

nativa de *S. aureus in vitro*, posicionando a estos componentes como buenos candidatos para ser incorporados en una formulación destinada a la inmunoprofilaxis de las IIM bovinas causadas por *S. aureus*.

*Development of a prototypic immunogen for the control of Staphylococcus aureus bovine mastitis*

### Summary

*Staphylococcus aureus* is the most frequently isolated pathogen from bovine mastitis in Argentina and worldwide. The peculiar pathogenic characteristics of *S. aureus* lead to the development of alternatives measures, like immunization, to control this disease. The aim of this study was to develop a prototype vaccine against *S. aureus* bovine mastitis.

Immune responses induced in heifers by *S. aureus* bacterins from a capsular polysaccharide 5 (CP5) producing strain, formulated either with Al(OH)<sub>3</sub> or Iscom Matrix, were compared. Formulation of experimental immunogen with Iscom Matrix strengthe-

ned specific humoral immune response in blood and milk, with an augmented opsonic capacity. Later, immune responses generated in heifers by either a *S. aureus* CP5 bacterin or lysate, formulated with Iscom Matrix were evaluated. The bacterial lysate formulation showed a better performance regarding production of specific and functional antibodies and induction of cytokines involved in early immune responses to the immunogen. Finally, a prototype immunogen composed by *S. aureus* CP5 lysate, supplemented with recombinant molecules of superficial *S. aureus* antigens, like fibronectin binding protein A (FnBP-A) and clumping factor A (ClfA), or toxic components, like  $\beta$ -toxin, adjuvanted with Iscom Matrix, was obtained. Heifers' immunization with the multicomponent immunogen strengthened antibody responses against recombinant antigens in blood and milk. These antibodies were efficient in opsonizing *S. aureus* and blocking native  $\beta$ -toxin hemolytic activity *in vitro*, placing these antigens as good candidates to be included in a formulation directed to prevent staphylococcal bovine mastitis.

---

## Aprovechamiento integral del alga *Phorphyra Columbina*. Procesos de extracción de ficocomponentes (proteínas y polisacáridos). Estudio de sus propiedades bio y tecno-funcionales

---

**Cian Raúl Esteban**

cianraul@conicet.gov.ar

Ing. Rolando J. González

Dra. Silvina R. Drago

Área Cereales y Oleaginosas –

Instituto de Tecnología de Alimentos

Facultad de Ingeniería Química

Universidad Nacional del Litoral

Fecha de defensa: 02/10/2013

### Resumen

El objetivo general de la presente tesis fue obtener extractos de *fico-componentes* (proteínas y polisacáridos) a partir del

alga *P. columbina* y evaluar sus propiedades bio y tecno-funcionales. En primer lugar, se estudió la composición y las propiedades nutricionales de *P. columbina*. Luego se definieron las condiciones de extracción que permitieron obtener las distintas fracciones del alga *P. columbina* (proteínas y polisacáridos). El proceso definitivo consistió en una primera etapa de extracción en agua a temperatura ambiente y pH 7,0 durante 2 horas (Etapa I), seguida de una segunda etapa extractiva en agua a 95°C y pH 7,0 durante el mismo período de tiempo (Etapa II). El sobrenadante de la Etapa I se ultrafiltró (cut-off 10 kDa), obteniéndose así la fracción rica en *ficobiliproteínas* (FP). Esta fracción fue hidrolizada con distintos sistemas enzimáticos (alcalasa, tripsina, alcalasa + tripsina y tripsina + alcalasa), obteniéndose así los hidrolizados correspondientes (HFP: A, T, AT y TA). Al sobrenadante de la Etapa II se lo denominó FF (fracción *ficocoloides*). Por último, al residuo insoluble en agua fría y caliente obtenido tras esta última centrifugación (R), se lo sometió a una hidrólisis enzimática secuencial utilizando para ello dos proteasas (Fungal Protease Concentrate + Flavourzyme). De esta manera se obtuvo un hidrolizado al que se denominó HR. Posteriormente se llevó a cabo la caracterización de las fracciones (FP, FF y R) y sus hidrolizados (HFP y HR).

La evaluación de las propiedades *tecno-funcionales* de las fracciones obtenidas se realizó midiendo las propiedades de hidratación, reológicas y filmogénicas de las mismas. La evaluación de las propiedades *bio-funcionales* se realizó sobre los hidrolizados obtenidos a partir de FP y R (HFP y HR). Se estudiaron las propiedades antioxidantes, antihipertensivas e inmunomoduladoras. Por último, se elaboró un alimento

con el agregado del alga *P. columbina* y se estudiaron sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales y bio-accesibilidad de compuestos activos.

Los resultados obtenidos mostraron que los dos componentes mayoritarios en *P. columbina* fueron la fibra dietaria total y las proteínas. En relación a las propiedades *tecno-funcionales*, la dispersión acuosa de FP exhibió un comportamiento del tipo *newtoniano*, mientras que FF mostró un comportamiento del tipo *pseudo-plástico*. El agregado de FP a las películas disminuyó la opacidad y el espesor; y ejerció un efecto plastificante en la matriz de FF, manifestándose en el contenido de humedad, la solubilidad en agua y las propiedades mecánicas de las películas resultantes, y produjo un aumento en la capacidad antioxidante, que se correlacionó linealmente con el contenido de compuestos fenólicos y *R-ficoeritrina*. Respecto a las propiedades *bio-funcionales*, la capacidad antioxidante de los hidrolizados de FP fue significativamente superior a la del sustrato debido a la generación de péptidos antioxidantes con bajo e intermedio tamaño molecular. Para el caso de la inhibición de ECA I, todos los hidrolizados de FP fueron capaces de inhibir a la enzima, siendo dicho efecto asociado a *dipéptidos*. Por último, tanto FP como sus hidrolizados (TA y AT), exhibieron un efecto *in vitro* del tipo anti-inflamatorio mediado principalmente por la secreción de IL10. Para el HR se obtuvieron muy buenas propiedades antioxidantes e inhibitorias de ECA I, atribuibles a los péptidos bioactivos (*tetra-péptidos*) y compuestos fenólicos liberados durante la hidrólisis de R. Además, dichos *tetra-péptidos* exhibieron interesantes propiedades mitogénicas, los cuales favorecerían globalmente un aumento en la producción de

IL10, obteniéndose así un efecto anti-inflamatorio *in vitro*. En relación al alimento desarrollado, el agregado de niveles crecientes de *P. columbina* a la sémola de maíz produjo un descenso en el nivel de fricción, disminuyendo el consumo de energía mecánica, la expansión y el grado de cocción. La evaluación sensorial de los productos determinó que el más apropiado en cuanto al aspecto y flavor era el que poseía un reemplazo del 3,5% (P/P) de alga (MaPc<sub>2</sub>). Por último, la capacidad antioxidante y el efecto inhibitorio sobre ECA I de Ma y MaPc<sub>2</sub> persistieron luego del proceso de digestión gastrointestinal *in vitro* y fue superior para el dializado de MaPc<sub>2</sub> debido a los compuestos fenólicos y péptidos generados por hidrólisis a partir del alga, los cuales serían potencialmente bioaccesibles.

En conclusión, *P. columbina* resultó ser una buena fuente natural de nutrientes (fibra dietaria y proteínas) y compuestos bioactivos (antioxidantes, antihipertensivos e inmunomoduladores). Además, la tecnología de formación de películas por casting permitió obtener films biodegradables con interesantes propiedades antioxidantes, mecánicas y de barrera. Por último, el proceso de extrusión resultó ser una buena alternativa para obtener un alimento biofuncional a base de sémola de maíz con agregado de *P. columbina*, el cual exhibió interesantes propiedades bioactivas *in vitro*.

*Integral use of Phorphyra Columbina seaweed. Extraction of phycocomponents (protein and ficocolloid). Study of bio – and techno-functional properties*

### Summary

The general aim of this thesis was to obtain extracts of phyco-components (pro-

teins and polysaccharides) from *P. columbina* and to evaluate their bio- and techno-functional properties. Composition and nutritional properties of *P. columbina* were studied. Extraction conditions allowing obtaining different fractions of the seaweed were defined. Obtained fractions were: FP (phycobiliprotein), HFP (hydrolyzed phycobiliproteins), FF (phycocolloid); R (residue); HR (hydrolyzed residue). Techno-functional properties evaluation was performed by measuring hydration, rheological and film forming properties. Bio-functional properties evaluation was performed on the hydrolyzates obtained from FP and R (HFP and HR). Antioxidant, antihypertensive, and immunomodulatory properties were studied. Finally, a food was prepared with the addition of the seaweed and its physicochemical and nutritional properties, and bio-active compounds accessibility were studied.

Regarding techno-functional properties, the addition of FP to film formulations exerted a plasticizing effect on FF matrix, which was manifested in moisture content, water solubility and mechanical properties of the resulting films. In relation with bio-functional properties, the antioxidant and antihypertensive activity of the hydrolyzates were significantly higher than that of FP. FP and their hydrolysates exhibited an *in vitro* anti-inflammatory effect mediated by IL10 secretion. On the other hand, HR showed very good antioxidant and ACE inhibitory properties, attributable to bioactive peptides and phenolic compounds released during hydrolysis. Furthermore, the hydrolysis process gives tetra-peptides with interesting mitogenic properties. Regarding the development of a functional food with the addition of seaweed, sensory evaluation of products determined that the most appropriate

in appearance and flavor was the extrudate with 3.5% of seaweed. The antioxidant capacity and ACE inhibitory effect persisted after *in vitro* gastrointestinal digestion and was

higher for the dialysate with seaweed due to phenolic compounds and bioactive peptides generated by hydrolysis from the seaweed, which would be potentially bio-accessible.

---

## Biología de abejas silvestres potencialmente utilizables como polinizadores de cultivos

---

### Milagros Dalmazzo

milidalmazzo@yahoo.com

Dr. Arturo Roig–Alsina

División Entomología, Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”.

Av. Ángel Gallardo 470, Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Cátedra Entomología, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Humanidades y Ciencias

Universidad Nacional del Litoral

Fecha de la defensa: 20/03/2013

### Resumen

Las abejas (Apoidea, Hymenoptera) son el grupo de insectos que por su diversidad, alimentación y comportamiento en general, ejercen la acción polinizadora de mayor importancia. La especie más utilizada en polinización es la abeja doméstica, *Apis mellifera* L., de todos modos hay estudios que han demostrado que en muchos cultivos las abejas silvestres son más eficientes.

Debido a la carencia de conocimiento de la biología de las especies de abejas nativas de nuestro país, y de la región, y a que el empleo de polinizadores en cultivos comerciales está en auge, aparece como alternativa la importación de especies polinizadoras exóticas para su uso en cultivos comerciales. Sin embargo está comprobado

el efecto negativo de estas introducciones.

En Argentina fue importada en forma sostenida la especie *Megachile rotundata* para producción de semilla de alfalfa. En 2011 los organismos nacionales de control, SENASA y Dirección Nacional de Fauna Silvestre, suspendieron la importación de esta megachila y desaprobaron los intentos de importación de otras especies. Por tal motivo se hace perentorio el conocimiento de las especies nativas que cumplan la función polinizadora, para lo cual se debe comenzar a estudiar las mismas desde el punto de vista sistemático y biológico, de modo que en una etapa posterior, se pueda evaluar su adaptabilidad a la cría comercial en consonancia con prácticas de manejo ecológicamente sustentables.

En la presente tesis, se han elegido especies del género *Augochlora* (Halictidae, Apoidea) que nidifican en sustrato altamente transportable y podrían presentar algún grado de socialidad y hábitos alimentarios no especializados, cualidades que le otorgan alta factibilidad de manejo. De esta manera se propuso estudiar aspectos sistemáticos y biológicos desconocidos para estas especies, con especial interés en aquellos comportamientos que permitan su posterior utilización en polinización.

Se realizó una revisión sistemática de las