciones químicas debido a su alta actividad y selectividad para reacciones catalizadas, aunque mantener el estado conformacional activo es un punto clave para largos tiempos de operación bajo condiciones de reacción. Son importantes la elección y diseño del tipo de reactor, del biocatalizador y su estabilización, las condiciones de funcionamiento, así como también el modo de recuperación y la transferencia de masa, que es necesaria para el avance de la reacción, minimizando los costos operativos. El uso de bioprocesos continuos altamente eficientes para la síntesis / extracción de aromas naturales es económicamente efectivo y prometedor para una producción a gran escala de sabores biológicos. El enfoque potencialmente más importante para el futuro consiste en la obtención de compuestos naturales del aroma a partir de subproductos de alimentos. Entre las producciones de la región, el 28% de la producción de cítricos se industrializa, principalmente para producir jugos y subproductos, como fruta brillantada. Los principales problemas que enfrenta dicha industria son la merma en el rendimiento del jugo, asociada a la presencia de pectina y la aparición de sabor amargo debido principalmente a la narinjina [4]. La hidrólisis enzimática es la técnica la que se aplica de forma comercial para reducir ambos tipos de inconvenientes, por su elevada eficiencia y especificidad. El complejo enzimático narinjinas hidroliza la narinjina eliminando el típico sabor amargo, y la inmovilización de enzimas es de interés para el aprovechamiento integral de frutos cítricos. La explotación de biopolímeros de fuentes autóctonas para este fin representa una ventaja adicional.

El desarrollo de nuevos métodos utilizando producción limpia y enfoques sostenibles adecuados para la aplicación industrial se beneficia, por ejemplo, mediante el acoplamiento de reacciones enzimáticas a reactores de membrana. La mayoría de los aromas de ésteres se producen por la síntesis química clásica basada en el uso de derivados de sustrato (por ejemplo, derivados de haluro de acilo, anhídridos, etc.) y disolventes orgánicos volátiles como medios de reacción, lo que legalmente excluye su etiquetado como productos "naturales". Dichos ésteres poseen propiedades aromáticas frutales y florales que son muy apreciados en las industrias cosmética, farmacéutica, y alimentaria. Las lipasas se encuentran entre los más importantes biocatalizadores para la síntesis de valiosos ésteres para sabores y fragancias, por esterificación o trans-esterificación en medios de reacción con un bajo contenido de agua [5]. Las aplicaciones tecnológicas de las enzimas inmovilizadas mejoran en ambientes no acuosos en comparación con su medio de reacción acuoso natural, ya que se acotan las reacciones laterales. Por lo tanto, la esterificación directa en medios de reacción libres de solventes podría ser considerado como el mejor enfoque para sintetizar aromas ésteres naturales empleando ácidos carboxílicos y alcoholes obtenidos de fuentes naturales como sustrato. En contraste, los enfoques de transesterificación catalizados por enzimas implican el uso de sustratos no naturales que se pueden ver como un claro impedimento para cualquier intento de obtener productos "naturales", especialmente cuando los medios de reacción están basados en solventes orgánicos volátiles. Recientemente, el empleo de lipasas para producir ésteres de ácidos carboxílicos de cadena corta (como el acetato de geranilo, propionato de cinamilo, acetato de anisilo, etc.) en líquidos iónicos como medios de reacción y separación en reacciones de transesterificación enzimática, ha surgido como una alternativa novedosa y eficiente, compatible con el desarrollo sostenible [6].

Muchas de las aplicaciones mencionadas podrían constituir avance importante en la obtención de aromas naturales para la agregar valor mediante tecnologías limpias y en forma sostenible, a subproductos o residuos agroindustriales, a la vez que se valorizan fuentes vegetales autóctonas. Es de notar que todas las estrategias innovadoras apuntan a la mejora de la calidad de los nuevos productos y protección del medio ambiente.

#### **Bibliografía**

- [1] 2018 Natural Aroma Chemicals E-book MilliporeSigma (Sigma-Aldrich) © Merck KGaA, Darmstadt, Germany [www.PerfumerFlavorist.com](http://www.PerfumerFlavorist.com) (2018)
- [2] Shaaban, H.A., Mahmoud, K.F., Amin, A.A., EL Banna, H.A. (2016). Application of Biotechnology to the Production of Natural Flavor and Fragrance Chemicals. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 7: 2670-20717.
- [3] Havkin-Frenkel, D. y Belanger, F.C. (2008). En: *Biotechnology in Flavor Production*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, U.K.
- [4] Singha, J., Kundua, D., Dasa, M-, Banerjee, R. (2019). Enzymatic processing of juice from fruits/vegetables: an emerging trend and cutting edge research in food biotechnology. En: *Enzymes in Food Biotechnology*. Ed. Elsevier Inc. pp. 419-432
- [5] Gomes Almeida, A., de Meneses, A.C., Hermes de Araújo, P.E., de Oliveira, D. (2017). A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries. *Trends in Food Science & Technology* 69:95-105.
- [6] Alvarez, E., Rodriguez, J., Villa, R., Gomez, C., Nieto, S., Donaire, A. y Lozano, P. (2019). Clean enzymatic production of flavor esters in spongelike ionic liquids. *ACS Sustainable Chem.Eng.* DOI: 10.1021/acssuschemeng.9b02537 (2019)



# Valorización de subproductos de la industria frigorífica bovina. Obtención de péptidos antioxidantes mediante hidrólisis enzimática de pulmón

Fernanda Martinez<sup>a\*</sup>, Vanina Ambrosi<sup>a</sup>, Ana Maria Sancho<sup>a</sup>, Natalia Szerman<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación de Agroindustria, INTA, Argentina

<sup>b</sup> CONICET – Argentina

\*martinez.fernanda@inta.gob.ar

## Introducción

Anualmente, durante la faena, el sector cárnico produce una gran cantidad de subproductos. Estos constituyen alrededor de un 66% del peso del animal. Por subproductos de origen animal se entiende todo el que no se encuentre comprendido en la definición de carne, incluyendo los que proceden de animales muertos por enfermedad o naturalmente (Decreto 4238/68, SENASA) [1]. Entre estos se pueden mencionar, por ejemplo, huesos, tendones, piel, contenido del sistema gastrointestinal, sangre y órganos internos. La mayoría de estos subproductos no son apropiados para el consumo humano debido a sus propiedades fisicoquímicas y su inocuidad. Por lo tanto, su costo de venta es muy bajo o pueden generar un gasto adicional en su disposición final. Sin embargo, debido a su elevado contenido de proteínas, algunos de estos subproductos pueden utilizarse como sustrato para la obtención de hidrolizados proteicos. Estos hidrolizados están compuestos de péptidos con diferentes actividades funcionales, tales como antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, antihipertensivas, etc. Entre estos, los péptidos con características antioxidantes presentan un creciente interés ya que la oxidación es una de las causas más importantes de deterioro de los alimentos. En la actualidad, se busca sustituir parcial o totalmente los antioxidantes sintéticos más utilizados en los alimentos (BHT y BHA) los cuales han demostrado tener riesgos potenciales para la salud por sustancias antioxidantes naturales.

## Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue optimizar las condiciones de hidrólisis enzimática, a escala laboratorio, de un subproducto de la industria cárnica bovina utilizando enzimas proteolíticas comerciales para obtener un hidrolizado con alta capacidad antioxidante.

## Materiales y Métodos

### Medición de capacidad antioxidante:

**DPPH:** Se determinó según el método descrito por Bersuder et al. [2], con ligeras modificaciones. La capacidad antioxidante se expresó como la concentración de péptidos (mg/ml) necesaria para inhibir el 50% de DPPH (IC50)

**ABTS:** Se determinó según el método descrito por Re et al. [3], con algunas modificaciones. La capacidad antioxidante de las muestras se expresó como la concentración de péptidos (mg/ml) necesaria para inhibir el 50% de ABTS (IC50).

**FRAP:** Se evaluó basado en el protocolo de Wu et al. [4]. El resultado se expresó en mM de Trolox por mg de proteína del hidrolizado

**Cuantificación de la concentración de proteínas:** método de Lowry et al. [5]

**Grado de hidrólisis (GH):** Método de OPA

**Electroforesis SDS-PAGE con Tricina**

## Resultados y discusión

**Ensayos preliminares:** Se determinó la composición centesimal de tres subproductos: pulmón, cuajo y librillo bovino. De estos tres subproductos, la composición centesimal del pulmón bovino (proteína 15%; humedad 80%; cenizas 0,8%; materia grasa 2,3 % y carbohidratos 1,9%) presentó alta concentración de proteínas y baja de grasa, y fue seleccionado para continuar con los ensayos de hidrólisis. Luego, se determinó si era necesarios realizar un tratamiento previo a la hidrólisis. Para ello, el pulmón se picó en una picadora de carne y se homogenizó en buffer fosfato 0,1N (pH 7) o en agua (concentración de proteínas 4% p/p). Luego, las muestras se sometieron a un pre-tratamiento que consistió en 30 min en un baño a ebullición. Posteriormente, se colocaron 60 mL de homogenizado en Erlenmeyers de 125 mL, en un baño termostático con una agitación de 40 o.p.m. a 55°C, y se incorporó la enzima Alcalasa 2.4L (Novozymes, Dinamarca) al 5% p/p. El tiempo de reacción fue de 240 min y se finalizó la hidrólisis mediante inactivación térmica a 100°C-20 min. En relación al GH, los mayores valores se obtuvieron para el pulmón sin pre-tratamiento, sin diferencias entre el homogenizado en agua o en buffer. En cuanto a la actividad antioxidante, evaluada por el método de capacidad de bloqueo del radical ABTS, los mayores valores se obtuvieron para los hidrolizados obtenidos del pulmón homogenizado en buffer,

independientemente del pre-tratamiento aplicado. Por lo tanto, en los ensayos subsiguientes se utilizará pulmón sin pretratamiento, homogenizado en buffer.

**Ensayo de optimización:** Se planteó un diseño central compuesto para estudiar las siguientes variables: relación enzima/sustrato (E/S; 0,65-4,85), temperatura (43,2–76,8°C) y pH de reacción (5,8-9,2). El sustrato se homogenizó en buffer fosfato o borato 0,1N de acuerdo al pH estudiado (concentración de proteínas 4% p/p). Luego, se colocaron 60 mL de homogenizado en Erlenmeyers de 125 mL, en un baño termostático con una agitación de 40 o.p.m a la temperatura establecida por el diseño experimental. La combinación de enzimas Alcalasa 2.4L/Flavourzyme 1:1 (Novozymes, Dinamarca) se agregó en las distintas relaciones E/S establecidas por el diseño de optimización. El tiempo de reacción fue de 120 min y se finalizó la hidrólisis mediante inactivación térmica a 100°C-20 min. Luego, se centrifugó a 10000rpm-15min a 4°C y el sobrenadante se conservó a -40°C para su posterior estudio. La actividad antioxidante se midió por los métodos de capacidad de bloqueo de los radicales ABTS y DPPH y capacidad de reducción del hierro férrico FRAP. Los coeficientes de regresión para las determinaciones de capacidad antioxidante se obtuvieron por aplicación de análisis de regresión lineal múltiple. Para las tres variables respuesta, la falta de ajuste fue no significativa y sus coeficientes R<sup>2</sup> fueron mayores a 0,75. Mediante la función de deseabilidad se determinó que la combinación de factores que maximizó la capacidad antioxidante fue pH 8,2, relación E/S 2,75 y temperatura 53,3°C.

Luego, aplicando estas condiciones óptimas se estudió el avance del GH en el tiempo. Se observó un aumento del GH hasta los 180 min, alcanzando valores cercanos al 45%; sin embargo, ya a los 60 min el GH alcanzado fue de aproximadamente un 33%. En cuanto a la capacidad antioxidante evaluada en el tiempo, se observó un incremento hasta los 120 min de reacción, y luego, comenzó a disminuir. En general, ya a los 30 min se obtiene aproximadamente un 60% de la capacidad antioxidante que se logra a los 180 min de reacción. Mediante electroforesis en condiciones desnaturalizantes, en presencia de tricina, se confirmó la hidrólisis de las proteínas y la presencia de péptidos de PM < 6 kDa

#### Conclusiones

Se optimizó el proceso de hidrólisis de pulmón bovino con las enzimas Alcalasa 2.4L®/Flavourzyme® para la obtención de un hidrolizado con el mayor poder antioxidante, evaluado por tres técnicas antioxidantes: ABTS, FRAP y DPPH. Los valores óptimos de los factores de proceso para la obtención de un hidrolizado con la mayor capacidad antioxidante son temperatura de 53,3°C, relación E/S 2,75%(p/p) y pH 8,2. Luego de 30 min de reacción, se obtiene una capacidad antioxidante correspondiente a aproximadamente un 60% del total (luego de 120 min de reacción). Mediante electroforesis en condiciones desnaturalizantes, en presencia de tricina, se confirmó la hidrólisis de las proteínas y la presencia de péptidos de PM < 6 kDa

#### Bibliografía

- [1] SENASA. Reglamento de Inspección de Productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal. Decreto 4268/68.
- [2] Bersuder, P., Hole, M., & Smith, G. (1998). Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. I: Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 181-187. doi: 10.1007/s11746-998-0030-y
- [3] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- [4] Wu, C.R., Huang, M.Y., Lin, Y.T., Ju, H.Y., & Ching, H. (2007). Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins. *Food Chemistry*, 104(4), 1464-1471. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.023>
- [5] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.

## ***Trabajos Presentados***

## Hidrolizados enzimáticos de proteína de suero lácteo: influencia de factores fisicoquímicos sobre la actividad biológica observada

Emilse Camila López<sup>a,\*</sup>, Fernanda Marino<sup>a</sup>, Enrique José Mammarella<sup>a,b</sup>, Guillermo Adrián Sihufe<sup>a</sup> y Ricardo Martín Manzo<sup>a,b\*</sup>

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

<sup>b</sup> Cátedras de Microbiología y Biotecnología, Facultad de Ingeniería Química-UNL, 3000, Santa Fe, Argentina.

\*rmmanzo@santafe-conicet.gov.ar; emilsecamilalopez@outlook.com

**Palabras claves:** Lactosuero, Bioactividad, Grado de hidrólisis, Alimento funcional

### Resumen

Los péptidos bioactivos son secuencias específicas de aminoácidos que presentan propiedades biológicas cuando son liberados de la proteína madre que los contiene. La liberación de los mismos se puede lograr por medio de hidrólisis química, microbiana y/o enzimática. Esta última es la predilecta, ya que permite controlar la reacción de hidrólisis y mantener intactas las secuencias aminoacídicas. Por tal motivo, se planteó la obtención de hidrolizados enzimáticos a partir de un subproducto industrial (concentrado de proteínas de suero lácteo, WPC 80) con diferentes grados de hidrólisis y la evaluación de la presencia de actividad antioxidante (AAO) y antihipertensiva (AAH).

La hidrólisis enzimática se llevó a cabo en un reactor tipo batch con control de temperatura (50°C), pH (9,25) y agitación constante utilizando una solución de WPC 80 preparada al 7% (m/v) en buffer carbonato 100 mM pH 10 y la enzima Alcalasa 2,4L (EC 3.4.21.62) de *Bacillus licheniformis* (Novozymes A/C, Dinamarca), en una relación enzima:sustrato de 1:110. Los grados de hidrólisis alcanzados se determinaron empleando el método del pH-stato. Luego, los hidrolizados fueron congelados, liofilizados y preparados a tres concentraciones (10, 30 y 100 mg/ml) y a tres valores de pH (6, 7 y libre por disolución en agua) para evaluar la AAO utilizando ABTS como agente redox y la AAH empleando el ensayo de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina. Para cada hidrolizado se obtuvo también su control, en iguales condiciones de hidrólisis (exceptuando el agregado de la enzima) y luego de ser congelados, liofilizados y preparados en las mismas concentraciones y valores de pH, se determinaron las actividades antioxidante y antihipertensiva de los mismos. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza para determinar la variable independiente significativa. Luego, las diferencias significativas entre las medias se determinaron mediante las pruebas de rango simple y múltiple (prueba LSD de Fisher) utilizando el software Statgraphics Centurion XV 15.2.06.

Se obtuvieron hidrolizados con dos grados de hidrólisis diferentes: 22,1% con un tiempo de reacción promedio de 36 min y 29,1% con un tiempo de reacción promedio de 216 min. Los resultados de la AAO y AAH de los mismos fueron estadísticamente mayores que sus controles, lo que indica que el WPC 80 es una fuente de péptidos bioactivos con potencial aplicación en alimentos. Por un lado, la variación en los valores de pH no tuvo influencia estadística sobre las bioactividades evaluadas. Por otro lado, el cambio en la concentración presentó una influencia directamente proporcional a su incremento y el ascenso del 7% en el grado de hidrólisis no ocasionó un cambio significativo en las actividades biológicas estudiadas. Estos resultados son alentadores ya que estimulan el uso de un desecho industrial para la producción de péptidos bioactivos que pueden ser incorporados en la formulación de un alimento funcional. Además, el hecho de no observar un incremento de bioactividad como consecuencia del aumento en el grado de hidrólisis, permitiría disminuir en hasta 6 veces los tiempos de producción de los hidrolizados bioactivos, lo cual resulta muy beneficioso al momento de evaluar los costos operativos y la viabilidad general del proceso.

## Bagazo de yacón para la crioconservación de bacterias lácticas de interés industrial

Ernesto O. Sanabria<sup>a</sup>, Malena González<sup>b,c</sup>, María E. Cayré<sup>a</sup>, Julieta Pedreira<sup>b</sup>,  
Carmen A. Campos<sup>b,c</sup>, María F. Gliemmo<sup>b,c,\*</sup>, Marcela P. Castro<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional del Chaco Austral. Laboratorio de Microbiología de Alimentos. P.R. Sáenz Peña, Chaco.

<sup>b</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Industrias. Buenos Aires, Argentina

<sup>c</sup> CONICET - Universidad de Buenos Aires, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ). Buenos Aires, Argentina

<sup>d</sup> CCT Nordeste. CONICET.

\*mfg@di.fcen.uba.ar

**Palabras claves:** yacón, liofilización, cultivos microbianos, subproductos alimentarios

### Resumen

El Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) es una raíz andina con conocidas características funcionales debido a su alto contenido en fructooligosacáridos (FOS), azúcares reductores, polifenoles, aminoácidos y minerales. El bagazo de yacón es un subproducto de la extracción del jugo que posee altos niveles de FOS y de fibra incluso después de la deshidratación. Estos compuestos resultan de interés en procedimientos de secado spray y liofilización de células microbianas en los que se utilizan como sustancias protectoras. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la factibilidad de uso del bagazo liofilizado de yacón como sustancia crioprotectora para la liofilización de la cepa funcional *Lactobacillus sakei* ACU-16. El jugo de yacón se elaboró a partir de raíces de yacón, las que se lavaron, pelaron y cortaron en cubos; éstos se sumergieron en ácido cítrico, se escaldaron al vapor y se enfriaron por inmersión en ácido cítrico (pH 4,00). El bagazo obtenido se fraccionó en alícuotas de 100 g, las que se envasaron al vacío en bolsas Cryovac, se enfriaron y liofilizaron. Se utilizó un diseño experimental factorial con un factor categórico. Los factores fueron: medio de liofilización en tres niveles (A, B y C) y tiempo de almacenamiento en dos niveles (0 y 45 días). Para la preparación de los medios de liofilización a base de yacón se partió de una suspensión acuosa de bagazo (10% p/v). Una porción de suspensión se esterilizó a 121°C durante 15 minutos (medio A) y el resto de la suspensión se centrifugó y el sobrenadante libre de sólidos se esterilizó por filtración (medio B). Las células a conservar se cosecharon por centrifugación a 4°C a partir de un cultivo activo en caldo MRS y se lavaron dos veces con solución fisiológica. Alícuotas del pellet resuspendido en solución fisiológica se dispensaron en los medios A, B y en agua destilada (medio C). Las suspensiones se congelaron a -80°C por 4 horas y se liofilizaron a -30°C y 10 Pa por 48 horas. El número de células viables se determinó antes, inmediatamente después de la liofilización (t=0) y a los 45 días de almacenamiento a 5°C. La tasa de supervivencia (TS) fue expresada como porcentaje de la población inicial. Los análisis se realizaron por duplicado y se usó un análisis de varianza para comparar los resultados. El análisis del diseño mostró una influencia significativa del medio de liofilización sobre la TS, mientras que el tiempo de almacenamiento y la interacción de los factores no afectaron la respuesta. La TS fue significativamente más alta en presencia de los medios A (8,23 ± 2,47 %) y B (27,3 ± 7,0%) que en agua destilada (2,92 ± 0,76%), evidenciando un efecto protector de las sustancias presentes en los residuos de yacón. Sin embargo, la presencia de residuos sólidos en el medio de liofilización afectó negativamente el efecto protector. No se detectaron variaciones significativas en la TS después de 45 días de almacenamiento, sugiriendo una buena estabilidad del liofilizado en el tiempo. Si bien el jugo de yacón se presume como un alimento funcional y de amplia aplicación en la industria alimentaria, su extracción es de un rendimiento promedio de 57,24%. Por ende, tanto el estudio como el aprovechamiento del bagazo generado merecen ser abordados en pos de una futura industrialización. Los resultados de este trabajo demuestran que este subproducto de yacón posee características adecuadas para su aplicación en los procesos de crioconservación de cepas de bacterias lácticas de interés industrial.

## Efecto de altas presiones hidrostáticas sobre parámetros de calidad y microbiológicos en una bebida fermentada utilizando suero lácteo

Vanina Ambrosi<sup>a\*</sup>, Gabriela Denoya<sup>a,b</sup>, María L. Castells<sup>c</sup>, Sandra Sarquis<sup>c</sup>, German F. Aranibar<sup>c</sup>, Sergio. R. Vaudagna<sup>a,b</sup>, Mariana Nanni<sup>a</sup>, Gabriela Díaz<sup>a</sup>, Juan Pega<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup>Instituto Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación de Agroindustria, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Aristizábal y De La Tradición s/n, Hurlingham (1686), Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Av. Rivadavia 1917, CABA, Argentina.

<sup>c</sup>Centro de Investigaciones Tecnológicas para la Industria Láctea, Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI Lácteos). Av. General Paz 5445, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

\* ambrosi.vanina@inta.gob.ar, pega.juan@inta.gob.ar

**Palabras clave:** *Bebida fermentada, Suero lácteo, Altas presiones hidrostáticas, Extensión de vida útil, Métodos moleculares*

### Resumen

Actualmente, el aprovechamiento y valorización del suero proveniente de la industria láctea son de gran interés a nivel local y mundial, ya que este subproducto constituye un riesgo ambiental. Esto se debe tanto a que su volumen aumenta cada año (1-2% en el mundo), como a su elevada demanda bioquímica de oxígeno. En este contexto, la producción de bebidas fermentadas es una estrategia atractiva para valorizar a este subproducto. Sin embargo, la vida útil de estos alimentos a menudo está limitada por la acidificación que se produce durante su almacenamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) sobre parámetros de calidad y microbiológicos en una bebida fermentada, elaborada a partir de suero dulce proveniente de industrias lácteas. La fermentación se efectuó con los starters lácteos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Luego, la bebida se sometió a APH aplicando dos tratamientos diferentes: 200 MPa durante 10 min o 400 MPa durante 1 min; un grupo adicional de bebidas se mantuvo sin tratamientos como control. Se realizaron las siguientes determinaciones sobre las muestras almacenadas a 4°C, a los 1, 30 y 45 días post-APH: pH, parámetros cromáticos, análisis sensorial con panel entrenado en lácteos, recuentos de starters por métodos tradicionales de cultivo y cuantificación de starters por métodos moleculares (independientes de cultivo), mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) y qPCR con transcriptasa reversa (RT-qPCR). Al día 1 post-APH, todas las muestras presentaron valores de pH entre 4,7-4,9. Al día 30 post-APH, los tratamientos a 200 MPa por 10 min y 400 MPa por 1 min mostraron el mismo valor de pH (4,6) pero fueron significativamente más altos ( $p < 0,05$ ) que los observados para el grupo control (4,3). Este mismo hallazgo se registró a los 45 días post-APH. Acordemente, ambos tratamientos de APH preservaron el sabor y textura, de acuerdo al panel de análisis sensorial, de la bebida fermentada hasta 45 días post-APH y sin afectar los parámetros cromáticos. Los recuentos para ambas especies fueron más bajos en bebidas tratadas por APH que en los controles; no obstante, el tratamiento de 200 MPa mantuvo cantidades óptimas de bacterias ácido-lácticas totales (6,6-7,9 log CFU / mL), de acuerdo al nivel exigido por el Código Alimentario Argentino para este tipo de bebidas. Sin embargo, por medio de qPCR y RT-qPCR se pudo observar que los niveles de ADN y ARNm bacterianos persistieron sin cambios después del tratamiento con APH ( $> \sim 1,4 \times 10^5$  copias de genoma o ADNc / mL), incluso con el tratamiento más intenso de 400 MPa. Este trabajo indicó que ambos tratamientos de APH conservaron la calidad de la bebida hasta 45 días de almacenamiento refrigerado, proporcionando una vida útil más prolongada que la de bebidas fermentadas convencionales obtenidas de la leche. Se demostró así la factibilidad de la transformación de un subproducto considerado como contaminante en un producto alimenticio con valor agregado y posibles beneficios para la salud. Asimismo, se extendieron evidencias previas sobre la limitación de los métodos clásicos de cultivo para evaluar viabilidad microbiana, en relación a los métodos moleculares.

## Obtención de ingredientes funcionales a partir de harina desgrasada de chía mediante proteólisis con papaína

María Eugenia Galazzi<sup>a\*</sup>, María José Torres<sup>a,b</sup>, Alicia Gallo<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA)

<sup>b</sup> CIT NOBA (CONICET-UNNOBA-UNSAaA)

<sup>c</sup> Departamento de Tecnología, UNLu

\*euge\_gala@hotmail.com

**Palabras claves:** *Salvia hispánica L, hidrolizados proteicos, papaína, propiedades funcionales, antioxidantes*

### Resumen

La industria agroalimentaria genera subproductos que contienen nutrientes y no son aprovechados para alimentación humana. Tal es el caso de la harina desgrasada de chía (HDC), derivada de la extracción de aceite de las semillas, rica en fibra y proteínas con buen balance de aminoácidos esenciales, la cual constituye un subproducto de interés para incorporar al desarrollo de alimentos. La hidrólisis enzimática de las proteínas modifica sus propiedades funcionales, concediéndole ventajas para su empleo en el desarrollo de alimentos, y además puede liberar péptidos con diversas actividades biológicas, como la antioxidante.

El objetivo del trabajo fue obtener ingredientes funcionales a partir de la hidrólisis de las proteínas de chía con la enzima papaína. En primer lugar, se obtuvo un concentrado proteico (CPC) mediante lavados de la HDC con solución de etanol 50% y ácido acético 5% en agua. Posteriormente, las proteínas presentes en el CPC se hidrolizaron empleando dos dosis diferentes de papaína (3,1 y 6,2%; g de enzima/100 g de proteínas) durante 180 min a pH 6,5.

Se evaluaron las propiedades funcionales de las proteínas de la HDC, del CPC y de los hidrolizados (solubilidad a pH entre 2 y 12; capacidad de retención de agua a pH entre 3,5 y 7, CRag; capacidad de retención de aceite, CRac; capacidad gelificante y de hinchamiento, CG y CH respectivamente). Además, en los hidrolizados se ensayó la búsqueda de péptidos con actividad antioxidante mediante la técnica del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Comparando el CPC con la HDC se obtuvo un 7% más de contenido proteico, el doble de las proteínas solubles a pH 8, la CRag aumentó para pH entre 3,5 y 4,5 y disminuyó a pH entre 5 y 7. La CRac fue 1,9 veces mayor para el CPC, mientras que la CG se duplicó y la CH disminuyó. A partir del CPC se optimizó la hidrólisis de las proteínas de chía con papaína, hallándose que al aumentar la dosis de enzima se incrementó la actividad antioxidante. Utilizando 3,1% de proteasa, el hidrolizado presentó una actividad antioxidante 3,1 veces mayor que el CPC, y al doblar la dosis de enzima sólo se incrementó un 3% más, y la solubilidad de las proteínas aumentó a todos los pH ensayados (entre 2 y 12) para ambas dosis de proteasa. La CRac de las proteínas de chía aumentó un 16% con 3,1% de enzima respecto al CPC, mientras que con 6,2% disminuyó un 8,5%. Las capacidades gelificante y de hinchamiento aumentaron en las proteínas hidrolizadas respecto al CPC: la concentración necesaria para gelificar disminuyó 3 veces al hidrolizar con 3,1% de papaína y 2,4 veces con 6,2%, mientras que la CH aumentó 2 y 3 veces al hidrolizar con 3,1 y 6,2% de proteasa, respectivamente.

El uso de papaína permitió modificar las propiedades funcionales de las proteínas de chía y los hidrolizados obtenidos presentaron mayor actividad antioxidante que las proteínas sin hidrolizar. A partir de la HDC se lograron obtener productos con mayor valor agregado que podrán incorporarse a la formulación de alimentos aportando gran valor proteico

## Revalorización de residuos fibrosos provenientes de raíces tuberosas: efecto de tratamiento térmico y ultrasonido.

Karen Nataly Strack<sup>a\*</sup>, Cecilia Dini<sup>a</sup>, María Alejandra García<sup>a</sup>, Sonia Zulma Viña<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP –CONICET–CICPBA. 47 y 116 S/Nº. La Plata (B1900AJJ). Bs As.

<sup>b</sup> Curso Bioquímica y Fitoquímica. FCAyF-UNLP.

\*karenstrack15@gmail.com

**Palabras claves:** fibra dietaria, raíces tuberosas, extracción de almidón, ultrasonido, tratamientos térmicos.

### Resumen

Con vistas a un aprovechamiento integral de las raíces de la leguminosa andina *Pachyrhizus ahipa* (ahipa), que acumulan alrededor de 43-65% de almidón y contienen 20-26% de fibra dietaria total, y de mandioca (*Manihot esculenta*) cuyos valores oscilan entre 67-82% y 4-7%, respectivamente, se planteó recuperar y agregar valor a los residuos fibrosos remanentes de la extracción del almidón de éstas, evaluando sus características funcionales a fin de proponer usos para el enriquecimiento de productos alimentarios. Asimismo, se ensayaron tratamientos posteriores con el propósito de modificar la estructura de los residuos y proveer características tecnológicas diferentes respecto a los iniciales. El procedimiento se inició con seis extracciones acuosas sucesivas de las raíces peladas (1:2 p:v) de las que se obtuvieron los residuos A1 y M1 (A=ahipa; M=mandioca). Seguidamente, éstos se trataron térmicamente en autoclave (121°C, 1 atm de sobrepresión, 15 min), para obtener los residuos A2 y M2. Los residuos A3 y M3 resultaron de tratar luego los bagazos con ultrasonido (punta sonicadora, 80% potencia máxima, 3 pulsos de 1 min c/u). Los residuos fibrosos fueron analizados mediante microscopía óptica y electrónica de barrido. Se cuantificó colorimétricamente el almidón remanente. Se determinó su poder de hinchamiento (SP), capacidad de absorción de agua (WBC) y de aceite (OBC) y capacidad de retención de agua (WHC). Se cuantificaron espectrofotométricamente fenoles totales, taninos y no taninos y, volumétricamente, los grupos carbonilo y carboxilo presentes. De los residuos M1, M2 y M3 se estudió su comportamiento reológico en un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake. El contenido de almidón se redujo paulatinamente alcanzando valores de 21,94, 3,42 y 2,28% p/p para los residuos A1, A2 y A3 respectivamente. Los residuos de mandioca fueron significativamente más ricos en almidón: 50,77 (M1), 9,64 (M2) y 7,47% p/p (M3). Los tratamientos aplicados a los residuos de ahipa no modificaron su SP, WBC y WHC ( $P>0,05$ ). En mandioca, en cambio, el tratamiento térmico llevó a que el residuo M2 incrementara ( $P<0,05$ ) su SP, WHC y WBC y alcanzara valores de 7,03 mL/g, 7,88 g agua/g y 5,64 g agua/g, respectivamente. Los residuos de ahipa mostraron mayor OBC (2,72-3,48 g aceite/g) que los de mandioca. El contenido de fenoles totales, tanto en ahipa como en mandioca, se redujo por efecto de los sucesivos tratamientos, aunque resultó siempre más alto ( $P<0,05$ ) en ahipa que en mandioca (0,22 y 0,10% p/p para A3 y M3, respectivamente). El contenido de grupos carbonilo aumentó ( $P<0,05$ ) por efecto del tratamiento térmico, tanto en ahipa como en mandioca. Los valores más bajos de grupos carboxilo correspondieron a los residuos A2 y M2 (0,28 y 0,05 -COOH/100 unidades de glucosa). Sólo los residuos M1 y M3 formaron geles en suspensiones al 5% p/v, calentadas a 90 °C y enfriadas a temperatura ambiente. El residuo M1, relativamente rico en almidón remanente, formó un gel semirrígido. Para M2, el barrido de esfuerzo mostró un rango de viscoelasticidad lineal muy acotado (hasta 0,1 Pa), probando efectivamente que esta fracción no era formadora de geles. El comportamiento del residuo M3 resultó intermedio entre M1 y M2, formando un gel más débil que en el primer caso. Los métodos aplicados permitirían ampliar las propiedades tecnológicas y nutricionales de los residuos insolubles de la extracción de almidón de ahipa y de mandioca a relativamente bajo costo, posibilitando obtener ingredientes alimentarios que aporten fibra dietaria y recuperar productos de desecho resultantes del procesamiento de estas raíces.



## Caracterización química del producto de fermentación del expeller de soja con *Lactobacillus casei*

Adriana Castellanos<sup>a\*</sup>, Carolina Genevois<sup>bc</sup>, Silvia Flores<sup>ab</sup>, Marina de Escalada Pla<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Industrias, Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ). Buenos Aires, Argentina.

<sup>c</sup> CONICET. Centro de Investigaciones y Transferencia de Entre Ríos (CITER). Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER).

\*a.castell@hotmail.com

**Palabras claves:** Expeller de soja, *Lactobacillus casei*, composición química.

### Resumen

De acuerdo a la normativa vigente en Argentina, se entiende por subproductos oleaginosos, a los residuos sólidos resultantes de la extracción industrial del aceite a partir de granos oleaginosos. En estudios previos se utilizó expeller de soja como sustrato/soporte para *L. casei* mejorando la estabilidad del probiótico mediante la inmovilización. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del procesamiento y de la fermentación de expeller de soja con *L. casei* (ATCC393) sobre la composición química de ese subproducto. Tomando como base resultados previos donde se había determinado una formulación a base de expeller de soja que optimizaba el crecimiento celular, se preparó un sistema conteniendo 1 g de expeller seco (tamaño de partícula promedio = 393,75 µm), 4,74 cm<sup>3</sup> de agua destilada y 0,32 g de suero de queso. Se esterilizó a 120 °C durante 20 minutos y se inoculó con una suspensión de *L. casei* de 10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>3</sup> en caldo MRS. Luego de incubar 20 h a 37 °C, se centrifugó, lavó y deshidrató al vacío obteniendo la fracción Expeller Inoculado (EI). Un sistema Expeller control (EC), se preparó del mismo modo, pero sin inocular. Los sistemas se prepararon al menos por duplicado. El Expeller Natural (EN) de partida fue también caracterizado, a fin de poder dilucidar si los cambios observados correspondían al proceso de preparación de los sistemas o a la fermentación propiamente dicha. Se determinó el contenido de humedad, proteínas, lípidos, ácido fólico, y la fracción insoluble en alcohol (AIR). Esta última fue utilizada para cuantificar ácidos urónicos, carbohidratos totales (no celulósicos), celulosa y lignina. Además, se obtuvieron los espectros infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR). A su vez, para aquellas muestras que fueron procesadas, EI y EC, se determinaron los respectivos termogramas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado. Los sistemas no presentaron diferencias significativas en el contenido de humedad, mostrando valores en un rango de (5,4±0,5 – 6,4±0,2) % bs; ni en el porcentaje de lípidos (8,5±1,1 y 10,1±1,3) % bs. El tratamiento de esterilización, lavado y deshidratación, concentró ( $p < 0,05$ ) el contenido de proteínas (53,0±0,3; 53,1±0,3) % bs y de AIR (62±2; 58±6) %, para EC y EI respectivamente, habiendo partido de 43,0±0,2% de proteínas y 49±2% AIR en el EN. Mientras que la fermentación con *L. casei* redujo significativamente ( $p < 0,05$ ) el contenido de hidratos de carbono no celulósicos remanentes en el AIR (19,4±1,5% AIR para EI) respecto al control (EC) (20,1±1,5% AIR) y el contenido de ácido fólico, siendo 1,20±0,07 mg AF/ g para EI y 1,41±0,05 mg AF/ g para EC y 1,5±0,1 mg AF/ g para EN. Los contenidos de celulosa, y de lignina determinados en el AIR, no presentaron diferencias significativas entre las muestras. En el perfil espectral (FTIR), los sistemas mostraron un espectro similar en la transmitancia y longitudes de onda para algunas bandas característica. Sin embargo, se observó mayor intensidad en las bandas del rango ~1500-500 cm<sup>-1</sup> en los sistemas EI y EC respecto al EN posiblemente debido a la concentración del material de pared celular (AIR). Los termogramas mostraron un pico endotérmico ~71.79 °C en EC en 60,59 °C para EI, probablemente atribuible a una desnaturalización térmica de las proteínas. Se puede concluir, que el tratamiento de esterilización, lavado y deshidratación, concentró el contenido de proteínas y de AIR; y que la fermentación con *L. casei*, produjo cambios en la composición química de la matriz de expeller de soja, destacándose la reducción de un anti nutriente (ácido fólico).

## Revalorización de bagazo cervecero a partir de fermentaciones en sustrato sólido para la producción de bioetanol

Evelyn Wagner\*, Mara Eugenia Pería, Pablo Daniel Ghiringhelli y Natalia Lorena Rojas

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

\*evelyn\_wag@hotmail.com

**Palabras claves:** fermentación en sustrato sólido, *Trichoderma reesei*, sacarificación

### Resumen

En los últimos años, la cerveza se ha establecido dentro del mercado de bebidas alcohólicas como un producto con gran trascendencia a nivel mundial. Según la Cámara de Cerveceros Argentinos, en Argentina la industria cervecera (malterías y birrerías artesanales) impacta directamente en la economía. Los ingredientes utilizados en estas industrias (malta, lúpulo, levadura, agua y otros cereales cerveceros como el maíz) son producidos en un 90% en territorio local. Sin embargo, como subproducto del proceso de producción de cerveza, se genera un residuo, el bagazo cervecero (BC) representando alrededor del 30% (p/p) del grano malteado inicial. Esto deriva no solo a grandes cantidades generadas de BC sino también a elevados costos de disposición final del mismo, lo que conlleva a la búsqueda de alternativas para el aprovechamiento del residuo generado. Debido a las características químicas que presenta el BC, este puede ser aprovechado energéticamente para la producción de bioetanol mediante sacarificación seguida de fermentación.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el potencial del BC (obtenido de una planta industrial) como sustrato en fermentaciones en sustrato sólido (FSS) para la producción de enzimas implicadas en el proceso de producción de bioetanol.

Inicialmente, con la intención de caracterizar el BC para determinar su potencial como sustrato de FSS, se evaluaron diversos pre-tratamientos químicos con H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOH y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en distintas condiciones. Luego, se estudiaron las alteraciones generadas por los mismos a través de técnicas tales como espectroscopia por FT-IR, microscopía electrónica de barrido y análisis termogravimétrico (TGA). En todos los pre-tratamientos aplicados se logró alterar la biomasa del BC obteniendo mejores resultados aquellos tratados con agentes químicos fuertes tales como el NaOH y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Además, tal como era de esperarse, el pre-tratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> resultó en una mayor liberación de azúcares. Sin embargo, este es un proceso costoso, de alto impacto ambiental y que genera compuestos que pueden inhibir la fermentación posterior. Por este motivo, se continúa con el estudio y desarrollo de un pretratamiento alternativo que desestabilice la estructura del BC permitiendo la accesibilidad de las enzimas en la etapa de sacarificación.

Como modelo de estudio para evaluar las FSS se utilizaron cultivos de *Trichoderma reesei* (hongo filamentoso), los cuales desarrollaron actividades enzimáticas (endoglucanasas -EC 3.2.1.4-, exoglucanasas -EC 3.2.1.91- y  $\beta$ -glucosidasas -EC 3.2.1.21-, xilanasas -EC 3.2.1.8-, amilasas -EC 3.2.1.3-, lacasas -EC 1.10.3.2-, peroxidasas versátiles -EC 1.11.1.16-, manganeso peroxidasas -EC 1.11.1.13- y lignina peroxidasas -EC 1.11.1.14-) apreciables a partir de los 2,5 días de fermentación. Este resultado permite usar al BC como sustrato en FES ampliando el estudio a nuevas cepas de hongos filamentosos capaces de degradar este residuo y generar a partir del mismo un coctel de enzimas aplicables en el proceso de producción de bioetanol.

## Diseño de medios de cultivo a partir de hidrolizados de plasma bovino

Laura A Toyé\*, Danilo M Legisa, Maria Laura Matos, Mariela V Catone

Biotecnología Industrial – INTI

\*ltoye@inti.gob.ar

**Palabras claves:** hidrolizados, plasma, medios de cultivo, *Lactobacillus casei*

### Resumen

El diseño y formulación de medios de cultivo para microorganismos requiere una base de nutrientes que aporte polipéptidos, oligopéptidos y aminoácidos. El tratamiento enzimático de subproductos industriales surge como alternativa de bajo costo para la obtención de estos nutrientes. Distintos procesos de hidrólisis enzimática pueden dar lugar a valiosas fuentes de proteínas. La elección del sustrato y del grado de hidrólisis, son factores que influyen en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del hidrolizado. Sin embargo, no en todos los casos es factible hacer estas sustituciones, ya que la presencia o ausencia de ciertos nutrientes puede condicionar el crecimiento celular. En el caso de la industria cárnica el tratamiento y puesta en valor de subproductos como la sangre animal disminuye los costos de producción, y genera un valor agregado al proceso productivo total. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el crecimiento de una cepa de *Lactobacillus casei*, utilizando como fuente de nitrógeno hidrolizados obtenidos a partir de plasma bovino deshidratado en la formulación del medio de cultivo, en comparación con peptona comercial, y plasma sin hidrolizar. Se probaron 2 relaciones distintas de enzima/sustrato (E/S) para obtener un hidrolizado con alto (relación E/S 20%) y bajo grado de hidrólisis (relación E/S 2%), y se utilizaron como reemplazo de carne comercial en la formulación de medio MRS en distintas concentraciones (100, 50, 10 %), junto con plasma sin hidrolizar, para la producción de biomasa de una cepa de *Lactobacillus casei*.

En las condiciones de trabajo utilizadas, podemos concluir que el uso de hidrolizados de plasma bovino puede ser un buen sustituto para medios con peptonas comerciales para la generación de biomasa de *Lactobacillus casei*. Al comparar el porcentaje de hidrolizado en la composición del medio, se observaron diferencias significativas entre los distintos porcentajes utilizados. En este caso, la formulación con el 100% de hidrolizado mostró los valores de biomasa más altos. La comparación entre alta y baja hidrólisis no muestra diferencias significativas. Por lo tanto resulta más conveniente la utilización de hidrolizados con baja hidrólisis dado que son generados con un menor costo de enzima, y de esta manera con mayor posibilidad de implementación a escala industrial.

## Ensayo de estabilidad en recubrimientos comestibles a base de lactosuero para extender la vida útil de manzanas

Matías Ruiz<sup>a</sup>, Victoria Brandani<sup>a</sup>, Facundo Pieniazek<sup>b\*</sup>, Valeria Messina<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA)

<sup>b</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

\*fpieniazek@citedef.gob.

**Palabras claves:** Recubrimientos comestibles, lactosuero, vida útil.

### Resumen

En la industria quesera se generan subproductos que contaminan el medio ambiente. Uno de ellos es el lactosuero. Debido a que el costo que requiere minimizar la contaminación debido a este residuo es elevado, se propone darle un valor agregado. Se desarrollaron películas comestibles a base de lactosuero para extender la vida útil de las manzanas. Para asegurarse que estos recubrimientos cumplan su propósito, fue necesario que su composición se mantenga estable ante las variaciones de temperatura. Si los recubrimientos responden favorablemente frente a temperaturas altas, podría ser indicativo de que se podrían reducir los requerimientos de refrigeración durante las etapas de conservación y transporte. El objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades fisicoquímicas de los recubrimientos a distintas temperaturas en el tiempo. Las películas comestibles a base de lactosuero se evaluaron a dos temperaturas, temperatura ambiente y a 60 °C. Las muestras fueron analizadas semanalmente durante un periodo de 12 semanas. Se efectuaron ensayos de permeabilidad al vapor de agua (ASTM- Método E9693), dado que está relacionado directamente a la velocidad de maduración de las frutas; ángulo de contacto con el agua mediante el programa de computadora Image J a partir de imágenes obtenidas con una cámara digital; contenido de azúcares utilizando un refractómetro y textura utilizando el método de análisis de textura por imágenes (GLCM) acoplado al programa MATLAB a partir de las imágenes digitales. Los ensayos se realizaron por triplicado. A temperatura ambiente se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de hidratos de carbono hasta la semana 5. De la semana 5 a la 12 no hubo diferencias significativas. Se observaron mejoras en la permeabilidad y en el ángulo de contacto a lo largo del tiempo. Los ensayos efectuados a 60°C mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de azúcares hasta la semana 3. No se observaron diferencias significativas hasta la semana 12. Se observaron mejoras en la permeabilidad y en el ángulo de contacto a lo largo del tiempo. Los datos obtenidos mostraron que los recubrimientos presentan buenas propiedades de barrera al vapor de agua e incluso a altas temperaturas manteniendo su estructura y propiedades en el tiempo.

## Compuestos fenólicos en subproductos de soja fermentados con *L. casei*

Noelia Fernanda Paz\*, Adriana Castellanos, María del Pilar Buera, Marina F. De Escalada Pla.

ITAPROQ (Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos), FCEyN (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales) – UBA-CONICET.

\*nonipaz@outlook.com

**Palabras claves:** soja, expeller, okara, *L. casei*, antioxidante.

### Resumen

El consumo de ciertos derivados de soja está asociado a la reducción del riesgo de enfermedades no transmisibles. *Expeller* y okara se obtienen como residuos de la extracción del aceite y la leche de soja, respectivamente. Ambos contienen compuestos bioactivos, tales como los polifenoles. En trabajos previos, se estudió la fermentación de estos subproductos mediante *L. casei* a fin de obtener un ingrediente funcional conteniendo el probiótico soportado en una matriz vegetal. El objetivo de este trabajo fue cuantificar los polifenoles totales en subproductos del procesamiento de soja, sin y con fermentación con *L. casei*. Para ello, se trituraron a polvo cuatro subproductos: *expeller* sin fermentar (Ex), okara sin fermentar (Ok), *expeller* fermentado con *L. casei* (ExLC) y okara fermentado con *L. casei* (OkLC). Se suspendieron en distintos solventes: etanol 80%v/v (ol) (1:4 p/p) ó  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ cd) 15mM (1:9 p/p) en un tubo plástico. Se sometieron a extracción por ultrasonido a una densidad de potencia acústica de 600 W/cm<sup>2</sup> (0,5 ciclos) y amplitud de 220  $\mu$ m (100 %), se centrifugaron (20 min, 8000 rpm, 20<sup>o</sup> C), y luego se separaron y filtraron los sobrenadantes. Los residuos se re-extrajeron nuevamente bajo las mismas condiciones. La cuantificación de polifenoles totales se llevó a cabo mediante técnica espectrofotométrica por el método de Folin-Ciocalteu. Las extracciones y determinaciones se realizaron al menos por duplicado. Los datos fueron analizados con ANOVA y un test posterior de Tukey (Statgraphics Centurion XV V 2, 15,06, 2007, USA). Se obtuvieron ocho muestras, cuyo contenido de polifenoles totales (mg/g de polvo), entre la primera y segunda extracción, fueron: Exol 1,207 $\pm$ 0,053<sup>c</sup>, Okol 1,116 $\pm$ 0,066<sup>c-d</sup>, Ex $\beta$ cd 2,060 $\pm$ 0,010<sup>b</sup>, Ok $\beta$ cd 3,354  $\pm$  0,167<sup>a</sup>, ExolLC 1,013 $\pm$ 0,008<sup>d-e</sup>, OkolLC 0,734 $\pm$ 0,046<sup>b</sup>, Ex $\beta$ cdLC 0,878 $\pm$ 0,008<sup>e-f</sup> y Ok $\beta$ cdLC 0,527 $\pm$ 0,034<sup>h</sup>. Se observó que la mayor cantidad de compuestos fenólicos se extrajo de las muestras sin fermentar, utilizando  $\beta$ cd y en segundo lugar extrayendo con alcohol. No hay diferencias significativas entre los contenidos de polifenoles entre okara y *expeller* sin fermentar. Los procesos de autoclavado, fermentación y posterior lavado a los que son sometidos los subproductos inoculados con *L. casei*, podrían ser la causa de la reducción de polifenoles hasta casi la mitad del valor sin fermentar. No obstante, se pudo evidenciar que, si bien el uso de  $\beta$ cd extrajo más del doble de polifenoles en okara sin fermentar, en el caso de okara fermentada, en medio etanólico se extrajo una cantidad de polifenoles algo mayor. Finalmente, se evidenció que una segunda extracción mejora el rendimiento de compuestos extraídos, en especial en los productos no fermentados previamente. El mayor contenido de polifenoles se obtuvo en ambos residuos sin fermentar extraídos con  $\beta$ cd. Los resultados demuestran que los tratamientos térmicos de los residuos y su fermentación, así como los medios de extracción, causan alteraciones en el contenido de polifenoles de los extractos obtenidos, y deben tenerse en cuenta en el aprovechamiento de subproductos para el desarrollo de ingredientes para la formulación de alimentos funcionales.

## Selección del solvente para la recuperación de compuestos bioactivos de diferentes orujos de vino tinto de Cafayate

María Dulcinea Martínez Alarcón, Pablo Ezequiel Tapia, Mario Eduardo Arena, María Rosa Alberto\*

Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria (INBIOFAL)  
Universidad Nacional de Tucumán. Fac. Bioquímica, Química y Farmacia  
\*mralberto@fbqf.unt.edu.ar

**Palabras claves:** orujo, recuperación, metabolitos secundarios

### Resumen

Los polifenoles de la dieta, comúnmente conocidos como compuestos bioactivos, son metabolitos secundarios de las plantas abundantes en frutas como uvas, manzanas, peras, cerezas, bayas entre otras. Los polifenoles se clasifican generalmente en flavonoides (los más predominantes), que incluyen flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas, flavan-3-ols y dihidrochalconas o no flavonoides. Existe una relación muy estrecha entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de un alimento. Si bien la mayoría de las familias de compuestos flavonoides tienen la capacidad de actuar como antioxidantes se ha informado que las flavonas y flavan-3-ols parecen ser los más poderosos para proteger el cuerpo contra las especies reactivas del oxígeno. La industria vitivinícola genera una importante cantidad de subproductos, entre ellos el orujo, que es principalmente la mezcla de piel y semillas de la uva remanente luego de la fermentación del vino. El orujo es rico en compuestos biológicamente activos particularmente flavonoides.

El objetivo de este trabajo es seleccionar la mezcla de solventes más eficiente para la recuperación de metabolitos bioactivos entre ellos polifenoles totales y particularmente flavonas/flavonoles de orujos de la región de Cafayate (Salta) correspondientes a los varietales Malbec y Cabernet sauvignon provenientes de vinificación convencional y orujo Malbec proveniente de uvas certificadas como orgánicas.

Las muestras de orujo, secas (en estufa a temperatura <40°C) y molidas (por trituración mecánica), se sometieron a extracción sólido-líquido al 2.5% (p/v) por agotamiento mediante maceración a temperatura ambiente, utilizando como disolventes agua, alcoholes, ésteres, cetonas, soluciones acuosas aciduladas y mezclas de solventes en diferente proporción. También se evaluó la influencia de una limpieza previa del orujo con hexano y cloroformo (Grupos I-XII).

Los principios solubles (PS) obtenidos de las diferentes extracciones se llevaron a sequedad, con evaporador rotatorio. En todos los casos se calculó el rendimiento de extracción (mg PS/ml extracto) y como gramo de PS por 100g de orujo seco (g PS/100g OS). Se prepararon soluciones madres de concentración conocida (10 mg/ml) de los diferentes extractos y se determinó el contenido de polifenoles totales expresados en equivalentes en ácido gálico (EAG) y flavonas/flavonoles expresados en equivalentes de quercetina (EQ) por g de PS y por 100 g de OS. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados se analizaron mediante ANOVA y prueba de medias de Tukey ( $P < 0,05$ ), utilizando Infostat.

En los diferentes grupos se observó una gran variación en el rendimiento de extracción, contenido de compuestos fenólicos totales y de flavonas/flavonoles. Las mezclas de metanol:agua, etanol:agua, acetona:etanol:agua, acetona:metanol:agua y etanol acidulado fueron las más ricas en polifenoles totales en comparación con las otras mezclas (76-171 mg EAG/g PS y 2,4-6 g EAG/100g OS); en la mayoría de los casos el varietal Malbec tradicional presentó los mayores valores. Los contenidos más elevados de flavonas/flavonoles se encontró en las mezclas acetona:etanol:agua, acetona:metanol:agua y etanol acidulado del varietal Malbec (aprox 11 mg EQ/g PS). Estas mezclas de solventes mostraron rendimientos de extracción entre 17 y 36%.

Los resultados presentados proporcionan información para la utilización de los subproductos (actualmente desechados) de la emergente industria vitivinícola de los Valles Calchaquies, como una fuente de bajo costo de compuestos bioactivos con aplicación en las industrias alimentaria, cosmética, nutracéutica y farmacéutica.

## Optimización de la metodología de la extracción de polifenoles de orujo varietal Malbec

Pablo Ezequiel Tapia\*, María Dulcinea Martínez Alarcón, Romina Torres Carro, Mario Eduardo Arena, María Rosa Alberto

Instituto de Biotecnología Farmacéutica y alimentaria (INBIOFAL-LIVAPRA). CONICET  
Universidad Nacional de Tucumán.  
\*pablotapia685@gmail.com

**Palabras claves:** polifenoles, orujo de uva, Malbec, subproducto.

### Resumen

La industria vitivinícola ha exhibido un importante crecimiento en los últimos años. Sin embargo, este crecimiento ha generado inconvenientes debido al consecuente aumento en la generación de residuos siendo el bagazo u orujo (cáscaras, semillas y raspones) los más abundantes del proceso de vinificación. Actualmente, los desechos de la industria vitivinícola se utilizan normalmente como piensos, abonos y fertilizantes, la mayor parte de los mismos se siguen eliminando sin ningún tratamiento o reutilización; a su vez muchos de estos residuos son ricos en compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos que son metabolitos secundarios de plantas que se encuentran en la uva, vino y subproductos. El objetivo del presente trabajo es evaluar el método más eficaz para la obtención de compuestos fenólicos a partir del orujo varietal Malbec mediante el análisis de diferentes parámetros de extracción: tiempo de contacto soluto/solvente, proporción soluto/solvente, método de obtención (agitación/sonicación/estático).

Para la obtención de la harina de orujo, el residuo del varietal Malbec proveniente de Cafayate, Salta, se secó hasta peso constante durante 48 horas en estufa (<39°C). Posteriormente el orujo fue triturado usando un molinillo hasta obtener una granulometría comprendida 0,6 a 0,9 mm. Como solvente de extracción se utilizó una mezcla de acetona:agua: etanol 96%, la extracción se llevó a cabo por agotamiento durante diferentes tiempos por sonicación (15, 30, 45, 60, 90 min), estático y agitación (1, 3, 6, 12, 24 h) a temperatura ambiente y en diferentes concentraciones soluto/solvente (2,5; 5; 10 y 15% p/v). La concentración de polifenoles se determinó usando la técnica de Folin-Ciocalteu expresando los resultados en equivalentes en ácido gálico (EAG) por gramo de orujo seco (OS).

Las mejores extracciones de polifenoles totales fueron de  $27,8 \pm 2,2$  mg EAG/g OS para los extractos obtenidos por agitación a 180 rpm durante 3 horas y de  $23,9 \pm 1,2$  mg EAG/g OS para los extractos obtenidos por sonicación durante 90 minutos. En cuanto a la proporción soluto/solvente se observó la mayor extracción al 2,5% independientemente del método de extracción. Asimismo, dos extracciones sucesivas fueron suficientes para extraer el 90% de los polifenoles del orujo. En términos de la extracción del contenido fenólico total, la condición de agitación durante 3 horas a 25°C en la proporción del 2,5% de soluto/solvente ha mostrado resultados significativamente mejores en comparación con el resto de las condiciones evaluadas.

Dada la relevancia que los compuestos fenólicos presentan en la industria agroalimentaria debido a la gran cantidad de aplicaciones por sus propiedades biológicas beneficiosas (antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, entre otras) resulta importante optimizar los métodos para una mejor recuperación de estos compuestos presentes en desechos de agroindustrias que podrían ser utilizados en productos farmacéuticos, cosméticos y alimentarios. Este estudio provee información útil para recuperar polifenoles de orujos Malbec de Cafayate a bajo costo y utilizando métodos convencionales.

## Aprovechamiento del suero de ricota para la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*.

Nahuel Casá<sup>a\*</sup>, Julieta Lois-Milevicich<sup>a</sup>, Paola Álvarez<sup>a</sup>, Maximiliano Argumedo Moix<sup>a</sup>, Ricardo Mateucci<sup>a</sup>, María del Carmen Gutiérrez<sup>a</sup>, José Boiardi<sup>a,c</sup>, Marina de Escalada Pla<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Centro de Tecnologías Químicas (CTQ), Departamento de Ingeniería Química, UTN-FRBA.

<sup>b</sup> Departamento de Industrias, FCEyN-UBA. Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ), UBA-CONICET.

<sup>c</sup> Unidad de Investigación y Desarrollo de las Ingenierías (UIDI), UTN.BA-CONICET.

\*ncasa@est.frba.utn.edu.ar

**Palabras claves:** *Chlorella vulgaris*, Suero de Ricota, Mixotrofia, Biomasa microalgal.

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* no axénica en condiciones de mixotrofia, empleando como fuente de carbono suero de ricota (SR), el cual es un subproducto de bajo valor y que representa uno de los principales problemas de las PyMEs Lácteas.

La metodología de trabajo consistió en 3 ensayos: capacidad de crecimiento, determinación de métodos de pretratamiento y escalado de las condiciones de cultivo. La capacidad de crecimiento se evaluó empleando SR (DQO 69200mg/L) como medio de cultivo sin dilución y diluido al 10 y 50% con BG-11. Los sistemas consistieron en Erlenmeyers de 125mL de capacidad, con un volumen de cultivo de 25mL, expuestos a una temperatura controlada de 26°C, un fotoperíodo de 12h/12h de luz/oscuridad y 3000lux. Estos sistemas se mantuvieron bajo agitación orbital continua a 100rpm. En todos los casos se inoculó con 5mL de microalga (20% del volumen total del cultivo) en su medio de cultivo de mantenimiento (BG-11), con una concentración correspondiente a una densidad óptica (DO) aproximada de 2,0. El monitoreo del crecimiento se realizó a través de la medición de la DO. Luego se procedió a seleccionar el medio que presentó las mejores condiciones y se evaluaron 3 métodos de pretratamiento de este con el objetivo de optimizar el crecimiento de la biomasa. Los pretratamientos comparados fueron: i. Clarificación por centrifugación a 3000rpm durante 5min; ii. Tratamiento térmico a 115°C durante 20min y posterior centrifugación a 5600g durante 15min; iii Filtración tangencial con membrana de 0,1µm. Las condiciones de cultivo fueron las mismas que en el ensayo de capacidad de crecimiento. El monitoreo del crecimiento se realizó a través de la concentración celular, medida con cámara de Neubauer. Se seleccionó un método de pretratamiento y se procedió a escalar el proceso volumétricamente en un orden de magnitud. Este sistema consistió en un Erlenmeyer de 1L con un volumen de cultivo de 400mL, bajo las mismas condiciones de temperatura, fotoperíodo, intensidad de iluminación y agitación que los ensayos previos. El monitoreo se realizó, al igual que el ensayo previo. Los resultados del ensayo de escalado fueron ajustados al modelo de Gompertz ( $\ln(N/N_0) = Cx e^{-e^{-[(\mu_{max}/C) \times (\text{lag}-t) + 1]}}$ ). La microalga *Chlorella vulgaris* pudo crecer en SR en su máxima concentración (DQO 69200mg/L) para las condiciones de cultivo ensayadas, presentando a los 4 días (96h) una relación de  $\ln(DO/DO_0)$  de 1,71. Los métodos de pretratamiento, para el mismo tiempo de cultivo (95h), presentaron valores de  $\ln(N/N_0)$  de: 1,866, 2,043 y 2,498 para clarificación por centrifugación, tratamiento térmico y filtración tangencial respectivamente. Los resultados ajustaron adecuadamente al modelo obteniendo los siguientes parámetros: Concentración máxima (C): 2,392; Velocidad de crecimiento máxima ( $\mu$ ): 0,4134; Tiempo de retardo (lag): 19,94h y Coeficiente de correlación (R<sup>2</sup>): 0,9958.

La microalga *Chlorella vulgaris* fue capaz de crecer en SR en condiciones de mixotrofia y el ensayo pudo ser escalado exitosamente. La filtración tangencial, tecnología actualmente instalada en empresas Lácteas medianas y grandes, resultó ser el método de pretratamiento que brindó las condiciones más favorables para el desarrollo del cultivo. El trabajo muestra la potencialidad del uso de SR como medio de cultivo para la producción de microalgas para ser usada como aditivo alimentario, brindando simultáneamente valor agregado a un subproducto sin valor.



## Escalado de la producción de *Chlorella vulgaris* utilizando un subproducto de la industria cervecera artesanal como sustrato

Julieta Lois-Milevicich<sup>a\*</sup>, Paola Álvarez<sup>a</sup>, Maximiliano Argumedo Moix<sup>a</sup>, Ricardo Mateucci<sup>a</sup>, Nahuel Casá<sup>a</sup>, María del Carmen Gutiérrez<sup>a</sup>, Marina de Escalada Plá<sup>a,b</sup>.

<sup>a</sup> Centro de Tecnología Químicas, UTN-FRBA.

<sup>b</sup> ITAPROQ (UBA/CONICET), UBA, FCEyN.

\*jloismilevicich@frba.utn.edu.ar

**Palabras claves:** *Chlorella*, biomasa, cervecería artesanal, escalado.

### Resumen

La producción anual de cerveza en la Argentina es de más de 20 millones de hectolitros. Algunas especies de microalgas del género *Chlorella* se han cultivado previamente en subproductos y efluentes de esta industria. La biomasa obtenida de estos cultivos puede utilizarse como suplemento nutricional, debido al alto contenido de proteínas, entre otros. Sin embargo, no se han encontrado reportes hasta el momento sobre el crecimiento de cepas no axénicas en este subproducto.

El subproducto cervecero, un líquido restante de la cocción del mosto, fue suministrado por la cervecería artesanal "Juguetes Perdidos", ubicada en el partido de Tres de Febrero, Buenos Aires. El mismo fue diluido con agua destilada, hasta un valor de DQO de 18000 mg/L, y el pH se ajustó a  $6,6 \pm 0,2$ . Estos valores fueron determinados en ensayos previos. El medio de cultivo se esterilizó en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Se realizaron los siguientes sistemas de cultivo de *C. vulgaris* autóctona: a) frasco Erlenmeyer de 250 mL de capacidad con 60 mL de cultivo, 100 rpm de agitación orbital; b) Erlenmeyer de 5 L con 1200 mL de cultivo, 60 rpm de agitación orbital; c) biorreactor de 3L con 1500 mL de cultivo, 500 rpm de agitación. Las velocidades de agitación se determinaron según el número de potencia y el número de fase. La temperatura de cultivo fue de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  para todos los casos. La incubación se llevó a cabo en total oscuridad.

Para la determinación del peso seco y de la composición bioquímica de la biomasa, la misma se recolectó por centrifugación a 10000 rpm durante cinco minutos. Se midió el contenido de lípidos por la técnica colorimétrica de la sulfo-fosfo-vainillina, hidratos de carbono por el método fenol-sulfúrico y proteínas por el método de Lowry. El crecimiento de la microalga se siguió por determinación de la densidad óptica (DO) a 680nm de longitud de onda. Los puntos de las curvas se ajustaron mediante la ecuación de Gompertz modificada. Los sistemas y las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado. Todos los resultados fueron informados en base a los valores promedios y sus correspondientes desvíos estándar, se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido por un test de Tukey ( $\alpha 0,05$ ), utilizando el programa Statgraphics Centurion XV.

Se observó que las mayores concentraciones de biomasa se obtuvieron en los sistemas cultivados en frasco Erlenmeyer de 250 mL y en biorreactor ( $\approx 4,8 \cdot 10^8$  cél/mL), sin embargo, muestran diferencias significativas entre ellos en el valor de velocidad máxima, siendo mayor para el sistema en el biorreactor ( $0,2 \text{ h}^{-1}$ ). El sistema cultivado en frasco Erlenmeyer de 5L mostró la menor concentración de biomasa ( $3,6 \cdot 10^7$  cél/mL). No se observaron diferencias significativas en los porcentajes en base peso seco de lípidos ( $\approx 30,4\%$ ) y proteínas ( $\approx 33,7\%$ ) de los tres sistemas. El sistema cultivado en frasco Erlenmeyer de 5 L mostró un mayor porcentaje de carbohidratos en su composición (13,7%). Esto pudo deberse a que este sistema tuvo un mezclado ineficiente, lo cual puede derivar en deficiencia de acceso a los nutrientes.

Se ha podido escalar satisfactoriamente la producción de *C. vulgaris* de 60 mL a 1200 y 1500 mL de cultivo, para la utilización de un subproducto de la industria cervecera en la producción de biomasa con potencial uso como suplemento nutricional.

# ***Innovaciones biotecnológicas en la industria alimentaria***

# **Conferencias**

## Fortificación de alimentos vegetales con hierro y probióticos

Marina F. de Escalada Pla.

ITAPROQ (Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos), FCEyN (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales) – UBA-CONICET.

\*marina@di.fcen.uba.ar

La deficiencia de hierro es el resultado del agotamiento de las reservas del mismo y ocurre cuando aumentan los requerimientos de este mineral como resultado del rápido crecimiento, el embarazo, la menstruación o la pérdida de sangre causada por infecciones patológicas y simultáneamente, se reduce la ingesta de hierro biodisponible y/o la absorción de mineral es deficiente [1,2]. Esta deficiencia afecta a más del 30% de la población mundial con importantes consecuencias para la salud humana, el crecimiento social y económico, lo que la convierte en un problema de salud pública en diferentes países tanto desarrollados como en desarrollo. En general las tasas de incidencia más altas se observan en mujeres embarazadas (38%), mujeres en edad reproductiva (29%) y niños (43%) [2].

Desde una perspectiva nutricional, la fortificación de los alimentos implica vencer varios obstáculos como la selección apropiada del compuesto de hierro que no cause cambios organolépticos indeseables en el alimento soporte y que, además, se mantenga biodisponible. Sobreponerse al efecto inhibitorio que ejercen los otros componentes de la dieta sobre la absorción del hierro, como el ácido fítico y los compuestos ferúlicos, es otro aspecto para tener en cuenta. La biodisponibilidad expresa la fracción del nutriente ingerido o del compuesto bioactivo que alcanza la circulación sistémica para poder ser utilizado posteriormente. Mientras que la bioaccesibilidad se define como la fracción de un compuesto liberado de la matriz del alimento en el tracto gastrointestinal y que, de ese modo, se encontraría disponible para la absorción intestinal [3].

El zapallo anco (*Cucurbita moschata*), es la variedad de calabaza más consumida en Argentina durante todo el año, por todos los estratos sociales y en todas las edades. Hay registros que asocian las cucurbitas al origen de la agricultura y la civilización, siendo de las primeras especies de plantas en ser domesticadas. Algunas evidencias mostraron que la mezcla de cucurbitas, maíz y porotos fueron la base nutricional de las civilizaciones precolombinas. Es considerada una fuente importante de carbohidratos, fibra dietaria, vitaminas A y C y de amino ácidos esenciales; pero no es fuente natural de hierro [4].

La mayoría de los productos fortificados son particulados o formulados, como es el caso de las harinas, cereales para desayuno, papillas instantáneas, leches y bebidas en polvo, etc. Los procesos de impregnación, sin embargo, permiten introducir los compuestos de interés al tejido vegetal sin necesidad de una disrupción celular, pero ocasionando cambios organolépticos.

La presentación tiene como objetivo hacer una revisión de los principales resultados en la formulación de alimentos fortificados con hierro desarrollados a partir de zapallo anco. Los diferentes aspectos que se abordaron en la optimización de la formulación hasta llegar a la incorporación simultánea de probióticos en el producto fortificado con hierro. Por último, se hará una reseña del tratamiento de los residuos generados durante los procesos, a fin de que la propuesta resulte sustentable.

El proceso de impregnación de vegetales con minerales como Ca y Zn fue ampliamente documentado, sin embargo la impregnación con hierro se encuentra menos reportada, posiblemente debido a los cambios que se originan a raíz de la reactividad de este mineral con otros componentes de la matriz. Un ejemplo de ello, es el cambio de color registrado en el tejido de zapallo como consecuencia del agregado de sulfato ferroso (Fe) y ácido ascórbico (AA). Pese a ello, se logró encontrar a través de la metodología de superficie de respuesta, una relación de Fe:AA que minimizara estos cambios [5]. Esta formulación, resultó la base de los desarrollos posteriores. En segundo lugar, se buscó aplicar la tecnología de recubrimientos comestibles, a fin de aumentar la estabilidad y la vida útil del producto. En este punto, se pudieron ensayar recubrimientos a base de diferentes biopolímeros: almidón de mandioca;  $\kappa$ -carragenato; alginato y hidroxipropil metil celulosa (HPMC). Los mejores resultados obtenidos fueron: 1) Fortificando el tejido de zapallo con AA y recubriendo con el gel de almidón o  $\kappa$ -carragenato conteniendo la sal de Fe; 2) Fortificando el tejido con hierro y recubriendo con gel de HPMC conteniendo una suspensión de *L. casei*. En el primer caso, la bioaccesibilidad del mineral se vio mejorada a pH = 8 cuando el mismo se encontraba en el recubrimiento comestible. Este pH corresponde a las condiciones del lumen intestinal donde ocurre la absorción de los nutrientes. Mientras que se redujo a pH = 2, condiciones estomacales. Ello representaría una ventaja cuando se intenta evitar los efectos adversos del Fe en la fase gástrica. En particular, el recubrimiento de almidón de mandioca mantuvo la máxima concentración de AA ( $\geq 800$  mg/100g) y la mínima velocidad de deterioro de esta vitamina ( $0,027 \pm 0,005$  h<sup>-1</sup>) a lo largo del almacenamiento. En el segundo caso, se pudo verificar que el producto final aportaba  $0,35 \pm 0,06$  mg de Fe. g<sup>-1</sup> y  $\approx 8$  log (CFU g<sup>-1</sup>) de *L. casei*, manteniéndose estable durante los 14 días de almacenamiento a 8°C. La resistencia gastrointestinal de las células

probióticas se vio afectada a partir de los 14 días, debido a la incorporación de la sal ferrosa, mientras que la presencia de *L. casei* en el tejido de zapallo fortificado, tendió a mejorar la bioaccesibilidad del hierro, al reducir la insolubilidad del mineral en las condiciones gastrointestinales simuladas. Un aspecto importante a remarcar fue la mejor aceptabilidad global que presentó el producto cuando la sal ferrosa se encontraba impregnada en el tejido vegetal, en comparación al producto conteniendo el mineral en superficie, incorporado al recubrimiento comestible.

De manera que el producto obtenido en el 2do caso, fue fabricado posteriormente en mayor cantidad. El proceso fue escalado en la Planta Piloto de Alimentos del Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Se procesaron 15 kg de zapallo, obteniéndose una impregnación del mineral más eficiente en la paila llegando a valores de 0,45 mg de Fe.g<sup>-1</sup>. Asimismo, la viabilidad de *L. casei* se mantuvo estable a lo largo de 45 días de almacenamiento a 8°C en valores de 8,6±0,2 log UFC.g<sup>-1</sup>. La supervivencia a las condiciones gastrointestinales *in vitro* del probiótico al día 1 fue del 64%, mientras que, a los 45 días de almacenamiento, la tasa de supervivencia fue del 41%. En cuanto a la bioaccesibilidad del Fe, aproximadamente el 63 ± 9 % del Fe del tejido estuvo bioaccesible, valor que se redujo al final del almacenamiento, alcanzando un porcentaje de ≈ 30± 5% a los 45 días, posiblemente como consecuencia de una reducción en la supervivencia del probiótico. Estos valores se encontraron en el orden de los reportados para calabaza en el proceso a escala laboratorio [6; 7].

En otro aspecto, los residuos y subproductos generados como resultado de los procesos, cáscara y pulpa de zapallo no utilizada en la impregnación, fueron usados como sustrato para la obtención de suplementos dietarios enriquecidos en fibra dietaria y conteniendo probióticos. Los resultados indicaron que este tejido representó *per se*, un excelente sustrato para el crecimiento de *L. casei*. Una vez estabilizado el producto por deshidratación, se procedió a molerlo y homogenizarlo. El polvo obtenido se utilizó para suplementar dos tipos de bebidas, una láctea, leche chocolatada y una vegetal, leche de soja y manzana. A su vez se llevaron a cabo sistemas controles suplementando las bebidas con células libres crecidas en caldo MRS. Todas las bebidas fueron sometidas a un proceso de digestión gastrointestinal *in vitro* y pudo registrarse una mayor resistencia de las células que se encontraban soportadas en el ingrediente vegetal. En particular, para la bebida vegetal de pH≈3, el porcentaje de resistencia duplicó al de las células libres. Pudo verificarse, además, la buena aceptabilidad global de las bebidas suplementadas [4; 5].

De modo general se puede concluir que la matriz de zapallo resulta apropiada para la formulación de alimentos e ingredientes funcionales fortificados con hierro y/o probióticos. La presencia de *L. casei* en matrices fortificadas con hierro, tiende a mejorar la bioaccesibilidad del mineral. La aplicación de coberturas comestibles se convierte en una herramienta fundamental para compartimentalizar y estabilizar ciertos nutrientes y/o probióticos en las formulaciones. Los residuos generados en el proceso, cáscara y pulpa de zapallo, pueden ser utilizados como sustrato/soporte para la producción de ingredientes funcionales.

Agradecimientos:

Al grupo de trabajo:

Silvia Flores, co-directora de los proyectos y directora de tesis vinculadas. Las tesis de pos grado: Carolina Genevois, Adriana Castellanos-Fuentes y tesis de grado: Antonella Miletti y Alicia Matyasz.

A las instituciones, fundaciones y menciones que apoyaron en distintos estadios del proyecto:

Universidad de Buenos Aires, CONICET, ANPCyT, Fundación Argen INTA, INNOVAR, Fundación ARCOR.

## Bibliografía

- [1] Thompson & Amoroso ed. (2011). Combating Micronutrient Deficiencies: Food-based Approaches. FAO
- [2] Iron deficiency anaemia. (2001). Assessment, Prevention, and Control. doi:10.1016/j.paed.2017.08.004.
- [3] Petry, Boy, Wirth, Hurrell.(2015). Nutrients;7:1144–73. doi:10.3390/nu7021144.
- [4] de-Escalada-Pla, Flores, Castellanos-Fuentes, Genevois. (2019). Chapter 6. Novel strategies to supplement probiotics to non-dairy beverages. In Value-added ingredients and enrichments of beverages. Volume 14: The Science of Beverages. Ed. A. Grumezescu and A. Holban. WP-Elsevier, UK.
- [5] Genevois, Flores, de Escalada Pla. (2014). LWT - Food Sci Technol; 58. doi:10.1016/j.lwt.2014.03.020.
- [6] Genevois, de Escalada Pla, Flores. (2016). Innov Food Sci Emerg Technol; 33:506–14. doi:10.1016/j.ifset.2015.11.001.
- [7] Genevois, de Escalada Pla, Flores. (2017). LWT - Food Sci Technol; 79. doi:10.1016/j.lwt.2017.01.019.

## Kefir: desde la preparación artesanal a sus aplicaciones biotecnológicas

Dra. Analía Abraham

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCACONICET)  
Área Bioquímica y Control de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.  
analiaabraham@gmail.com

El kefir es una bebida láctea fermentada artesanal, viscosa, de sabor ácido, levemente efervescente y con un aroma característico. Es producida por fermentación de leche con gránulos de kefir, estructuras macroscópicas, irregulares, color blanco o ligeramente amarillento y consistencia viscoelástica, donde se encuentran las bacterias ácido lácticas ( $10^8$ - $10^9$  UFC/g de gránulo), levaduras ( $10^7$ - $10^8$  UFC/g de gránulo) y bacterias ácido acéticas ( $10^5$  UFC/g de gránulo) responsables de la fermentación. Su tamaño es variable oscilando desde pocos milímetros a 2 o 3 centímetros de diámetro y su forma semejante a las flores de coliflor [1].

Los gránulos se podrían considerar un fermento inmovilizado natural. Para elaborar kefir de manera artesanal se inoculan los granos en la leche en una proporción que oscila entre el 1 y el 30% (p/v). Durante el proceso de fermentación no sólo se evidencia un aumento del número de microorganismos, sino que también se producen diferentes metabolitos entre los que se encuentran las proteínas y el polisacárido presente en la matriz. En consecuencia, al final de este proceso, los granos de kéfir han aumentado su masa y son recuperados de la leche fermentada por filtración. Los gránulos son usados inmediatamente o almacenados en condiciones adecuadas para ser utilizados como fermentos en una nueva fermentación. Además, cuando los gránulos de kefir son adicionados a la leche, parte de los microorganismos pasan a ella donde se multiplican y producen metabolitos que otorgarán a la leche fermentada sus características químicas y físicas particulares. La composición del kefir, así como sus características organolépticas están sujetas a variaciones regionales. Estas variaciones pueden deberse a factores tales como el origen y almacenamiento de los gránulos de kefir, el tipo de leche utilizada, así como a las condiciones de elaboración del producto siendo relevantes la relación gránulo/leche y la temperatura de fermentación [2].

El consumo de kefir se ha asociado al estado saludable y la longevidad de los individuos a largo de los años. Sin embargo, las bases científicas de las propiedades promotoras de la salud del kéfir han sido demostradas en las últimas tres décadas. Entre las propiedades más relevantes se pueden mencionar su actividad inhibitoria de la acción de patógenos, actividad inmunomoduladora, actividad antiinflamatoria, inhibición del desarrollo de tumores y efectos metabólicos como reducción del colesterol, anti-obesidad, efectos antioxidantes, tolerancia a la lactosa y modulación de la flora bacteriana intestinal [3].

El efecto benéfico se asocia a la compleja microbiota de la leche fermentada. Entre las propiedades probióticas atribuidas a los microorganismos aislados de kéfir se puede mencionar la capacidad de antagonizar el efecto de patógenos intestinales. Estudios *in vitro* sobre células epiteliales intestinales han demostrado que microorganismos aislados de kefir poseen capacidad de antagonizar el efecto de *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp y *Clostridium difficile* [4,5]. Las levaduras y algunas cepas de lactobacilos poseen actividad inmunomoduladora y anti-inflamatoria [6,7]. Dada la complejidad del kefir en muchos países se comercializa un producto "kefir like" a partir de starter compuestos por varias cepas aisladas de gránulos. En ese sentido una adecuada combinación de lactobacilos, lactococos y levaduras protege *in vitro* contra la invasión de *Shigella* [8] o *Salmonella* [9].

Las propiedades benéficas para la salud se deben tanto a la presencia de una microbiota compleja como a también a sus metabolitos. Dentro de estos productos se pueden mencionar: ácidos orgánicos, vitaminas (fundamentalmente del grupo B), etanol, dióxido de carbono, acetaldehído, diacetilo, proteínas de superficie de algunos microorganismos que se liberan al medio (capa S) y exopolisacáridos. El ácido láctico es uno de los principales metabolitos de la fermentación de leche por bacterias lácticas que contribuye a las propiedades organolépticas y antimicrobianas del producto fermentado. El lactato contribuye a las propiedades bioactivas del alimento, participando en la regulación de funciones claves de células del sistema inmune como macrófagos y células dendríticas [10] y modulando la respuesta inflamatoria de las células epiteliales intestinales [11]. En ese sentido la asociación a epitelio de lactobacilos probióticos después de su pasaje por el tracto gastrointestinal es de relevancia para la producción *in situ* de lactato [12].

El kefiran, presente en los gránulos y en el producto fermentado, es capaz de antagonizar los factores de virulencia de *Bacillus cereus* en un modelo *in vitro* [13]. En estudios *in vivo* la administración oral de kefiran es capaz de estimular el desarrollo de poblaciones de bifidobacterias y produce un aumento de células productoras

de mucus a nivel intestinal [14]. Asimismo, posee un efecto inmunomodulador modificando la localización de células B activadas y aumenta el número de células productoras de IgA y de macrófagos en lámina propia [15]. Los gránulos de kefir son capaces de acidificar suero de quesería. En el suero fermentado la microflora de kefir permanece viable y el producto posee propiedades inhibitorias in vitro contra bacterias Gram negativa y es capaz de actuar como bioconservante de piensos para pollos pues inhibe el desarrollo de hongos ambientales [16]. Durante el desarrollo en suero, el gránulo de kefir incrementa su biomasa, fuente natural de Kefiran que puede extraerse y purificarse con alto rendimiento y metodología simple para su aplicación como aditivo alimentario. Este polisacárido puede actuar como espesantes en geles lácteos ácidos [17] forma criogeles traslúcidos, autoportantes y con alta capacidad de retención de agua [18]. Además, el kefiran es capaz de formar películas comestibles, transparentes que son capaces de actuar como matrices adecuadas para incluir microorganismos probióticos [19,20,21].

Se ha recorrido un largo camino desde la fabricación artesanal hasta la fecha sin embargo aún queda mucho por dilucidar. El conocimiento de la función de cepas aisladas de kéfir y los metabolitos que ellos producen solos o combinados permitiría el diseño de productos comerciales con mezclas definidas de microorganismos y metabolitos para obtener nuevos alimentos con propiedades benéficas específicas para la salud.

### Bibliografía

- [1] Bengoa, A.A., Iraporda, C., Garrote, G. L., & Abraham, A. G. (2019). *Journal of Applied Microbiology*, 126(3), 686-700
- [2] Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2010). Book chapter. In *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*, p 327. Ed Mozzi, Raya Vignolo.
- [3] Bourrie, B. C., Willing, B. P., & Cotter, P. D. (2016). *Frontiers in microbiology*, 7, 647.
- [4] Golowczyc, M.; Mobili, P.; Garrote, G.; Abraham, A.G.; De Antoni, G.L. (2007). *International Journal of Food Microbiology*, 118: 264-273.
- [5] Kakisu E., Abraham A.G, Tironi Farinati C, Ibarra C., De Antoni G. (2013). *J Dairy Res.* 80(1):64-71.
- [6] Romanin D.E., Llopis S., Genovés S., Martorell P., Ramón V.D., Garrote G.L., Rumbo M. (2015) *Beneficial Microbes.* 7(1): 83-93.
- [7] Bengoa, A A., Llamas, M. G., Iraporda, C., Dueñas, M. T., Abraham, A. G., Garrote, G. L. (2018a). *Food microbiology*, 69, 212-218.
- [8] Bolla P, Abraham AG, Perez PF, Serradell MA. (2016). *Beneficial microbes* 7(1) 103-110.
- [9] Londero A., Iraporda C, Garrote G.L., Abraham A.G. (2015). *Int. Journal of Dairy Technology.*68, 118-126.
- [10] Iraporda C, Errea A, Romanin D, Cayet D, Pereyra E, Pignataro O, Sirard JC, Garrote GL, Abraham AG, Rumbo M. (2015). *Immunobiology* 220, 1161-1169.
- [11] Iraporda C, Romanin D, Rumbo M, Garrote GL, Abraham AG. (2014). *Food Res. International* 62: 247-273.
- [12] Bengoa, A.A., Zavala, L., Carasi, P., Trejo, S., Bronsoms, S., Serradell, M., Garrote G., Abraham, A. G. (2018b). *Food Research International*, 103, 462-467.
- [13] Medrano, M.; Pérez, P.F., Abraham, A.G. (2008). *International Journal of Food Microbiology*, 122: 1-7.
- [14] Hamet MF, Medrano, M, Perez PF, Abraham AG (2016). *Beneficial Microbes* 7(2) 237-246.
- [15] Medrano M, Racedo, S, Rolny I, Abraham A.G., Pérez P.F. (2011). *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 59(10):5299-5304
- [16] Londero A, Abraham A. G, Garrote G. (2014). *Feedinfo News Service*. Editorial:Global Data Systems.
- [17] Rimada, P.S.; Abraham, A.G. (2006). *International Dairy Journal*, 16: 33-39.
- [18] Piermaria, J.A.; de la Canal, M.L.; Abraham, A.G. (2008). *Food Hydrocolloids*, 22: 1520-1527.
- [19] Piermaria, J.A.; Pinotti, A.; Garcia, M.A.; Abraham, A.G. (2009). *Food Hydrocolloids*, 23: 684-690.
- [20] Piermaria J., Diosma G., Aquino C., Garrote G.L., Abraham A.G (2015). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 32 193-199.
- [21] Gagliarini, N., Diosma, G., Garrote, G. L., Abraham, A. G., & Piermaria, J. (2019). *LWT*, 105, 321-328.

## Alimentos naturalmente más frescos y seguros

Raúl Larsen \*

Regional Application Center LATAM, Chr. Hansen Argentina, Cecilia Grierson 422, Buenos Aires, Argentina

\*arlla@chr-hansen.com

### Concepto de Bioprotección

Se define como Bioprotección a la preservación de alimentos usando su microbiota natural y controlada y/o sus metabolitos antimicrobianos para diferenciarlo de la preservación química.

Los cultivos alimenticios microbianos son bacterias vivas, hongos y levaduras utilizados en la elaboración de alimentos y tienen un enorme potencial para su uso en la bioprotección ya que son seguros para el consumo y, durante el almacenamiento, dominan la microbiota en forma natural.

De acuerdo a la Asociación Europea de Alimentos y Cultivos Alimentarios (EFFCA), el término "Cultivos Bioprotectores" ha sido aplicado a los cultivos alimentarios microbianos que, exhibiendo una actividad metabólica, contribuyen a inhibir o controlar el crecimiento de microorganismos indeseables en alimentos, pudiendo ser bacterias patógenas, hongos toxigénicos y/o levaduras. Esta propiedad es el resultado del metabolismo activo del cultivo fermentativo, lo que conduce a acciones tales como un sistema de competencia complejo por los nutrientes y espacios de interacción y la producción de metabolitos inhibitorios tales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas.

### Una técnica fresca basada en principios tradicionales

La fermentación por cultivos alimentarios se conoce desde tiempos antiguos como una forma natural de conservar los alimentos; la necesidad de almacenar y conservar la leche es la razón por la que se desarrollaron productos como el yogurt y el queso.

Los cultivos FreshQ® son cultivos alimentarios naturales, que han sido especialmente seleccionados para proteger

los productos lácteos. Los cultivos FreshQ® ayudan a evitar el deterioro, aumentan la vida útil y protegen las propiedades benéficas de los productos lácteos incluso una vez que han sido abiertos.

Estos cultivos bioprotectores están basados en cepas de bacterias únicas encontradas entre las especies de bacterias ácido lácticas que son normalmente utilizadas en productos lácteos. Existen distintas versiones dirigidas especialmente a diversas aplicaciones de productos lácteos frescos y quesos.

### Evaluación de efectividad

El desempeño de los cultivos microbianos puede ser evaluado mediante distintas pruebas de laboratorio tales como los tests de desafío. Un test de desafío es una prueba que consiste en la inoculación artificial de un producto de origen alimentario con un cóctel de bacterias para estudiar su comportamiento durante la vida útil y bajo condiciones de almacenamiento controladas.

Los tests de desafío diseñados como análisis comparativo para demostrar el efecto de los cultivos de bioprotección contra diferentes contaminantes en productos lácteos reales demuestran si existe un efecto bajo contaminación constante, y los resultados son fáciles de interpretar. Cabe considerar que los mismos están basados en niveles de contaminación elevados, los productos sujetos a pruebas son expuestos a mucho oxígeno, y los contaminantes crecen en condiciones de exposición del producto al ambiente durante su vida útil. Debido a estas condiciones experimentales, el crecimiento de los contaminantes en los test de desafío se ve acelerado, y se espera que cualquier efecto inhibitorio que se observe en estas pruebas por efecto de los cultivos bioprotectores se vea amplificado bajo condiciones reales.

Los análisis metagenómicos se han convertido también en una poderosa herramienta para el estudio de la microbiota de muestras y evaluar así la implementación del cultivo agregado en los alimentos.

La combinación de ambos análisis es útil para demostrar la eficacia de los cultivos para mejorar la calidad microbiana de los alimentos [1].

### Cultivos FreshQ® en lácteos frescos

#### -Aplicación en Lácteos Frescos

La línea FreshQ® comprende una amplia gama de cultivos que pueden ser aplicados en lácteos fermentados - yogures, Kefir-, cremas agrias, quesos frescos y tipo Quark, o en quesos Cottage, Pasta Filata, Feta y Tvarog, entre otros. Entre las principales características del funcionamiento de los cultivos bioprotectores FreshQ® aplicados en **yogures** podemos mencionar:

1. Efecto fungistático: Una propiedad común de las bacterias ácido-lácticas es contar con un nivel moderado de actividad fungistática. Esta actividad ha sido atribuida generalmente a una combinación de distintos mecanismos: competencia por nutrientes y espacio (interacción celular, comunicación celular); rendimiento del



ácido orgánico (lactato, acetato); producción de compuestos antagónicos (péptidos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diacetilo, ácido benzoico, ácido feniláctico...). Si bien las interacciones y mecanismos de la actividad fungistática son complejos y difíciles de dilucidar, se puede afirmar que los cultivos bioprotectores no destruyen hongos, solo retardan su crecimiento a través de distintos mecanismos: la demora del desarrollo del micelio, o el retraso o prevención de la esporulación, entre otros. Los cultivos FreshQ® han demostrado tener una actividad fungistática superior a la media. En tests de desafío en yogures bebibles inoculados con distintos hongos, el crecimiento de los hongos contaminantes se hizo visible recién a partir del día 35.

2. Inhibición de levaduras: Comparadas con hongos y bacterias, las levaduras juegan un papel secundario en la descomposición de alimentos. Sin embargo, existen determinadas condiciones relacionadas con el proceso de preservación de éstos y su propio manejo que pueden favorecer el incremento en las poblaciones de levaduras dañinas [2]. Las BAL tienen el potencial de inhibir el crecimiento de levaduras a través de la extensión de la fase de latencia y la reducción de su tasa de crecimiento. Análisis de la performance del cultivo FreshQ® en yogures batidos demostraron una mayor inhibición vs. un control sin cultivo bioprotector agregado.
3. Efecto inhibidor a diferentes temperaturas: Los cultivos FreshQ® trabajan en un amplio rango de temperaturas. Se realizó una comparación del efecto inhibidor del cultivo FreshQ® vs. controles sin cultivo bioprotector en yogures incubados por 19 días a 7°C y por 8 días a 16°C, en ambos casos inoculados con hongos contaminantes *Penicillium brevicompactum*, *P. solitum* y *P. crustosum*. En ambos casos se pudo observar el fuerte efecto inhibidor del cultivo FreshQ®.
4. Efecto inhibidor en yogures frutales: uno de los derivados lácteos mayormente alterados por la acción de levaduras es el yogur, debido a la adición de frutos y saborizantes derivados de frutos. Los contaminantes de mayor incidencia son *Debaryomyces hansenii*, *K. marxianus*, *S. cerevisiae*, *Rho. mucilaginoso*, *K. lactis*, *C. versatilis* y *P. toletana*, así como los géneros *Rhodotorula*, *Soporobolomyces* y *Debaryomyces* [3]. En pruebas realizadas en yogures tipo Griego con preparado de frutas e inoculados con distintos hongos contaminantes, fue claramente visible el fuerte efecto fungistático del cultivo bioprotector en yogures frutales.
5. Impacto en el tiempo de fermentación: la temperatura y el tiempo de fermentación influyen en las características finales que se le quiera dar al producto, por ejemplo la acidez final, viscosidad, etc. En la elaboración de yogur es preferible usar un corto tiempo de procesamiento: cuánto más tiempo estén fermentando las bacterias a una temperatura óptima más lactosa devoran, más ácido láctico producen y más se reproducen. Por tanto, a mayor tiempo de fermentación, mayor acidez y más cuajado resulta el yogur [4]. Para evaluar el efecto de FreshQ® sobre el tiempo de fermentación se realizaron pruebas en yogures de distintas características: contenido graso bajo, medio y con alto contenido de proteínas. Todas las muestras fueron elaboradas con dos cultivos starter distintos con y sin agregado de FreshQ® y fermentados a distintas temperaturas. Se pudo observar que el agregado de FreshQ® tuvo poco o ningún impacto en el tiempo de fermentación.
6. Impacto en la post-acidificación: un yogur evidencia post-acidificación cuando, tras haber llegado a un pH de corte de 4.6, las bacterias lácticas continúan replicándose, metabolizando y produciendo una lenta pero progresiva acidificación. Esto lleva a que el pH caiga a valores <4.0 provocando alteraciones en el sabor (demasiado ácido) y reducción en la vida útil del producto. Para analizar el posible impacto de FreshQ® en la post-acidificación se realizaron pruebas en yogures batidos elaborados con cultivos starter con y sin agregado de cultivo bioprotector, y se analizó la post-acidificación a 6 y 15°C. Los valores de pH en las muestras con y sin agregado de FreshQ® fueron similares, por lo que se determina que FreshQ® no tuvo impacto en la post-acidificación de los yogures.
7. Impacto en la textura: Uno de los atributos de mayor importancia en el yogur es la textura, que suele percibirse en términos de viscosidad. Durante el proceso de elaboración se pierde gran parte de la textura del yogur debido entre otros factores al estrés mecánico [5]. En pruebas realizadas a yogures con distintos niveles de contenido graso y de proteínas y elaborados con distintos cultivos starter, con y sin agregado de FreshQ®, se pudo observar que la variación de los valores de *share stress* fue mínima, lo que indica que el agregado del cultivo FreshQ® no tuvo impacto en la textura de los yogures.

### **Beneficios derivados del uso de cultivos alimentarios de bioprotección**

La aplicación de cepas seleccionadas de BAL como cultivo competitivo para inhibir bacterias indeseables es considerada como una barrera biológica adicional para lograr una mayor seguridad en los alimentos, extender su vida útil y permitir un etiquetado limpio, mientras satisface la demanda de los consumidores por productos frescos, naturales y libres de preservantes artificiales. Los principales beneficios derivados de su aplicación en alimentos son:

- **Seguridad Alimentaria**  
Es responsabilidad de los productores elaborar y comercializar productos seguros para los consumidores y aptos para el consumo. Ésto coloca a la seguridad alimentaria como prioridad máxima para todos los productores – y es aquí donde entran los cultivos de bioprotección.
- **Protección de la marca**  
La bioprotección de los alimentos es también la protección de su marca. Las marcas que han sido asociadas a problemas de retiro de productos en mal estado pueden pasar un mal trago, y en algunos casos incluso han llevado a sus empresas a la quiebra.
- **Reducción de costos**  
Los costos se van agregando a lo largo de la cadena de abastecimiento. Los cultivos de bioprotección ayudan a reducir costos de Control de Calidad, a bajar el inventario mediante una producción más rápida y reducir desperdicios, entre otros.
- **Sustentabilidad**  
Desperdiciar comida es una preocupación creciente para el público y un problema ético en un mundo donde la escasez de alimentos existe y seguramente aumente a futuro. Agregar cultivos de bioprotección como una barrera adicional dentro de su programa de seguridad alimentaria tiene también sentido para la sociedad.
- **Etiquetado**  
Los cultivos microbianos son considerados ingredientes y entran dentro de la clasificación GRAS. El uso de cultivos de bioprotección permite conservar una etiqueta limpia. Una etiqueta limpia y “sin conservantes” puede usarse como una ventaja diferencial frente a los productos de la competencia.

## **Bibliografía**

- [1] *Estudio presentado en el Food Micro 2014, Nantes, Francia*
- [2] *PRNewswire/Harris Interactive, 2013*
- [3] TM Orberá Ratón. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Rev. Cubana Salud Pública v.30 n.3* - La Habana.
- [4] Deakand T, Beuchat L. (1996). Yeasts in Specific Types of Foods. *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. N. York: CRC Press; p. 76- 15.
- [5] Medeiros, A. C., Souza, D. F. and Correia, R. T. P. (2015). Effect of incubation temperature, heat treatment and milk source on the yoghurt kinetic acidification. *International Food Research Journal* 22(3): 1030-1036.

## Aplicación de técnicas moleculares en la detección de patógenos en alimentos

Adriana Sucari\*

Laboratorio Stambouliau. Directora laboratorio de Alimentos y Coordinadora de Microbiología

\* asucari@stambouliau.com.ar

Los métodos rápidos se han convertido en una herramienta sumamente útil en microbiología de los alimentos, principalmente en la detección de patógenos. Según su definición, un método rápido es aquel que está destinado a la detección, recuento, caracterización y subtipificación de microorganismos mediante el cual se obtienen resultados de manera sencilla, fiable y en menor tiempo. Si bien, el cultivo sigue siendo considerado el método "gold standard", los métodos alternativos aportan un beneficio fundamental que es la rapidez y en obtener un resultado.

En la década del 90 se desarrollaron las primeras técnicas de biología molecular, la técnica de PCR, tanto para tamizaje como para la identificación de microorganismos y sus factores de virulencia. Estas técnicas se fueron perfeccionando y hoy utilizamos PCR en tiempo real que nos permite obtener resultados en menor tiempo, con excelente sensibilidad y especificidad en la detección de patógenos en alimentos.

Existe una gran variedad de equipamiento disponible para realizar PCR en tiempo real. Se deben considerar varios aspectos al momento de elegir el que se adecúa a nuestras necesidades. En primer lugar, debemos considerar que el método se encuentre validado para el fin para el que lo utilizaremos (microorganismo y matriz). Luego debemos considerar el grado de complejidad de la técnica, la capacitación de los analistas y verificar su rendimiento cuando se emplea en el lugar donde se va a utilizar. Entre los microorganismos blanco para los que hay disponibles equipamiento validado es para *Listeria sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* productora de toxina shiga (STEC), *Campylobacter* y *Cronobacter*.

En Argentina, la incidencia de síndrome urémico hemolítico (SUH) es muy elevada, por lo que la detección de STEC, ya sea O157 o de los 5 serogrupos prevalentes en Argentina (O26, O103, O121, O111 y O145), se ha incorporado al Código Alimentario Argentino. Para su detección se utilizan técnicas de PCR en tiempo real donde se detectan los genes que codifican para toxinas (*stx*), factores de adherencia a las células intestinales (*eae*) y antígenos somáticos O para determinar serogrupo.

El conocimiento de la carga de STEC en los alimentos es esencial para evitar la liberación de alimentos contaminados al mercado, pero también para tomar acciones en la cadena de producción. En un trabajo colaborativo que realizamos entre nuestro laboratorio, INTA, CONICET y CNEA, se evaluaron varias intervenciones a realizar en frigoríficos para reducir la carga de STEC donde se pudo determinar que la irradiación es el método más efectivo.

Por lo expresado, la incorporación de métodos rápidos de tamizaje es una herramienta útil para reducir el tiempo de informe, dentro de los que se destacan los métodos moleculares ya que son útiles para detección de patógenos con baja dosis infectiva por su menor límite de detección, mayor sensibilidad y especificidad.

## ***Trabajos Presentados***

# Aprovechamiento del lactosuero mediante hidrólisis enzimática de sus proteínas con Alcalasa®: obtención de un ingrediente potencialmente funcional

Agustina Eberhardt\*, Enrique J Mammarella, Ricardo M Manzo, Guillermo A Sihufe

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC, UNL-CONICET), Güemes 3450, S3000GLN Santa Fe (Santa Fe)

\*agustinaeber@intec.unl.edu.ar

**Palabras claves:** hidrolizados, suero lácteo, Alcalasa, péptidos bioactivos, propiedades funcionales

## Resumen

El objetivo del presente estudio consistió en obtener hidrolizados enzimáticos a partir de concentrado de proteínas de suero lácteo (WPC 80) por acción de una endopeptidasa comercial de uso habitual en la industria alimenticia, para luego caracterizarlos y evaluar la presencia de funciones biológicas y tecnológicas en los mismos con el fin de desarrollar un ingrediente con propiedades funcionales. La hidrólisis enzimática se llevó a cabo en un reactor tipo batch agitado con control de pH y temperatura. La misma comenzó con el agregado de la enzima Alcalasa® 2.4L de *Bacillus licheniformis* sobre la solución de WPC que se encontraba en agitación, a 50°C y pH 9, alcanzando una relación E/S de 1/1200 (v/v). Durante la reacción, el pH se mantuvo constante por la adición de NaOH 0,5 N. Alcanzado el grado de hidrólisis (DH) del 13%, se realizó la inactivación térmica de la enzima a 95°C por 5 minutos. Además, se obtuvieron los blancos de reacción correspondientes a las soluciones de WPC sometidas a las mismas condiciones operativas del ensayo de hidrólisis (agitación, temperatura, pH y tiempo), omitiendo la etapa de adición de la enzima y su consecuente inactivación térmica. Los hidrolizados obtenidos fueron acondicionados para su posterior caracterización y análisis. Para ello se emplearon procesos de centrifugación, filtración y liofilización, que dieron como resultados diferentes fracciones de estudio. La caracterización fisicoquímica de los hidrolizados estuvo dada por el estudio del contenido de proteínas a través de la determinación del nitrógeno total por Kjeldahl y del análisis del perfil peptídico por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa (RP-HPLC). Parámetros tales como termoestabilidad, solubilidad, capacidad espumante y estabilidad de la espuma, se emplearon para la caracterización desde el punto de vista de las propiedades tecnofuncionales. El estudio de las propiedades bioactivas se realizó mediante la determinación de la presencia de actividades antimicrobiana, antihipertensiva y antioxidante. Tanto las pruebas del contenido proteico como la del perfil peptídico, mostraron que los procesos de acondicionamiento no afectaron significativamente las fracciones de hidrolizados obtenidas, resultando los extractos obtenidos muy similares entre sí. Por otra parte, los cromatogramas correspondientes a los extractos de hidrolizados, reflejaron claramente cómo la hidrólisis enzimática promovió la liberación de péptidos de menor tamaño, mientras las principales proteínas del WPC se degradaron casi por completo. El análisis de las propiedades tecnofuncionales mostró que la hidrólisis enzimática del WPC, en las condiciones trabajadas, fue muy beneficiosa puesto que mejoró significativamente tanto la estabilidad térmica como también la solubilidad. El estudio, además, reveló la presencia de péptidos bioactivos con importantes funciones biológicas, siendo las más relevantes las actividades antihipertensiva y antioxidante y, en menor medida, la antimicrobiana. Dicha investigación permitió obtener un hidrolizado con interesantes propiedades, las cuales podrían posibilitar la incorporación futura del mismo como ingrediente funcional en una matriz alimentaria, contribuyendo, además, al aumento del valor agregado del suero. En este sentido, se prevé a futuro desarrollar y caracterizar dicha matriz, con el desafío de lograr una formulación que permita conservar las propiedades detectadas en el presente estudio.

## Producción, purificación e inmovilización de inulinasa fúngica

Micaela Nair Roldán<sup>a\*</sup>, Evelyn Wagner<sup>a</sup>, M. Laura Carbajal<sup>a, b</sup>, N. Lorena Rojas<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Bioprocesos, Universidad Nacional de Quilmes, CONICET, Departamento de Ciencia y Tecnología, IMBA, Roque Sáenz Peña 352, Quilmes (1876), Argentina

<sup>b</sup> Giecien, IESCT, Universidad Nacional de Quilmes, CONICET, Departamento de Ciencia y Tecnología, Roque Sáenz Peña 352, Quilmes (1876), Argentina.

\*michaelanair.mr@gmail.com

*Palabras claves: inulinasa, prebióticos, FOS, biorreactor enzimático*

### Resumen

Las inulinasas son enzimas de aplicación en la industria de alimentos para la producción de prebióticos, jarabe de fructosa, entre otros. Esta enzima degrada inulina generando fructooligosacáridos (FOS), considerados prebióticos, en un único paso y con un rendimiento de alrededor del 80%. Una alternativa conveniente para la aplicación industrial de estas enzimas es su inmovilización para desarrollar biorreactores enzimáticos. Estos sistemas incrementan la estabilidad y la actividad de la enzima para soportar condiciones de reacción adversas, permiten su reutilización y mejoran la etapa de recuperación del producto.

En este marco, se propone producir, purificar e inmovilizar una inulinasa fúngica ácido-estable, recombinante expresada en *Pichia pastoris*, cuyas características bioquímicas le otorgan un potencial de aplicación en procesos industriales, con la intención de generar un reactor enzimático para la producción de prebióticos. Se plantea primero estudiar la producción de la proteína recombinante y su recuperación; y luego estudiar y caracterizar su inmovilización sobre soportes de polietileno de alta densidad (HDPE) porosos (70%) y modificados por copolimerización radioinducida (desarrollados previamente por el grupo de trabajo) y posteriormente derivatizados químicamente. Si bien se han reportado trabajos de inmovilización de este tipo de enzimas, los polímeros comúnmente utilizados como agar, agarosa, alginato ó quitosano presentan inconvenientes de resistencia mecánicas y baja durabilidad. Debido a esto, resulta necesario abordarlo desde el uso de matrices robustas y económicas, de manera de poder desarrollar un proceso enzimático transferible al sector productivo. En este trabajo, se han realizado cultivos de alta densidad en un reactor de 5 l con un perfil de alimentación adecuado. Se han optimizado las condiciones de los procesos de recuperación involucrados (centrifugación y ultrafiltración) alcanzando rendimientos del 60% con 90% de grado de pureza. Se ha evaluado la factibilidad de incorporar cromatografías de intercambio iónico para obtener mayor grado de pureza. Se ha realizado la síntesis del soporte base de HDPE poroso mediante copolimerización por injerto por radiación gamma <sup>60</sup>Co con monómeros de Glicidilmetacrilato (GMA) y Dimetilacrilamida (DMAA). El sistema elegido entre los obtenidos ha sido el HDPE con copolímero de GMA:DMAA (1:3), 6% de grado de injerto, y capacidad del orden de 60 μmoles Cu<sup>2+</sup>/g de soporte. En relación a la inmovilización se han desarrollado tres técnicas diferentes, para las cuales el material ha sido derivatizado de forma tal de obtener grupos aminos, carboxilos o epóxidos disponibles a los que se les pueda unir la enzima covalentemente. Con este sistema, se ha inmovilizado y evaluado la actividad enzimática resultante en distintas condiciones.

Se espera que el presente proyecto permita desarrollar un proceso enzimático robusto con el potencial de ser transferible al sector industrial para la generación de este tipo de bioinsumos.

## Producción de Fructoligosacáridos y Fructopolisacáridos a Partir de la Levansacarasa de *Gluconacetobacter Diazotrophicus*.

**Mignone Ástor\*, Antunes Nicolás, Boiardi José Luís**

Centro Tecnologías Químicas, Facultad Regional Buenos Aires, Universidad Tecnológica Nacional, Argentina.

\* astormignone@gmail.com

**Palabras Clave:** Levansacarasa, Prebióticos, Conversión Enzimática, Inmovilización

### Resumen

Se denominan fructanos a los oligosacáridos (FOS) y polisacáridos (levanos) constituidos exclusivamente por fructosa. Los fructanos no son digeribles por los mamíferos, lo que da la posibilidad de ser usados como edulcorantes, fibras dietéticas bajas en calorías y compuestos para diabéticos, por lo que son de interés en la industria alimenticia ya que, además, se les atribuyen beneficios para la salud del consumidor (alimentos funcionales). Sus propiedades como humectantes, adherentes, emulsificantes, estabilizantes etc. muestran la posibilidad de uso de estos polímeros en otras industrias como farmacéutica, cosmética, de agroquímicos, etc. Dentro de los beneficios, se destaca su capacidad de ser digeridos específicamente por la flora intestinal benéfica (probióticos) de los organismos superiores. Estos últimos secretan ácidos grasos de cadena corta lo que en primer lugar disminuye el pH en el intestino y en segundo, ayuda a la absorción de iones divalentes por quelación. El fructano de uso industrial más difundido es la inulina. Se usa principalmente como aditivo alimentario y su producción industrial es a partir de vegetales.

La producción de polisacáridos por cultivos microbianos es más ventajosa que la extracción a partir de plantas, ya que permite más rápidas y eficientes producciones, en ambientes reducidos y con procesos controlados.

En este trabajo, se estudió la síntesis de fructanos en sistemas libres de células, utilizando la enzima levansacarasa producida por *Gluconacetobacter diazotrophicus*, inmovilizada en un soporte rígido, en presencia de su sustrato (sacarosa). Esta forma de producción permite utilizar concentraciones de sacarosa inicial muy elevadas (hasta 600 g/l) que no pueden ser utilizadas en los cultivos por la inhibición del crecimiento bacteriano que ocurre a tan altas concentraciones de azúcar. A su vez, la inmovilización de la levansacarasa en un soporte rígido, permite establecer un control sobre la proteína y mejorar su estabilidad fisicoquímica.

La inmovilización de la levansacarasa en un soporte rígido mostró que el soporte resultó altamente específico para la enzima, permitiendo reducir los volúmenes de trabajo un 40X (en comparación con la enzima libre en el sobrenadante de cultivo) y, en segundo lugar, que la producción de diferente tipo de fructanos es dependiente del caudal de alimentación de sustrato a la columna en donde se encuentra LA enzima inmovilizada. Estos resultados preliminares indican la posibilidad de la producción de diferentes tipos de fructanos (FOS o Levanos) en sistemas libres de células.

## Bombón gelificado a base de calabaza (*Cucurbita moschata*) tratada enzimáticamente

Camila Tilli<sup>a\*</sup>, Ana Clara Díaz<sup>a</sup>, María José Torres<sup>a,b</sup>, Alicia Gallo<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA)

<sup>b</sup> CIT NOBA (CONICET-UNNOBA-UNSAdeA)

<sup>c</sup> Departamento de Tecnología, UNLu

\*camila\_tilli@outlook.com

**Palabras claves:** calabaza, tratamiento enzimático, bombones

### Resumen

Existe una demanda creciente de productos que permitan incorporar fácilmente hortalizas. El desarrollo de productos innovadores que sean atractivos para los niños, que generalmente rechazan los vegetales, fuente de vitaminas, minerales y antioxidantes, alto contenido en fibras y bajo en grasas, constituye un desafío para la industria alimentaria. La reducción de alimentos de alto valor calórico hacia una alimentación saludable, genera una oportunidad para el desarrollo de golosinas que sean vehículos de estos nutrientes. Para el procesamiento de vegetales pueden emplearse como coadyuvantes enzimas que actúan sobre la pared celular, particularmente celulasas y pectinasas, facilitando la expulsión del agua dentro de las células y formando pastas homogéneas. En tal sentido, el objetivo del trabajo fue obtener una golosina gelificada a base de calabaza tratada enzimáticamente, de modo de lograr un producto atrayente para los niños y que contribuya al consumo de hortalizas.

Las calabazas se trozaron y procesaron para obtener pools de pulpas. Estas fueron tratadas enzimáticamente con la preparación comercial Viscozyme (Novozymes Corp.) al 0,06% durante 45 minutos a 42°C. Las pulpas tratadas fueron caracterizadas mediante determinación de acidez, pH, °Brix, rendimiento y color (parámetros cromáticos L, a\* y b\*), y fueron fraccionadas y conservadas en freezer hasta su utilización. Se formularon los bombones a partir de calabaza tratada (64.9%), azúcar (32.4%), glucosa (0.2%), jugo de limón (0.5%), gelatina que se hidrata previamente hasta alcanzar los 70°C (1.2%) y agar (0.8%). Se realizó una primera mezcla de los azúcares y las pulpas de calabaza, se incorporó luego el resto de los ingredientes y se sometió a calentamiento suave hasta alcanzar los 82°C midiendo durante el proceso de elaboración pH y °Brix de la mezcla. Se permitió la gelificación de los bombones en moldes y se caracterizaron por determinación de humedad, actividad acuosa ( $a_w$ ), acidez y color en superficie e interior.

El tratamiento enzimático sobre calabaza permitió obtener pastas más suaves y homogéneas. El rendimiento en la extracción de jugo aumentó de 39,1% en las pulpas de calabaza sin tratamiento enzimático a 70,3% en las pulpas tratadas, el pH disminuyó de 6,52 a 5,59, la acidez aumentó de 0,074% (g de ácido cítrico/100 g de calabaza) a 0,13% y los °Brix de 10,4 a 11,5. Los 3 parámetros cromáticos disminuyeron: L desde 52,54 a 46,43; a\* de 34,46 a 29,83 y b\* de 61,72 a 53,0. Durante el proceso de gelificación el pH se mantuvo entre 5 y 5,5 y los °Brix fueron aumentando a medida que se concentraba la mezcla durante la cocción (desde 41,8 a 60). La humedad de los bombones resultó del 42%, la  $a_w$  0,926 y la acidez 0,14 % (g de ácido cítrico/100 g de producto). Los parámetros cromáticos fueron: L 41,09, a\* 27,06 y b\* 50,37. El rendimiento del proceso fue del 69.1%. Los bombones presentaron buena aceptabilidad en el análisis sensorial preliminar, tanto desde el punto de vista visual, olfato-gustativo como textural. Los dulces desarrollados a base de calabaza tratada enzimáticamente son una alternativa interesante y novedosa para incorporar hortalizas en la dieta de los niños.



## Extracción de pigmentos antocianos a partir de frutilla, frambuesa y zarzamora

Cecilia Csernoch<sup>a\*</sup>, Gabriela Cano<sup>b</sup>, Alicia Gallo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamentos de Tecnología, Universidad Nacional de Luján

<sup>b</sup> Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos -Universidad Nacional de Luján

\*ceciliacs2@hotmail.com

**Palabras claves:** antocianinas, extracción con solvente, enzimas, frutas rojas

### Resumen

Las frutillas, frambuesas y zarzamoras presentan una alta concentración de antocianinas, utilizado como colorante y aditivo alimentario por su poder tintóreo y destacada actividad antioxidante. Con el fin de mejorar el rendimiento de extracción de pigmentos de distintas fuentes vegetales el uso de enzimas en la industria alimentaria se ha hecho frecuente en los últimos años. El objetivo del presente trabajo fue determinar las condiciones óptimas de extracción de antocianinas en pulpas de frutillas, frambuesas y zarzamoras, utilizando una extracción combinada de tratamiento enzimático y extracción con solvente.

Las frutas fueron acondicionadas y trituradas. Se realizó el tratamiento enzimático sobre las pulpas utilizando enzima Viscozyme (Sigma) de acción pectinasa y celulasa 0,10 ml/100g muestra. La maceración se realizó a 42°C, 60 minutos, y se centrifugó obteniendo jugo y pulpa que fueron caracterizados (pH, °Brix, color y antocianinas). Sobre las pulpas residuales se realizó una extracción hidroalcohólica, utilizando mezcla etanol:agua 50:50. La extracción se realizó en dos etapas utilizando igual cantidad de muestra que de solvente, con calentamiento y agitación sobre plancha calefactora, durante 30 minutos a 40 °C, luego se centrifugó a 2000 rpm, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se obtuvo un primer jugo y sobre las pulpas se realizó una segunda extracción similar a la primera obteniendo un segundo jugo, en ambos se determinaron pH, °Brix, color y concentración de antocianinas. Se utilizó el método del pH diferencial para cuantificar antocianinas, expresadas como cianidina-3-glucósido y el color se midió en el espacio CIELAB (L\*, a\* y b\*) empleando un fotocolorímetro. El mejor rendimiento en extracción de jugo, por tratamiento enzimático, se obtuvo a partir de la pulpa de frutilla (M1) (t0: 70% y t60 min: 85%). Las tres frutas analizadas se comportaron de modo diferente frente a los métodos de extracción. A partir de la pulpa de frutilla se pudo extraer 112 mg/kg de antocianinas por tratamiento enzimático y 111 mg/kg de antocianinas por extracción con solvente. De la pulpa de frambuesa se extrajo 273 mg/kg de antocianinas por tratamiento enzimático y 243 mg/kg de antocianinas por extracción con solvente. A partir de la pulpa de zarzamora se obtuvo 321 mg/kg de antocianinas por tratamiento enzimático y 433 mg/kg de antocianinas por extracción con solvente. Se observa que las pulpas obtenidas luego de la extracción combinada perdieron gran parte de su pigmento en las frutillas y frambuesas, sin embargo, las pulpas de las zarzamoras continúan coloreadas. El uso de enzimas y solventes en vegetales favorece la liberación del pigmento de los tejidos. La extracción combinada empleando enzima+solvente permitió maximizar la obtención de antocianinas de las pulpas, permitiendo extraer un alto contenido de pigmentos en las tres frutas. Sin embargo, en las zarzamoras quedan ocluidos pigmentos en las pulpas residuales, probablemente debido a la estructura de su pared celular, lo que indica que necesitaría otra extracción para obtener el pigmento remanente.

## Capacidad emulsificante de biosurfactantes producidos por bacterias lácticas

Virginia M. Lara<sup>a,b\*</sup>, Marisol Vallejo<sup>c</sup>, Emilio R. Marguet<sup>c</sup>, María F. Gliemmo<sup>a,b</sup>, Carmen A. Campos<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Industrias. Buenos Aires, Argentina

<sup>b</sup> CONICET - Universidad de Buenos Aires, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ). Buenos Aires, Argentina

<sup>c</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Sede Trelew. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Chubut, Argentina.

\*viriniamlara@di.fcen.uba.ar

**Palabras claves:** biosurfactantes, bacterias lácticas, capacidad emulsificante

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad emulsificante de biosurfactantes producidos por bacterias lácticas previamente aisladas a partir de peces y de alimentos lácteos de origen patagónico. Dichas cepas fueron identificadas genotípicamente como *Lactobacillus pentosus* (Tw226), *Lactococcus Lactis spp. Lactis* (Lc12) y *Lactobacillus plantarum* (LbTw7). Con el fin de evaluar la capacidad de producir compuestos con actividad superficial y emulsificante de las tres cepas anteriormente mencionadas, las mismas fueron incubadas en caldo MRS durante 72hs, a 37°C, con una agitación de 120rpm, utilizando un agitador orbital. Acabado el periodo de incubación, se limpió el pellet dos veces con agua destilada y se re-suspendió en buffer fosfato para la liberación de los biosurfactantes ligados a las células. Finalmente, se separó el pellet por centrifugación y se filtró el sobrenadante libre de células (SLC) utilizando un filtro de 0,45µm. A los SLC obtenidos se les midió la tensión superficial, determinando así la presión superficial, la cual corresponde a la diferencia de tensión superficial entre los mismos y buffer fosfato, considerado como control negativo. Para evaluar la capacidad emulsificante, se formularon emulsiones utilizando como fase acuosa los SLC adicionados con 0,15% de goma xántica y 10% de aceite de maíz comercial. La emulsificación se realizó utilizando un homogeneizador de alta velocidad. Para evaluar las emulsiones formuladas, se determinó la distribución de tamaño de gota en un analizador Mastersizer y se calculó el diámetro de Sauter ( $D_{3,2}$ ) como medida del diámetro promedio volumen-superficie de las gotas en la emulsión y el diámetro promedio de volumen equivalente o diámetro de Broucker ( $D_{4,3}$ ), como medida de la tendencia a la desestabilización. Una disminución significativa de dichos parámetros respecto a una emulsión control sin la incorporación del SLC indicaría que éste contiene compuestos con capacidad emulsificante. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y se informan los promedios obtenidos. La existencia de diferencias significativas entre los parámetros se evaluó mediante un ANOVA.

En cuanto a los valores de presión superficial promedio de los SLC de células, éstos fueron 28,7, 26,7 y 22,6 mN/m para Tw226, LbTw7 y Lc12, respectivamente, siendo las primeras dos significativamente diferentes a la última. Ello muestra que en los SLC se encuentran contenidos compuestos con actividad superficial. Todas las muestras presentaron reducciones significativas en el  $D_{3,2}$  y  $D_{4,3}$  respecto al control negativo. En particular, aquellas que presentan los valores significativamente más pequeños de  $D_{3,2}$  y  $D_{4,3}$  fueron las cepas Lc12 y LbTw7, siendo éstos de 23,61 y 34,07µm, 26,80 y 39,19µm respectivamente. Estos valores implican una reducción del tamaño de gota de 65,3% para el índice  $D_{3,2}$  y 49,5%, para el índice  $D_{4,3}$ , respecto al control negativo para la cepa Lc12 y 60,6% para el índice  $D_{3,2}$  y 48,8% para el índice  $D_{4,3}$ , respecto al control negativo para la cepa LbTw7. La cepa Tw226 presentó una reducción en el índice  $D_{3,2}$  de 35,3% y 21,7% para el correspondiente al  $D_{4,3}$ . Los resultados comentados sugieren que los biosurfactantes producidos por las cepas en estudio presentan potenciales aplicaciones como emulsificantes en alimentos.

## Efecto de la hidrólisis enzimática en las propiedades fisicoquímicas de galactomananos y su reactividad

Lorena Pepa<sup>a</sup>, Verónica Busch<sup>ab</sup>, Luis Panizzolo<sup>c</sup>, Fernando Ferreira<sup>c</sup>, Pilar Buera<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> ITAPROQ-UBA, Departamento de Industrias, Argentina.

<sup>b</sup> Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina.

<sup>c</sup> Universidad de la República, Uruguay.

\*pbuera@di.fcen.uba.ar

**Palabras claves:** goma guar, *Prosopis ruscifolia*, viscosidad, peso molecular, pardeamiento no enzimático.

### Resumen

Las gomas de galactomananos se han estudiado ampliamente en la última década. Son utilizadas tanto en la industria farmacéutica, como en la alimentaria, nutracéutica, textil y otras. Se utilizan como agente espesante, estabilizante, encapsulante, modificador de textura, así como excipiente y en películas. Este tipo de gomas son apreciadas por ser biodegradables y amigables con el medio ambiente, por su alta estabilidad frente a las modificaciones de pH y temperatura. Además, forman parte de la fibra dietética soluble y, en consecuencia, su consumo puede producir beneficios para la salud humana. Muchos de los mencionados beneficios y aplicaciones están restringidos por la alta viscosidad en solución acuosa y el gran peso molecular que caracteriza a los galactomananos. Como consecuencia, muchas veces se busca hidrolizar estas gomas para aumentar su solubilidad en agua, disminuir el peso molecular y la viscosidad de la suspensión y mejorar así su funcionalidad. El objetivo de este trabajo es hidrolizar tres diferentes galactomananos (goma guar, goma garrofin, y goma de vinal) utilizando un combo enzimático (Optizyme), evaluar su peso molecular, su viscosidad y su estabilidad química frente a la reacción de Maillard.

La goma guar (GG) y la goma garrofin (LBG) son galactomananos comerciales extraídos del endospermo de las semillas de *Cyamopsis tetragonolobus* y *Ceratonia siliqua*, respectivamente. De manera similar, la goma de vinal (VG) es un galactomanano no tradicional extraído del endospermo de las semillas de *Prosopis ruscifolia*, un árbol muy abundante en el noreste argentino. Las tres gomas se hidrataron antes de la hidrólisis. Para la hidrólisis enzimática, OPTIZYME<sup>®</sup> L se diluyó sucesivamente con agua miliQ hasta 1:50 y se utilizó un buffer fosfato pH = 5,50. Para el análisis de los hidrolizados, se midieron las curvas de flujo (10 y 25°C) y el espectro mecánico (0,1-100 Hz), usando un reómetro con geometría plato y cono, de diámetro 7,5 cm. Se midió el peso molecular por SEC-HPLC-MALS usando una columna de sílica porosa, y el detector de índice de refracción. Se evaluó la reacción de Maillard por espectroscopía UV-visible en soluciones acuosas buffer fosfato 0,1 M de pH = 7,00 de 0,3% hidrolizados y 3% glicina calentando a 100°C durante 6 horas. Las suspensiones acuosas de las tres gomas disminuyeron su viscosidad convirtiéndose en fluidos newtonianos a los 30 minutos de hidrólisis enzimática. En cuanto al peso molecular, las enzimas produjeron un corrimiento de los picos hacia pesos moleculares menores aumentando, además, en gran medida la polidispersidad del tamaño molecular. Se corroboró la ausencia de monosacáridos en todos los tiempos de hidrólisis para las tres gomas, así como también la ausencia de oligosacáridos de hasta 7 unidades monosacáridicas por TLC. La hidrólisis mostró un rompimiento de la cadena polimérica al azar y sin especificidad por los monosacáridos terminales o ramificaciones de galactosa. Además, se observó en los hidrolizados una mayor susceptibilidad a la reacción de Maillard sobre todo a mayores tiempos de tratamiento enzimático (90 minutos). Esto puede deberse a un mayor número y disponibilidad grupos reductores de las cadenas poliméricas al estar hidrolizados y, por lo tanto, una mayor reactividad frente a los grupos amino de la glicina. La hidrólisis de galactomananos por el método enzimático es adecuada para disminuir el peso molecular y la viscosidad de una manera rápida, y obtener fracciones de características reológicas específicas. Además, es importante destacar que se ve modificada su reactividad química frente a Maillard u otras reacciones, por lo que se deben tomar los recaudos convenientes. Este trabajo promueve la aplicación de estas gomas y sus hidrolizados para fines tecnológicos particulares, lo que permite diversificar tanto los productos, así como las industrias en que pueden ser utilizados.

## **Autoridades Facultad Regional Buenos Aires**

### ***Decano***

Ing. Guillermo Oliveto

### ***Vicedecano***

Ing. Andrés Bursztyn

### ***Secretario de Asuntos Universitarios***

Ing. Rubén Darío Dellagiovanna

### ***Secretaria Académica***

Dra. Mirian Capelari

### ***Secretario Administrativo***

Sr. Esteban De Bonis

### ***Secretario Legal y Técnico***

Dr. Alejandro Baigüera

### ***Secretaria de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva***

Lic. Patricia Cibeira

### ***Secretario de Cultura y Extensión Universitaria***

Ing. Christian Grillo

### ***Secretaria de Planeamiento y Gestión de Procesos***

Ing. Vanina De Los Ángeles Bottini

### ***Directora de Departamento de Ingeniería Química***

Ing. Susana Santana

### ***Director del Centro de Tecnologías Químicas***

Dr. Isaac Marcos Cohen



**UTN.BA**

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL  
FACULTAD REGIONAL BUENOS AIRES

**A G E N C I A**

N A C I O N A L D E P R O M O C I O N  
C I E N T I F I C A Y T E C N O L O G I C A

