



INFORME PERIODO: 2014/2015

1. APELLIDO: Vicente

Nombre(s): Sebastián

Título(s): Licenciado en Ciencias Biológicas

Dirección Electrónica: sebas.vicente@gmail.com

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría: Profesional Adjunto Mes: Junio Año: 2012

ACTUAL: Categoría: Profesional Adjunto Mes: Agosto Año: 2015

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

a) FICTBC 01/2014. Estimación de las diferencias entre métodos analíticos para fumonisinas en maíz y gluten meal. Integrantes: Dra. Ana Pacin, Dra. Silvia Resnik, Lic. Sebastián Vicente, Dra. Bernarda Coronel.

b) FICTBC 02/2014. Identificación de cepas productoras de fumonisinas sintetizadas por cepas de *Aspergillus niger*. Integrantes: Lic. Sebastián Vicente, Dra. Ana Pacin.

c) FICTBC 026/12. Estimación de la exposición a ocratoxina A a través de productos elaborados con soja. Integrantes: Dra. Ana Pacin, Lic. Sebastián Vicente, Tec. Gabriela Cano.

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): Alzamora, Stella Maris

Cargo, Institución: Presidenta, Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de la Cruz,

Investigadora Superior de CONICET.

Dirección Electrónica: www.ictbdelacruz.org.ar

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de la Cruz

Dependencia: C.I.C

Dirección: Calle: Dorronzoro N° 141 Ciudad: Luján C. P: 6700 Prov.: Bs.As.

Tel: 54 2323 42 5946

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre: -

Dependencia -

Dirección: Calle: -

N° -

Ciudad-

C. P-

Prov: -

Tel: -

Cargo que ocupa: -

ÍNDICE

	Página
7. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERÍODO	3
8. OTRAS ACTIVIDADES	3
8.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC.	3
8.2. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.	3
8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS o EVENTOS SIMILARES	4
9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO	4
10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES	4

7. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERÍODO

Se realizaron tareas de apoyo a los trabajos de investigación llevados a cabo en el laboratorio de la Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de la Cruz.

Se realizaron análisis para determinar y cuantificar el contenido de micotoxinas en diversas matrices alimentarias. Se llevaron a cabo técnicas de extracción y purificación de aflatoxina, fumonisina, ocratoxina, zearalenona y deoxinivalenol en distintos cereales y oleaginosas. Los niveles de contaminación se cuantificaron mediante cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y ensayos de ELISA.

Se realizaron ensayos en HPLC para la puesta a punto de las condiciones para el desarrollo de corridas cromatográficas, composición de las fases móviles y temperatura de corrida, de varias micotoxinas. Se originaron curvas de calibración para la cuantificación de los metabolitos.

Se emplearon técnicas estadísticas con el objetivo de estimar las diferencias en la cuantificación

Se continúan los estudios sobre los factores que pueden determinar la colonización de los hongos toxicogénicos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticilloides*) en cereales y oleaginosas en condiciones “in vitro” y los niveles de producción de toxinas. Se están realizando ensayos de capacidad toxicogénica de Ocratoxina A, en algunas especies de hongos filamentosos, en porotos de soja y productos con valor agregado como el Tofu.

Se trabajó en el mantenimiento y conservación del cepario que posee la Fundación.

Se emplearon técnicas de marcadores morfológicos y moleculares para la identificación de algunas especies de hongos de nuestro cepario.

8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC.

“Influencia de la composición y la estructura en el comportamiento de sorción de manzanas frescas y sometidas a deshidratación osmótica”. Trabajo aceptado como póster para su publicación en el XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CYTAL 2015, del 3 al 5 de Noviembre de 2015, Buenos Aires, Argentina.

8.2 CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.

- Taller “Técnicas básicas de Fitopatología”. Organizado por la Universidad Nacional de Luján. Expediente n° 1541/14 – Disp. CDDT n° 372/14 – Duración: 32 horas totales. Luján, Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2014. Se adjunta certificado de asistencia.

- Se recibió entrenamiento en el análisis de aflatoxinas. Capacitación dictada por la Dras. Ana Pacin y Silvia Resnik. Capacitación en las técnicas de laboratorio a cargo de Tec. Gabriela Cano y Tec. Daniela Taglieri. Mayo a Julio 2015. Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de la Cruz, Luján (150 horas).

- Capacitación en el análisis de fumonisinas dictada por la Dra. Silvia Resnik. Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de la Cruz, Luján. Se adjunta el programa de estudio.

8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES.

9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

No corresponde.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.

Se realizaron parte de las evaluaciones estadísticas para el informe sobre “Estimación de las diferencias entre métodos analíticos para fumonisinas en maíz y gluten meal”. Resnik, S y Pacin, A. Desarrollado para la Cámara Argentina de Fructosas, almidones, glucosas, derivados y afines (CAFAGDA). FICTB paginas 1 -64. Febrero 2015.

Me encuentro en la etapa de preparación de la defensa final de mi tesis de doctorado “Deshidratación osmótica de tejido de manzana: Influencia de la naturaleza del agente osmótico y de la actividad de agua en la estructura, las propiedades reológicas y la movilidad molecular del agua” dirigida por la Dra. Andrea B. Nieto, la que fue experimentalmente desarrollada en el Laboratorio de Tecnologías Tradicionales y Emergentes de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. La misma será entregada a la Universidad de Buenos Aires para su defensa en octubre de este año.

Programa de “Capacitación en análisis de fumonisinas”

Docente: Silvia Resnik

Capacitados: Bernarda Coronel, Sebastián Vicente.

Objetivos:

- 1) Capacitar en el manejo de HPLC
- 2) Capacitar en la extracción, detección y cuantificación de fumonisinas
- 3) Determinar la contaminación por fumonisinas en algunas fracciones de la molienda húmeda de maíz

Material y métodos:

Se trabajó con dos muestras: gluten meal líquido (33269) y gluten feed con diatomeas (33270), a las que se realizó la determinación de fumonisinas según la “Metodología para Fumonisinas B1, B2 y B3 en maíz HPLC” de la FICTBC, basada en AOAC 995.15. First action 1995, con algunas modificaciones. (03/09/2014)

Solvente y drogas

Metanol (Sintorgan S.A; Argentina) SIN-027008-1

Acetonitrilo (Sintorgan S.A; Argentina) SIN 008008-1

Agua destilada (Torbidoni, Argentina)

Ácido acético (JT Baker Inc., USA) 9515-03

Ácido ortofosfórico (Merck Inc; Germany) 100573.2500

O-phtaldialehido (Merck Inc; Germany)

Tetraborato de sodio (Merck Inc; Germany) 6308-A441908

2-mercaptoetanol (Merck Inc; Germany) CAS 60242

Fosfato ácido de sodio (Merck Química Argentina S.A.I.C; Argentina) 10634610001026

Hidróxido de sodio (Merck Química Argentina S.A.I.C; Argentina) 6498

Equipos y Columnas:

Licuada (Osterizer, USA)

Columnas amino-cuaternarias CUQAX1 (UCT, USA) para limpieza de la muestra.

Manifold y adaptadores para el uso de las columnas de limpieza.

Equipo HPLC: Agilent 1100 (Agilent Inc; USA). Los módulos que componen el sistema son: degasificador en línea (modelo G1322A; Agilent; USA), bomba cuaternaria (modelo G1310A; Agilent; USA), inyector automático (modelo G1313A; Agilent; USA), termostatizador de columna (modelo G1316A; Agilent; USA) y detector de fluorescencia (modelo G1321A FLD; Agilent; USA).

Excitación: 335 nm

Emisión: 440 nm

Extracción:

Se homogeneizaron las muestras, se midieron 10 ml de cada una y se registró su peso: 10,05 g (muestra 3329) y 10,14g (muestra 33270).

Se agregaron 30 ml de metanol y se licuaron las mezclas durante cinco minutos. Se filtraron y los filtrados se ajustaron a pH = 5.8 con solución saturada de NaOH.

Para la limpieza se utilizaron columnas UCT, activadas previamente con 5 ml de metanol y 5 ml de metanol:agua (3:1). Se pasaron 10 ml de extracto, luego se lavaron las columnas con 5 ml de metanol:agua (3:1) y por último con 5 ml de metanol. Se eluyó con 10 ml de metanol:ácido acético (99:1). Se evaporaron los extractos a 60°C con vacío.

Reconocimiento de errores volumétricos

Se hizo el cálculo del error por medición de peso y volumen en la extracción de la muestra, obteniendo un valor del 5%, por lo que se decidió optimizar estos pasos mediante el uso de otros instrumentos de medición:

Las mediciones se realizaron en gramos

Se pesó en la balanza analítica

No se usaron probetas para medir volúmenes de líquidos

Se hicieron cálculos para usar una cantidad de muestra que permita medir volúmenes de líquidos en pipetas con aforo.

Prueba dilución gluten meal sólido

Se pesaron 1.25 g de gluten meal (muestra CIM 33244) por duplicado.

Se pesó 1.25 g de muestra en balanza analítica en tubo de ensayo. Se pesaron 8 g de agua con pipeta de vidrio. Se agregó el agua a la muestra y se pasó por vortex. Se trasvasó al vaso de la licuadora y se lavó con metanol. Se midieron 25 ml de metanol con pipeta aforada. Se filtró la mezcla y se ajustó el pH entre 5,8 y 6,5 con solución saturada de NaOH. En la etapa de limpieza se decidió utilizar las columnas aminocuaternarias de la marca UCT para las pruebas y dejar las columnas de marca Strata para los análisis de muestras tratadas con ozono. Se pasaron 10 ml del filtrado por la columna, previamente activada con 5 ml de metanol y 5 ml de metanol:agua (3:1). Se lavó con 5 ml de metanol:agua (3:1) y 5 ml de metanol. Se eluyó con 10 ml de acetonitrilo:metanol (1:99) (es muy importante mantener un flujo de 1 ml/min en este paso para que las FB no queden retenidas en la columna). Se evaporaron las muestras y se almacenaron en heladera en los mismos tubos de ensayo donde se secaron. Se decidió realizar el análisis de estas muestras por HPLC en otra fecha.

Detección y cuantificación:

03/09/2014 Se purgó el sistema con la válvula abierta, flujo: 5 ml/min (metanol) hasta que se dejó de observar burbujeo. Luego se cambió el flujo a 1 ml/min y se cerró la válvula. Para acondicionar la columna se pasó metanol durante una hora (flujo: 1 ml/min), luego se cambió a fase móvil durante aproximadamente una hora (flujo: 1 ml/min).

Se resuspendieron los extractos en 500 µl de acetonitrilo:agua (1:1) para su análisis por HPLC.

Condiciones de HPLC:

Columna: RP Varian Microsorb-MV100 C-18, 5 µm, 250 mm × 4.6 mm

Temperatura columna: 23°C

Fase móvil: metanol: NaH₂PO₄ 0.1 M (77:23), pH=3.3 (ácido ortofosfórico)

Flujo: 1 ml/min

Programa de inyección:

Tomar 17 µl de OPA

Lavar la aguja con metanol, 1 vez

Tomar 20 µl de muestra

Lavar la aguja con metanol, 3 veces

Tomar 17 µl de OPA

Lavar la aguja con metanol, 1 vez

Mezclar a 500 µl/min, 10 veces

Volumen de inyección: 55 µl

Durante el desarrollo de la corrida se observó alta presión, por lo que se decidió limpiar la columna del equipo con el siguiente procedimiento:

A flujo: 1 ml/min:

Agua 60 min

Agua:metanol 30 min

Metanol 10 min

Acetonitrilo 10 min

Se purgó el sistema con la válvula abierta, flujo: 5 ml/min (fase móvil) hasta que se dejó de observar burbujeo. Luego se cambió el flujo a 1 ml/min y se cerró la válvula. Se dejó correr fase móvil hasta observar una señal estable.

Condiciones HPLC:

Columna: Phenomenex ODS-3 100Å, 5 µm, 25 cm × 4.6 mm, de TALL, con precolumna.

Temperatura columna y precolumna: 30°C

Fase móvil: metanol: NaH₂PO₄ 0.1 M (77:23), pH=3.3 (ácido ortofosfórico). Se hicieron corridas con agregado de 2% y 4% de agua.

Flujo: 1 ml/min

Programa de inyección:

Tomar 17 µl de OPA

Lavar la aguja con metanol, 1 vez

Tomar 20 µl de muestra

Lavar la aguja con metanol, 3 veces

Tomar 17 µl de OPA

Lavar la aguja con metanol, 1 vez

Mezclar a 500 µl/min, 10 veces

Volumen de inyección: 55 µl

Secuencias programadas en el HPLC para diferentes corridas:

03/09/2014: Se inyectaron estándares disponibles:

D46: FB1 1.5116 µg/kg, FB2 1.5222 µg/kg.

FB3: 5.02 µg/kg (11/06/08).

Se inyectaron las dos muestras extraídas y luego el programa de limpieza definido ese día. El orden de inyecciones fue el siguiente:

Metanol (método FB030914)

Fase móvil (método FB030914)

D46 (método FB030914)

FB3 (método FB030914)

33269 (método FB030914)

33270 (método FB030914)

Acetonitrilo:agua (1:1) (método FB030914), como blanco.

Agua (limpieza)

Metanol (limpieza)

El trabajo del día fue obtener datos para optimizar la fase móvil (FM) del ensayo anterior, con el objetivo de observar el pico de la FB1 separado de la interferencia observada en la muestra de gluten meal líquido. Se inyectaron una muestra y un estándar con la FM original y con el agregado de 2% (sólo muestra) y 4% de agua a la misma.

Las inyecciones de la muestra (33269) y del estándar (FB1 + FB2) se realizaron desde los viales utilizados en el ensayo del día 03/09/2014.

El orden de inyecciones fue el siguiente:

33269, FM original (método FB080914), 2 inyecciones: la primera inyección se realizó para lograr estabilizar

Estándar FB1 + FB2, FM original (método FB080914)

33269, FM original + 2% agua (método FB080914A)

33269, FM original + 4% agua (método FB080914B)

Estándar FB1 + FB2, FM original + 4% agua (método FB080914B)

Se lavó la columna de la siguiente manera:

Flujo: 1 ml/min

Agua 60 min

Agua:metanol 30 min

Metanol 10 min

Acetonitrilo 10 min

Resultados

A partir de las áreas de los estándares inyectados se hizo el cálculo de las concentraciones de fumonisinas en las muestras. Los resultados son los siguientes:

	concentración ug/ml		
	FB1	FB2	FB3
D46 (estándar)	1,5	1,5	0,0
FB3 (estándar)	0,0	0,0	5,0
33269	2,7	1,9	0,1
33270	21,1	0,5	0,1

Se realizó la caracterización de las muestras en la FCEN con el objeto de poder “reconstituir” las muestras secas de gluten meal. Las masas de las muestras son las siguientes:

muestra	gramos masa envase	gramos E+muestr a	ml aprox Volumen	gramos masa muestra	g/ml densidad	E+Mseca	Mseca en 10ml
33269	9,3193	19,024	10	9,7047	0,97047	10,8182	1,4989(a)
33269	8,9512	18,7305	10	9,7793	0,97793	10,4912	1,54
33270	9,0111	18,7432	10	9,7321	0,97321	15,4468	6,4357(b)
33270	9,9141	20,3469	10	10,4328	1,04328	16,7374	6,8233

La composición de la fase móvil inicial (FMi) modificada por el agregado de agua (2% y 4%) es la siguiente:

FMA (FMi + 2% agua): metanol: fosfato (75,4:24,5)

FMB (FMi + 4% agua): metanol: fosfato (73,9:26,1)

A partir de los cromatogramas se obtuvieron los datos para el cálculo de la resolución (Tabla 1, Figuras 1 y 2). En el caso de la FMA se inyectó la muestra pero no el estándar.

Tabla 1. Porcentaje de agua, tiempos de retención, anchos de picos y resolución de FB1 e interferencia según lo observado en las inyecciones con FMi y FMB.

	FM (% agua)	tR (min)		ΔtR	w1	w2	$R=2\Delta tR/(W1+W2)$
		FB1	interferencia				Resolución
FMi	23	10,402	10,881	0,479	0,3092	0,2629	1,67
FMB (4%)	26	11,354	11,923	0,569	0,3511	0,4313	1,45

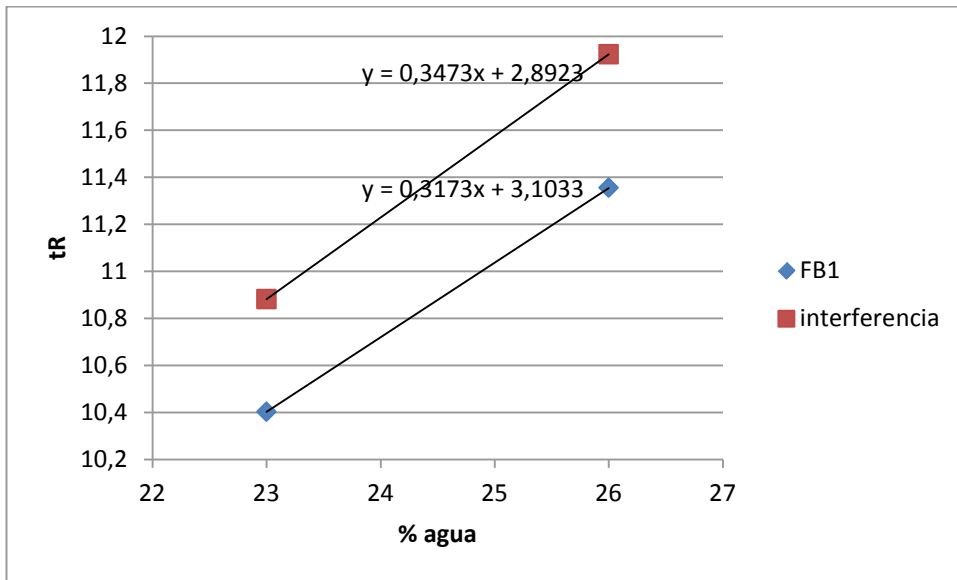


Figura 1. Tiempos de retención de FB1 e interferencia en función del porcentaje de agua en la fase móvil.

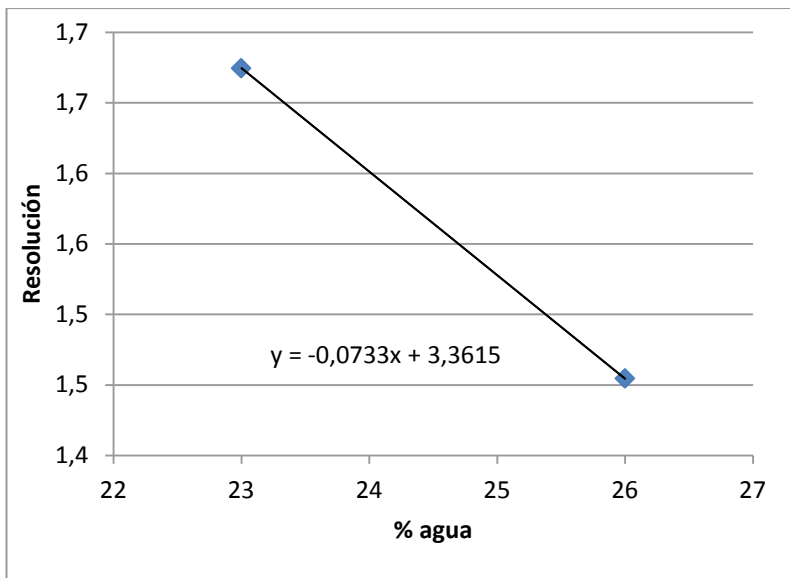


Figura 2. Resolución en función del porcentaje

INFLUENCIA DE LA COMPOSICION Y LA ESTRUCTURA EN EL COMPORTAMIENTO DE SORCIÓN DE MANZANAS FRESCAS Y SOMETIDAS A DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

VICENTE, Sebastián^{1,2}, NIETO, Andrea B.^{3,4} y ALZAMORA, Stella M.^{3,4}

¹Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina.; ²Fundación ICTB de la Cruz, Luján, Argentina.; ³Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.; ⁴CONICET; E-mail: andrea.bnieto@gmail.com

El objetivo del trabajo fue determinar las isotermas de adsorción y de desorción de muestras de manzanas frescas y manzanas que fueron tratadas osmóticamente en soluciones acuosas de azúcares.

Se utilizaron manzanas frescas (*Malus pumila*, variedad Granny Smith) adquiridas en un comercio local.

El contenido de humedad de las manzanas de todos los lotes utilizados fue de 86,3 – 88,0 % p/p, a_w $0,98 \pm 0,01$ y contenido de sólidos solubles 12 ± 1 °Brix.

La deshidratación osmótica con soluciones de azúcares se realizó en un sistema de trabajo con agitación forzada a presión atmosférica y temperatura ambiente.

Se utilizó una gran relación jarabe:fruta (aproximadamente de 20:1) para minimizar el efecto de la dilución de la solución de inmersión por el agua proveniente de la deshidratación de la fruta.

Se prepararon soluciones de glucosa 22,1 %p/p; 31,9 %p/p ó 39,5 %p/p, de trehalosa 34,4 %p/p ó 48 %p/p; de jarabe de maíz de alta maltosa 42 %p/p ó 56 %p/p y maltosa 37,3%p/p ó 51 %p/p.

A las soluciones se les agregó sorbato de potasio (1500 ppm), ácido ascórbico (1 %p/p) y se ajustó el pH a 3,5 con ácido cítrico (0,5 %p/p) con el propósito de inhibir y/o retardar el desarrollo microbiano y frenar las reacciones de pardeamiento enzimático inhibiendo la actividad de la enzima polifenoloxidasas.

La determinación de las isotermas se realizó por el método estático y gravimétrico. Las muestras frescas y tratadas se colocaron en desecadores bajo vacío conteniendo soluciones salinas saturadas de presiones de vapor relativas en el rango entre 11 al 90%. Las mismas fueron almacenadas a 20 °C por un periodo de 30 a 40 días.

Se registró el peso regularmente hasta que no se observaron cambios considerables en la masa.

Una vez alcanzado el equilibrio entre las muestras y las soluciones saturadas, se determinó gravimétricamente el contenido de humedad de las manzanas utilizando una estufa de secado al vacío.

Los datos fueron ajustados de acuerdo al modelo de Brunauer – Emmet – Teller (BET) y al modelo de Guggenheim – Anderson – de Boer (GAB)

Las isotermas de manzana fresca y manzana deshidratada e impregnada con soluciones acuosas de azúcares presentaron las formas características de los productos con altas concentraciones de azúcares. A la temperatura de ensayo no se observó fenómeno de histéresis.

No se observaron diferencias entre las isotermas de manzanas frescas y las isotermas de manzanas tratadas hasta a_w 0,8 pero si a altos valores de a_w debido a la alta concentración de azúcares.

De ambos modelos, la ecuación de GAB resultó en un mejor ajuste que la ecuación de BET a los datos. Los valores de humedad de monocapa de la manzana fresca y las muestras osmotizadas sometidas a diferentes pretratamientos obtenidos por aplicación de BET están en el rango entre 8 y 10 g agua /100 g ms, mientras que los obtenidos por GAB los valores fueron entre 10 y 12 g agua /100 g ms.

Palabras claves: isotermas sorción, modelo de Brunauer – Emmet – Teller, modelo de Guggenheim – Anderson – de Boer, manzana, impregnación con solutos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJAN

Por cuanto el Sr. **VICENTE Sebastian** DNI 23766958 ha cumplido satisfactoriamente los requisitos reglamentarios del Taller extracurricular "Técnicas básicas de Fitopatología" - Expediente N° 1541/14 - Disp. CDDT N° 372/14 - Duración: 32 (treinta y dos) horas totales.


Por tanto: **La Universidad** extiende el presente certificado de **Asistencia** en la Ciudad de Luján, Provincia de Buenos Aires, República Argentina, **30 de diciembre de 2014.**



ROSA MARIA TURCO
Directora de Administración Académica
Universidad Nacional de Luján







Ing. Anabella Gel
DIRECTORA DECA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA

Interesado

No amerita Grado Académico

Certifico que a la fecha de expedición del presente documento, los firmantes que anteceden revisaron en el carácter que invocan y sus firmas guardan similitud con las que obran en nuestros registros.
Lujan, 19 - 3 - 15


Mag. Mario G. Olmos
Director General de Asuntos Académicos
Universidad Nacional de Lujan

SECRETARÍA DE ASUNTOS ACADÉMICOS



SECRETARÍA DE ASUNTOS ACADÉMICOS