Nº 9 - Año 2020
ISSN 2525 - 1597

USP·T
UNIVERSIDAD DE SAN PABLO - TUCUMÁN

RVA

REVISTA ACADÉMICA

IDITEC

Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial

UNIVERSIDAD DE SAN PABLO-T
Tucumán | Argentina

IDITEC

Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial

Revista Académica

Universidad de San Pablo-Tucumán

Tucumán, República Argentina

IDITEC. Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial. Revista Académica.

N°9 – Año 2020

Tucumán, República Argentina.

ISSN 2525-1597

Revista de Investigación Académica

Editorial:

EDUSPT. 24 de Septiembre 476.
4000. San Miguel de Tucumán. Tucumán, Argentina.
Contacto: Informes@uspt.edu.ar
www.uspt.edu.ar

Quedan expresamente prohibidas, sin la autorización correspondiente, la reproducción parcial o total de esta obra, por cualquier medio o procedimiento. El contenido de los trabajos, como así también los permisos para reproducción de figuras y tablas, es responsabilidad de los autores.

© Universidad de San Pablo-Tucumán

Queda hecho el depósito que previene la ley

Impreso en Argentina – Printed in Argentina

ISSN 2525-1597

Diciembre de 2020

Autoridades de la Universidad

Presidente de la Fundación para el Desarrollo
Dra. Catalina Lonac

Rector
Dr. Ramiro Albarracín

Vicerrector
Dr. Inés de los Ángeles Yamúss

Director del Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial
Dr. Federico Pérez Zamora

Director del Instituto de Estudios Sociales, Política y Cultura
Mg. Laura Giusti

Director del Instituto de Salud y Calidad de Vida
Dra. Marta Valverde

Director del Instituto de Diseño, Estrategia & Creatividad
Arq. Matías Rohmer-Liztmann

Secretaria de Posgrado
Mag. Silvia Martínez

Secretaria Administrativa y Financiera
CPN María Cristina Peralta

Secretaria de Extensión y Cultura
Abog. Carolina del Valle López Flores

Secretaria de Investigación, Desarrollo y Cultura
Mag. Carlos Jorge Budeguer

Director

Prof. Mg. Karina González (USPT)

Consejo Editorial Científico:

Prof. Dra. María José Catalán (UNT-USPT)

Prof. Mg. Margarita Jaramillo (USPT)

Prof. Dr. Alejandro Daniel Rios (UNT-USPT)

Prof. Mg. Adriana del Valle Pastoriza (UNT)

Prof. Dra. Gabriela Zárate (USPT-CONICET)

Prof. CPN Cecilia Fabiana Gagliardi (USPT)

Prof. Arq. Josefina María del Valle Ocampo (USPT)

Pares evaluadores:

Prof. Mg. Marcela Blanca Colombo (UNT - USPT)

Prof. Mg. Adriana del Valle Pastoriza (UNT)

Prof. Dra. Juana Albarracín (USPT)

Dra. Luz Lastres Flores (ADEQRA)

Dra. Eugenia Giamminola (IEAH-UNSA)

Dr. Dariel Cabrera Mederos (IPAV-INTA)

Prof. Héctor Ostengo (UNT)

Prof. Mg. Alicia Margarita Nasif (UNT)

Prof. Dra. Natalia Zavadivker (UNT)

UNIVERSIDAD DE SAN PABLO-T

Tucumán | Argentina

PRESENTACIÓN

IDITEC es una publicación semestral que recoge los resultados de los trabajos de investigación de profesores e investigadores nacionales y extranjeros, que sean de interés para la comunidad en las áreas de la Ciencia de los Alimentos, Agroindustria, Ciencias Económicas, Arquitectura y Diseño. La misión de IDITEC es abordar temas multidisciplinarios de investigación y/o análisis que posean un interés regional, nacional e internacional. Las publicaciones pueden realizarse en español, inglés o portugués. La Revista, está puesta al servicio de la comunidad científica y académica en general (docentes, investigadores y estudiantes), dirigida tanto a la teoría como a la práctica.

INDICE

ESTUDIO DE CASO: RODEO GRANDE Y SUS RECURSOS NATURALES 5

EFECTOS DINÁMICOS DE LA POLÍTICA FISCAL SOBRE EL PRODUCTO Y EL CONSUMO PRIVADO EN ARGENTINA.....13

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO PARA EL ESTUDIO DE MICROBIOMAS EN SUPERFICIES DEL AMBITO MEDICO-ASISTENCIAL 23

BIODISEÑO 42

DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS COMO TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN.....46

FERMENTACIÓN DE HARINAS DE LEGUMBRES CON BACTERIAS LÁCTICAS: ALTERNATIVA DE PROCESAMIENTO PARA POTENCIAR SUS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES Y TECNOFUNCIONALES 50

ESTUDIO DE CASO: RODEO GRANDE Y SUS RECURSOS NATURALES

CASE STUDY: RODEO GRANDE AND ITS NATURAL RESOURCES

Albarracín J.[1]*, Pérez M.[2], González K.[1], Juárez M.[3]

[1]Universidad San Pablo T, [2]FEDUCAVI, [3]Escuela 216 de Rodeo Grande
*jmoran@uspt.edu.ar

RESUMEN
El presente trabajo es un estudio de caso sobre la comunidad de Potrero –Rodeo Grande, de Trancas, Tucumán. El objetivo principal es conocer las características de la comunidad y de su entorno, a fin de proponer proyectos de desarrollo socioeconómico enfocados al agregado de valor a los productos de la zona. Se detallan aspectos históricos, geográficos, climáticos, hídricos e institucionales de la localidad, así como la rica variedad de flora y fauna. Se describe el tipo de comunidad, la cual es mixta ya que se compone de criollos y miembros de dos pueblos originarios: Diaguita, Calchaquí y Tolombón. Se analizan los resultados de las entrevistas y encuestas aplicadas a familias y alumnos de la escuela. Las conclusiones a las que se arriba son las siguientes: La zona es pródiga en recursos naturales, que no están bien aprovechados; la comunidad necesita contar con agua potable; es importante capacitar a la población para agregar valor a sus productos. Sobre la base de estas conclusiones, se formularán proyectos comunitarios y se solicitarán subsidios para llevarlos a cabo.

Palabras clave: Rodeo Grande - Valles calchaquíes- Fauna – Flora – Comunidad mixta

SUMMARY
This work is a case study on the community of Potrero –Rodeo Grande, from Trancas, Tucumán. The main objective is to know the characteristics of the community and its environment, in order to propose socio-economic development projects focused on adding value to the products of the area.Historical, geographical, climatic, hydric and institutional aspects of the town are detailed, as well as the rich variety of flora and fauna. The type of community is described, which is mixed since it is made up of Creoles and members of two original peoples: Diaguita Calchaquí and Tolombón. The results of the interviews and surveys applied to families and school students are analyzed. The conclusions reached are the following: The area is rich in natural resources, which are not well used; the community needs to have drinking water; it is important to train the population to add value to their products. Based on these findings, community projects will be formulated and grants will be requested to carry them out.

Keywords: Rodeo Grande - Calchaquí Valleys- Fauna - Flora - Mixed community

INTRODUCCION

El presente estudio de caso se refiere a la comunidad de Potrero-Rodeo Grande (Departamento Trancas, Tucumán, Argentina). El objetivo principal de este trabajo es conocer las características de la comunidad y de su entorno, a fin de proponer proyectos de desarrollo socioeconómico enfocados al el agregado de valor a los productos de la zona.

La localidad está ubicada a 1620 msnm y a 100 km de San Miguel de Tucumán. Sus coordenadas GPS son 27°25′00″S y 65°09′00″O.

Se encuentra a_los pies de las Cumbres Calchaquíes con las que limita al oeste.

Potrero y Rodeo Grande son dos valles cuya altura varía en las zonas más bajas, entre 1050 y 1400 msnm. El clima es bastante húmedo, lo que favorece la existencia de praderas y formaciones boscosas. Dada la extensión de los terrenos se presentan diversas áreas bióticas, dependiendo del grado de humedad. La zona es más seca hacia el este y más húmedo en las laderas de las cumbres Calchaquíes.

Clima

Durante el año, la temperatura varía entre 7◦C y 29◦C, rara vez desciende a 3◦C o asciende hasta 34◦C.

La Cuenca media del Río Choromoro, donde está ubicado Rodeo Grande, presenta precipitaciones que oscilan entre los 300/500 mm anuales. El régimen de precipitaciones es de lluvias entre diciembre y Marzo, con inviernos secos (Garrido, 2005).

Historia

Las tierras de Rodeo Grande pertenecían originalmente a la tradicional familia Paz. En el siglo XIX las estancias de Trancas eran muy prósperas ya que criaban ganado para exportar hacia Chile y Bolivia, Además se producían quesos. El nombre de "Potrero" se debe a que en la zona se criaban caballos.

En 1951 el Gobernador de la Provincia de Tucumán, Fernando Riera, decidió expropiar 3.500 ha de la antigua Estancia de El Potrero Rodeo Grande, para que pasara a ser de utilidad pública (Formoso, Perilli de Colombres Garmendia, 2009).

El proyecto sobre Potrero Rodeo Grande fue destinar esas tierras para el arraigo de los criollos que las habitaban, reservando una parte para crear una villa veraniega (Potrero Rodeo Grande. Su verdadera historia, 2014).

La expropiación no se concretó. Pero en de 1980 se firmó un convenio entre el Gobierno de la Provincia de Tucumán y las tres hermanas Paz, a través de la firma "RODEO GRANDE SOCIEDAD COMANDITA POR ACCIONES". Se transfirieron 1.750 ha al gobierno para su entrega a los pobladores de "El Potrero" y "El Rodeo Grande". En esa oportunidad se dieron tierras a 32 jefes de familia.

El acceso a la zona

Para llegar a la localidad desde San Miguel de Tucumán, se recorren 50 km de pavimento y se accede, en Choromoro, a la ruta provincial Nº 312 de camino consolidado y en zona considerada como de derrumbes. En esta ruta, se atraviesa tres veces el rio Choromoro que toma distintos nombres según los parajes que atraviesa; sólo uno de estos cruces cuenta con un pequeño puente. En épocas de lluvia, principalmente durante el verano, el brazo más ancho del río no puede ser atravesado en automóvil, sólo a caballo o en colectivo (Fig. 1). El colectivo desde Tucumán, de una conocida empresa rural, realiza viajes que duran dos horas y media, saliendo a las 7 30 hs desde la capital tucumana, y regresando a las 12 hs. Sólo dos veces a la semana realiza un viaje a la tarde. (También puede accederse a la localidad desde San Pedro de Colalao, por la ruta 311)

Todas estas circunstacias relacionadas con el traslado a Rodeo Grande, ocasionan un relativo aislamiento de la población. Probablemente por ello no se logró crear la villa veraniega que estaba proyectada.

La comunidad

La comunidad se considera como un sector rural disperso. Está conformada por aproximadamente 110 familias, alrededor de 700 personas. de muy escasos recursos.

Muchas de ellas pertenecen a pueblos originarios de dos etnias: Tolombones y Diaguita Calchaquí, procedentes de grupos que llegaron después de las guerras calchaquíes. La comunidad diaguita se ubica desde el río Potrero hacia el norte, y la de los tolombones desde el mismo río hacia el sur. Estos grupos originarios intentan revalorizar su cultura ancestral a través del trabajo de la lana con la que fabrican colchas y peleros

Muchas casas son de adobe fabricado por los pobladores y algunas de ladrillos huecos que fueron llevados de San Miguel de Tucumán.

La base económica de la zona está constituida por el cultivo de chaucha, maíz, arvejas y frutales y la cría de vacas, cabras, ovejas, así como aves de corral. En general las tareas agrícolas son desempeñadas por las personas mayores, principalmente por hombres, ya que las mujeres atienden las tareas del hogar.

Los más jóvenes no se sienten atraídos por este tipo de trabajo, que en ocasiones puede ser duro, y algunos tienden a emigrar al Gran San Miguel de Tucumán. Lamentablemente en general, por su falta de

recursos y de preparación sólo logran ubicarse en zonas marginales donde enfrentan la droga y la inseguridad,
Muchas personas reciben algún tipo de subsidios del estado.

La escuela

En la zona está ubicada la Escuela Nº 216 (fig.2), fundada en 1923. Según informa la actual directora, María O. Nabrozian, (Gobierno de Tucumán, 2019) nació como mandato fundacional en 1918 (La Gaceta, 2019) pero inicialmente se ubicó en la localidad de Lara, Tafí del Valle, luego se trasladó a Piedra Blanca, a 5 kilómetros del actual emplazamiento.

Asisten aproximadamente 80 alumnos del nivel inicial y primario, y 45 del nivel secundario, algunos de ellos poseen capacidades diferentes. Debido al entorno socio-económico de alta vulnerabilidad, la escuela funciona con modalidad de jornada completa, y además es escuela albergue, con 20 niños de lunes a viernes.

En los últimos años se realizó una refacción que incluyó cuatro aulas nuevas; un patio cubierto; biblioteca; cocina comedor; sanitarios; una torre tanque; el albergue con dormitorios, sanitarios muy completos para docentes y alumnos. un área administrativa; pórtico de acceso; y cerca perimetral.

Dichas instalaciones fueron inauguradas en Septiembre de 2019 por el Sr. Vicegobernador.

La Escuela es el único lugar de Rodeo Grande que tiene Internet. Por ese motivo se ve, especialmente durante la tarde, jóvenes y adultos cerca de las pared externa, comunicándose por Whatsapp, mail y otras aplicaciones. Lógicamente, durante el período lectivo 2020, se dificultaron muchísimo las clases virtuales.

El problema del agua

El agua que consume la población proviene del río Potrero mediante diferentes formas de conexión. Se distribuye en forma precaria y sin tratamiento adecuado, ni cloración, por lo que está sumamente contaminada (Fig. 3). En ocasiones es necesario acarrearla manualmente, tarea típicamente a cargo de las mujeres. Además, después de lluvias importantes, el agua es barrosa y puede arrastrar parásitos observables a simple vista. Esta situación podría paliarse interrumpiendo transitoriamente la provisión de agua mientras duren las tormentas. Pero para ello, las familias deberían contar con tanques domiciliarios que les permitirían acopiar agua limpia.

Según los pobladores, años atrás se instaló un sistema de potabilización que, después de haber funcionado algunos meses, dejó de utilizarse, e incluso se han retirado las instalaciones. Aunque se han realizado diversas, gestiones, algunas provenientes de pueblos originarios, no se obtuvieron respuestas concretas.

La población se ve obligada a adquirir a elevado costo agua mineral. Es evidente que la comunidad necesita contar en forma permanente con agua potabilizada y con una red de distribución más extendida y adecuada.

La salud

Muy cerca de la escuela existe un CAPS (Centro de Atención Primaria de la Salud) que pertenece al área operativa de Trancas. El médico asiste una vez a la semana. Por lo tanto, los casos urgentes requieren traslado en vehículos particulares, a otras localidades. Los partos, cuando son normales, son atendidos por una vecina que oficia de comadrona. Estos hechos son otro índice del estado de aislamiento de la población.

Los agentes sanitarios locales detectaron en los dos últimos años, un aumento de enfermedades hídricas prevalentes relacionadas con la ingesta de agua, tales como las gastrointestinales y las parasitarias.

Organizaciones de la comunidad

Existe una organización civil creada hace cinco años por las familias de los criollos, “Asociación Civil de Pobladores de Rodeo Grande”. Atiende la limpieza y desmalezamiento del pueblo y del cementerio, la disposición de los residuos. Ha instalado merenderos, y se ocupa del Club y dela cancha.

Actualmente gestiona un destacamento policial para la zona.

Rodeo Grande depende del Delegado Comunal de Choromoro, y éste a su vez del intendente de Trancas.

Las comunidades indígenas diaguita y tolombón están regidas por sus respectivos caciques.

Debe destacarse que los pobladores criollos no cuentan con las escrituras de las tierras que les fueron entregadas, debido al litigio con los pueblos originarios.

Figura 1- El brazo más ancho del río en época seca

Figura 2 -Escuela 216 de Potrero Rodeo Grande

Figura 3 – Acequia de donde se extrae el agua de consumo

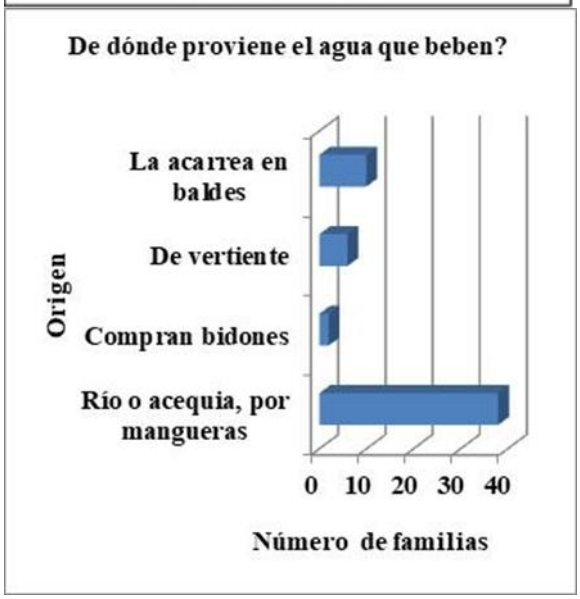


Figura 4. Origen del agua de bebida

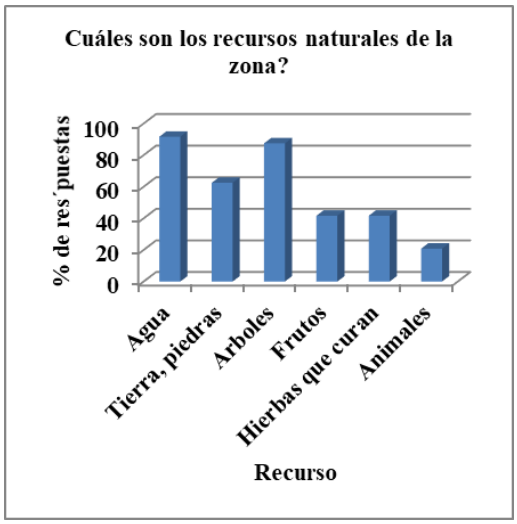


Figura 5. Recursos naturales encuestados

LOS RECURSOS NATURALES EN RODEO GRANDE

Flora

En la ladera de las lomadas que da hacia el N, que está menos expuesta a la humedad, se presenta vegetación boscosa de tipo xerófilo (Montilla Zavalía, 2020). Tal es el caso de especies como:

algarrobo (*Prosopis alba*), cardones (*Cereus*), chañar (*Gourliaea spinosa o Geoffroea decorticans*), carqueja (*Baccharis articulata)*, churqui *(Oxalis gigantea*.), garabato (*Acacia furcata Gill*.), guayacán (*Caesalpinia melanocarpa*), jarilla (familia *Caricaceae*), pus pus o Jarilla macho *(Zuccagnia*

punctata) mistol (*Zisyphus mistol*), tala (*Celtis, Sellawiana*, Miq.), ortiga(familia de las urticáceas) tipa (*Tipuana tipu*), tunas (*Opuntias*), y tusca (*Acacia aromo*),
En las laderas E, aproximadamente hasta los 2000 msnm, hay más humedad, por lo que se presenta
Aliso (*Alnus Jorullensis*), cochucho (*Fagara coco*), ciruelo silvestre (*Prunus insititia L.)*, durazno silvestre
(*Prune persica*), laurel (*Phoebe prophyria*), manzano silvestre (*Malus sylvestris*, sauce criollo (*Salix chilensis*) y tarco o jacarandá (*Jacarandá, acucitifolia*).
También se presentan cebil (*Anadenanthera colubrina*), robles (*Quercus robur*) y arbustos como cedrón o Hierna Luisa (*Aloysia citrodora*), llantén(*Plantago major*), muña muña (*Minthostachys mollis*), ruda (*Ruta graveolens*)
En cuanto a las hierbas silvestres pueden mencionarse:
Hierbabuena (*Mentha spicata*), paico (*Dysphania ambrosioides*), peperina o menta peperina (*Minthostachys verticillata*) y poleo (*Mentha pulegium*)
Fauna
En Rodeo Grande la diversidad de regiones biológicas permite también una gran variedad de vida animal. Pueden mencionarse:
Mamíferos como comadrejas (*Didelphis albiventris*), corzuelas (*Mazama goazoubira*), gatos monteses (*Leopardus geoffroyi*), mayuato (*Procyon cancrivorus*), osos meleros (*Tamandua*), pumas o leones americanos *(Puma concolor)*, quirquinchos (*Chaetophractus nationi)*, roedores varios, zorrinos, (*Conepatus chinga*) y zorros (Cerdocyon thous).
Existen reptiles como:
Caraguay (*Tupinambis merianae*), cascabel (*Crotalus durissus terrificus*) , coral (*Micrurus pyrrhocryptus* falsa coral (*Lystrophis)*, falsa yarará (*Waglerophis merremi*), iguana overa (*Tupinambis teguixin*), yarará chica (*Bothrops neuwiedi diporus*),
En cuanto a las aves:
Caranchos (*Caracara plancus*), carpinteros. (Familia *Picidae*), charatas (*Ortallis canicollis*), chimangos (*Milvago chimango*), cotorras *(Myiopsitta monachus*), guaipo (*Rhynchotus maculicollis*), halcones (*Falco*),
loros, (Psittacoidea**),** palomas (*Columba oenas*), y perdices (*Eudromia, Nothura*),

ENCUESTAS Y ENTREVISTAS
En Febrero de 2019 se realizó una serie de entrevistas a 50 familias de la zona.
Como se explicó anteriormente, la población es mixta, o sea se compone de criollos y de integrantes de pueblos originarios.
A simple vista se observa la diferencia de fisonomía entre las distintas etnias. Por otra parte, también fue distinta su reacción ante las intervenciones del equipo.
Los miembros de pueblos originarios evidenciaban un cierto grado de desconfianza, acorde a su carácter típicamente reservado. Cuando llegaban las entrevistadoras, las observaban por una rendija de la puerta o ventana antes de hacerlas pasar, y se hizo necesario llamar repetidamente. Fue un poco difícil obtener los datos solicitados.
Los criollos se mostraron más sueltos y curiosos respecto a la actividad. Ofrecían sillas y mate. Algunos dieron datos más amplios que los solicitados.
Las entrevistas fueron de tipo estructurado. (Anexo 1). Se entrevistó a 50 familias.
Respecto a cuáles son los recursos naturales, algunos de los consultados confundían recursos naturales con plantas de cualquier tipo. Nadie hizo referencia al agua o la variada fauna de la región. 36% mencionaron los durazneros, 34 % la menta, 26 % la peperina y 70% la leña.
En cuanto a los recursos naturales que utiliza, el 85% prepara mermeladas con la fruta silvestre o el cayote.
Sólo tres familias, que pertenecen a pueblos originarios, afirmaron trabajar con lana.
Todos manifestaron haber vendido alguna vez sus productos, en general mermeladas.
El 95% de los consultados manifestó interés por aprender nuevas formas de utilizar los recursos naturales.
Se consultó acerca del tipo de alimentos que consumen. Todas las familias respondieron que consumen carne, huevos, leche, verduras, frutas, pastas, arroz, 96 % come pollo y 94% queso.
En la figura 4 se detalla de dónde proviene al agua de bebida.
En cuanto a las enfermedades prevalentes, los pobladores mencionan para los adultos algunos casos de resfrío de gastroenteritis, y dos de hipertensión. En general se declaran sanos. Tanto los adultos como los niños. En estos últimos se informan sobre todo gastroenteritis y escasos problemas respiratorios.
Encuestas a los alumnos
Se aplicó una encuesta a 24 alumnos de la Escuela 216 (Anexo 2)

En la figura 5 se detallan los recursos naturales mencionados por los estudiantes.
En lo referente al uso de los recursos naturales, todos destacan los usos del agua, el 40% menciona los usos de los árboles, algunos mencionan los frutos.
En cuanto a su alimentación, las respuestas coinciden con las obtenidas de las familias.
En cambio, no hay coincidencia respecto a los problemas de salud. 75% afirma haber tenido gripe, 58% varicela, 4% resfríos o alergia.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Es evidente la riqueza de Rodeo Grande en recursos naturales. Por otra parte debe destacarse la variedad de flora y fauna , que se debe a los diferentes biomas.

Deforestación

Un serio problema respecto a los árboles, como en el resto del NOA, es la deforestación. Muchas especies se usan para fabricar leña y carbón. Alvarez Chamale (2019) afirma que en los últimos 30 años se ha talado el 70 por ciento del monte nativo de los valles calchaquíes.
En especial se usan alisos, tusca, cebil.
Evidentemente se impone una reforestación. Existen en Rodeo Grande algunas iniciativas privadas que intentan atender el problema.

Importancia de la flora local

Entre los árboles de la zona hay varios que son utilizados en carpintería, y cuya explotación contribuye a la deforestación, como robles, algarrobos y alisos.
Estos últimos se caracterizan por su maleabilidad.
Existen además diferentes especies frutales silvestres, muy apreciadas para la preparación de mermeladas, como durazneros, ciruelos y manzanos.
Otras especies tienen aplicaciones nutritivas o farmacológicas.
La harina obtenida de los frutos de algarrobo se usa como espesante, sustitutivo del chocolate, contiene los aminoácidos esenciales y es recomendada para celíacos por no contener gluten.
La corteza del sauce contiene *salicina*, precursora del ácido acetilsalicílico o aspirina, y tiene propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas.
Las hojas de muchos arbustos o hierbas, cedrón, llantén, hierba buena, peperina, poleo, se usan en infusión para tratar problemas digestivos. La tusca cura afecciones de las vías urinarias, gastritis y úlceras gástricas.
Por otra parte, investigadores de las facultades de Bioquímica y de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Tucumán estudiaron la jarilla y la tola, utilizadas por sus propiedades medicinales antibióticas, ya que actúan sobre bacterias patógenas resistentes a antibióticos comerciales. El uso de estas plantas se remonta a tiempos inmemoriales. El mismo equipo estudia las características nutricionales de chañar, mistol, algarrobo, tomate de árbol, y cactáceas varias (Orlandi, 2013).
Además se han realizado con éxito ensayos de cultivo de trufas, hongos comestible que crecen asociadas a un árbol, en este caso los robles de Rodeo Grande (Seidán, 2018). Este cultivo podría ser una importante fuente de recursos para la zona, dado el elevado costo de las trufas.

Caza de animales

La fauna autóctona sufre los efectos de la caza, en particular las aves, ya que muchas especies son comestibles muy apreciados. Pueden mencionarse charatas, perdices, guaipo.

Diferencia de resultados entre las respuestas de los padres y de los escolares

Existen algunas llamativas diferencias entre las respuestas de los padres y las de los hijos.
Los alumnos tienen más claro el concepto de recursos naturales, por lo que sus respuestas son más acertadas; pero sus padres muestran más conocimiento concreto de las espacies de flora y fauna existentes en Rodeo Grande, También son más variadas las respuestas de los alumnos sobre las aplicaciones de dichos recursos.
Además son interesantes las respuestas respecto a los problemas de salud. La mayoría de los padres afirma que sus hijos son muy sanos, excepto por las gastroenteritis. Sin embargo los niños mencionan distintas enfermedades, pero no las gastroenteritis. Este hecho podría evidenciar una sana despreocupación de parte de los adultos.
El problema de las gastroenteritis también fue mencionado por los agentes sanitarios, y es lógico suponer que se debe a la falta de potabilización del agua.

CONCLUSIONES

A partir de lo expuesto se llega a las siguientes conclusiones:
-La zona es pródiga en recursos naturales sumamente variados, que sólo se aprovechan en una parte y en forma rutinaria.
-La comunidad necesita imperiosamente contar con agua potable.

-Es importante capacitar a la población para agregar valor a sus productos. Casi todas las familias y los alumnos afirman estar interesados en dichas capacitaciones.
Sobre la base de estas conclusiones, se formularán proyectos de desarrollo comunitario enfocados al agregado de valor a los variados productos de la zona y se solicitarán subsidios para llevarlos a cabo.

BIBLIOGRAFIA

-Formoso S.E, Perilli de Colombres Garmendia, E. (2009) Departamento Trancas- Origen y Evolución – 265 pág - Libro electrónico –Available in:https://books.google.com
-Garrido, H. (2005) –Población y tierra en la cuenca de Trancas, Provincia de Tucumán- Cuadernos de desarrollo rural, N° 54, pag.31 a 60. Colombia
-Gobierno de Tucumán, (2019) Jaldo inauguró mejoras en la Escuela N° 216 de Rodeo Grande (sept 2019)
(23 sept. 2019) Available form:https:comunicaciontucuman.gob.ar
-Montilla Zavalía F.A. (2020) Available in
https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=252951492686689&id=100039155203289&sfnsn=scwspwa&extid=yRrLwGQTitTJZgUK
- Orlandi, D (2013) Poderosas propiedades antibióticas en plantas de la Puna y los Valles Calchaquíes Available in: http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=poderosas_propiedades_antibioticas_en_plantas_de_la_pu
na_y_los_valles_calchaquies&id=1963#
- Potrero Rodeo Grande. Su verdadera historia (2014). Available from
http://puebloorginario.com.ar/potrero-rodeo-grande-y-su-verdadera-historia/
-Seidán, F. (2018) Trufas en Tucumán . Producción Agropecuaria, pág. 36- 38 de la edición en papel, Marzo / Abril 2018.

AGRADECIMIENTOS

El equipo agradece la colaboración de las Prof. María Otilia Nabrozian y Marcela Díaz, directoras del nivel primario y secundario de la Escuela 216.
Un especial agradecimiento a la Prof. María Angela Córdoba, exdirectora del nivel primario, quien abrió al equipo las puertas de la escuela y brindó valiosa información.

.

EFECTOS DINÁMICOS DE LA POLÍTICA FISCAL SOBRE EL PRODUCTO Y EL CONSUMO PRIVADO EN ARGENTINA

DYNAMIC EFFECTS OF THE FISCAL POLICY ON PRODUCT AND PRIVATE CONSUMPTION IN ARGENTINA

CATALÁN, M.J.[1.2*], MERLO J.J.[1,2]
[1] Universidad de San Pablo Tucumán (USP-T)
[2] Universidad Nacional de Tucumán (UNT)
*mcatalan@uspt.edu.ar

RESUMEN

Dentro del ámbito de la macroeconomía se busca responder a preguntas como cuáles son los determinantes del crecimiento del producto y en general se busca analizar el ritmo de movimientos de un conjunto de variables para sacar implicancias de políticas. Algunos economistas creen que para reactivar la economía es conveniente realizar una política fiscal expansiva durante períodos recesivos mientras que otros están en desacuerdo con este tipo de medidas. Los primeros aconsejan aumentar el gasto público, por ejemplo, en fases recesivas del ciclo económico y bajarlo en fases expansivas, dando lugar al comportamiento contracíclico de la política fiscal.

Este proyecto busca caracterizar los efectos dinámicos de shocks de gastos de gobierno e impuestos sobre el producto y el consumo privado en Argentina y relacionarlos con los ciclos económicos. Se pretende estudiar la efectividad de la política fiscal sobre el producto y el consumo para una pequeña economía abierta y emergente a nivel teórico para luego derivar un modelo VAR empírico que incluye gasto fiscal y recaudación impositiva para identificar la respuesta del producto y del consumo ante shocks de gastos e impuestos. Se busca hacer un aporte sobre la dinámica de la política fiscal en Argentina identificando los efectos de cambios de los movimientos exógenos de la política fiscal sobre el consumo y la actividad económica argentina.

Palabras claves: shocks fiscales, ciclos económicos, política fiscal.
Clasificación JEL: H7, F32, H23.

SUMMARY

Macroeconomics seeks to answer questions such as what the determinants of product growth are and in general it seeks to analyze the rhythm of movements of a set of variables to draw policy implications. Some economists believe that to reactivate the economy it is convenient to carry out an expansionary fiscal policy during recessive periods, while others disagree with this type of measures. The former advises increasing public spending, for example, in recessive phases of the economic cycle and reducing it in expansionary phases, giving rise to the countercyclical behavior of fiscal policy.

This project seeks to characterize the dynamic effects of government spending and tax shocks on product and private consumption in Argentina and relate them to economic cycles. It is intended to study the effectiveness of fiscal policy on output and consumption for a small open and emerging economy at a theoretical level and then derive an empirical VAR model that includes fiscal spending and tax collection to identify the response of output and consumption to shocks. expenses and taxes. It seeks to make a contribution on the dynamics of fiscal policy in Argentina by identifying the effects of changes of exogenous movements of fiscal policy on Argentine consumption and economic activity.

Keys words: fiscal shocks, business cycles, fiscal policy.
JEL Classification: H7, F32, H23.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro del ámbito de la macroeconomía se busca responder a preguntas como cuáles son los determinantes del crecimiento del producto y en general se busca analizar el ritmo de movimientos de un conjunto de variables para sacar implicancias de políticas. La política fiscal es un instrumento efectivo para suavizar el comportamiento cíclico de la economía. Una conclusión muy común es que para reactivar la economía es conveniente realizar una política fiscal expansiva durante períodos recesivos. Mientras que el análisis Keynesiano dice que un aumento en el gasto fiscal o una reducción en los impuestos tienen un efecto positivo en el producto y consumo, el análisis clásico afirma que una reducción en los impuestos tiene un efecto nulo. Además, muchos países disminuyen el gasto fiscal como parte de un programa de estabilización lo que provoca expansiones en la actividad económica.

En este trabajo se busca hacer un aporte a la literatura desarrollando un modelo teórico microfundamentado para estudiar los efectos de la política fiscal sobre el producto y consumo y se lo prueba con datos de Argentina. El modelo se deriva a partir del libro de Obstfeld y Rogoff (1997) y es un modelo estocástico de equilibrio general dinámico para una pequeña economía abierta sujeta a shocks de impuestos y gastos de gobierno.

A partir del modelo teórico se deriva un modelo empírico de vectores autoregresivos (VAR) que incluye gasto fiscal y recaudación impositiva para identificar la respuesta del producto y del consumo ante shocks de gastos e impuestos. Se busca hacer un aporte sobre la dinámica de la política fiscal en Argentina identificando los efectos de cambios de los movimientos exógenos de la política fiscal sobre el consumo y la actividad económica argentina.

La utilización de los modelos VAR han permitido lograr buena investigación para evaluar los efectos de política monetaria y fiscal (Christiano, 1999; Kamps, 2005; Perotti, 2004, entre otros). Algunos autores como Blanchard y Perotti 2002, De Castro 2006, Fatas y Mihov 2001, Marcellino 2006, Perotti 2005; han utilizado dichos modelos para la estimación de los efectos macroeconómicos de distintas políticas públicas en varios países, aportando evidencia que los efectos no keynesianos producidos en el largo plazo sobre el producto han compensado los tradicionales efectos keynesianos de la política fiscal.

Este trabajo además busca caracterizar los efectos dinámicos de shocks de gastos de gobierno e impuestos sobre el producto y el consumo privado en Argentina durante el período 1970.1-2003.2 con frecuencia trimestral. Se estudia la efectividad de la política fiscal sobre el producto y el consumo para una pequeña economía abierta y emergente. Todos los trabajos similares realizados con anterioridad fueron trabajos empíricos sin hacer explícito ningún modelo teórico microfundamentado y para países desarrollados, excepto el trabajo de Cerda, González y Lagos (2003) realizado para la economía chilena.

Este tema es de gran importancia para los hacedores de política debido a que una política que altere los instrumentos fiscales podría generar importantes cambios en la actividad económica y su respuesta podría conducir a implicancias del tipo de política de estabilización que sería aconsejable seguir.

El trabajo está organizado de la siguiente manera. En la sección 2 se hace una revisión de la literatura, en la sección 3 se desarrolla y resuelve el modelo teórico y en la sección 4 se lo prueba empíricamente para datos de Argentina. En la sección 5 se presentan las conclusiones y comentarios. Además, se incluye un apéndice con todas las estimaciones y extensiones.

2. CONTEXTO DEL PAPER

Bertola y Drazen (1993) desarrollan un modelo teórico de optimización para explicar los efectos de la política fiscal en términos de las expectativas. Específicamente modelan una situación en la cual los efectos de la política fiscal sobre la actividad corriente dependen de las expectativas que se forman los agentes sobre la futura política y se focalizan en los efectos sobre el consumo privado de cambios discretos en la futura política fiscal. Una innovación de política que sería contractiva en un modelo estático puede ser expansiva en este modelo si induce expectativas sobre futuros cambios de política lo suficientemente fuertes en la dirección opuesta, es decir, si una disminución en el gasto del gobierno induce expectativas que el futuro gasto del gobierno y por lo tanto los futuros impuestos disminuirán, entonces se induce una expansión en el consumo privado corriente. Por lo tanto, el efecto de aumentos en el gasto del gobierno puede ser expansivo si el comportamiento de los agentes privados está basado sobre las expectativas que altos niveles de gasto son insostenibles y que deberán bajar en el futuro.

Los autores desarrollan un modelo en el cual el gasto del gobierno disminuye sólo cuando venía creciendo con tendencia creciente y alcanza un punto crítico (trigger point) tal que el cambio en política ocurre infrecuentemente. Específicamente, consideran una pequeña economía abierta no monetaria con un

mercado de capital mundial perfecto donde todos los bienes son transables, el producto de transables es fijo y el gobierno financia sus compras de bienes transables por medio de impuestos tipo lump-sum. Suponen que el gasto del gobierno sigue un proceso conocido y a través de la maximización de la utilidad del consumidor representativo muestran que el consumo privado y el gasto del gobierno tienen la siguiente relación inversa: $c_t = 1 + rf_t - rv_t$., donde r es la tasa de interés mundial, ct es la razón consumo privado-producto, ft es la razón activos externos netos-producto y vt denota el valor presente descontado de la razón futuros gastos de gobierno esperado-producto. Como las expectativas son inobservables y se desea obtener una relación observable entre consumo y gasto de gobierno, los autores especifican un proceso del gasto fiscal y encuentran cómo las expectativas de su valor presente descontado dependen de variables observables corrientes y cómo cualquier movimiento en el gasto gubernamental corriente debe implicar un cambio en el gasto futuro o impuestos para asegurar sustentabilidad. Para ello, suponen que la razón gasto fiscal-producto gt sigue un proceso random walk y se demuestra que la relación consumo-gasto fiscal es: $c_t = 1 + rf_t - g_t - \frac{\theta}{r}$. Si g no tiene tendencia a revertir sus movimientos hacia arriba (θ=0), cambios corrientes en el gasto de gobierno implica cambios en los futuros impuestos esperados en la misma dirección y por lo tanto movimientos en el consumo corriente en la dirección opuesta.

Si g sigue un camino aleatorio y con tendencia creciente, el valor presente descontado de los futuros gastos de gobierno e impuestos excedería el valor presente descontado de producto y para asegurar la solvencia del gobierno la continuidad de aumentar el gasto fiscal corriente eventualmente debe revertirse. En el paper se supone que tal estabilización de la tendencia creciente del gasto público tiene un carácter discreto: hay infrecuentes agudos cambios discretos en los patrones del gasto público después de una tendencia creciente mantenida por un tiempo lo suficientemente largo.

En conclusión: en el paper se muestra que el modelo implica que cambios en los futuros gastos fiscales necesarios para asegurar solvencia en respuesta a aumentos en el gasto corriente implica que aumentos en la razón gasto fiscal-producto, en general tiene efectos no lineales sobre el valor presente descontado de las futuras razones gasto-producto. Por lo tanto, el modelo implica una relación no lineal entre el nivel de consumo elegido por agentes optimizadores y el nivel de consumo del gobierno.

El modelo teórico se aplica a países donde el consumo privado y el público se relacionan en forma no lineal y explícitamente los autores afirman que la aplicación de un modelo VAR en este contexto no sería adecuada. Pero en el caso de países donde la relación entre los consumos es lineal, sería adecuado utilizar un modelo VAR para predecir el comportamiento dinámico de la política fiscal.

Los autores prueban el modelo empíricamente para datos de Dinamarca e Irlanda y encuentran soporte al modelo en estos países. En ambos países se observó que cuando el déficit del gobierno era grande relativo al PBI y que cuando la deuda pública estaba creciendo rápidamente, los gobiernos realizaron intensos programas de estabilización y los efectos fueron similares: la estabilización fue expansiva y el consumo privado relativo al PBI aumentó. Los datos sugieren que la estabilización fiscal toma la forma de una aguda caída en el gasto del gobierno después de una tendencia creciente y que los efectos sobre el consumo privado no son tan simples como suponía el modelo clásico o el Keynesiano.

El tema de los efectos fiscales sobre la actividad económica fue tratado en forma empírica para diferentes países desarrollados utilizando la metodología VAR. Blanchard y Perotti (1999) caracterizan los efectos dinámicos de shocks en gastos de gobierno e impuestos sobre la actividad económica de Estados Unidos en el período de posguerra y concluyen que shocks positivos en el gasto tienen efectos positivos en el producto y shocks positivos en impuestos tienen efectos negativos sobre el producto.

Giavazzi y Pagano (1990) caracterizan la dinámica fiscal en Dinamarca e Irlanda y concluyen que existe un efecto de “expectativas” que enfatiza el rol de cambios corrientes en gastos del gobierno e impuestos como señal de futuros cambios. Este efecto puede generar que políticas fiscales expansivas sean contractivas.

Giavazzi y Pagano (1995) estudian los efectos dinámicos en 19 países de la OECD y luego se concentran en la expansión fiscal de Suecia a principio de los ‘90. Se confirma las conclusiones del paper anterior, que cambios en la política fiscal tienen efectos no-keynesianos.

Perotti (2002) analiza con un modelo VAR los efectos de la política fiscal en 5 países de la OECD y concluye que los efectos de la política fiscal sobre el GDP son significativos pero tienden a debilitarse en el tiempo, los gastos de gobierno tienen efectos positivos sobre el nivel de precios aunque pequeños y un significante efecto sobre la tasa de interés real y nominal y sobre el producto. Los shocks de impuestos

tienen efectos positivos de corto plazo sobre la tasa de interés nominal y el producto y efecto nulo o negativo sobre los precios.

El único paper escrito hasta el momento que desarrolla este modelo empírico para una economía emergente es el de Cerda, González y Lagos (2003), quienes evalúan los impactos de la política fiscal sobre la evolución de la actividad económica en Chile. En el trabajo se encuentra efectos no-Keynesianos de la política fiscal, es decir, un aumento en el gasto de gobierno puede tener efectos recesivos y un aumento en los impuestos puede tener efectos expansivos.

Lamentablemente, no existe en la literatura ningún modelo teórico microfundamentado que respalde al modelo empírico utilizado en los últimos cinco papers empíricos anteriores. El único modelo teórico relacionado con variables fiscales es el de Bertola y Drazen, que concluye que la utilización de un modelo empírico VAR podría ser engañosa para predecir los efectos la dinámica de la política fiscal si se encuentran una relación no lineal entre consumo y gasto de gobierno.

3. MODELO TEÓRICO

Considere el siguiente modelo de equilibrio general dinámico estocástico de una pequeña economía abierta. El tiempo es discreto y existe una familia representativa que vive infinitamente y que consume un bien transable internacionalmente y un bien doméstico no transable.

Las preferencias de la familia están representadas por la siguiente función de utilidad:

$$U_t = E_t\left\{\sum_{s=t}^{\infty}\beta^{s-t}u\left(C_s^T, C_s^N\right)\right\} \qquad (1)$$

donde:

- $E_t\{\cdot\}$ es la esperanza condicional, es decir, un promedio ponderado de posibles resultados donde las probabilidades son condicionales a toda la información disponible hasta el período t,

- C_s^T es el consumo de la familia del bien transable,

- C_s^N es el consumo de la familia del bien no transable,

- β es el factor de descuento.

La familia tiene acceso al mercado financiero internacional, donde sólo pueden transarse bonos a una tasa de interés real libre de riesgo, constante e igual a r.

La producción del bien transable requiere capital tal que:

$$Y_s^T = AF(K_s)$$
$$donde \quad F(0)=0, \quad F'(K_s)>0 \quad y \quad F''(K_s)<0 \qquad (2)$$

es decir, F es estrictamente creciente y cóncava en el capital.

Suponga que la producción de los bienes no transables es igual a su demanda total, la cual es la suma del consumo de la familia y las compras del gobierno:

$$Y_s^N = G_s + C_s^N \qquad (3)$$

La familia acumula capital físico a través del flujo de inversión del bien transable o dicho de otra forma, el stock de capital Ks+1 acumulado al final del período s es la suma del capital preexistente Ks y la nueva inversión durante el período s. Además, suponga que no hay depreciación del stock de capital. Así:

$$K_{s+1} = K_s + I_s \qquad (4)$$

La economía comienza el período s con stocks predeterminados de capital Ks y con un stock de bonos internacionales privados mantenidos por la familia BPs, ambos acumulados en períodos anteriores.

El cambio total en la riqueza doméstica, ahorro privado, es:

$$B_{s+1}^P + K_{s+1} - (B_s^P + K_s) = Y_s^T + rB_s^P - T_s - P_s^T C_s^T \qquad (5)$$

donde:

- Ts es el impuesto lump-sum que paga la familia al gobierno.

- P_s^T es el precio del bien transable relativo al precio del bien no transable que se asume como numerario y por lo tanto igual a 1.

Reordenando términos de la ecuación (4) se obtiene:

$$(1+r)B_s^P = P_s^T C_s^T - T_s + I_s - Y_s^T + B_{s+1}^P \qquad (6)$$

Adelantando (6) un período y dividiendo ambos miembros por (1+r):

$$B_{s+1}^P = \frac{P_{s+1}^T C_{s+1}^T - T_{s+1} + I_{s+1} - Y_{s+1}^T}{1+r} + \frac{B_{s+2}^P}{1+r}$$

la cual se usa para eliminar BPs+1 de (6):

$$(1+r)B_s^P = P_s^T C_s^T - T_s + I_s - Y_s^T + \frac{P_{s+1}^T C_{s+1} - T_{s+1} + I_{s+1} - Y_{s+1}^T}{1+r} + \frac{B_{s+2}^P}{1+r}$$

Podemos repetir el proceso para eliminar BPs+2/(1+r), adelantando (6) por dos períodos y dividiendo ambos miembros por (1+r)2:

$$\frac{B_{s+2}^P}{1+r} = \frac{P_{s+2}^T C_{s+2}^T - T_{s+2} + I_{s+2} - Y_{s+2}^T}{(1+r)^2} + \frac{B_{s+3}^P}{(1+r)^2}$$

Continuando con la iteración e imponiendo la siguiente condición de transversalidad:

$$\lim_{T\to\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^T B_{t+T+1}^P = 0$$

se obtiene la restricción presupuestaria de la familia. Como la restricción presupuestaria tiene que satisfacerse para cada posible secuencia de shock, también debe ser satisfecha en valor esperado en el período t, entonces:

$$E_t\left\{\sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t}(P_s^T C_s^T)\right\} = E_t\{(1+r)B_t^P + \sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t}(Y_s^T - T_s - K_{s+1} + K_s)\} \qquad (7)$$

Entonces, el problema de optimización de la familia en cada período es maximizar su utilidad esperada (1) sujeto a (7), y dado los valores iniciales de Ks y BPs.

Por lo tanto, la CPO con respecto a los bonos internacionales es:

$$E_t\{u'(P_s^T C_s^T)\} = (1+r)\beta E_t\{u'(P_{s+1}^T C_{s+1}^T)\} \qquad (8)$$

en s=t, implica la siguiente ecuación de Euler:

$$u'(P_t^T C_t^T) = (1+r)\beta E_t\{u'(P_{t+1}^T C_{t+1}^T\} \qquad (9)$$

Suponiendo la siguiente función de utilidad cuadrática:

$$u(C^T, C^N) = C^T - \frac{a}{2}C^{T^2} + C^n - \frac{b}{2}C^{n^2} \qquad (10)$$

se puede resolver el problema para el nivel óptimo de consumo, ya que la utilidad marginal de consumo es la siguiente función lineal:

$$u'(C^T) = 1 - aC^T \qquad (11)$$

Si además, se supone que (1+r)β=1, de (9), la CPO de la familia es la siguiente:

$$E_t\{P_{t+1}^T C_{t+1}^T\} = P_t^T C_t^T \qquad (12)$$

En el caso de función de utilidad cuadrática, la ecuación (8), implica que para todo s>t:

$$E_t P_s^T C_s^T = E_t P_{s-1}^T C_{s-1}^T = E_t P_{s-2}^T C_{s-2}^T = \ldots = E_t P_{t+1}^T C_{t+1}^T = P_t^T C_t^T \qquad (13)$$

Entonces (7) puede escribirse como:

$$\sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t} P_t^T C_t^T = E_t\left\{(1+r)B_t + \sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t}(Y_s^T - T_s - I_s)\right\} \qquad (14)$$

La solución para el consumo es simplemente:

$$C_t^T = \frac{r}{(1+r)P_t^T}\left[(1+r)B_t + \sum_{s=t}^{\infty} E_t\{Y_s^T - T_s - I_s\}\right] \qquad (15)$$

Los mercados competitivos descentralizados determinan el tipo de cambio real e_s, el cual se define como el precio del bien transable relativo al precio del bien no transable. Así, en un equilibrio competitivo, el tipo de cambio real es igual a la tasa marginal de sustitución entre el consumo de los transables y de los no transables:

$$e_s = \frac{P_S^t}{P_S^n} = \frac{u'_{C^T}\left(C_s^T, C_s^N\right)}{u'_{C^n}\left(C_s^T, C_s^N\right)} \qquad (16)$$

El producto doméstico total en términos de los bienes transables en el período s está dado por:

$$Y_s = Y_s^T + P_s^N Y_s^N \qquad (17)$$

El valor total del consumo privado en términos del bien transable en el período s está dado por:

$$C_s = P_s^T C_s^T + P_s^N C_s^N \qquad (18)$$

Los procesos estocásticos para los dos shocks de impuesto y gasto de gobierno que afectan a la economía en el tiempo son los siguientes:

$$T_s = T_{s-1}.v_s^T \qquad (19)$$
$$G_s = G_{s-1}.v_s^G$$

donde v_s^T y v_s^G son variables aleatorias iid.

El gobierno recolecta impuestos lump-sum del agente representativo para financiar el flujo de sus compras de gobierno. La identidad de acumulación del gobierno:

$$B_{t+1}^G - B_t^G = T_t + rB_t^G - G_t \qquad (20)$$

Por lo tanto, la restricción presupuestaria del gobierno es:

$$\sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t} G_s = (1+r)B_t^G + \sum_{s=t}^{\infty}\left(\frac{1}{1+r}\right)^{s-t} T_s \qquad (21)$$

donde B^G_t denota los activos financieros netos del gobierno al final del período t-1. Entonces, (21) dice que el valor presente descontado del consumo del gobierno es igual al valor presente descontado de su recaudación incluyendo cualquier ingreso de activo neto, el cual puede ser negativo si el gobierno tiene deuda.

Introduciendo (21) en (15), el nivel de consumo de los transables queda determinado por:

$$C_t^T = \frac{r}{(1+r)P_t^T}\left[(1+r)B_t + \sum_{s=t}^{\infty} E_t\left\{Y_s^T - G_s - I_s\right\}\right] \qquad (22)$$

donde el stock de activos neto de la economía se define como la suma de los activos privados y de los activos del gobierno:

$$B = B^P + B^G \qquad (23)$$

Entonces, el consumo privado se deriva introduciendo (22) y (3) en (17):

$$C_t = \frac{r}{(1+r)}\left[(1+r)B_t + \sum_{s=t}^{\infty} E_t\{Y_s^T - G_s - I_s\}\right] + P_t^T(Y_t^N - G_t) \qquad (24)$$

La ecuación del consumo tiene importantes implicancias: dice que la trayectoria de los impuestos que cobra el gobierno no influye en el consumo ni en el producto y que el gasto de gobierno es la única variable fiscal que afecta el consumo y producto.

Cuando se resuelven las expectativas, se observa que el consumo y el producto quedan determinados por variables rezagadas de ellas mismas y del gasto de gobierno, por lo cual a partir de este modelo se

puede aplicar un modelo empírico VAR, lo cual se realiza en la siguiente sección. Además, siguiendo a Bertola y Drazen en los datos del caso de Argentina se encuentra que el consumo privado y consumo público se mueven en forma muy parecida (ver apéndice, sección A), por lo que sería correcto aplicar la metodología del VAR.

4. MODELO EMPÍRICO Y RESULTADOS

Debido a que se busca caracterizar los efectos de gastos de gobierno e impuestos sobre el producto y consumo privado, la utilización de un modelo VAR sería adecuada ya que para estimar los efectos de una variable es necesario incluir la otra. Los modelos VAR presentan algunas características que los hacen especialmente adecuados para estimar efectos a medio y largo plazo de políticas públicas. Permiten tener en cuenta cómo cambios en una variable influye sobre el comportamiento de otras en el corto, medio y largo plazo. Esto tiene una importancia clave cuando se intenta estimar el impacto de determinadas políticas fiscales debido a que, como consecuencia de que se produce un cierto retardo entre la decisión política (aumentar impuestos, reducir inversión, etc.), su implementación, y su impacto económico, puede ocurrir que los efectos producidos en el corto plazo sean de magnitud y/o signos distintos a los obtenidos al considerar un mayor periodo de tiempo. Además, en los modelos VAR se consideran como endógenas todas las variables incluidas y por tanto todas están interrelacionadas. Así, las variables referentes al gasto público afectan al producto, a los precios y también a la recaudación impositiva, y a su vez el producto va a incidir sobre la inflación y también sobre el volumen de gasto público e impuestos, y éstos también inciden sobre el PIB, los precios y el gasto público, efectos todos ellos que se producen en el tiempo.

En el trabajo se utiliza el enfoque planteado por Blanchard y Perotti (2002), en el que se incluye las variables referidas al gasto público y a los impuestos y dado que ambas variables que afectan al PIB y al consumo no son independientes una de la otra, implica que para estimar los efectos producidos sobre el producto y consumo privado por una de ellas es también necesario incluir la otra. De esta forma, el modelo empírico considera las siguientes variables: gasto de gobierno: Gt (GG), recaudación de impuestos netos de subsidios Rt (R), consumo privado Ct (C) y producto Yt (PBI), donde todas estas variables están medidas en millones de pesos a precios de 1993 y ajustadas estacionalmente. (En el apéndice A se detallan las series y las fuentes de datos). Las series del producto, consumo y de gastos de gobierno en general presentan una tendencia creciente. La Recaudación Nacional de impuestos muestra una proporción del PBI estable para la última década, siendo su valor promedio para el período 1970.1-2003.2 de 17.3%.

El primer paso para estimar un modelo VAR es estudiar la estacionariedad de las series empleadas. Utilizando el test de raíces unitarias de Dickey-Fuller (apéndice B) se encontró que las variables PBI, GG, C y R son estacionarias I(0) alrededor de una tendencia lineal, por lo que es conveniente estimar el modelo VAR en niveles. Luego, para determinar la especificación del modelo se presentan los siguientes análisis. El test de rezagos óptimos presentado en el apéndice C, concluye que el número de rezagos de las variables endógenas que deben incluirse en el modelo son 2. En el apéndice D se presentan los tests de causalidad de Granger y en la siguiente tabla se muestran los valores p para el test de Wald para la hipótesis nula de que el conjunto de los coeficientes de los rezagos de cada variable es nulo:

Regresor	Variable Dependiente			
	PBI	C	GG	R
PBI	-	0.005	0.0619	0.2857
C	0.3087	-	0.6964	0.4516
GG	0.5577	0.6370	-	0.2187
R	0.0620	0.2185	0.2958	-

Se observa que el PBI ayuda a pronosticar al consumo y al gasto de gobierno y que la recaudación impositiva ayuda a pronosticar al PBI.

En el apéndice E se presenta la descomposición de las varianzas para cada una de las variables con un horizonte de pronóstico de hasta 1 año o 4 trimestres. En el caso del PBI los shocks sobre las variables PBI, C, GG y R explican el 96.5%, 0.82%, 0.97% y 1.71% respectivamente de la varianza de sus pronósticos 4 trimestres hacia delante. En el caso de C los shocks sobre las variables PBI, C, GG y R explican el 75.08%, 22.38%, 0.99% y 1.54% respectivamente de la varianza de sus pronósticos 4 trimestres hacia delante. En el caso del GG los shocks sobre las variables PBI, C, GG y R explican el 61.64%, 24.09%, 12.90% y 1.37% respectivamente de la varianza de sus pronósticos 4 trimestres hacia delante. En el caso de R los shocks sobre las variables PBI, C, GG y R explican el 8.33%, 1.86%, 2.95% y 86.86% respectivamente de la varianza de sus pronósticos 4 trimestres hacia delante. A partir de estas

cifras puede concluirse que la recaudación impositiva es bastante exógena debido a que los propios shocks explican cerca del 87% de la varianza.

Una vez determinada la especificación de los modelos VAR, al considerar la descomposición de Cholesky es necesario establecer la ordenación de las variables con la que se va a trabajar. Se considera la descomposición de Cholesky para la estimación de los efectos macroeconómicos a partir de las funciones impulso respuesta derivadas de los respectivos modelos VAR. El método de Cholesky es una manera simple de ortogonalización de los shocks en el VAR que implica que la ordenación en que se consideren las variables del modelo es significativa pues puede tener repercusiones en los resultados obtenidos. En este sentido, podemos recurrir a la intuición económica para resolver algunos aspectos relativos a la ordenación de las variables incluidas en los modelos VAR. Así, a pesar de la importancia de los residuos en la forma reducida que contienen los cambios no anticipados de la política fiscal, tienen poco significado económico porque son una combinación lineal de los shocks estructurales, entonces para poder identificar los shocks fiscales se utiliza la descomposición de Cholesky para diferentes ordenamientos de shocks y un horizonte de 40 trimestres: a) PBI-C- GG-R, b) PBI-C-R-GG.

Denotando el vector de variables endógenas como Xt, se escribe la siguiente forma reducida para el modelo VAR:

$$X_t = \sum_{j=1}^{K} A_{t-j} X_{t-j} + U_t$$

Donde Xt ≡ [Ct-Ct-1, GGt-GGt-1 Yt-Yt-1 Rt-Rt-1]´, Ut es un vector de residuos y K es el número de rezagos.

<u>Estimación de los Efectos Dinámicos del gasto del gobierno en el producto y en el consumo</u>:

A partir de las funciones impulso-respuesta[1] de un shock exógeno en el gasto del gobierno sobre el producto y el consumo para diferentes ordenamientos de shocks se encuentra que los resultados son iguales sin importar cuál sea el ordenamiento que se realiza de shocks. Se muestran resultados no keynesianos ya que un aumento en el gasto conduce a una disminución en la actividad económica y en el consumo, y el efecto dura hasta 5 trimestres. A partir del trimestre 10 aumenta el PBI y el efecto luego se desvanece en el trimestre 20.

Para datos de Argentina se encuentran efectos opuestos a los resultados keynesianos encontrados por Blanchard y Perotti para datos de Estados Unidos, es decir, un aumento en el gasto fiscal tiene efectos contemporáneos positivos sobre el producto y sobre el consumo. Pero estos resultados no keynesianos son iguales a los que encuentran Cerda, González y Lagos para datos de Chile. Giavazzi y Pagano concluyen que un aumento en el gasto fiscal puede hacer caer el producto si se asocia a una mayor necesidad futura de financiamiento con impuestos, lo que haría reducir el ingreso de los agentes racionales, creando desincentivo en el consumo e inversiones y como consecuencia, caída en el producto. Esto explicaría los resultados no keynesianos y se concluiría que surge como consecuencia de las expectativas, mientras que los resultados keynesianos inducen a pensar en la falta de expectativas de largo plazo en los agentes.

Un aumento en el gasto de gobierno está relacionado con una disminución en la recaudación impositiva, contrario a lo que se encuentra para datos de Chile e iguales a los de Estados Unidos.

<u>Estimación de los Efectos Dinámicos de la recaudación impositiva en el producto y en el consumo</u>:

En esta sección se analiza los efectos de un shock exógeno en la recaudación impositiva sobre el producto y el consumo. Se observa que aumentos en la recaudación impositiva tienen efectos positivos sobre el consumo y el producto hasta el trimestre 6 y posteriormente produce un efecto negativo el cual se disipa en el trimestre 21. Este resultado es contrario a la evidencia norteamericana, pero es el mismo resultado que para el caso chileno y que en ambos casos se explica vía expectativas: un aumento en la recaudación impositiva impacta positivamente en el presupuesto fiscal lo que produce un aumento en el gasto, en el producto y en el consumo. Pero, como la gente espera que este aumento en el gasto produzca futuros aumentos de impuestos y por lo tanto déficit fiscal, aparece un impacto negativo en el producto.

[1] Disponible bajo requerimiento.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrolló un modelo estocástico de equilibrio general dinámico para una pequeña economía abierta y a partir de éste se caracterizó los efectos dinámicos de la política fiscal sobre el consumo y producto en Argentina. En el modelo empírico se utilizó la metodología VAR.

Los resultados encontrados en este trabajo se explican básicamente por las expectativas de la gente. Se encontraron efectos no keynesianos de la política fiscal, es decir, aumentos en el gasto de gobierno tiene efectos negativos sobre el producto y el consumo lo que puede explicarse por las expectativas como sigue: un aumento en el gasto indica una reducción futura de impuestos y por lo tanto, de la recaudación impositiva, lo que hace disminuir el producto y el consumo privado. Por lo tanto, el gasto del gobierno puede tener efectos recesivos si se asocia con mayores impuestos futuros.

También se encontró que un aumento de impuestos tiene efectos positivos sobre el producto y consumo y luego efectos negativos. Además, un shock en la recaudación impositiva conduce a un aumento en el gasto gubernamental y vía expectativas este aumento en el gasto produce futuros aumentos de impuestos y por lo tanto déficit fiscal, lo que se deriva en un impacto negativo en el producto. Por lo tanto, un aumento transitorio de impuestos hoy puede se expansivo si se asocia con menores impuestos futuros.

Este trabajo concluye que falta mucha investigación empírica y sobre todo teórica por realizar para contar con modelos que permitan entender y cuantificar los canales de transmisión fiscal, modelos que serán de suma importancia para el manejo de la política fiscal en los próximos años en Argentina.

Queda como futura tarea de investigación mejorar y perfeccionar el modelo teórico presentado que conduce a la aplicación del modelo empírico VAR en política fiscal y aplicarlo y a distintos países de tal forma de permitir una comparación profunda entre ellos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bertola, G. y Drazen, A. (1993). “Trigger Points and Budget Cuts: Explaining the Effects of Fiscal Austerity”. The American Economic Review, Vol. 83, Nº. 1. Merzo 1993, pág. 11-26.

- Blanchard, O. y Perotti, R. (1999). “An empirical characterization of the dynamic effects of changes in goverment spending and taxes on output”. NBER, WP: 7269. Julio 1999.

- Cerda, R., González, H. y Lagos, L. F. (2003). “¿Es efectiva la política fiscal?. Evidencia para una economía emergente”. Documento de Trabajo Nº. 249. Noviembre 2003.

- Giavazzi, F. y Pagano, M. (1990). “Can severe fiscal contractions be expansionary?. Tales of two small European countries”. NBER, WP: 3372. Mayo 1990.

- Giavazzi, F. y Pagano, M. (1995). “Non-Keynesian effects of fiscal policy changes: international evidence and the Swedish experience”. NBER, WP: 5332. Noviembre 1995.

- Granado, María José (2004). “Series de Recaudación Tributaria Nacional para Argentina: Ajuste Estacional y Análisis Cíclico (1970-2003)”. AAEP.

- Hoover, K. y Shefrin, S. (1992). “Causation, Spending and Taxes: Sand in the Sandbox or Tax Collector for the Welfare State”. AER, vol. 82, nº 1, mar. 1992, 225-248.

- Perotti, R. (2002). “Estimating the effects of fiscal policy in OECD countries”. ENEPRI, WP: 15. Octubre 2002.

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO PARA EL ESTUDIO DE MICROBIOMAS EN SUPERFICIES DEL AMBITO MEDICO-ASISTENCIAL
SCANNING ELECTRON MICROSCOPY FOR THE STUDY OF MICROBIOMES ON SURFACES OF THE MEDICAL-ASSISTANCE FIELD

D´ARPINO M.C[1,2], GALVÁN, F.S[1], ALVARADO N.N [1], MARRANZINO G[2,3], MARTINEZ L[1], ALBARRACÍN V.H[1,2*]

[1]*Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME-CONICET-UNT) E-mail: cime@tucuman-conicet.gov.ar*

[2]*Cátedra de Biología Molecular e Ingeniería Genética, Universidad de San Pablo-T*

[3]*Banco Central de Sangre "Dr. César Guerra", (PRIS-SI.PRO.SA)*

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar ultra-estructuralmente las comunidades microbianas presentes en el ámbito médico-asistencial. Se tomaron muestras de las superficies en distintos puntos por duplicado mediante cinta de papel y también se realizó el muestreo por hisopado y siembra en placas con medio de cultivo LB pH7 adicionado con antibióticos cicloheximida (CH) y ciclohehimida más ácido nalidixico (CH/NA). Los sitios de muestreo fueron: mesadas, aires acondicionados y equipamientos, de los Servicios de Biología Molecular, Producción y Distribución del Banco Central de Sangre "Dr. César Guerra", (PRIS-SI.PRO.SA). El análisis de las cintas aplicando Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) permitió detectar *biofilms* en los diferentes sitios de muestreo. Los mismos presentaron una arquitectura tridimensional compleja caracterizada por microorganismos dispuestos en capas inmersas en abundante material extracelular. Los cultivos permitieron aislar 45 colonias que exhibieron diversos morfotipos (cocos, bacilos y cocobacilos) de mesadas, aires acondicionados y equipos. Mediante MEB fue posible analizar en detalle la estructura topográfica, organización y morfología de las bacterias aisladas. Se observó además, que algunas colonias establecían contactos estrechos. La técnica de MEB reveló un amplio espectro de relaciones entre ellas. Fue posible poner en evidencia cambios morfológicos en las bacterias como también la presencia de gran cantidad de material extracelular en los sitios de interacción. También, se identificaron diferencias en la conformación estructural de distintos sectores de algunas colonias. Este trabajo propone a las técnicas de microscopía de alta resolución como herramientas claves para el estudio *in-situ* de *biofilms* en superficies del ámbito médico-asistencial, debido a la estrecha relación que presentan con las enfermedades humanas.

PALABRAS CLAVE: Microbioma; *biofilms*; cepas aisladas; interacciones bacterianas; microscopía electrónica de barrido.

ABSTRACT

This study aimed at ultra-structurally characterizing the microbial communities present in the medical-healthcare field. Samples were taken in duplicate by means of paper tape and swabbing and plating in plates with LB pH7 culture medium added to antibiotics Cycloheximide (CH) and Cyclohehimide/Nalidixic Acid (CH/NA). The sampling sites were countertops, air conditioning and equipment from the Production, Distribution and Molecular Biology Services at the Central Blood Bank "Dr. César Guerra", (PRIS-SI.PRO.SA). The analysis of the tapes done by applying Scanning Electron Microscopy (SEM) allowed the detection of biofilms in the different sampling sites. They presented a complex three-dimensional architecture characterized by microorganisms arranged in layers immersed in abundant extracellular material. The cultures allowed the isolation of 45 colonies which exhibited various morphotypes (cocci, bacilli, and coccobacilli) from countertops, air conditioning and equipment. Using SEM, it was possible to analyse in detail the topographic structure, organization and morphology of the isolated bacteria. It was also observed that some colonies established close contacts. SEM revealed a wide spectrum of relationships between them. It was possible to show morphological changes in the bacteria as well as the presence of a large amount of extracellular material at the interaction sites. In addition, differences were identified in the structural conformation of different sectors in some colonies. This work proposes high-resolution microscopy techniques as key tools for the in-situ study of biofilms on surfaces in the medical-healthcare field, given the close relationship they have with human diseases.

KEYWORDS: Microbiome; biofilms; isolated strains, bacterial interactions; scanning electron microscopy

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos se encuentran presentes en el aire, agua, alimentos y superficies, donde mediante diversas interacciones modulan numerosos aspectos de la calidad de vida y salud humana. En los últimos años, los estudios genómicos y metagenómicos han proporcionado una gran cantidad de información sobre la fisiología e historia evolutiva de microorganismos existentes en una amplia gama de ambientes (Hugenholtz & Tyson, 2008; Kurth et al., 2015; Nesme et al., 2016; Toneatti et al., 2017, Zhang et al., 2019). Se ha demostrado además que las comunidades microbianas en la naturaleza son complejas y dinámicas, que están constituidas por una alta biodiversidad de microorganismos y que colonizan toda variedad de entornos (Vikram et al., 2016). De hecho, los microorganismos representan la mayor parte de la biodiversidad en los ecosistemas urbanos (King, 2014). Un grupo de microorganismos (bacterias, arqueas, virus y eucariotas basales), la colección de sus genomas y las condiciones ambientales del hábitat que los rodea constituye un microbioma (Marchesi & Ravel, 2015). Podemos encontrar una indefinida variedad de microbiomas acuáticos, de suelo, extremos, simbiontes, de superficies en concordancia con la enorme amplitud de posibilidades ambientales que ofrece nuestro planeta. Existe un creciente interés en analizar la relación entre los microbiomas y áreas de investigación como medio ambiente, biotecnología, diversidad y salud humana (Handelsman et al., 1998; Hooper y Gordon, 2001; Comeau et al., 2012). El enfoque del microbioma desde aspectos inherentes a su composición, mediante el estudio de muestras de ADN (Metagenómica), ARN (Metatranscriptómica), proteínas (Metaproteómica) y sustancias metabólicas (Metabolómica) ha aportado gran cantidad de datos sobre la composición y el funcionamiento de estas comunidades microbianas y cómo las mismas responden a los factores y condiciones del medio adoptando diversas dinámicas espacio-temporales (Mardis, 2011; Comeau et al., 2012; Ottman et al., 2012). Por otro lado, los métodos imagenológicos (*Bio-imaging*) resultan de suma importancia para localizar espacialmente y caracterizar una comunidad microbiana variada; permiten dilucidar las interacciones y las relaciones de comunicación intercelular entre microorganismos filogenéticamente diversos en una comunidad microbiana compleja tanto entre ellos como con el ambiente en el que se desarrollan (Knierim, 2012; Zhang et al., 2019). La microscopía electrónica es una metodología en auge que permite establecer la disposición, estructura y distribución de la gran biodiversidad de taxas en los distintos estratos que forman los microbiomas lo cual permite detectar interacciones entre distintos componentes de la comunidad y la organización funcional de las distintas capas (Farias et al., 2013; Toneatti et al., 2017). Los *biofilms* (biopelículas) son un tipo especial de microbiomas organizados en capas que habitualmente se forman en una interfase húmeda, tanto sobre superficies bióticas como abióticas (Vinh et al., 2005; Wimpenny, 2009; Seth et al., 2012;). Pueden colonizar la superficie metálica de dispositivos médicos como las válvulas, los marcapasos y los catéteres afectando negativamente sus funciones y causando graves infecciones intrahospitalarias (Dijkshoorn et al, 2007; Van Kleef et al., 2013). Algunos ejemplos de afecciones médicas asociadas con *biofilms* son aquellas derivadas de dispositivos permanentes en vías, la placa dental, las infecciones del tracto respiratorio superior, peritonitis y las infecciones urogenitales a menudo asociadas con una mayor resistencia a los agentes antimicrobianos (Bryers et al., 1999; Ferri et al., 2017., Zingg et al., 2019). La resistencia antimicrobiana tiene un gran impacto en el ámbito asistencial-sanitario ya que las personas infectadas requieren una hospitalización más prolongada, a menudo asociada a un mal pronóstico (Ferri et al., 2017). La resistencia microbiana a los medicamentos es un problema de salud mundial causado por el uso incontrolado de antibióticos en la medicina y en la agricultura. Se prevé que hacia 2050 alrededor de 10 millones de personas morirán anualmente por motivos relacionados con la resistencia a medicamentos (O'Neill, 2014). Si bien los patógenos resistentes son la principal preocupación, los canales microbianos globales de intercambio de genes existentes entre taxones microbianos no relacionados (e.g. pili) permiten que los microbios comensales compartan genes de resistencia con oportunistas (Cusumano y Hultgren, 2009; Dickey et al., 2017). Para evitar la colonización de superficies con *biofilms* microbianos, se pueden usar agentes químicos o biocidas y así esterilizar superficies metálicas. Sin embargo, estos tratamientos preventivos no son suficientes para controlar la formación de *biofilms* (Sultana et al., 2015). Más aún, las bacterias que crecen en las *biofilms* son difíciles de erradicar debido a una combinación del efecto mecánico de varias capas protectoras junto con la capacidad intrínseca de estas bacterias de resistencia a antibióticos (Percival et al., 2010). Se ha demostrado que muchos microorganismos pueden mantenerse viables en las superficies luego del tratamiento de las mismas con sustancias de limpieza antimicrobianas (Hu et al., 2019). Entonces, resulta fundamental el estudio de las fuentes microbianas y el entendimiento de cómo los humanos pueden interactuar (o adquirir) nuevas especies comensales o patógenos peligrosos (Gire et al., 2014). Por lo anteriormente expuesto, se hace necesario el desarrollo de métodos más precisos que permitan estudiar con mayor eficacia y de forma sistematizada la formación de *biofilms*.

Además, los seres humanos pueden influir en las especies microbianas que se encuentran en las superficies a través del uso de ciertos antimicrobianos en particular sobre la resistencia de los mismos (Fahimipour et al., 2018). Estudios recientes se han abocado a dilucidar la composición de los microbiomas a fin de entender la relación entre ellos y la salud humana. Estos se centran en estudiar la metagenómica especialmente con técnicas de secuenciación avanzadas como *NGS*, (*Next Generation Sequencing*) (Zingg et al., 2019). Al presente, son pocos los estudios tendientes a analizar las comunidades microbiológicas desarrolladas *in-situ* en los ámbitos asistenciales y no hay estudios referidos a nuestro país. Es de destacar los análisis metagenómicos llevados a cabo en hospitales (Smith et al., 2013; Willmann et al., 2015; Lax et al., 2017) y ambulancias (O'Hara et al., 2017) en otros países, los cuales han permitido obtener datos sobre el perfil de la diversidad de microorganismos. Sin embargo, para poder contextualizar los datos metagenómicos en una estructura de comunidad tridimensional y dinámica como la que se encuentra en el ambiente original de estas comunidades, resulta de gran utilidad el uso y desarrollo de métodos imagenológicos de microscopía de alta resolución que aún se encuentra poco explorado para el estudio *in-situ* de *biofilms* de superficies (Knierim et al., 2012).
El objetivo de este trabajo fue explorar el potencial de los métodos de microscopía de alta resolución, especialmente de microscopía electrónica de barrido, para estudiar los *biofilms* desarrollados *in situ* en superficies de ambientes médicos asistenciales. Particularmente, se estudiaron los *biofilms in situ* y microorganismos predominantes en superficies de distintos laboratorios del Banco Central de Sangre "Dr. César Guerra", en Tucumán.

MATERIALES Y MÉTODOS

Banco de Sangre
En este trabajo se estudiaron muestras obtenidas del Banco Central de Sangre "Dr. César Guerra", dependiente del Programa Integrado de Salud (PRIS-SI.PRO.SA) de la provincia de Tucumán-Argentina. Constituye el único servicio de salud pública destinado a los procesos de donación, preparación, almacenamiento y distribución de productos sanguíneos. La sangre entera obtenida de los donantes es ingresada al servicio de Producción y Fraccionamiento encargado de la elaboración y distribución de los hemocomponentes (glóbulos rojos, plaquetas, plasma fresco congelado, crioprecipitado y otros). Para realizar su obtención, el laboratorio consta de centrífugas refrigeradas a 19 ºC (Presvac DP-2065 R Plus). Las unidades procesadas y estudiadas bajo calificación y control, son enviadas al área de Distribución, donde se consignará cada componente a ser distribuido a cada servicio de hemoterapia correspondientes a los hospitales públicos y privados de la provincia, que reciben regularmente componentes de este Banco de Sangre. Las plaquetas deben conservarse entre 18 °C y 22 °C en agitación constante para no perder propiedades. Para ello la sala cuenta con agitadores de plaquetas termostatizados a 22 ºC (Presvac AP-48 L). El servicio de Biología Molecular es el encargado de realizar el *Screening* de ácidos nucleicos de: Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), Virus de Hepatitis C (VHC) y Virus de Hepatitis B (VHB). Para ello cuenta con una plataforma automatizada, guiada por *softwares* constituida por los siguientes equipos: Pipeteador Hamilton MICROLAB STAR IVD/STARlet IVD, allí ingresan los tubos con sangre centrifugada, de los cuales se utiliza el plasma (donde se resuspenden los ácidos nucleicos) para formar los *pooles* de muestras (*pooles* de 6 o de 1, según corresponda la corrida diaria). Equipo COBAS® AmpliPrep, que es en donde se realiza la mix de PCR *real time* para cada uno de los *pooles* y finalmente un Analizador COBAS® TaqMan®, con 4 termocicladores *seteados* que lleva na cabo la PCR *real time* que permite detectar la presencia o no de ácidos nucleicos virales en función a los controles internos y externos.

Muestreo
Se seleccionaron tres áreas en particular a partir de las cuales se definieron los sitios de muestreo: el servicio de Producción, el servicio de Distribución de hemocomponentes y el servicio de Biología Molecular. Se tomaron muestras por duplicado del aire acondicionado (AAC-PRO), de la mesada de trabajo (M-PRO) y de la centrífuga (E-PRO) del laboratorio de Producción. Del agitador de plaquetas que se encuentra en el área de distribución (A-Plaq-PRO). Del equipo de aire acondicionado (AA-BM), mesada de reactivos (MR-BM), mesadas de trabajo (ME-BM) y equipos Cobas 201s Roche (E-BM) del laboratorio de Biología Molecular. Todas las muestras fueron obtenidas y procesadas de acuerdo a los estándares de bioseguridad correspondientes. Para el muestreo se utilizó cinta de papel e hisopos estériles. Se empleó el lado que contiene pegamento de las cintas para colectar los posibles microorganismos de las superficies de los sectores definidos y luego fueron colocadas en tubos *eppendorf* conteniendo fijador Karnovsky (Glutaraldehído 1,7 % y Paraformaldehído 2,7 % en Buffer fosfato) a pH 7,2 durante 24 h. De los mismos sitios en estudio se colectaron muestras empleando un hisopo estéril y a continuación se realizó la siembra en cajas de Petri estériles conteniendo medio rico Luria–Bertani (LB) sólido, (Triptona 1%, NaCL 1 %, Extracto de levadura 0,5 % y agar 1,5 %) a pH 7. Cada muestra fue sembrada en dos

placas, una de las cuales contenía cicloheximida (CH), que evita el crecimiento de hongos y la otra cicloheximida más ácido nalidixico (CH/NA) que inhibe el crecimiento tanto de hongos como de bacterias Gram negativas.
Estas muestras fueron procesadas de manera que permitan aislar microorganismos predominantes en cada uno de los sitios de muestreo como también para el estudio de las comunidades microbianas *in situ* mediante microscopía de alta resolución.

Cultivos bacterianos
Las muestras fueron colectadas desde las superficies de interés mediante un hisopo estéril y sembradas en placas de Petri estériles conteniendo medio LB pH 7.0. Cada muestreo se hizo por duplicado en placas conteniendo CH y CH/NA. Las placas fueron incubadas en estufa de cultivo a 30 ºC hasta que se observó crecimiento bacteriano. Una vez que obtenidas las colonias, cada fue repicada a una nueva placa con medio fresco LB, sólido a pH 7.0. Las placas fueron mantenidas por repiques sucesivos. Posteriormente a fin de preservar las cepas aisladas se conservaron en una solución de glicerol al 25 % a -20 ºC.

Microscopía Electrónica
Tanto para el estudio *in-situ* de microbiomas presentes en muestras recolectadas como de las cepas aisladas se utilizaron métodos de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) utilizando equipamiento y protocolos puestos a punto en el Centro de Investigaciones y Servicios de Microscopía Electrónica CISME UNT-CONICET (Albarracín et al., 2005; Albarracin et al., 2008; Albarracin et al., 2016; Bequer-Urbano et al., 2013; Farias et al., 2013; Toneatti et al., 2017).
Para el estudio de las colonias en el cultivo, de las placas con medio LB sólido se tomaron pequeños bloques de 5 mm de lado conteniendo las colonias de interés que fueron colocados en fijador Karnovsky. Por otro lado, para el análisis de la morfología de las bacterias aisladas se llevó a cabo la siembra en medio LB líquido (Triptona 1 %, NaCL 1 %, Extracto de levadura 0,5 %) a pH 7. Las muestras se dejaron crecer en agitación constante (180 r.p.m a 30ºC) durante 24 h (Biosan, Orbital Shaker-Incubator ES-20). A continuación, 10 mL de medio líquido de cada una de las cepas en estudio con una Densidad Óptica (DO) de 0,6 lo cual corresponde a la fase de crecimiento exponencial, fueron centrifugados a 3500 r.p.m durante 15 min. El *pellet* fue resuspendido en solución fisiológica estéril (NaCl 0,9 %) y centrifugado nuevamente a 3500 r.p.m durante 15 minutos. Se repitió el último paso y finalmente el pellet fue resuspendido en 1,5 mL de fijador Karnovsky. La fijación se realizó durante 24 h. Desde este punto, todas las muestras (cintas de papel, colonias aisladas en agar, bacterias crecidas en medio líquido) siguieron el mismo protocolo de procesamiento para su observación mediante MEB. Las muestras fueron deshidratadas por pasaje de las muestras en una batería de alcoholes de graduación creciente (30°, 50°, 70°, 90°,100°) de 10 min cada uno empleando una placa de multipocillos. En el caso de los fragmentos de agar y las muestras en medio líquido fueron colocados sobre cubreobejos redondos dispuestos dentro de los pocillos de las placas. Los fragmentos de cintas fueron colocados directamente dentro de los pocillos. Luego las muestras fueron retiradas y colocadas en gradillas de metal donde se realizaron dos pasajes sucesivos de 10 min cada uno en acetona 100 %. A continuación, se realizó el punto crítico de secado en equipo Denton Vacuum modelo DCP-1. El montaje de las muestras se efectuó sobre *stubs* de aluminio (soporte) que en su superficie tienen una cinta adhesiva conductora doble faz de carbón. Posteriormente, cada muestra fue recubierta con oro (*coating*) en un Ion Sputter Marca JEOL modelo JFC-1100. La observación se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido Marca Zeiss modelo SUPRA 55VP. Para la obtención de imágenes se empleó el modo de detección de electrones secundarios (SE2), a un voltaje de 3 kV. La Figura 1 esquematiza el procesamiento de las muestras para su observación mediante MEB.

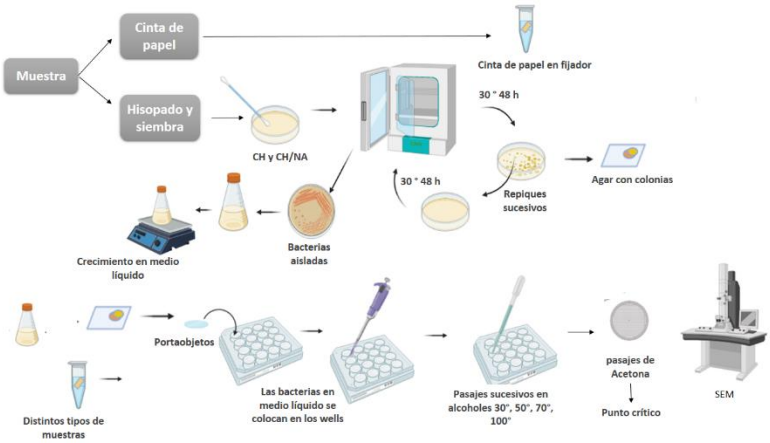


Figura 1 Esquema representativo mostrando el proceso llevado a cabo para el estudio de cepas aisladas y comunidades microbianas *in situ* mediante MEB.

RESULTADOS

Biofilms

El uso de la cinta de papel para el muestreo de superficies permitió obtener gran información sobre los microbiomas i*n situ*. El análisis de las mismas por MEB reveló la presencia de comunidades microbianas formadoras de *biofilms* en diversas superficies de los laboratorios del Banco de Sangre. Las mismas fueron obtenidas de la mesada de trabajo de Biología Molecular, de las paredes laterales internas de la centrífuga del laboratorio de Producción y del interior del agitador plaquetario del laboratorio de Distribución. Todos los *biofilms* detectados presentaron una organización arquitectónica compleja caracterizada por la disposición de los microorganismos en un arreglo tridimensional rodeados de abundante material extracelular. Los *biofilms* provenientes de la mesada de trabajo de Biología Molecular presentaron cocos de diversos tamaños dispuestos entre abundante material extracelular (figura 2). Los *biofilms* provenientes de la centrífuga mostraron una estructura tridimensional donde las bacterias se dispusieron en capas. Interesantemente, se distinguió la formación de estructuras filamentosas y tubulares (figura 3). Por otro lado, los *biofilms* obtenidos del agitador plaquetario de distribución se encontraron constituidos por un único tipo de bacterias con una morfología consistente con cocos, inmersas en abundante material extracelular (figura 4). Además de los *biofims*, el estudio de las cintas permitió identificar la presencia de microorganismos aislados o conformando pequeños grupos (figura 5). De los equipos de biología molecular se detectaron bacilos formando hileras. Del aire acondicionado de producción se obtuvieron cocos y coco-bacilos solos así como también bacilos en pequeños grupos.

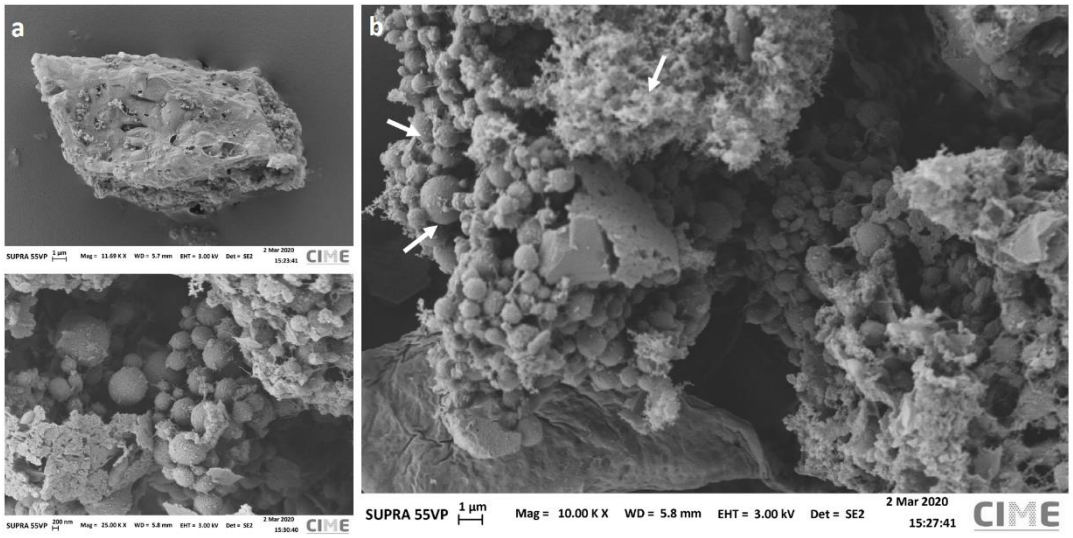


Figura 2 *Biofilms* detectados *in situ* en la mesada de trabajo del laboratorio de Biología Molecular. Flechas señalan los microorganismos de diferente morfología inmersos en material extracelular (b).

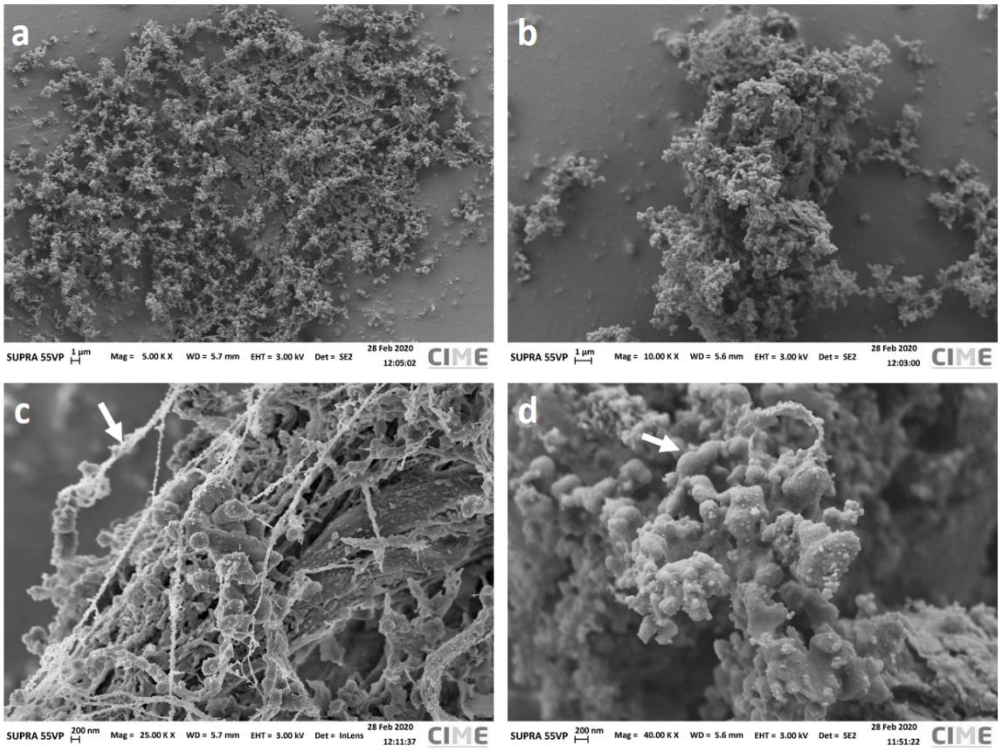


Figura 3 *Biofilms* detectados *in situ* en la centrífuga del laboratorio de Producción. Flechas señalan microorganismos inmersos en material extracelular (c y d).

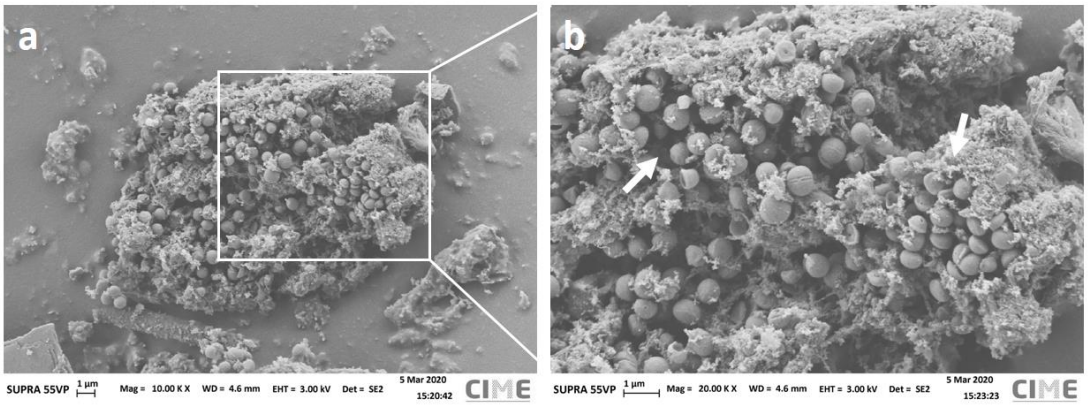


Figura 4 *Biofilms* detectados *in situ* en el agitador plaquetario del laboratorio de Distribución. b Micrografía a gran aumento correspondiente al recuadro en d. flechas señalan los microorganismos inmersos en material extracelular (b).

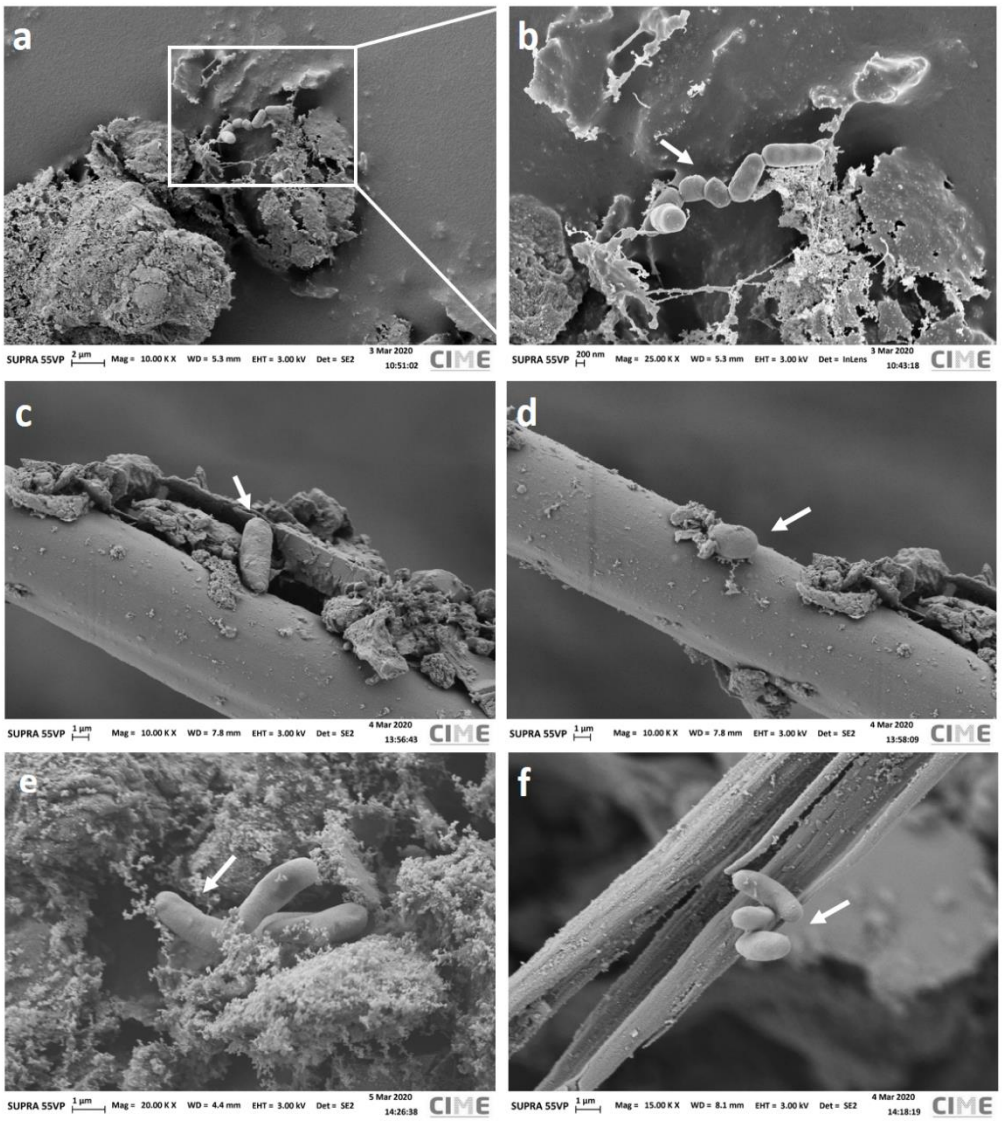


Figura 5 Microorganismos detectados *in situ.* En equipos del laboratorio de Biología Molecular (a y b) y del aire acondicionado de Producción (c-d).

Interacciones bacterianas

El análisis de los cultivos primarios permitió observar que algunas colonias establecían contactos estrechos entre ellas creciendo próximas una a la otra. La aplicación de MEB permitió analizar en detalle las características de la interacción en los puntos de contacto lo cual reveló un amplio espectro de relaciones entre las colonias. A partir de la mesada de reactivos de Biología Molecular fue posible aislar dos interacciones bacterianas, una a partir de placas con medio LB (CH) y otra a partir de placas con medio LB (CH/NA). La primera mostró cocos de diferente tamaño y el punto de contacto entre ambos donde se detectó una notable cantidad de material extracelular (figura 6). El estudio de la interacción obtenida de la placa CH/NA mostró que las bacterias interactuantes presentaban fenotipos claramente diferenciables; por un lado bacilos cortos y por otro bacilos largos. De modo interesante se evidenció que en el punto de contacto prevalecían bacterias con una forma distintiva y característica de huso, que no se corresponde con los fenotipos prevalentes en ambas colonias. Se observó además un incremento en el material extracelular (figura 7). Además se obtuvieron colonias interactuantes de placas con medio LB (CH) provenientes del aire acondicionado de Producción. El análisis a gran magnificación mostró que las bacterias interactuantes presentaban morfologías distintivas ya que se trataba de cocos y bacilos (figura 8). El punto de contacto pudo verse como un surco dentro del cual se disponen ambos tipos bacterianos inmersos en material extracelular.

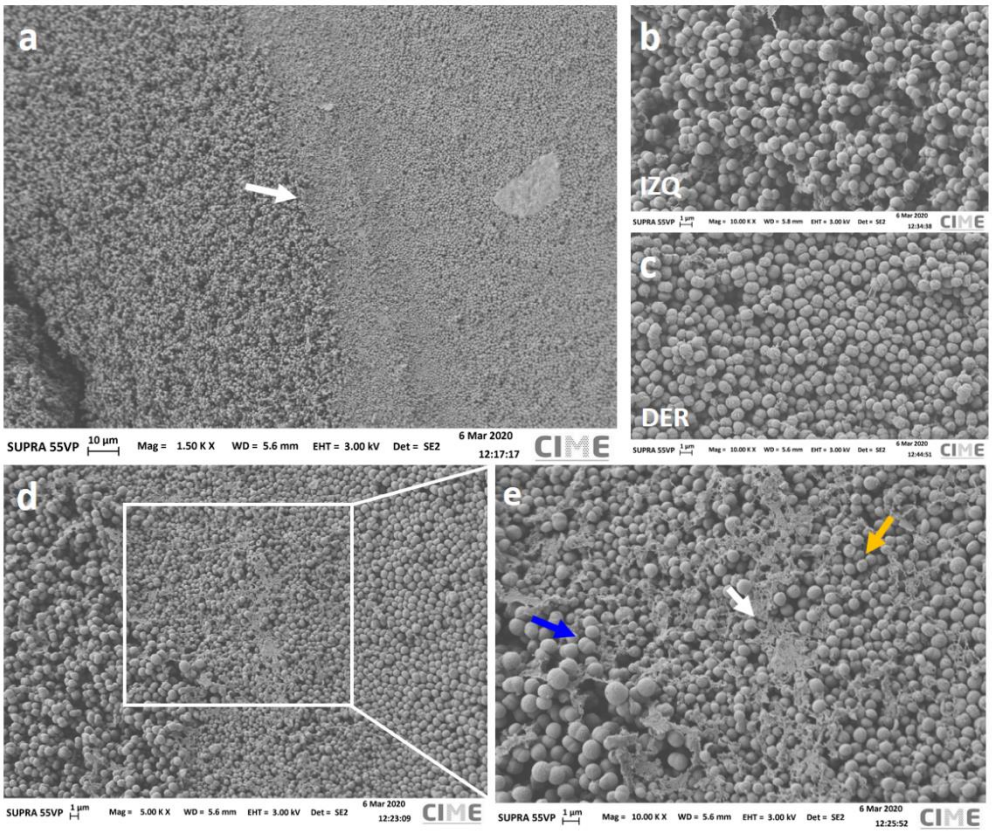


Figura 6 Interacción bacteriana obtenida de placas CH/NA de la mesada de reactivos de Biología Molecular. Flechas blancas señalan el sitio de contacto entre dos colonias (a y e) caracterizado por abundante material extracelular (e). Flecha azul, bacterias ubicadas a la izquierda (IZQ) (b); flecha amarilla bacterias a la derecha (DER) (c). e Micrografía a gran aumento correspondiente al recuadro en d.

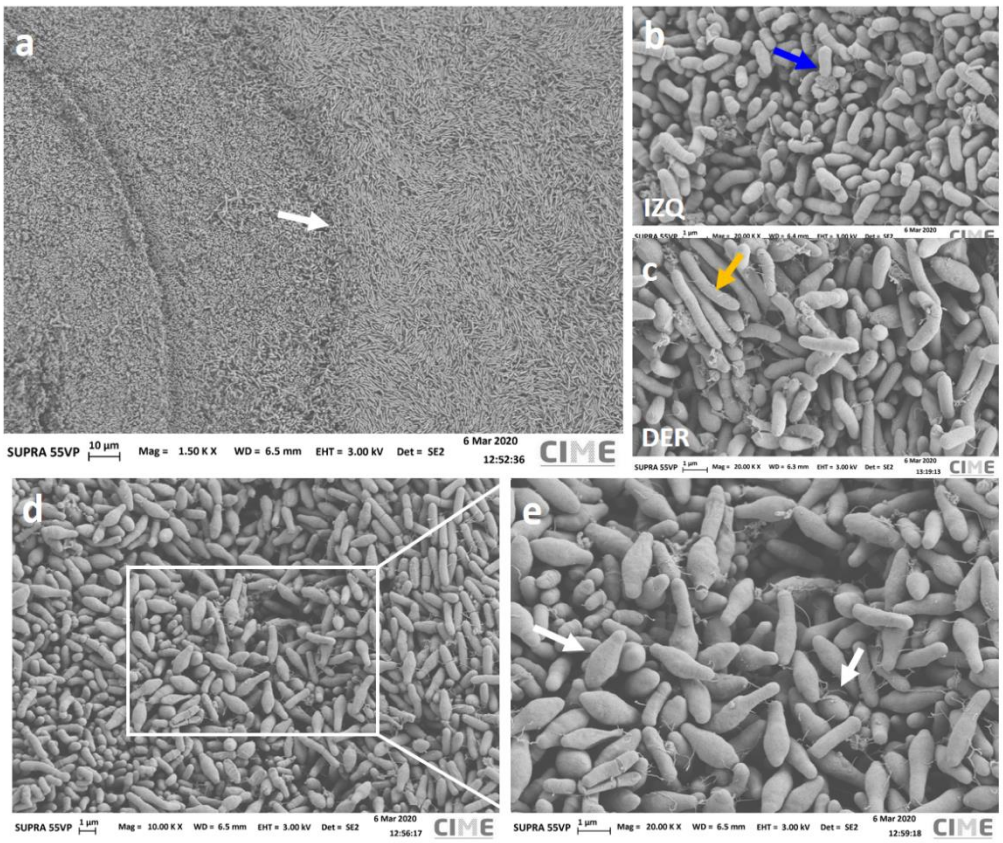


Figura 7 Interacción bacteriana en cultivos CH de la mesada de reactivos de Biología Molecular. Flechas blancas señalan el sitio de contacto entre dos colonias (a) con bacterias en forma de huso (e). Flecha azul, bacterias ubicadas a la izquierda (IZQ) (b); flecha amarilla bacterias a la derecha (DER) (c). e Micrografía a gran aumento correspondiente al recuadro en d.

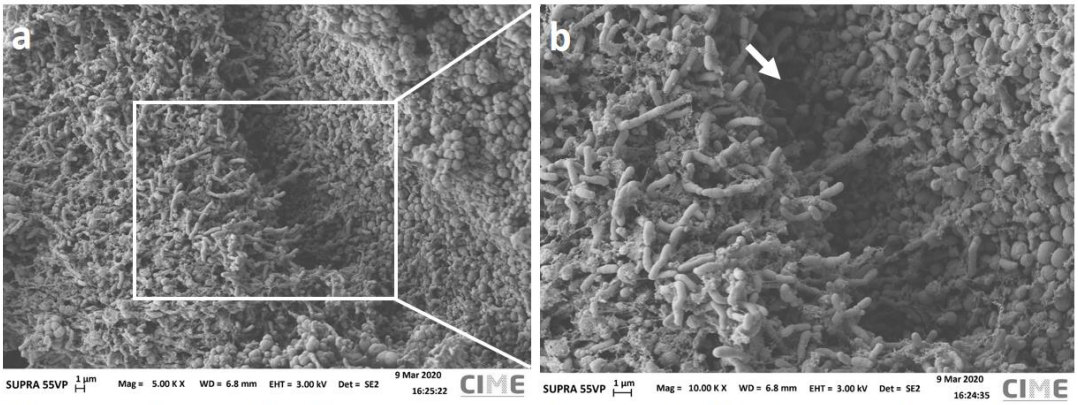


Figura 8 Interacción bacteriana en cultivos CH del aire acondicionado de Producción. Flecha señala el sitio de contacto entre dos colonias (b). b Micrografía a gran aumento correspondiente al recuadro en a.

Aislamiento de microorganismos predominantes

El muestreo de superficies permitió aislar un total de 45 colonias. 25 fueron aisladas del laboratorio de Biología Molecular, 15 del servicio de producción y 5 del servicio de Distribución (figura 9). La observación macroscópica de los cultivos reveló que los microorganismos predominantes exhiben una gran diversidad en cuanto a las características fenotípicas de las colonias obtenidas (tablas 1, 2 y 3).

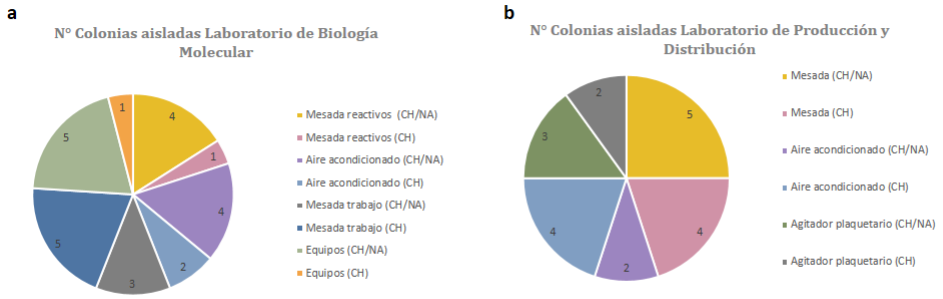


Figura 9 Gráficos indicando la cantidad de colonias aisladas a partir de cada sitio de muestreo.

Tabla 1. Caracterización fenotípica de las cepas aisladas del servicio de Biología Molecular.

Cepas aisladas Biología Molecular	Características macroscópicas	
	Color reverso	**Superficie y textura**
MR-BM1 CH/NA	Naranja intenso	Liso y mucoide
MR-BM2 CH/NA	Crema claro	Liso y mucoide
MR-BM3 CH/NA	Amarillo tenue	Opaco y húmedo
MR-BM4 CH/NA	Crema suave	Liso y mucoide
MR-BM1 CH	Marrón claro	Liso y mucoide
AA-BM1 CH/NA	Amarillo tenue	Opaco y húmedo
AA-BM2 CH/NA	Amarillo intenso	Liso y mucoide
AA-BM3 CH/NA	Crema claro	Opaco y húmedo
AA-BM4 CH/NA	Amarillo tenue	Liso y mucoide
AA-BM1 CH	Amarillo brillante	Liso y mucoide
AA-BM2 CH	Negro	Rugoso y seco
ME-BM1 CH/NA	Amarillo claro	Liso y mucoide
ME-BM2 CH/NA	Crema	Liso y mucoide
ME-BM3 CH/NA	Amarillo claro	Liso y mucoide
ME-BM1 CH	Beige claro	Liso y mucoide
ME-BM2 CH	Amarillo tenue	Liso y mucoide
ME-BM3 CH	Blanco	Rugoso y seco, polvoroso
ME-BM4 CH	Crema claro	Opaco y húmedo
ME-BM5 CH	Marrón claro	Frágil y viscoso
E-BM1 CH/NA	Marrón claro	Liso y mucoide
E-BM2 CH/NA	Crema	Liso y mucoide
E-BM3 CH/NA	Crema	Opaco y húmedo
E-BM4 CH/NA	Amarillo brillante	Liso y mucoide
E-BM 5 CH/NA	Beige translúcido	Liso y mucoide
E-BM1 CH	Crema	Liso y mucoide

Colonias obtenidas de la mesada de reactivos (MR-BM), mesadas de trabajo (ME-BM) aire acondicionado (AA-BM) y de los equipos (E-BM). CH (Cicloheximida). CH/NA (Cicloheximida/Acido Nalidíxico).

Tabla 2. Caracterización fenotípica de las cepas aisladas del servicio de Producción.

Cepas aisladas de Producción	**Características macroscópicas**	
	Color reverso	**Superficie y textura**
M-PRO1 CH/NA	Naranja claro	Liso y mucoide
M-PRO2 CH/NA	Naranja intenso	Liso y mucoide
M-PRO3 CH/NA	Blanca	Rugosa y seca
M-PRO4 CH/NA	Beige claro	opaco y húmedo
M-PRO5 CH/NA	Amarillo intenso	Liso y mucoide
M-PRO1 CH	Beige claro	Opaco y húmedo
M-PRO2 CH	Beige claro	Lisa y mucoide
M-PRO3 CH	Amarillo	Opaco y húmedo
M-PRO4 CH	Crema claro	Lisa y mucoide
AAC-PRO1 CH/NA	Crema	Opaco y húmedo
AAC-PRO2 CH/NA	Naranja intenso	Liso y mucoide
AAC-PRO1 CH	Amarillo claro	Liso y mucoide
AAC-PRO2 CH	Crema claro	Liso y mucoide
AAC-PRO3 CH	Naranja tenue	Liso y mucoide
AAC-PRO4 CH	Beige claro	Rugoso y seco

Colonias obtenidas a partir de la mesada (M-PRO) y del aire acondicionado, (AA-PRO). CH (Cicloheximida). CH/NA (Cicloheximida/Acido Nalidixico).

Tabla 3. Caracterización fenotípica de las cepas aisladas del servicio de Distribución.

Cepas aisladas de Distribución	**Características macroscópicas**	
	Color reverso	**Superficie y textura**
A-PLAQ-PRO1 CH/NA	Naranja claro	Opaco y Húmedo
A-PLAQ-PRO2 CH/NA	Amarillo tenue	Opaco y Húmedo
A-PLAQ-PRO 3CH/NA	Crema	Opaco y Húmedo
A-PLAQ-PRO1 CH	Beige	Liso y mucoide
A-PLAQ-PRO2 CH	Beige oscuro	Liso y mucoide

Colonias obtenidas a partir del agitador plaquetario de Distribución (A-PLAQ_PRO). CH (Cicloheximida). CH/NA (Cicloheximida/Acido Nalidixico).

Fenotipo bacteriano por MEB

El análisis mediante MEB de las bacterias luego de que crecieran en cultivo líquido reveló detalles de su fenotipo, morfología y comportamiento. Interesantemente, la observación por MEB mostró la asombrosa capacidad de las bacterias de formar agregados en el medio líquido estableciendo conexiones de diversa índole. Coco-bacilos provenientes de cultivos CH de la mesada de trabajo de Biología Molecular forman agregados caracterizados por aglomerados bacterianos en los cuales las células se unen entre ellas mediante la presencia de abundante material extracelular entre las bacterias (figura 10, b). A partir de cultivos CH provenientes de los equipos de Biología Molecular se aislaron bacterias con un fenotipo peculiar, bacilos cortos con extremos aplanados y superficie rugosa. Los mismos se agrupan mediante el establecimiento de estructuras tubulares que se extienden desde la superficie bacteriana y se disponen a modo de red estableciendo conexiones cortas entre bacterias proximales y también como filamentos largos entre bacterias alejadas (figura 10, a). Cocos provenientes de cultivos CH/NA obtenidos de los equipos de Biología Molecular se organizan en tétradas, donde diadas se conectan mediante estructuras filamentosas, unas células presentan la superficie lisa (figura 11, a) mientras que otras presentan numerosas estructuras filamentosas sobre su superficie. A su vez estas estructuras parecen implicadas en la conformación de agrupaciones mayores (figura 11, b). A partir de las mesadas de reactivos de Biología Molecular se observaron bacterias con morfología de coco-bacilos (figura 11, c) y cocos organizadas en tétradas y conectadas mediante filamentos muy finos, y coco-bacilos que también conformaron agregados (figura 11, d).

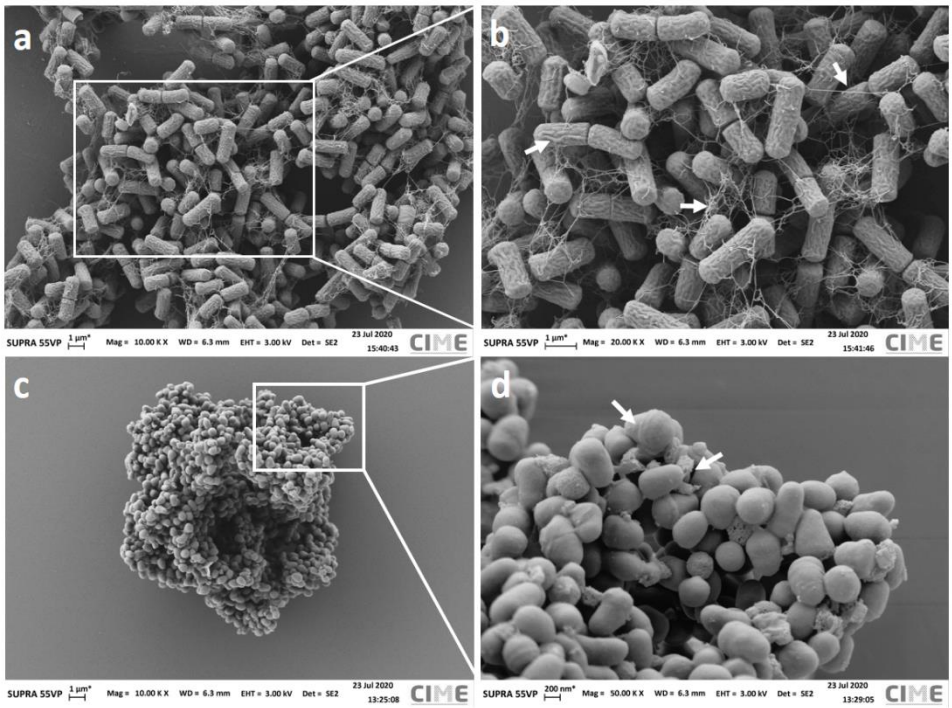


Figura 10 Agregados bacterianos de cultivos en medio líquido. Bacterias de los equipos (CH) (a y b) y de la mesada de trabajo (CH) (c y d) de Biología Molecular. b y d mayor magnificación correspondientes a los recuadros en a y c respectivamente. Flechas indican estructuras de conexión entre las bacterias.

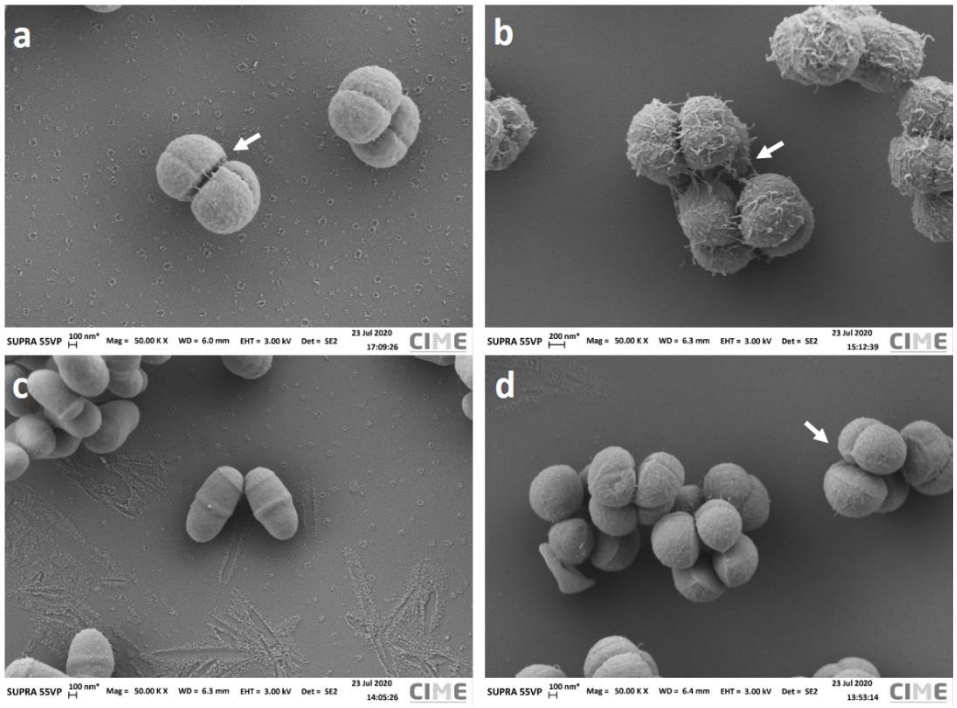


Figura 11 Morfología de bacterias a gran magnitud correspondientes a cultivos en medio líquido provenientes de los equipos de BM (CH/NA) (a y b) y de mesada de reactivos de BM (CH/NA) (c y d). Flechas indican estructuras de conexión entre las bacterias.

DISCUSIÓN

Diversos estudios han demostrado como microbiomas presentes en los centros médico-asistenciales y hospitalarios se encuentran relacionados directamente con el riesgo de contraer enfermedades infecciosas (Lax y Gilbert 2015). Además, existe un aumento en la tasa de mortalidad asociada a bacterias resistentes a los antibióticos (Benngtsson-Palme et al., 2007; Pal et al., 2016). Teniendo en cuenta estos conceptos, surge la necesidad de conocer y caracterizar los microbiomas de los sistemas de salud. El propósito de este trabajo fue analizar comunidades microbianas del Banco Central de Sangre de Tucumán mediante métodos de cultivo y aislamiento así como también mediante tecnologías de microscopía de alta resolución como MEB.

En la actualidad, la identificación y caracterización de microbiomas en el ámbito de la salud es un campo en constante crecimiento y expansión. Para ellos se aplican diversas estrategias de análisis en especial métodos moleculares como PCR *real time* (Caselli et al., 2016; Caselli et al., 2018; Davidson & Epperson, 2018; Caselli et al., 2019; D'Accolti et al., 2019) y más recientemente de secuenciación masiva (Comar et al., 2019). Por otro lado, los métodos de imágenes han permitido obtener información de las interacciones entre diferentes microorganismos tanto entre ellos como con el ambiente que los rodea (Zhang *et al*., 2019). Sin embargo, hasta el presente no existen estudios referidos a caracterización de microbiomas en el ámbito de la salud en nuestra provincia. Nuestro estudio se enfocó en analizar microbiomas de superficie *in situ*, mediante el empleo de cinta de papel y también a través del aislamiento de predominantes mediante hisopado y siembra y posterior cultivo.

Nuestro análisis por MEB permitió detectar la formación de estructuras de organización tridimensional complejas con microrganismos agrupados, dispuestos en capas e inmersos en un material extracelular consistente con *biofilms*. Los mismos se obtuvieron de superficies de la mesada de Biología Molecular, en la centrífuga de Producción y en el agitador magnético de Distribución. Los *biofilms* han sido descriptos como un tipo especial de microbioma organizado en capas (Vinh *et al*., 2005; Seth *et al*., 2012; Wimpenny. 2009), o como agregados de células bacterianas rodeados de matriz extracelular con diversos componentes (Sager et al., 2015). En cuanto a reportes de estas estructuras en el ámbito de la salud, se han detectado en superficies de terapia intensiva en hospitales de Brasil (Costa et al, 2019). Se han descripto además *biofilms* colonizando diversos dispositivos médicos (Talsma et al, 2007; Roberts et al.,

2013; Petrachi et al., 2017). Nuestro trabajo es el primero que describe la presencia de *biofilms* en áreas de la salud pública en nuestra provincia.

El hallazgo de *biofilms* en el laboratorio de Biología Molecular resulta interesante dado que sus superficies están sujetas a un exhaustivo proceso de limpieza diaria mediante el empleo de etanol al 70 %, hipoclorito de sodio 0,5 %, descontaminante de superficie DNA AWAY (Molecular BioProducts, Inc.), y detergente *neodisher MediClean* al 1-2 % (Chemische Fabrik Dr. Weigert, GmbH). Sin embargo se ha visto que las bacterias con capacidad de formar *biofilms* son sumamente difíciles de eliminar debido a una combinación del efecto mecánico de varias capas sumado a la capacidad de resistencia a los antibióticos (Percival *et al*., 2010); incluso pueden permanecer viables en las superficies luego del tratamiento con sustancias antimicrobianas (Hu *et al*., 2019). Esto podría explicar la obtención de microorganismos aislados o en pequeños grupos además de los *biofilms*.

El desarrollo de los *biofilms* es un proceso complejo, que se inicia con la adherencia de bacterias planctónicas a una superficie con la consiguiente formación de microcolonias (Donné y Dewilde, 2015). Se produce un incremento en la expresión génica de estructuras de adhesión celular entre ellas pilis que permiten una unión más fuerte. Luego las bacterias comienzan a proliferar y secretar una matriz extracelular compuesta de polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas (Billings et al., 2015; Santajit y Indrawattana, 2016). Nuestras micrografías de *biofilms* mediante MEB permiten observar el abundante material extracelular de los mismos dentro del cual se disponen las bacterias. La matriz extracelular crea una barrera de difusión física (Jefferson et al., 2005; Singh et al., 2010), que encapsula y protege a la comunidad bacteriana frente a la respuesta inmune del hospedador, dificulta o impide la acción antibiótica y otorga alta adherencia del microorganismo a una determinada superficie (Sager et al., 2015). De esta manera, microorganismos con habilidad para formar *biofilms* poseen resistencia a antibióticos (Høiby et al., 2010; Hall y Mah, 2017; Zheng et al., 2018). Además estas estructuras ofrecen protección de las agresiones fisicoquímicas, metales pesados, acidez del medio, cambios de hidratación y salinidad, fagocitosis y luz ultravioleta (Jayaraman y Wood, 2008; Lebeaux et al., 2008.). En el laboratorio de Biología Molecular, además de la desinfección de las superficies se emplea luz ultravioleta (UV) a fin de complementar la limpieza del ambiente ya que garantiza la destrucción rápida y eficiente del ADN de los microorganismos mediante un proceso físico. La formación de *biofilms* en este laboratorio podría estar relacionada con la capacidad de supervivencia bajo estas condiciones. Además mediante la aplicación de MEB observamos que bacterias que crecieron en medio líquido provenientes de los equipos y de las mesadas de Biología Molecular eran capaces de formar agregados entre ellas. En este tipo de organización, las bacterias establecieron conexiones entre ellas mediante estructuras filamentosas. Estas asociaciones podrían explicar la unión en estructuras tridimensionales. Estructuras similares han sido descriptas y caracterizadas como nanotubos. Las primeras investigaciones fueron llevadas a cabo por Dubey et al 2011, y posteriormente se han dilucidado aspectos inherentes a su arquitectura y función (Dubey et al., 2016; Baidya et al., 2018). Observamos que una de las bacterias aisladas de los equipos de BM (EBM1CH) forma estructuras tubulares que se extienden a modo de red entre las células, consiste en estructuras cortas que conectan bacterias cercanas y otras largas que conectan estructuras más alejadas. Además estas estructuras conectan a las bacterias al soporte sobre el que se realiza el estudio. La arquitectura y organización de estas estructuras permiten sugerir que puedan tratarse de nanotubos.

La microscopía electrónica ha permitido establecer la estructura y diversidad de la gran biodiversidad de taxones en los microbiomas permitiendo detectar interacciones entre diversos miembros de las comunidades (Farias *et al*., 2013; Toneatti *et al*., 2017). La observación macroscópica de los cultivos, permitió observar que algunas colonias crecían muy próximas a otras. Con el propósito de indagar sobre estas interacciones se analizaron por MEB. Fue posible detectar particularidades en los puntos de contacto caracterizados por cambios en la morfología celular y grandes cantidades de matriz extracelular. Este incremento de matriz extracelular en los puntos de contacto podría responder a señalizaciones Quorum Senssing (QS). Mecanismo adoptado por comunidades bacterianas relacionado con la densidad de población, o por señales simples producidas por bacterias. Es utilizado en comunicaciones célula-célula o en señales producidas por bacterias en distintos estados de crecimiento lo que les permite regular la expresión génica independiente de la densidad celular. Por ejemplo *E. coli* produce indol en la fase estacionaria de crecimiento que actúa como una señal, capaz de modificar funciones celulares, tales como patogenicidad, movilidad, atenuar adherencia y cambios de la expresión génica (Jayamaran y Wood, 2008; LaSarre y Federle, 2013). Muchas de estas señales se generan como respuesta al estrés ambiental incluido el provocado por antibacterianos (Gill et al., 2015). El sistema QS está presente en bacterias de una misma especie o entre especies distintas y es regulado por diferentes señales químicas que son sintetizadas y secretadas por varias bacterias (Jayamaran y Wood, 2008; Que et al., 2013). El desarrollo de *biofilms* en respuesta a QS es un proceso íntimamente relacionado (Solano et al., 2014). E implica la síntesis de componentes de matriz extracelular (Tolker-Nielsen. 2015). Las interacciones observadas en el

cultivo y las estructuras observadas a partir de cultivos en cultivo podrían estar reflejando las relaciones establecidas en los *biofilms*.
La realización de este trabajo permitió detectar comunidades microbianas *in situ* presentes en un área referente a la salud humana como lo es el Banco de Sangre de la provincia de Tucumán. La aplicación de técnicas microscópicas avanzadas (MEB) ha permitido analizar la ultra estructura de los microbiomas. Fue posible poner en evidencia aspectos de la organización, relación y comportamiento de microorganismos lo cual constituye el primer paso para su caracterización así como para establecer su posible relación con enfermedades humanas. Los resultados presentados posicionan a la microscopía electrónica como una poderosa herramienta para el análisis de microbiomas en el ámbito de la salud y contribuye a fortalecer el conocimiento existente sobre ambientes poco explorados y al entendimiento de las interacciones microbianas, en ambientes relacionados a la salud humana.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad de San Pablo-T para los proyectos ISYCAV-841 e ISYCAV-842 que permitieron el desarrollo de este trabajo. Se agradece además a la Dra. Felicitas Agote, directora del Banco Central de Sangre “Dr. César Guerra”, (PRIS-SI.PRO.SA) y a la Dra. Graciela Lavado, Jefa de División del PRIS-SI.PRO.SA.
VHA es Investigadora del CONICET, MCD es Becaria Posdoctoral del CONICET, GSF es Becaria Doctoral del CONICET, ANN es Becaria Doctoral del CONICET, GM es responsable del Laboratorio de Biología Molecular del Banco Central de Sangre, LM es Técnico Profesional.
Las micrografías usadas en este trabajo fueron tomadas en el Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME), perteneciente a la Universidad Nacional de Tucumán (UNT) y al CCT, CONICET, Tucumán-Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

Albarracin, V.H., Amoroso, M.J., Abate, C. M., 2005. Isolation and characterization of indigenous copper resistant actinomycete strains. Chemie der Erde/ Geochemistry, 65 (1) 145-156.
Albarracín, V.H., Gärtner, W., Farias, M.E. 2016. Forged under the sun: life and art of extremophiles from Andean Lakes. Photochemistry and Photobiology. 92: 14-28.doi: 10.1111/php.12555.
Albarracin, V.H., Winik, B., Kothe, E., Amoroso, M.J., Abate, C.M. 2008. Copper bioaccumulation by the actinobacterium Amycolatopsis sp. AB0. Journal of Basic Microbiology, 48: 323-330.
Baidya AK, Bhattacharya S, Dubey GP, Mamou G, Ben-Yehuda S. 2018. Bacterial nanotubes: a conduit for intercellular molecular trade. Curr Opin Microbiol.42:1-6.
Bengtsson-Palme, J.; Larsson, D.G.J.; Kristiansson, E. 2017. Using metagenomic to investigate human and environmental resistomes. J. Antimicrob. Chemother. 72, 2690–2703.
Bequer Urbano, S., Albarracín, V.H., Ordoñez, O.F., Farias, M.E., Alvarez, H.A. 2013. Lipid storage in High-Altitude Andean Lakes extremophiles and its mobilization under stress conditions in Rhodococcus sp. A5, a UV-resistant actinobacterium. Extremophiles, 17: 217-227.
Billings N, Birjiniuk A, Samad TS, Doyle PS, Ribbeck K. 2015. Material properties of biofilms-a review of methods for understanding permeability and mechanics. Rep Prog Phys. 78(3):036601.
Bryers, J.D. 2008. Medical Biofilms. Biotechnol. Bioeng. 100, 1–18. 6.
Caselli, E.; Arnoldo, L.; Rognoni, C.; D’Accolti, M.; Soffritti, I.; Lanzoni, L.; Bisi, M.; Volta, A.; Tarricone, R.; Brusaferro, S.; et al. 2019. Impact of a probiotic-based hospital sanitation on antimicrobial resistance and HAI-associated antimicrobial consumption and costs: A multicenter study. Infect. Drug Resist. 12, 501–510.
Caselli, E.; Brusaferro, S.; Coccagna, M.; Arnoldo, L.; Berloco, F.; Antonioli, P.; Tarricone, R.; Pelissero, G.; Nola, S.; La Fauci, V.; et al. 2018. Reducing healthcare-associated infections incidence by a probiotic-based sanitation system: A multicentre, prospective, intervention study. PLoS ONE. 13, e0199616.
Caselli, E.; D’Accolti, M.; Vandini, A.; Lanzoni, L.; Camerada, M.T.; Coccagna, M.; Branchini, A.; Antonioli, P.; Balboni, P.G.; Di Luca, D.; et al. 2016. Impact of a Probiotic-Based Cleaning Intervention on the Microbiota Ecosystem of the Hospital Surfaces: Focus on the Resistome Remodulation. PLoS ONE. 11, e0148857.
Comar M; D'Accolti M; Cason C; Soffritti I; Campisciano G; Lanzoni L; Bisi M; Volta A; Mazzacane S; Caselli E. 2019 Introduction of NGS in Environmental Surveillance for Healthcare-Associated Infection Control. Microorganisms 16; 7(12):708.

Comeau AM, Harding T, Galand PE, Vincent WF, Lovejoy C. 2012. Vertical distribution of microbial communities in a perennially stratified Arctic lake with saline, anoxic bottom waters. Sci Rep. 2012; 2:604.
Costa DM; Johani K; Melo DS; Lopes LKO; Lopes Lima; Tipple AFV; Hu H; Vickery K. 2019. Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts. Lett Appl Microbiol. 68(4):269-276.
Cusumano CK, Hultgren SJ. 2009. Bacterial Adhesion—a sourse of alternate antibiotic targets. IDrugs. 12(11):699-705.
D'Accolti, M.; Soffritti, I.; Mazzacane, S.; Caselli, E. 2019. Fighting AMR in the Healthcare Environment: Microbiome-Based Sanitation Approaches and Monitoring Tools. Int. J. Mol. Sci. 20, 1535.
Davidson RM, Epperson LE. 2018. Microbiome Sequencing Methods for Studying Human Diseases. Methods Mol Biol. 1706:77-90.
Dickey SW, Cheung GYC, Otto M. 2017. Different drugs for bad drugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance. Nat Rev Drug Discov. 16(7):457-471.
Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Nat Rev Microbiol. 5(12):939-51.
Donné J; Dewilde S. 2015. The Challenging World of Biofilm Physiology. Adv Microb Physiol 67:235-92.
Dubey GP, Ben-Yehuda S. 2011. Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. Cell. 2011 Feb 18; 144(4):590-600.
Dubey GP, Malli Mohan GB, Dubrovsky A, Amen T, Tsipshtein S, Rouvinski A, Rosenberg A, Kaganovich D, Sherman E, Medalia O, Ben-Yehuda S. 2016. Architecture and Characteristics of Bacterial Nanotubes. Dev Cell. 2016 Feb 22; 36(4):453-61.
Fahimipour AK, Ben Mamaar S, McFarland AG, Blaustein RA, Chen J, Glawe AJ, Kline J, Green JL, et al. 2018. Antimicrobial Chemicals Associate with Microbial Function and Antibiotic Resistance Indoors. mSystems.11; 3(6).
Farias, M.E., et al., 2013. The discovery of stromatolites developing at 3570 m above sea level in a high-altitude volcanic lake Scompa, Argentinian Andes. PLoS ONE 8(1): e53497.
Ferri, M.; Ranucci, E.; Romagnoli, P.; Giaccone, V. 2017. Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 57, 2857–2876.
Gill EE; Franco OL; Hanckock RE. 2015. Antibiotic adjuvants: diverse strategies for controlling drug-resistant pathogens. Chem Biol Drug Des. 85(1):56-78. doi: 10.1111/cbdd.12478.
Gire, S.K., Goba, A., Andersen, K.G., Sealfon, R.S.G., Park, D.J., Kanneh, L., et al. 2014. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. Science (80-.). 345: 1369 LP-1372.
Hall CW; Mah TF.(2017. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS Microbiol Rev. 1; 41(3):276-301.
Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. Chem Biol. (10):R245-9.
Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. Chem Biol, 5(10): 245-249.
Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. 2010. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int J Antimicrob Agents. 35(4):322-32.
Hooper LV, Gordon JI. 2001. Commensal host-bacterial relationships in the gut. Science. 11; 292(5519):1115-8.
Hu, J., Ben Maamar, S., Glawe, A.J., Gottel, N., Gilbert, J.A., Hartmann, E.M. 2019. Impacts of indoor surface finishes on bacterial viability. Indoor Air. 29(4): 551-562.
Hugenholtz P, Tyson GW.(2008). Microbiology: metagenomics. Nature. 25; 455(7212):481-3.
Jayaraman A, Wood TK. (2008). Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. Annu Rev Biomed Eng. 10:145-67.
Jefferson KK, Goldmann DA, Pier GB. (2005). Use of confocal microscopy to analyze the rate of vancomycin penetration through Staphylococcus aureus biofilms. Antimicrob Agents Chemother. 49(6):2467-73.
King GM. 2014. Urban microbiomas and urban ecology: how do microbes in the built environment affect human sustainability in cities? J Microbiol. 52(9):721-8.
Knierim B, Luef B, Wilmes P, Webb RI, Auer M, Comolli LR, Banfield JF. (2012). Correlative microscopy for phylogenetic and ultraestructural characterization of microbial communities. Environ Microbiol Rep. 4(1):36-41.

Kozich JJ, Westcott SL, Baxter NT, Highlander SK, Schloss PD. 2013. Development of a dualindex sequencing strategy and curation pipeline for analyzing ampliconsequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. Appl Environ Microbiol. 79(17):5112-20.
Kurth, D., Belfiore, C., Gorriti, M., farias, M.E., Albarracín, V.H.* 2015. Genomic and proteomic evidences unravel the UV-resistome of the poly-extremophile Acinetobacter sp. Ver3. Front. Microbiol. 6: 328. doi: 10.3389/fmicb.2015.00328.
LaSarre B, Federle MJ. 2013. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. Microbiol Mol Biol Rev. 77(1):73-111.
Lax, S., Sangwan, N., Smith, D., Larsen, P., Handley, K.M., Richardson, M., et al. 2017. Bacterial colonization and succession in a newly opened hospital. Sci. Transl. Med. 9: eaah6500.
Lax, S.; Gilbert, J.A. 2015. Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections. Trends Mol. Med. 21, 427–432.
Marchesi JR, Ravel J. 2015. The vocabulary of microbioma research: a proposal. Microbiome. 30; 3:31.
Mardis ER. 2011. A decade's perspective on DNA sequencing technology. Nature. 470 (7333):198-203.
Nesme J, Achouak W, Agathos SN, Bailey M, Baldrian P, Brunel D, Frostegård Å, Heulin T, Jansson JK, et al. 2016. Back to the future of Soil Metagenomics. Front Microbiol. 10; 7:73.
O'Hara, N.B., Reed, H.J., Afshinnekoo, E., Harvin, D., Caplan, N., Rosen, G., et al. 2017. Metagenomic characterization of ambulances across the USA. Microbiome 5: 125.
O'Neill. 2014. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Antimicrob Resist. 1-22.
Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer C. 2012. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? Front Cell Infect Microbiol. 2:104.
Pal, C.; Bengtsson-Palme, J.; Kristiansson, E.; Larsson, D.G. 2016. The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes. Microbiome. 4, 54.
Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. 2019. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnol Adv. 37(1):177-192.
Percival SL, Thomas JG, Williams DW. 2010. Biofilms and bacterial imbalances in chronic wounds: anti-Koch. Int Wound J. 7(3):169-75.
Percival, S.L.; Thomas, J.G.; Williams, D.W. 2010. The World of Microbiology and Biofilmology. In Microbiology of Wounds; CRC Press: London, UK. 1–58.
Petrachi, T., Resca, E., Piccinno, M.S., Biagi, F., Strusi, V., Dominici, M., Veronesi, E. 2017. An Alternative Approach to Investigate Biofilm in Medical Devices: A Feasibility Study. Int. J. Environ. Res. Public Health. 14, 1587.
Que YA; Hazan R; Strobel B; Maura D; He J; Kesarwani M; Panopoulos P; Tsurumi A; Giddey M; Wilhelmy J; Mindrinos MN; Rahme LG. 2013. A quorum sensing small volatile molecule promotes antibiotic tolerance in bacteria. PLoS One. 8(12):e80140.
Rasuk. M.C., Ferrer, G.M., Kurth, D., Portero, L.R., Farias, M.E. And Albarracin, V.H. 2017. UV-resistant Actinobacteria from High-Altitude Andean Lakes: isolation, characterization and antagonistic activities. Photochem Photobiol 93: 865-880
Reid, G. Biofilms in infectious disease and on medical devices. Int. J. Antimicrob. Agents 1999, 11, 223–226.
Roberts CG. 2013. The role of biofilms in reprocessing medical devices. Am J Infect Control.41 (5 Suppl):S77-80.
Sager M; Benten P, Engelhardt E; Gougoula C; Benga L. 2015. Characterization of Biofilm Formation in [Pasteurella] pneumotropica and [Actinobacillus] muris Isolates of Mouse Origin. PLoS One. 2; 10 (10):e0138778.
Santajit S; Indrawattana N. 2016. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens Biomed Res Int. 6:2475067.
Seth, A.K.; Geringer, M.R.; Hong, S.J.; Leung, K.P.; Mustoe, T.A.; Galiano, R.D. 2017. In vivo modeling of biofilm-infected wounds: A review. J. Surg. Res. 2012, 178, 330–338. Int. J. Environ. Res. Public Health 2017, 14, 1587 7 of 7
Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. 2010. Enhanced production of exopolysaccharide matrix and biofilm by a menadione-auxotrophic Staphylococcus aureus small-colony variant. J Med Microbiol. 59(Pt 5):521-527.
Smith, D., Alverdy, J., An, G., Coleman, M., Garcia-houchins, S., Green, J., et al. 2013. The Hospital Microbiome Project : Meeting Report for the 1st Hospital Microbiome Project Workshop on sampling design and building science measurements, Chicago. Stand. Genomic Sci. 112–117.
Solano C, Echeverz M, Lasa I. 2014. Biofilm dispersion and quorum sensing. Curr Opin Microbiol. 96-104.

Sultana, S.T.; Babauta, J.T.; Beyenal, H. 2015. Electrochemical biofilm control: A review. Biofouling, 31, 745–758.
Talsma SS. 2007. Biofilms on medical devices. Home Healthc Nurse. 25(9):589-94.
Tolker-Nielsen T. (2015). Biofilm Development. Microbiol Spectr. 2015 Apr; 3(2): MB-0001-2014.
Toneatti, D. M., Albarracín, V. H., Flores, R., Polerecky, L., Farias, M.E. 2017. Stratified bacterial diversity along physico-chemical gradients in High-Altitude modern stromatolites. Frontiers in Microbiology, 8: 646.
Van Kleef, E.; Robotham, J.V.; Jit, M.; Deeny, S.R.; Edmunds,W.J. 2013. Modelling the transmission of healthcare associated infections: A systematic review. BMC Infect. Dis. 13, 294.
Vikram A, Lipus D, Bibby K. 2016. Metatranscriptome analysis of active microbial communities in produced water samples from the Macellus Shale. Microb Ecol.72 (3):571-81.
Vinh, D.C.; Embil, J.M. 2005. Device-related infections: A review. J. Long Term Eff. Med. Implants. 15, 467–488.
Wagner J, Coupland P, Browne HP, Lawley TD, Francis SC, Parkhill J. 2016. Evaluation of PacBio sequencing for full-length bacterial 16S rRNA gene classification. BMC Microbiol. 16(1):274.
Willmann, M., Bezdan, D., Zapata, L., Susak, H., Vogel, W., Schröppel, K., et al. 2015. Analysis of a long-term outbreak of XDR Pseudomonas aeruginosa: a molecular epidemiological study. J. Antimicrob. Chemother. 70: 1322–1330.
Wimpenny J. 2009. Microbial metropolis. Adv Microb Physiol. 2009;56:29-84.
Zannier, F., Portero, L. R., Ordoñez, O. F., Martinez, L. J., Farías, M. E., & Albarracin, V. H. 2019. Polyextremophilic Bacteria from High Altitude Andean Lakes: Arsenic Resistance Profiles and Biofilm Production. BioMed Research International.
Zhang P, Chen YP, Qiu JH, Dai YZ, Feng B. 2019. Imaging the Microprocesses in Biofilm Matrices. Trends Biotechnol. 37(2):214-226.
Zingg, W., Park, B.J., Storr, J., Ahmad, R., Tarrant, C., Castro-Sanchez, E., Perencevich, E., Widmer, A., Krause, et al. 2019. Technology for the prevention of antimicrobial resistance and healthcare-associated infections; 2017 Geneva IPC-Think Tank (Part 2). Antimicrob Resist Infect Control. 8:83.

BIODISEÑO

BIODESIGN

González, K[1]*; Martinez, S[1]; Simón, J[1]; Páez, B[1]; Bleckwedel, L[1]; Lobo, L[1]

[1]IDITEC Universidad de San Pablo-T
*kgonzalez@uspt.edu.ar

RESUMEN

El proyecto se enfoca en el uso de los conocimientos de la biología como herramienta para el diseño y la fabricación de materiales biodegradables, de bajo impacto ambiental, a través del procedimiento de cultivo de bacterias y algas para dar color y la utilización de materiales biodegradables. El planeta está colmado de elementos contaminantes, desde tintes contaminantes hasta desechos no degradables, etc la extensa profundidad del océano. y por ende toda la cadena trófica marina. Los microorganismos constituyen una excelente alternativa para reducir la contaminación del planeta es por esto que el proyecto tiene como objetivo principal la elaboración de materiales biodegradables de fácil accesibilidad a las bacterias. Como primera exploración en el campo de los biomateriales realizamos botones a base de almidón de maíz. En la exploración de materiales y productos se realizaron botones, con diferentes harinas y aglutinantes. Se determinó la formulación para la fabricación del bioplástico para el producto “botones y avíos”, evaluando posibles caminos para la sistematización de los procesos constructivos y diagramas de procesos conformativos y morfológicos.

SUMMARY

The project focuses on the use of knowledge of biology as a tool for the design and manufacture of biodegradable materials, with low environmental impact, through the cultivation of bacteria and algae to give color and the use of biodegradable materials. The planet is full of polluting elements, from polluting dyes to non-degradable waste, etc. the vast depth of the ocean. and therefore the entire marine food chain. Microorganisms are an excellent alternative to reduce pollution on the planet, which is why the project's main objective is the development of biodegradable materials that are easily accessible to bacteria. As a first exploration in the field of biomaterials we made buttons based on corn starch. In the exploration of materials and products, buttons were made, with different flours and binders. The formulation for the manufacture of bioplastic for the product "buttons and accoutrements" was determined, evaluating possible ways for the systematization of the construction processes and conformational and morphological process diagrams.

INTRODUCCIÓN

La biomimética es un recurso utilizado por el diseño industrial con el fin de imitar rasgos de la naturaleza para mejorar las prestaciones de un producto, como ser su rendimiento, vida útil, flexibilidad, resistencia, sostenibilidad, etc.
Otro recurso para abordar el diseño desde la biología es el biodiseño, o diseño biológico, que surge de la aplicación de la biotecnología a las manufacturas. Las posibilidades son innumerables, como la propia riqueza de la naturaleza.
Los bioplásticos constituyen una amplia familia de materiales plásticos derivados de materias primas renovables y/o biodegradables. Se trata de polímeros que provienen de fuentes naturales y renovables. La mayoría presenta una mejor biocompatibilidad respecto de los plásticos derivados del petróleo, y todos son biodegradables por microorganismos como bacterias, hongos, algas.

Es fundamental, la búsqueda de nuevas alternativas de uso y producción de objetos, que pongan en evidencia las cualidades y potencien las características de los mismos, tanto a nivel morfológico como de terminación superficial, para de esta manera promover la generación de más valor agregado en los productos comercializados, tanto en los rubros tradicionales como en aquellos enmarcados en el negocio del diseño y la moda. Descubrir, explorar y valorar estas cualidades simbólicas, biológicas y ancestrales es lo que permitirá repensar e investigar más allá de lo exclusivamente matérico y tecnológico a través del biodiseño.

Propuesta de desarrollo para la metodología de la obtención del producto

A partir de la experimentación en el laboratorio de la fórmula para la fabricación del bioplástico adecuado para nuestro producto “botones y avios (Viollaz,2017)” estudiamos posibles caminos a seguir para la elaboración del producto de diseño.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó dentro de las instalaciones del laboratorio de Química de la Universidad de San Pablo donde para poder realizar el bioplástico y moldear a partir de almidón de maíz se utilizaron los siguientes reactivos:

- ✓ Almidón de maíz 200 gr
- ✓ Glicerina 100 ml
- ✓ Ácido acético 100ml
- ✓ Agua destilada 100 ml
- ✓ Tiempo de cocción 10 minutos

Figura Nº1 Materiales

Figura Nº 2 Cocción de la masa

Una vez cocinada la masa se procedió al estirado de la misma y al moldeado . Se los colocó en placas enlozadas donde se procedió al secado . El tiempo empleado para el mismo fue de 48 hs, se realizó a temperatura ambiente cuyos valores oscilaban entre 30 a 33 °C.

Fig.Nº3 Masa cocida

Fig.Nº4 Botones Terminados

Se optó por un proceso de secado natural ya que en experiencias anteriores realizadas en hornos eléctricos se produjo una evaporación abrupta del agua provocando elevada contracción y agrietamiento.

Los botones fabricados no contienen aún ningún pigmento, pero dentro del proyecto se realizarán ensayos tanto con pigmentos de origen natural como con harinas alternativas no convencionales, que además de color puedan aportarnos mejores propiedades. dichos ensayos se encuentran retrasados debido a la pandemia del covid-19.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Además de documentar los resultados percibidos, la primera experiencia en la confección de botones con bioplásticos nos permitió definir los pasos a seguir en el proyecto y proyectar un proceso productivo futuro, con las posibles problemáticas y resultados que podríamos encontrarnos en cada etapa.

La experiencia realizada con el material nos permitió realizar las siguientes observaciones:

- Facilidad de producción: El material resultante es bastante fácil de trabajar, cortar y modelar.
- Contracción: Al secarse y volverse rígida, la pieza se contrae entre un 10 y 20%, en algunos casos no de manera uniforme. Este fenómeno genera más complicaciones en piezas volumétricas que en piezas planas.
- Agrietamiento: Presente en menor medida previo al proceso de secado y en mayor medida posterior al mismo.
- Olor: El olor a vinagre seguía presente en las piezas aún después de secas.
- Fragilidad: El material es bastante frágil y quebradizo. Debería mejorarse la rigidez para las aplicaciones contempladas en el proyecto.
- Dureza: Aceptable para el uso previsto una vez seco.
- Resistencia al lavado: El material no responde bien al lavado normal en lavarropas con jabón en polvo. El material absorbe demasiada humedad y se desarma.

En base a estas observaciones concluimos como pasos a seguir:

- Diseñar un proceso de producción que no solo mejore y estandarice los resultados, sino que optimice el tiempo y energía de quien lo produce.
- Probar moldes donde el material sea comprimido para lograr mejores terminaciones.

- Rever el proceso de secado de las piezas y el modo de disminuir la diferencia de tamaño y el agrietamiento.
- Encontrar el balance ideal entre temperatura, humedad y tiempo de secado.
- Explorar la posibilidad de secar las piezas en el molde para reducir deformaciones.
- Probar con aditivos para mejorar las propiedades del material y disminuir los efectos negativos observados (agrietamiento, olores, fragilidad, contracción) y lograr otros efectos deseados como variedad de colores y terminaciones superficiales.
- Sistematizar las pruebas realizadas a las piezas para mejorar tanto el material como el sistema productivo.

Proceso productivo propuesto, con posibles resultados y comprobaciones a realizar.

1. Preparación del Material

- Adición de componentes de acuerdo a la fórmula.

Se probarán diferentes proporciones de agua y glicerina buscando lograr rigidez sin agrietamiento.

- Integración de los componentes mediante mezclado mecánico y calor.
- Uniformización del material mediante calandrado: Se fuerza el material en estado viscoso a través de rodillos para homogeneizar la mezcla y reducir grumos. El calor y la presión a la que es sometida la mezcla genera la desestructuración del almidón logrando una mezcla termoplástica más uniforme.
- Extrusión, corte y fraccionamiento del material en "preformas": Sistematizar la generación de preformas con la cantidad de material

2. Moldeado de piezas. Proceso de moldeo por compresión de plásticos. Tomaremos este proceso como punto de partida para adaptarlo a nuestro material y exigencias.

- Colocación de preformas en el molde.

Pensamos en un molde múltiple de 50 x 70 cm donde se prensan hasta 50 piezas a la vez, a comprobarse principalmente por la viabilidad funcional y técnica.

- Presión entre molde y contramolde para forzar el material a tomar la forma deseada.

Buscaremos diferentes opciones para el prensado de las piezas una vez definida la presión necesaria mediante cálculos y ensayos. Apuntamos a implementar una prensa manual mediante palancas.

- Cortar excedente de material. Dejar estabilizar la pieza en el molde unos minutos hasta que alcance la temperatura ambiente.

Mediante pruebas determinaremos la necesidad y el tiempo de este paso. Entendemos que cada minuto de secado en molde, inutiliza el molde para seguir produciendo.

- Desmoldar sobre bandeja y pasar al proceso de secado.

El molde debe optimizar el desmolde de la pieza sin que esta se deforme. Posible sistema de eyectores.

3. Secado

Secar en ambiente controlado por 24/48 hs.

Mediante pruebas buscaremos el balance ideal entre Temperatura, Humedad y Tiempo de Secado. Se proyectará un habitáculo, acorde al nivel de producción, que nos permita controlar estas 3 variables.

4. Mecanizado

Mecanizar agujeros y detalles, pulido y lijado.

Pruebas realizadas sugieren una maquinabilidad apropiada para las necesidades. Se buscará sistematizar el proceso.

5. Tratamiento Superficial

Aplicación de laca o barniz al agua biodegradable. Secado 24hs.

Búsqueda de recubrimiento que no incremente la huella de carbono del producto.

DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS COMO TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN

Dehydration of fruits and vegetables as conservation technique

González K.[1*], Heredia C.[1], Rivero A.[1]

[1]IDITEC Universidad de San Pablo Tucumán

*kgonzalez@uspt.edu.ar

RESUMEN

La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más antiguos utilizados a través de la historia de la humanidad. Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil. Antiguamente, frutas, granos, vegetales, carnes y pescados, se secaban al sol para tener alimentos en épocas de escasez. Técnicamente podríamos decir más claramente que el **deshidratado** es la reducción de la cantidad de agua del alimento aplicando el **calor artificial** (aire previamente calentado, superficies calientes, etc.). En cambio, el desecado es la reducción de la cantidad de agua mediante el tratamiento del alimento en **condiciones ambientales** (sol, viento, etc.), es decir, de manera natural o artesanal.

En la primera parte del proyecto se utilizó un deshidratador perteneciente a la Fundación Banco de Alimentos. En la segunda parte, con el financiamiento de la Universidad de San Pablo-T, se adquirió un horno eléctrico por convección.

El objetivo de este trabajo fue realizar deshidratados con el horno eléctrico y comparar la eficiencia del proceso con respecto a los deshidratadores tradicionales.

En esta oportunidad se realizó el deshidratado de Tomates ***(Solanum lycopersicum)***, sin tratamiento previo. Se evaluaron las características organolépticas de los mismos y se realizó la prueba de los 7 días luego del deshidratado obteniendo buenos resultados. Dado que el horno tiene características de calor por convección con una temperatura mínima de 100 °C, y la desnaturalización de las proteínas se realiza a temperaturas superiores a 70 °C, se mantuvo la puerta semiabierta del horno hasta lograr disminuir la temperatura de en un rango de 65°C a 70 °C. Se pudo observar en este primer ensayo una marcada reducción del tiempo de deshidratación en este fruto respecto al realizado en una deshidratadora tradicional. Debido a la pandemia de Covid-19 no se pudo continuar con otros frutos momentáneamente.

PALABRAS CLAVES: deshidratado, desecado, alimentos deshidratados, horno

SUMMARY

Dehydration and desiccation are the oldest preservation methods used throughout human history. Dehydrated and / or dried foods are those fresh foods from which the water has been extracted by artificial or natural methods in order to reduce the risk of contamination and increase the shelf life. Formerly, fruits, grains, vegetables, meats and fish were dried in the sun to have food in times of scarcity. Technically we could say more clearly that dehydration is the reduction of the amount of water in the food by applying artificial heat (previously heated air, hot surfaces, etc.). On the other hand, drying is the reduction of the amount of water by treating the food in environmental conditions (sun, wind, etc.), that is, in a natural or traditional way.

In the first part of the project, a dehydrator belonging to the Bank of Food Foundation was used, in the second part, with financing from the University of San Pablo-T, an electric convection oven was purchased.

The objective of this work was to carry out dehydration with the electric oven and to compare the efficiency of the process with respect to traditional dehydrators.

On this occasion, the dehydration of Tomatoes ***(Solanum lycopersicum)*** was carried out, without previous treatment, the organoleptic characteristics of the same were evaluated, the test of 7 days after dehydration was carried out giving good results. The oven has characteristics of heat by convection with a minimum temperature of 100 ° C, Denaturation of proteins is carried out at temperatures above 70 ° C to avoid this phenomenon, the oven door was kept semi-open until the temperature was reduced within a range 65 ° C to 70 ° C. Due to the CoVid 19 pandemic, I cannot continue with other fruits momentarily. A marked reduction in dehydration time was observed in this first trial in this fruit.

KEYWORDS: dehydrated, desiccated, dehydrated food, oven

INTRODUCCIÓN

Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil.

El objetivo de este trabajo fue utilizar un horno eléctrico adquirido con el financiamiento de la Universidad de San Pablo-T y comparar la eficiencia del proceso de deshidratado entre dicho horno con respecto a los deshidratadores convencionales, entendiendo por tal, el tiempo requerido para lograr el proceso de deshidratación de los frutos.

La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más utilizados a través de la historia de la humanidad. Estos tienen ciertas ventajas:

- Su principal ventaja es aumentar la vida útil.
- Reducen el peso y el volumen de los alimentos, por lo cual el espacio de almacenamiento es menor lo que optimiza el transporte y la distribución.
- No se requieren instalaciones especiales para el almacenamiento posterior.
- Añaden valor agregado al alimento utilizado.
- Evitan el desperdicio de alimentos. En el caso de algún fruto de maduración rápida es una buena técnica para su almacenamiento
- Los alimentos deshidratados son de fácil preparación y ahorran tiempo y energía.

Desventajas de la deshidratación y el desecado:

- Pérdida de vitaminas hidrosolubles (como la vitamina C) es decir aquellas que sean solubles en agua

MATERIALES Y MÉTODOS

Para poder comenzar el proceso de deshidratado lo primero que se debe hacer es una selección de la materia prima, es decir, descartar aquellos frutos que no estén en buen estado. Luego de la selección se realiza el lavado con abundante agua. Si bien en algunos casos se realiza el escaldado o sulfitacion de los frutos en esta oportunidad no se realizó.

Todo este procedimiento se realizó según las buenas prácticas de manufactura (BPM) (CAA,Cap IV).

Para realizar el trabajo se pesaron 3,025 kg de tomates, posteriormente se cortaron en rodajas de 0,5 mm aproximadamente, se las dividió en tres grupos de bandejas que se deshidrataron en diferentes días. En las bandejas se colocaron papel manteca y se procedió al deshidratado en el horno eléctrico ***Standard electric***

Fig.N°1 ***Solanum Lycopersicum***

Tabla N°1-verduras deshidratadas

Verduras	Corte (medida mm)	Temperatura °C Horno eléctrico	Tiempo (horas) horno eléctrico	Tiempo (horas deshidratadora Parte I)	Temperatura °C Deshidratadora
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**65**	**6**	**16**	**65**
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**60**	**6**	**18**	**60**
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**70**	**6**	**16**	**70**

Muchos alimentos poseen una capa de piel que impide eliminar la humedad de su interior formando una costra. El tomate es uno de ellos, es por esto que el aumento de temperatura se realizó de forma paulatina. El deshidratado propiamente dicho se produce en este paso, colocando las rodajas de tomate en parrillas sobre papel manteca a una temperatura de 65ºC a 70 º C en un intervalo de tiempo de 6 horas, . El papel manteca facilita mucho el despegue de las rodajas evitando las ruptura de los mismos así como también absorbe el agua del fruto. Es muy importante que los bordes de las rodajas una vez colocadas en las bandejas no tengan contacto entre sí para evitar que se peguen.

Luego de deshidratar los 3,025 kg de tomate se obtuvieron 213 gr, por lo tanto se puede estimar que un 93% es agua. Este fruto es uno de los que mayor contenido de agua tiene, es por eso que se seleccionó para este proyecto como primer ensayo.

Fig.N°2 Tomate deshidratado-0,5mm

Fig.N°3 Tomates deshidratados

Envasado y almacenamiento

Los alimentos una vez deshidratados tienen que pasar por un periodo de supervisión importante ya que de esto depende la vida útil de los mismos. En primer lugar, antes de su envasado se los debe dejar enfriar. Nunca se deben envasar en caliente. En segundo lugar se deben seleccionar los alimentos en condiciones aceptables.

Las bolsas deben ser de plásticos resistentes, permitidas por el CAA (Código Alimentario Argentino) selladas al vacío. Antes del envasado se realizó la prueba de los 7 días, que consiste en colocar los frutos

deshidratados en un frasco de vidrio tapado. Se debe remover de vez en cuando y observar si se forman gotas de agua condensada en el frasco, de ser así se debe repetir la deshidratación. En el caso de los tomates utilizados en este proyecto no se formaron gotas de agua condensada por lo tanto no se los volvió a deshidratar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

El deshidratado de frutas y verduras permite disminuir el desperdicio de alimentos, ayuda en muchos casos a disminuir las pérdidas económicas de los productores de frutas y verduras, nos facilita el transporte, el almacenamiento y alarga el tiempo de vida útil.

Fig.N°4 Horno eléctrico por convección

Como se puede observar en los resultados obtenidos en la tabla Nº1 se utilizó una temperatura máxima de 70 ºC, ya que cuando se supera esta temperatura se produce la desnaturalización de las proteínas quitándole valor nutritivo al alimento.

El tiempo de deshidratado en este tipo de hornos eléctrico fue solo de 6 horas, comparado con el de los deshidratadores convencionales donde los tiempos son superiores a las 12 horas . Esta disminución del tiempo se observó en los tres ensayos. Es importante mencionar que el tomate empleado para la deshidratación es uno de los que mayor contenido de agua contiene. Otras variedades como la Roma que son más carnosas (mesocarpo más grande) y con menos contenido de agua y es probable que requieran menos tiempo para alcanzar la deshidratación.

De acuerdo a lo expresado en la tabla se puede concluir que a mayor temperatura, menor tiempo de deshidratado . Las temperaturas -como se indica en la última columna- fueron las mismas en ambos artefactos

Esta diferencia puede ser debido a la eficacia del horno, ya que cuenta con tres ventiladores: uno en la parte superior y dos en los laterales.

De los 3,025 Kg se obtuvieron 213 gr lo que implica que aproximadamente el 93% es agua. La visualización debe ser constante lo que implica un control de los frutos para tratar de evitar la formación de costras, ya que estas impiden la entrada de calor y por ende un mal deshidratado ocasionando en algunos casos quemaduras de los frutos, lo que implica pérdidas significativas.

Se utilizó papel manteca sobre bandejas de lozas para facilitar el desmoldado .Se pudo observar que los tiempos de deshidratado fueron mucho más rápidos que mediante la utilización del deshidratador convencional. Se debe recordar que en los hornos no siempre la temperatura es homogénea en todos los puntos, es por esto que se recomienda girar las bandejas, ya que los frutos que se encuentran en las cercanías de la puerta no reciben la misma temperatura.

Los hornos por convección tienen uno o varios ventiladores en los laterales o en el fondo del mismo, lo que reduce la temperatura de cocción mucho más que el horno tradicional. Sin embargo, éstos consumen mucha más energía y por lo general las piezas tienen menos vida útil que las de los deshidratadores convencionales y el horno a gas, En cuanto al costo son mucho más accesibles, pero con menos capacidad (litros) para deshidratar. También se debe mencionar que el trabajo requiere de más ensayos con diferentes frutas y verduras para poder tener unas conclusiones más amplias en relación a las posibles ventajas de la utilización del horno eléctrico.

BIBLIOGRAFÍA

http://www.anmat.gov.ar/webanmat/normativas_alimentos.asp

J.J. Water-man (1975) Relevamiento de secaderos solares agrícolas. Brace Research Institute. Canadá.

Maldonado F.(2009) Effect of temperature and pretreatment on water diffusion during rehydration of dehydrated mangoes-Journal of foods engineering

Michelis, A. (2012) Deshidratación y secado de frutas, verduras y hongos - Comunicación Tencia Nº 84 Área de Desarrollo Rural ISSN 1667-4014

T. Vázquez y otros, (1997).Energética y FAKT-Manual de Secado Solar Técnico de Alimentos. Cochabamba, Bolivia,
https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_secado.pdf
http://supercampo.perfil.com/2016/06/como-en-el-espacio-fruta-y-verdura-deshidratadas-ahora-son-snacks/

FERMENTACIÓN DE HARINAS DE LEGUMBRES CON BACTERIAS LÁCTICAS: ALTERNATIVA DE PROCESAMIENTO PARA POTENCIAR SUS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES Y TECNOFUNCIONALES

FERMENTATION OF LEGUME FLOURS BY LACTIC ACID BACTERIA: PROCESSING STRATEGY FOR IMPROVING THEIR NUTIRTIONAL AND TECHNOFUNCTIONAL PROPERTIES

Zárate G.[1, 2]* **y** Sáez G.[1]

[1]*Universidad de San Pablo-Tucumán, Av. Solano Vera y Camino a Villa Nougués, San Pablo.* [2]*CERELA-CONICET, Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Argentina.*

RESUMEN

La incorporación de legumbres en nuestra dieta es de gran importancia debido al aporte significativo de nutrientes que proveen estos alimentos. Las mismas constituyen una fuente de proteínas de alto valor biológico, carbohidratos complejos, fibras, lípidos insaturados, vitaminas (principalmente B y E) y minerales (calcio, potasio, magnesio, fosforo y hierro). Además contienen diferentes fitoquímicos como péptidos bioactivos y polifenoles que les confieren propiedades funcionales. Estas características atraen tanto a consumidores que buscan obtener una dieta saludable, como a pacientes con patologías tales como enfermedad celíaca, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, y síndrome metabólico, entre otras. Una alternativa para el consumo de legumbres es la elaboración de alimentos a partir de las harinas obtenidas de su molienda, aunque éstas deben ser mejoradas o suplementadas para obtener propiedades reológicas y sensoriales aptas para la manufactura y el consumo de alimentos procesados. Asimismo, se deben disminuir o eliminar ciertos compuestos antinutricionales (FAN) como fitatos, taninos, inhibidores de proteasas, alfa-amilasa y lectinas, que limitan el aprovechamiento de los nutrientes. Para ello, la industria ha adoptado distintos métodos de procesamiento que permiten mejorar la calidad nutricional de las legumbres. Entre ellos, la fermentación de las harinas representa una alternativa atractiva por cuanto el metabolismo de los microorganismos impacta positivamente en las características nutricionales y sensoriales del producto final. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de bacterias lácticas (BAL) aisladas de legumbres del NOA y seleccionadas por sus propiedades tecnológicas, para fermentar harinas de poroto y garbanzo, mejorando las características tecnológicas y nutricionales de estas materias primas. *Lactobacillus plantarum* CRL 2211 y *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 fueron usadas en forma conjunta en una fermentación en sustrato semisólido (FSS) durante 24 h a 37°C y se determinó el contenido de inhibidores de tripsina, taninos, compuestos polifenólicos totales, y población microbiana láctica y fúngica, como también propiedades tecnofuncionales tales como capacidad de absorción de agua y aceite, actividad emulsificante y gelificante. La eficiencia del método fue comparada con otros procesamientos convencionales. La fermentación con BAL produjo cambios significativos con respecto a las harinas sin fermentar y fermentadas espontáneamente, como el incremento de la microbiota láctica, polifenoles, actividad antioxidante y disminución de FAN. También se observaron cambios en las propiedades tecnofuncionales. Los resultados obtenidos permiten considerar a este procesamiento biológico como una estrategia interesante y promisoria para el mejoramiento de harinas de legumbres aplicables al desarrollo de nuevos alimentos de alta calidad nutricional y funcional.

PALABRAS CLAVE: Legumbres, Bacterias lácticas, Fermentación, Alimentos Funcionales.

ABSTRACT

The incorporation of legumes in our diet is of great importance due to their high nutrients contribution. Legumes are an essential source of proteins with high biological value, complex carbohydrates, fiber, unsaturated lipids, vitamins (mainly B and E) and minerals (calcium, potassium, magnesium, phosphorus and iron). Besides, they contain phytochemicals such as bioactive peptides, and polyphenols that confer them functional properties. These properties have attracted the attention of both consumers that look for a healthy diet and patients with specific pathologies such as celiac disease, type-2 diabetes, cardiovascular diseases and metabolic syndrome among others. One of the alternatives for

legumes consumption is the production of foods from flours obtained from the milling of grains. However, flours have to be supplemented or improved in their rheological and sensory properties in order to be suitable for the manufacture and consumption of processed foods. In addition, the manufacture process should reduce or eliminate certain anti-nutritional compounds (ANF) such as phytates, tannins, protease and amylase inhibitors and lectins, among others, which limit the nutritional quality of these products. Therefore, the industry has adopted several physic-chemical methods to improve their quality. Among them, fermentation of legume flours is an interesting alternative since the particular metabolism of lactic acid bacteria may affect positively the nutritional and sensorial properties of the derived products. Then, the aim of this work was to assess the potential of lactic acid bacteria (LAB) isolated from legumes of the NOA region and selected by their properties for fermenting bean and chickpea flours improving their technological and nutritional characteristics. *Lactobacillus plantarum* CRL 2211 and *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 were used in a solid state fermentation during 24 h at 37C and trypsin inhibitors content, tannins, phenolic compounds and lactic and fungal microbiota were determined. Some technofunctional properties such as water and oil asorption capacity, emulsion and gelling activity were also determined. Fermentation with BAL produced significant changes with respect to unfermented and spontaneously fermented flours such as the increase in lactic microbiota, polyphenols, antioxidant activity and the decrease of FAN. Changes on technofunctional properties were also observed. The obtained results allow to consider this biological processing as an interesting strategy for the improvement of pulses flours that could be applied to the development of novel foods with high nutritional and functional quality.

KEYWORDS: Legumes, Lactic acid bacteria, Fermentation, Functional Foods.

INTRODUCCIÓN

Las legumbres (frutos y semillas de la Familia de las Leguminosas, art. 877 del Código Alimentario Argentino) son alimentos ampliamente producidos en países de América latina, Asia y África en los que existe acceso limitado a la proteína de origen animal o se evita su consumo por cuestiones culturales o religiosas. Estos alimentos desempeñan un rol trascendente en la dieta por cuanto son fuente de proteínas (mayor que los cereales) con gran valor biológico, carbohidratos complejos, altos niveles de fibras, lípidos insaturados (ácidos oleico y linoleico), vitaminas (B y E), minerales (calcio, potasio, magnesio, fosforo y hierro) y fitoquímicos (péptidos, ácidos fenólicos, isoflavonas, etc.) con efectos beneficiosos (Campos-Vega y col., 2010, Suarez Martínez y col., 2016).

En Argentina, las legumbres no oleaginosas más cultivadas y consumidas incluyen principalmente al poroto, garbanzo, arveja, y lenteja y sus principales regiones productoras se concentran en las provincias del NOA (porotos y garbanzos) y NEA (lentejas y arvejas). La producción anual ronda las 700.000 Tn (686.488 Tn en la campaña 2017/2018), destinándose más del 90% a exportación y sólo el 10% a consumo interno como frutos secos o procesados (Fuente: Bolsa de Comercio de Rosario, https://bcr.com.ar/es/print/pdf/node/73324). Si bien los granos pueden consumirse enteros, la harina obtenida de su molienda es también un alimento de elección de grupos con patologías especiales como la celiaquía, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad y algunos tipos de cáncer gastrointestinal, por su naturaleza libre de gluten, sus nutrientes y compuestos bioactivos (Curiel y col., 2015). Sus numerosos beneficios para la salud y el medioambiente determinaron que la Asamblea de la Organización de las Naciones Unidas, declarara al 2016 como el *Año Internacional de las Legumbres* y al 19 de febrero de cada año, a partir de 2019, como el *Día Mundial de las Legumbres* con el objetivo de aunar esfuerzos para promover la producción y revalorizar el consumo de estos alimentos (A/RES/68/231 FAO/OMS, 2014).

Sin embargo, los potenciales beneficios del consumo de legumbres se contrarrestan con la presencia de numerosos factores antinutricionales (FAN) desarrollados por las plantas como estrategia de defensa contra la predación. Entre ellos se encuentra los inhibidores de amilasa, tripsina y quimotripsina, ácido fítico, saponinas, taninos y lectinas que pueden limitar su digestibilidad, haciendo necesaria su inactivación y remoción para mejorar la calidad nutricional de los granos. El ácido fítico reduce la disponibilidad de minerales ya que actúa como agente quelante de cationes divalentes (Ca^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+}) formando complejos insolubles que no pueden ser metabolizados (Luo y col., 2009). Por su parte, los inhibidores de enzimas tienen la capacidad de inhibir las actividades proteolíticas (tripsina y α-quimotripsina) dentro del tracto gastrointestinal, disminuyendo la disponibilidad de aminoácidos, además de provocar desórdenes metabólicos en el páncreas. De igual manera, los inhibidores de α-amilasa pueden causar una reducción en la digestión del almidón (Makkar y col., 2007). Los taninos tienden a formar complejos con las proteínas, disminuyendo su bioaccesibilidad y disponibilidad y son considerados potencialmente tóxicos para los animales monogástricos, por lo que el consumo de alimentos con altas concentraciones de éstos compuestos puede causar toxicidad hepática y renal. Por otro lado, las lectinas son proteínas con unión específica a carbohidratos, con cierta resistencia a la cocción y digestión que

pueden acceder biológicamente activas al intestino y/o circulación y ser recuperadas en las heces (Nakata y Kimura 1985). Su unión específica a los carbohidratos complementarios expresados por los enterocitos puede causar alteraciones ultraestructurales e inhibición de enzimas digestivas reduciendo así la función absortiva y la utilización de los nutrientes (Zárate y Pérez Chaia, 2012).

Desde el punto de vista tecnológico, las harinas de legumbres también poseen algunos inconvenientes para ser incluidas en productos derivados, por lo cual deben ser mejoradas o suplementadas para obtener propiedades reológicas y sensoriales adecuadas para la elaboración de alimentos. Actualmente existen diferentes métodos para mejorar la calidad nutricional y tecnológica de las harinas como el descascarado, remojo, extrusión o tratamientos térmicos (Van Der Poel, 1990; Jezierny y col., 2010). Entre los tratamientos biológicos se pueden emplear la germinación y tratamientos enzimáticos (Granito y col, 2002, Luo y col., 2009). Sin embargo, varios de estos métodos pueden degradar nutrientes, vitaminas y fitoquímicos relevantes y no remover completamente los compuestos indeseables (Shimelis y Rakshit, 2007).

En este sentido, se ha demostrado que la fermentación es un proceso biológico que puede mejorar ambas características. Esto es debido al particular metabolismo de los microorganismos intervinientes que permite la remoción de compuestos indeseables y la síntesis de metabolitos que dan características interesantes al producto final (Coda y col., 2014, 2015; Rizzello y col., 2014, Curiel y col., 2015).

La fermentación puede producirse espontáneamente por acción de la microbiota endógena que portan los granos (Rizzelo y col., 2014; Gan y col., 2016) o ser controlada por la inoculación de cultivos iniciadores (Coda y col., 2015; Jhan y col., 2015; Gan y col., 2016; Ferreira y col., 2019). Microorganismos pertenecientes a varios géneros, han demostrado ser efectivos en el proceso de fermentación de harinas de diferentes leguminosas como *Aspergillus, Cordyceps, Bacillus, Enterococcus, y Lactobacillus* (Jhan y col., 2015; Limón y col., 2015; Xiao y col., 2015, 2018; Gan y col., 2016). En particular, los cultivos iniciadores formulados exclusivamente con bacterias lácticas (BAL) revisten particular interés debido a su carácter inocuo (GRAS status de la FDA de los Estados Unidos y QPS status de la EFSA de Europa), su aporte de metabolitos bioactivos, actividades enzimáticas que aumentan la digestibilidad de azúcares complejos y proteínas y por su potencial probiótico (Rizzelo y col., 2018; Verni y col., 2019).

Numerosos estudios han evaluado el efecto de la fermentación en los FAN de legumbres (Bartkiene y col., 2014; Rizzello y col., 2016, Sáez y col., 2017, Gobbetti y col., 2019). Así, se ha obtenido la eliminación parcial o total de α-galactósidos, taninos, fitatos e inhibidores de tripsina de harinas de legumbres mediante fermentación espontánea (Granito y col., 2002) o por fermentación láctica con cepas seleccionadas de *Lactobacillus* (Coda y col., 2015; Sáez y col., 2017). Esto se debe a la presencia en los microorganismos de proteasas, glicosidasas, tanasas, fitasas, y la capacidad microbiana de ligar lectinas y bloquear su unión al epitelio intestinal. Investigaciones recientes han demostrado que las BAL, por acción de sus sistemas proteolíticos, pueden hidrolizar proteínas alergénicas y liberar péptidos tipo lunasina y AA no proteicos como el ácido γ-aminobutírico (GABA) con propiedades hipotensoras, antimicrobianas, inmunomoduladoras, hipoalergénicas, sedantes, anticariogénicas, antioxidantes, y fijadoras de calcio, entre otras (Wang y col., 2014; Rizzelo y col., 2015; Biscola y col., 2017).

Entre las principales aplicaciones de las legumbres fermentadas se puede destacar el uso de las harinas para elaborar panes y crackers (Sozer y col., 2019), bebidas (Marazza y col., 2012), productos fermentados semisólidos (Lim y col., 2019) o pastas tipo miso o hummus obtenidos a partir de soja y garbanzo respectivamente. Desde el punto de vista tecnológico, la fermentación de harinas de leguminosas por BAL suele mejorar las características generales de productos de panadería en propiedades claves que determinan la calidad de las masas, como la textura y el sabor pero también la digestibilidad y el poder antioxidante (Coda y col., 2010; Rizzelo y col., 2015; Gabriele y col., 2019). Por ejemplo, la acidificación de la masa debido a la producción de ácidos orgánicos (láctico y acético principalmente) aporta propiedades organolépticas aceptables, y puede activar enzimas endógenas de los granos como fitasas, que permiten incrementar la biodisponibilidad de minerales (Leroy y De Vuyst 2004). Además los ácidos orgánicos junto con péptidos antimicrobianos como las bacteriocinas inhiben el desarrollo de hongos y patógenos.

La proteólisis durante la fermentación, contribuye a la hidratación de la masa y a la retención de gas, y aumenta la concentración de aminoácidos debido a la actividad de sus peptidasas intracelulares (Gänzle y col. 2008). La degradación del almidón en la etapa inicial es la principal fuente de hidratos de carbono fermentables y azúcares reductores y es importante en la estructura de la miga del pan (Corsetti y col. 1998). Sólo unas pocas cepas de BAL (*Lactobacillus plantarum*, *Lb. amylolyticus* y *Lb. mannihotivorans)* presentan actividad amilasa extracelular (Gänzle y Follador, 2012). Sin embargo, la

producción de exopolisacáridos por BAL en las masas mejora el volumen y la textura del pan, además de aumentar el contenido de fibra dietética (Gänzle y col. 2014).

La producción de compuestos de aroma y sabor es llevada a cabo a través del metabolismo de lípidos y compuestos fenólicos (Czerny y Schieberle, 2002). Al respecto, las BAL albergan un conjunto de enzimas para la conversión de compuestos fenólicos, como feruloil esterasas, tanasas, reductasas y descarboxilasas de ácidos fenólicos que participan en la remoción de FAN y liberación de compuestos bioactivos relevantes para la prevención de las patologías antes mencionadas (Fillanino y col., 2018). Estas enzimas han sido descriptas en cepas asociadas a matrices vegetales como *Lactobacillus plantarum, L. fermentum y Weissella spp.* (Rodriguez y col., 2009; Jimenez y col. 2014).

La fermentación de legumbres puede llevarse a cabo como fermentación sumergida o en sustrato sólido (FSS), aunque ésta última es una estrategia emergente para la producción de alimentos de mejor calidad nutricional, funcional y sensorial y se ha empleado para fermentar harinas de soja, poroto y garbanzo (Rodríguez de Olmos y col., 2015; Xiao y col., 2015; 2018; Sáez y col., 2017). En este sentido, se ha observado que panes libres de gluten elaborados con harinas fermentadas de habas resultaron mejores que los no fermentados mostrando mayor volumen y porosidad, incremento en la digestibilidad proteica, AA esenciales e índices nutricionales y de valor biológico (Sozer y col., 2019).

En el contexto expuesto, el empleo de BAL autóctonas seleccionadas por sus propiedades potencialmente beneficiosas, puede resultar relevante a la hora de elaborar alimentos a base de legumbres que representen una alternativa novedosa que incremente su consumo. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades nutricionales y tecnofuncionales de harinas de poroto y garbanzo fermentadas por bacterias lácticas. La Figura 1 resume la secuencia y relevancia del estudio planteado.

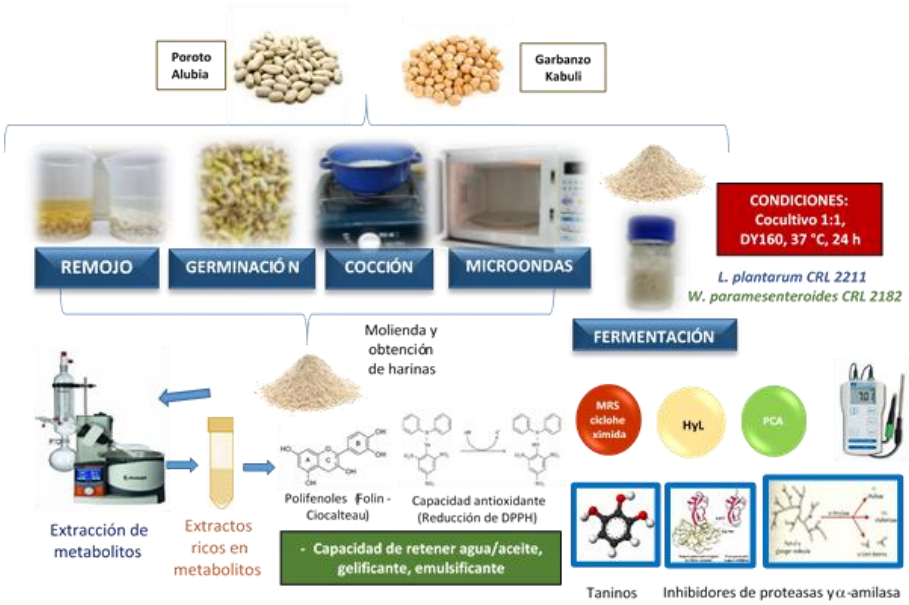


Figura 1: Secuencia esquemática del estudio y determinaciones realizadas.

MATERIALES Y METODOS

-Microorganismos y condiciones de crecimiento

Se emplearon en este estudio dos cepas de bacterias lácticas pertenecientes a la colección de cultivos del CERELA-CONICET (CRL: Centro de Referencia para Lactobacilos, CERELA, Tucumán, Argentina): *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 y *Lactobacillus plantarum* CRL 2211. Estos microorganismos fueron aislados a partir de harinas de legumbres y caracterizados tecnológicamente en estudios previos (Sáez y col., 2017, 2018). Las cepas fueron seleccionadas por su capacidad para crecer en extractos de poroto y garbanzo, capacidad acidificante, actividad proteolítica, tanasa y galato decarboxilasa e inhibición de patógenos. Las cepas fueron conservadas a –20 ºC en leche reconstituida al 10 % (p/v) y fueron reactivadas por tres pases sucesivos cada 24 h en caldo MRS incubado a 37 °C. Cultivos activos fueron cosechados por centrifugación (7000 g, 15 min), lavados 2 veces y resuspendidos en solución salina (0,85 % NaCl) ajustando la densidad óptica a 560nm a 0,7 unidades que corresponden a una concentración celular aproximada de 10^8 UFC/mL.

-Fermentación experimental de las harinas de legumbres

Muestras de poroto alubia (*Phaseolus vulgaris*) y garbanzo kabuli (*Cicer arietinum*) provistas por el INTA-Salta (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) fueron molidas hasta harina fina empleando un molinillo de café y luego mezcladas con cantidad necesaria de agua corriente para obtener un rendimiento de masa de 160 (peso de la masa/peso de la harina) × 100. Luego del agregado de agua, las masas (100 g de peso húmedo) fueron homogenizadas, distribuidas en frascos estériles, inoculadas con el cultivo iniciador (≅ 10^7 UFC/g) (proporción 1:1 de las cepas) e incubadas durante 24 h a 37 °C. Como controles se usaron harinas fermentadas espontáneamente (24 h a 37 °C). Al T_0 (inmediatamente post-inoculación) y a las 24 h de fermentación se tomaron muestras para determinaciones microbiológicas y químicas relacionadas con la calidad nutricional y tecnofuncional de las harinas.

-Análisis microbiológico y determinaciones de pH

Fracciones de 10 g de masa fueron homogenizadas con solución salina en un disgregador mecánico (Stomacher lab-blender 400, Seward Medical, London, UK), diluidas decimalmente y sembradas en superficie en los siguientes medios de cultivo: MRS agar (Britania, Argentina) suplementado con 0,1 % cicloheximida (Sigma, St. Louis), e incubado por 48 h a 37 °C en microaerofilia para el recuento de bacterias lácticas, y HyL agar (Britania, Argentina) para recuento de hongos y levaduras con incubación a 30°C por 5 días en aerobiosis. La acidificación de las masas fue monitoreada usando un peachímetro (Altronix TPX I, NY, USA).

-Polifenoles totales y determinación de taninos.

El contenido de compuestos fenólicos totales y taninos fue determinado de acuerdo a Makkar y col. (2007). Los polifenoles fueron extraídos de las masas con 70% metanol y ultrasonido (300 W) por 20 min a temperatura ambiente. Los sobrenadantes reaccionaron con el reactivos de Folin Ciocalteau 1N y las absorbancias a 725 nm fueron determinadas antes (polifenoles totales) y después del tratamiento de las mismas con polivinilpolipirrolidona (PVPP) (compuestos fenólicos no-taninos). El reactivo PVPP tiene alta afinidad por los taninos y su remoción por centrifugación después del tratamiento elimina los taninos de los extractos. La diferencia entre los valores de fenoles antes y después del tratamiento con PVPP fue tomada como medida del contenido de taninos en las muestras y expresada en equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de masa (mg GAE/100g).

-Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de las muestras se determinó usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) según lo descripto por Hung y col. (2009). Brevemente, 0,1 mL de extracto alcohólico de las masas se mezcló con 3,9 mL de una solución de DPPH en metanol (6×10^{-5} mol/L), se agitó vigorosamente y se dejó reposar a temperatura ambiente por 20 minutos. La disminución de la absorbancia de la solución resultante fue determinada a 515 nm. El blanco fue preparado usando 3,9 mL de DPPH y 0,1 mL de metanol y su absorbancia fue medida como t = 0. La actividad antioxidante fue calculada como: % captura DPPH = $(1 - \text{Abs sample}_{t20} / \text{Abs control}_{t0}) \times 100$

-Actividad inhibitoria de tripsina

Se determinó según lo descripto por Sáez y col. (2017). Las muestras fueron preparadas con 1 g de masa y 50 mL de 0,01 M NaOH mantenidas en agitación por 3 h a temperatura ambiente. El sustrato sintético BAPNA (N-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide, 0,4 g/L en 0.05M Tris-buffer, pH 8,2) fue sometido a hidrólisis por la enzima Tripsina (20 mg/L de tripsina tipo III, de pancreas bovino, en HCl 0,001M) para producir el compuesto coloreado (amarillo) p-nitroanilida. El grado de inhibición de la producción del color por los extractos de las masas en 10 minutos a 37°C fue determinado a 410 nm usando un espectrofotómetro (Versamax, Molecular Devices, California, USA). La TIA fue expresada en milligramos de tripsina inhibida/g muestra (mg/g).

-Actividad inhibitoria de α-quimotripsina

En este caso, se determinaron los productos de degradación de la caseína a 280 nm producidos por una determinada concentración de quimotripsina, en presencia y ausencia de las muestras las cuales contienen las sustancias inhibidoras (Kakade y col., 1970).

-Actividad inhibidora de α-amilasa

Los inhibidores de α-amilasa fueron determinados a través de la reacción de los azúcares reductores producidos por la acción de la α-amilasa en presencia y ausencia de las muestras con el ácido dinitrosalicílico, y su posterior reducción a ácido nitroaminosalicílico, compuesto de color anaranjado que

absorbe a 540 nm. La concentración de hidrolizados del almidón en base a una curva de calibración de maltosa se usaron para expresar la actividad de inhibidores de α-amilasa (Deshpande y col., 1982).

Propiedades funcionales de las harinas

-*Capacidad de absorción de agua y aceite:* Se determinó según el método descripto por Beuchat (1977) a temperatura ambiente (25°C), utilizando 1 g de harina en 10 mL de agua destilada (o aceite neutro) y agitando en un vortex por 30 segundos. La muestra permaneció en reposo a temperatura ambiente (25 ± 2°C) por 30 min; y seguidamente se centrifugó a 3000 rpm por 30 min. Se midió el volumen del sobrenadante en una probeta de 10 mL y se expresó el resultado como gramos de agua (o aceite) retenida por gramo de muestra.

-*Capacidad emulsionante:* Se determinó según Yasumatsu y col., (1992), para lo cual se mezcló 1 g de muestra con 20 mL de agua destilada, agitando durante 15 min. Se añadieron 7 mL de aceite neutro, nuevamente se agitó la mezcla y se centrifugó posteriormente durante 1 hora a 3000 rpm. La emulsión fue expresada en términos de porcentaje, como la altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido.

-*Capacidad gelificante:* Se determinó según lo indicado por Chau y Cheung (1997) preparando suspensiones de la muestra en agua destilada al 4, 8, 12, 13, 14, 16, 18 y 20% (p/v). Alícuotas de estas suspensiones (5 mL) se transfirieron a tubos que se colocaron en un baño de agua a 100ºC durante 1 hora y luego en un baño de hielo durante otros 60 minutos. La menor concentración de gelificación fue aquella a la que la muestra no se desliza cuando el tubo es invertido (Chau & Cheung, 1998).

Métodos alternativos de procesamiento

A manera comparativa, las características nutricionales y tecnofuncionales de las legumbres empleadas fueron evaluadas luego de someter los granos a métodos alternativos de procesamiento como: *remojo* (en agua destilada en proporción 10% p/v, 12 h - 25 °C), *germinación* (esterilización en etanol 1 min, remojo 12 h - 25 °C, tela de algodón húmeda en oscuridad - 3 días), *cocción* (en agua corriente, 10% p/v, 100° C – 90 min), *microondas* (en agua corriente, 10% p/v, potencia máxima, 15 minutos).

Análisis estadístico:

Los ensayos y cada determinación analítica se realizaron por duplicado. Los datos presentados representan la media ± desviación estándar. La diferencia entre las medias se determinó mediante un test de Tukey luego de un ANOVA de una vía usando el programa estadístico Minitab release 14 para Windows. Un valor $p< 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fermentación es una técnica ancestral usada principalmente para la conservación de los alimentos. Sin embargo, este proceso resulta también una estrategia atractiva para remover FAN mejorando en simultáneo las propiedades nutricionales, nutracéuticas, reológicas y sensoriales de las legumbres (Ferreira y col., 2019, Verni y col., 2019, Gobbetti y col., 2019). Con este fin, en la cultura oriental suelen emplearse cultivos fúngicos (*Aspergillus, Rhizopus, Cordyceps*) o bacterias del género *Bacillus*, mientras que las fermentaciones occidentales están dominadas por BAL debido a su seguridad alimentaria y potencial probiótico y nutracéutico (Blajman y Zárate, 2020).

En el presente trabajo empleamos 2 cepas de BAL aisladas de legumbres del NOA para fermentar harina de poroto alubia y garbanzo kabuli y mejorar sus propiedades nutricionales y tecnofuncionales. El poroto alubia es un cultivo prominente en la región y la legumbre no oleaginosa de mayor producción a nivel nacional. Por su parte, el garbanzo ha incrementado significativamente en los últimos años, su área cultivada y producción en la provincia.

Como se observa en la Figura 2, ambas legumbres presentaron una microbiota endógena láctica inferior a 10^2 UFC/g y fúngica aproximada de 10^3-10^4 UFC/g. La fermentación espontánea incrementó la población de BAL y HyL en 4 y 2 órdenes logarítmicos, respectivamente. Sin embargo la inoculación con las BAL seleccionadas resultó a las 24 h de fermentación en una mayor población láctica (8,98± 0,11 log UFC/g en garbanzo y 8,60±0,08 log UFC/g en poroto) y una menor población fúngica que las harinas fermentadas espontáneamente (3,68± 0,18 log UFC/g en garbanzo y 3,70±0,31 log UFC/g en poroto). Esta microbiota con mayor dominio láctico se vio reflejada en una mayor acidificación de las masas (Tabla 1), lo cual podría impactar positivamente a nivel organoléptico en los productos derivados y en la remoción de FAN como los fitatos cuya degradación se ve favorecida a pH ácido (Di Pasquale y col., 2020).

Curiel y col. (2015) analizaron las poblaciones microbianas de masas de harinas de legumbres italianas no fermentadas y fermentadas por *L. plantarum* C48 y *L. brevis* AM7. Estos autores reportaron un número inicial de BAL de aproximadamente 1,0 a 2,5 log UFC/g, y hongos y levaduras en el orden de 1,1–3,5 log UFC/g para la mayoría de las harinas. En estas legumbres, la inoculación de las mismas con los lactobacilos seleccionados permitió incrementar la población de BAL hasta 9,8–10,2 UFC/g al final de la fermentación. Otros autores (Di Pasquale y col, 2020), emplearon también estas especies para inocular harinas de legumbres (poroto, garbanzo, arveja y lenteja) y luego de 24 h de fermentación a 30°C observaron un incremento de 2 log en la población de BAL en todas la harinas (densidad celular final de 9,54±0,05 a 9,82±0,09 log UFC/g).

.

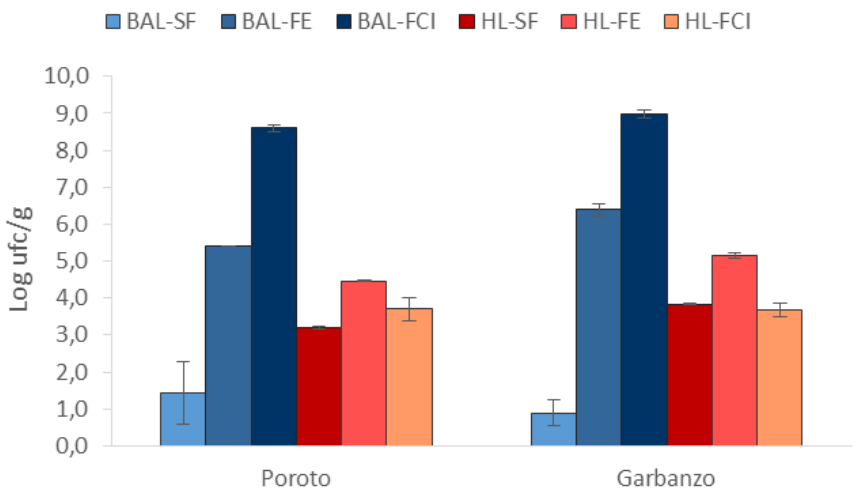


Figura 2: Recuento microbiano de las harinas de poroto y garbanzo fermentadas. BAL-SF: Microbiota láctica de masa sin fermentar; BAL-FE: Microbiota láctica de masa fermentada espontáneamente; BAL-FCI: Microbiota láctica de masa fermentada con cultivo iniciador; HL-SF: Microbiota fúngica en masa sin fermentar; HL-FE: Microbiota fúngica de masa fermentada espontáneamente; HL-FCI: Microbiota fúngica de masa fermentada con cultivo iniciador. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). La comparación se realizó por grupos microbianos, entre tratamientos, y para cada harina por separado.

Antes de la fermentación, el pH de las masas fue de 6,3±0,14 para la harina de poroto y de 6,4±0,14 para la harina de garbanzo, datos concordantes con otras masas formuladas con harinas de legumbres (Curiel y col., 2015). La fermentación espontánea por 24 horas disminuyó escasamente el pH de ambas masas y la microbiota endógena no logró disminuir el pH por debajo de 6. Por el contrario, la inoculación del cultivo iniciador produjo un efecto similar en ambas harinas acidificando significativamente las masas hasta valores próximos a 4. La fermentación láctica de otras harinas de legumbres también resultó en valores de pH que variaron entre 4,35 a 4,70 (Di Pasquale y col., 2020).

Con respecto a los FAN, los taninos e inhibidores de tripsina son responsables de la baja biodisponibilidad de las proteínas de las legumbres, por lo que su remoción resulta recomendable. Si bien la fermentación espontánea logró eliminar mínimas concentraciones de inhibidores de tripsina y taninos, la remoción de estos antinutrientes fue significativamente mayor cuando las harinas fueron fermentadas durante 24 h con *L. plantarum* y *W. paramesenteroides*. La disminución de taninos de harinas de legumbres ha sido también reportada previamente para fermentaciones con *L. plantarum* y *Weissella* (Pranoto y col., 2013; Coda y col., 2015, Curiel y col., 2015; Sáez y col, 2017) y podría deberse a las actividades enzimáticas tanasa y galatodecarboxilasa que poseen estos microrganismos.

Otros estudios han demostrado que la fermentación láctica resulta eficiente para disminuir los FAN presentes en diferentes legumbres (Granito y col., 2002; Curiel y col., 2015; Gobetti y col., 2019; Di Pasquale y col., 2020). Así, Chandra-Hioe y col., (2016) reportaron que la fermentación de harina de garbanzos y de habas con un cultivo iniciador láctico alóctono formado por *S. thermophilus* y *L delbrueckii* resultó en la disminución de 1 y 4,7% del contenido de inhibidores de tripsina. En nuestro estudio, las cepas empleadas fueron capaces de remover más del 50% de inhibidores de tripsina, lo que podría deberse al uso de cultivos autóctonos altamente adaptados a la matriz alimentaria de la cual

provienen. Por su parte, Di Pasquale y col (2020) emplearon las cepas *L plantarum* MRS1 y *L. brevis* MRS4 para fermentar y mejorar las propiedades nutricionales de harinas gelatinizadas de diferentes legumbres (poroto, arveja, garbanzo y lenteja) observando disminución de ácido fítico, taninos, rafinosa e inhibidores de tripsina como también un aumento en la concentración de AA libres, digestibilidad proteica y la capacidad secuestrante de radicales libres.

Los polifenoles presentes en los vegetales son los principales responsables de la actividad antioxidante de estos alimentos y su consumo es altamente recomendado para prevenir enfermedades crónicas no transmisibles y el deterioro asociado al envejecimiento. Como se observa en la Tabla 1 el contenido de compuestos fenólicos totales fue considerablemente mayor en las masas fermentadas con BAL que en aquellas no inoculadas. La fermentación con *L. plantarum* y *W. paramesenteroides* incrementó la concentración de compuestos fenólicos desde 483±10 a 795±16 mg EAG/100g en la harina de poroto y de 476 ±15 a 997±11 mg EAG/100g en la harina de garbanzo. Di Pasquale y col (2020) también observaron un enriquecimiento de fenoles totales durante la fermentación de las harinas de legumbres con concentraciones entre 2 a 3 veces más elevadas en las masas fermentadas que en las no fermentadas, con el mayor incremento en lentejas pero las concentraciones de fenoles más elevadas en harina de garbanzo (2,21 ± 0,03 mmol/kg). La fermentación de cereales, seudocereales y legumbres es una estrategia ampliamente usada a nivel mundial con demostrados efectos positivos en el aumento de compuestos antioxidantes de naturaleza fenólica (ácidos fenólicos, isoflavonas y otros flavonoides) y no fenólica (péptidos, exopolisacáridos, vitaminas) (Verni y col., 2019).

En concordancia, la actividad antioxidante fue también mayor en las masas inoculadas con BAL, por lo que el consumo de alimentos formulados con estas harinas podría representar un potencial beneficio para la salud del consumidor (Tabla 1). Se ha reportado que el incremento de la actividad antioxidante observada durante la fermentación láctica de diferentes variedades de harina poroto estaría asociada con la biotransformación de fenoles solubles y la liberación de compuestos fenólicos ligados (Dueñas y col., 2005; Gan y col., 2016). Al respecto, las bacterias lácticas cuentan con un arsenal de enzimas destinadas al metabolismo de los compuestos fenólicos como una estrategia de detoxificación de estos compuestos y balance energético (Filannino y col., 2018), por lo que pueden contribuir eficazmente al enriquecimiento de polifenoles en matrices vegetales.

Tabla 1: Características nutricionales y funcionales de las masas de poroto y garbanzo fermentadas. PFE: poroto fermentado espontáneamente; PF-BAL: poroto fermentado con BAL; GFE: garbanzo fermentado espontáneamente; GF-BAL: garbanzo fermentado con BAL. Medias de una misma columna con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

	$pH_{(24h)}$	Inh. Tripsina removidos (TIA mg/g)	Taninos removidos (mg EAG/100g)	Polifenoles totales (mg EAG/100g)	Act. antioxidante (mmoles EAG/mL)
PFE	6,06±0,40[a]	0,06±0,01[a]	2,05±0,21[a]	483±10[a]	0,31±0,04[a]
PF-BAL	4,03±0,30[b]	1,71±0,77[b]	32,15±0,49[b]	795±16[b]	0,53±0,08[b]
GFE	6,12±0,13[a]	0,23±0,07[c]	6,15±0,21[c]	476±15[a]	0,49±0,09[b]
GF-BAL	4,14±0,12[b]	1,80±0,45[b]	26,2±3,68[d]	997±11[c]	0,80±0,03[c]

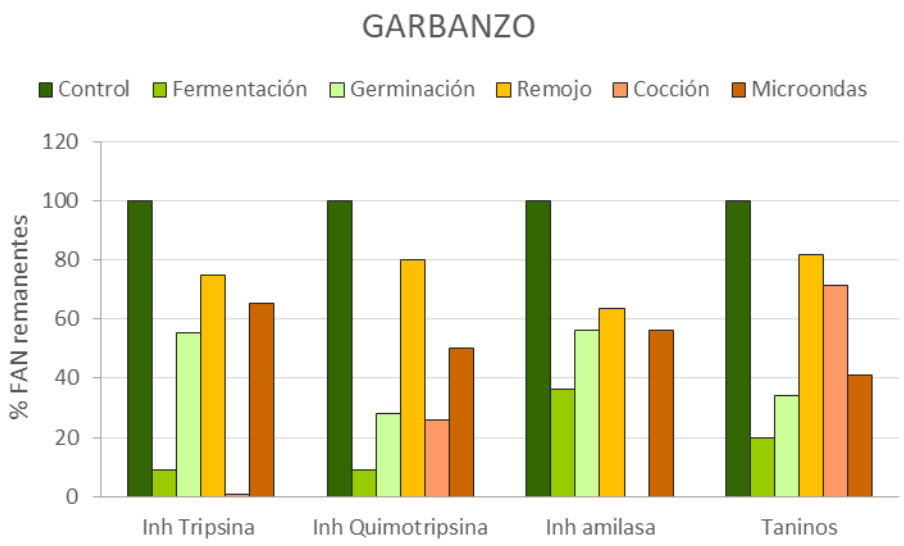
Métodos alternativos para el mejoramiento nutricional de legumbres

El procesamiento apropiado es más importante para las legumbres que para cualquier otro grupo de alimentos, debido a su elevado contenido de FAN. Los métodos convencionales de tratamiento incluyen el remojo, y la cocción de diferentes tipos (hervor, a presión, microondas). Los métodos biológicos como la germinación y la fermentación son menos frecuentes. La Figura 3 muestra el efecto de diferentes procesamientos en la remoción de FAN de las legumbres analizadas. La cocción fue el método más efectivo para eliminar los inhibidores de proteasas y de α-amilasas, removiendo casi la totalidad de estos compuestos. Sin embargo, la fermentación y la germinación también demostraron ser eficientes en la remoción de estos inhibidores, eliminándose más del 80 % de estos compuestos por fermentación y valores superiores al 40 % en las harinas germinadas.

Con respecto a la remoción de taninos, la fermentación produjo una disminución de estos FAN superior al 80 % (desde 7,03±0,7 a 1,33±0,6 mg EAG/100g, de taninos totales antes y después de fermentar, respectivamente), mientras que el resto de los tratamientos evaluados no presentaron cambios significativos en la concentración de estos compuestos.

En cuanto a la incidencia del procesamiento sobre la cantidad de CF, la fermentación y la germinación aumentaron su concentración. En el caso de la fermentación la concentración de fenoles totales aumentó de 466±33 a 745±25 y 1017,14±50,97 mg EAG/100g, para poroto y garbanzo respectivamente, duplicando la actividad antioxidante de las harinas. Por el contrario, los tratamientos térmicos disminuyeron este potencial.

Las propiedades funcionales de las harinas están relacionadas a sus efectos y utilidad como ingredientes en la elaboración de alimentos. En cuanto al impacto de los procesamientos en las propiedades funcionales, el remojo y la cocción disminuyeron la capacidad de retención de agua y aceite de las harinas, mientras que los tratamientos restantes no afectaron esta propiedad (Tabla 2,3). Si bien todos los tratamientos incrementaron la capacidad gelificante y emulsificante de las harinas, la fermentación potenció significativamente la formación de gel (8 % de harina fermentada requerida para gelificación vs 16 % de harina sin fermentar) y su capacidad emulsificante en un 30 %, mientras que la germinación fue el segundo método más apropiado para mejorar estas propiedades. El resto de los tratamientos no produjeron diferencias relevantes. Otros autores observaron cambios en las propiedades funcionales de harinas de legumbres procesadas biológicamente. Así Mbata y col., (2009) determinaron que la fermentación de harina de frijol bámbara (*Vigna subterranea*) y maíz afecta a las propiedades tecnofuncionales, disminuyendo significativamente la capacidad de absorción de agua e incrementando la capacidad espumante del alimento obtenido. Por su parte, Chandra-Hioe y col., (2016) observaron que la capacidad de absorción de agua de la harina fermentada de garbanzo kabuli se incrementó, mientras que no hubo diferencias para el garbanzo desi y esta propiedad disminuyó en la harina fermentada de habas. La capacidad de absorción de aceite de estas harinas se incrementó lo que sugiere un enriquecimiento en proteína hidrofóbica insoluble y una mejor retención del flavour en el producto final. La fermentación también afectó la capacidad espumante y estabilidad de la espuma disminuyendo en general esta propiedad tanto en garbanzo como en habas fermentadas (Chandra-Hioe y col., 2016).



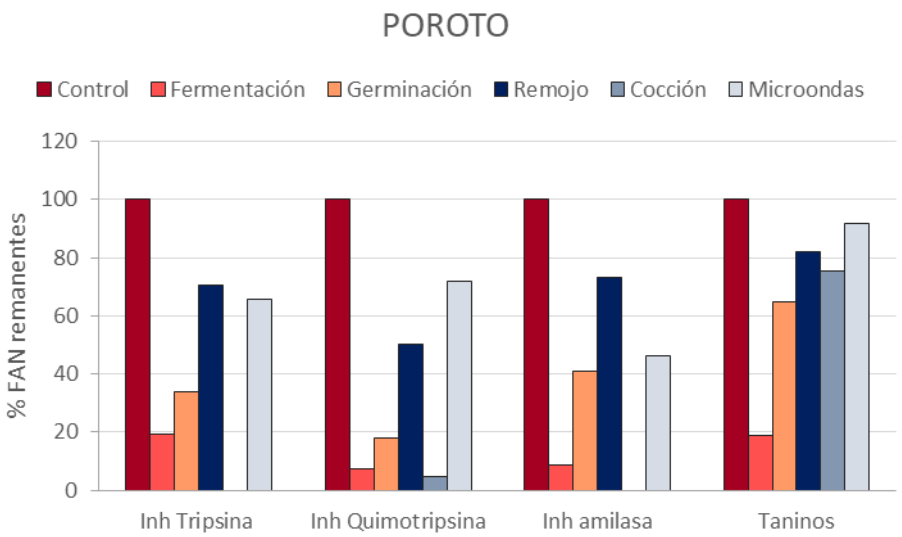


Figura 3: Porcentaje remanente de FAN en las harinas de garbanzo y poroto luego de diferentes procesamientos.

CONCLUSION

A fin de incrementar el consumo de legumbres en una población con clara tendencia al consumo de proteína de origen animal como la de nuestro país, resulta prioritario encontrar nuevas aplicaciones para estos granos e incorporarlos en alimentos novedosos y saludables. En este sentido, la fermentación con BAL puede mejorar las propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales de las materias primas vegetales, pero la correcta selección de los microorganismos y las condiciones óptimas de fermentación representan pasos claves para un resultado exitoso. En el presente estudio, dos cepas de BAL obtenidas de legumbres cultivadas y consumidas en la región, fueron aplicadas a la fermentación de estas matrices vegetales resultando en el mejoramiento tecnofuncional de las mismas. *L. plantarum* CRL2211 y *W. paramesenteroides* CRL2182 usadas como cultivos iniciadores, en condiciones específicas (24h, 37 ºC), tuvieron influencia en la producción de compuestos bioactivos, la reducción de antinutrientes y las propiedades funcionales. La incorporación de estas harinas mejoradas en un alimento funcional derivado se encuentra actualmente en estudio.

Tabla 2: Efecto del procesamiento en la bioactividad de las masas de poroto y garbanzo. Medias de una misma columna con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

	POROTO		GARBANZO	
Tratamiento	**Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)**	**Actividad antioxidante (mmoles AG/mL)**	**Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)**	**Actividad antioxidante (mmoles AG/mL)**
Control	466,67±33,02^{a,b}	0,29±0,03^{a}	647,14±26,19^{a}	0,41±0,01^{a}
Fermentación	745,71±24,91^{c}	0,59±0,01^{b}	1017,14±50,97^{b}	0,68±0,02^{b}
Germinación	696,19±45,05^{c}	0,53±0,02^{b}	929,05±52,96^{b}	0,60±0,02^{b}
Remojo	482,86±52,51^{a}	0,30±0,03^{a}	634,76±45,72^{a}	0,36±0,02^{a}
Cocción	354,29±70,96^{b,d}	0,19±0,04^{c}	376,19±47,86^{c}	0,19±0,01^{c}
Microondas	302,86±23,39^{d}	0,27±0,01^{a,c}	502,38±32,27^{d}	0,37±0,04^{a}

Tabla 3: Efecto del procesamiento en las características funcionales de las harinas de poroto y garbanzo. Medias de una misma fila con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

POROTO	Control	Fermentación	Germinación	Remojo	Cocción	Microondas
Retención de agua (mL/g)	1,9±0,3[a]	1,8±0,1[a]	1,6±0,0[a,b]	1,4±0,3[a,b]	1,0±0,1[b]	1,2±0,1[a,b]
Retención de aceite (mL/g)	1,7±0,1[a,b]	1,7±0,3[a,b]	1,8±0,1[a]	1,5±0,1[a,b]	1,4±0,0[a,b]	1,2±0,1[b]
Capacidad gelificante (%)	16	8	13	13	14	14
Capacidad emulsificante (%)	23,5±2,1[a]	30,0±2,8[a]	27,5±4,9[a]	25,0±4,2[a]	22,0±0,0[a]	23,0±2,8[a]
GARBANZO	**Control**	**Fermentación**	**Germinación**	**Remojo**	**Cocción**	**Microondas**
Retención de agua (mL/g)	1,5±0,0[a]	1,6±0,28[a]	1.2±0,3[a]	1.3±0,1[a]	0.9±0,1[a]	1,0±0,0[a]
Retención de aceite (mL/g)	1,2±0,1[a]	1,5±0,3[a]	1,4±0,3[a]	1,5±0,1[a]	0,8±0,1[a]	1,1±0,1[a]
Capacidad gelificante (%)	16	8	12	12	13	13
Capacidad emulsificante (%)	22,0±0,0[a]	34,5±0,7[b]	30,5±3,5[a,b]	29,0±1,4[a,b]	24,5±4,9[a,b]	24,5±3,5[a,b]

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo contó con el financiamiento del PIP-CONICET 0319 y los Proyectos IC500, IC601 e IC802 del Instituto de Competitividad de la Universidad de San Pablo Tucumán.

BIBLIOGRAFÍA

Bartkiene E, Krungleviciute V, Juodeikiene G, Vidmantiene D, Maknickiene Z. 2014. Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. J Sci Food Agric, 95(6): 1336-42.

Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. J Agric Food Chem, 25, 258–261.

Biscola V, Rodriguez de Olmos A, Choiset Y, Rabesona H, Garro MS, Mozzi F, et al. (2017). Soymilk fermentation by *Enterococcus faecalis* VB43 leads to reduction in the immunoreactivity of the allergenic proteins β-conglycinin (7S) and glycinin (11S). Benef Microbes, 8(4): 635-43.

Blajman JE, Zárate G. (2020) Hortalizas y Legumbres fermentadas. Ferrari A, Vinderola G, Weill R. Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura. Instituto Danone del Cono Sur: Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 239-71.

Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Oomah BD. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. Food Res Int, 43: 461-82.

Chandra-Hioe MV, Wong CHM, Arcot J. 2016. The Potential Use of Fermented Chickpea and Faba Bean Flour as Food Ingredients. Plant Foods Hum Nutr, 71: 90-95.

Chau, C. F., & Cheung, P. C. K. (1998). Functional properties of flour prepared from three Chinese indigenous legume seeds. Food Chemistry, 61, 429–433.

Coda R, Di Cagno R, Gobbetti M, Rizzello CG. 2014. Sourdough lactic acid bacteria: exploration of non-wheat cereal-based fermentation**.** Food Microbiol, 37: 51-58.

Coda R, Melama L, Rizzello CG, Curiel JA, Sibakov J, Holopainen U, et al. 2015. Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean (*Vicia faba* L.) flour nutritional properties. Int J Food Microbiol, 193: 34-42.

Coda R, Rizzello CG, Gobbetti M. 2010. Use of sourdough fermentation and pseudocereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of gamma-aminobutyric acid (GABA). Int J Food Microbiol, 137: 236-45.

Código Alimentario Argentino. 1969. https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario

Corsetti A, Gobbetti M, Balestrieri F, Paoletti F, Russi L, Rossi J. 1998. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. J Food Sci, 63: 347-51.

Curiel JA, Coda R, Centomani I, Summo C, Gobetti M, Rizzello CG. 2015. Exploration of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: The pontetial of sourdough fermentation. Int J Food Microbiol, 196: 51-61.

Czerny M, Schieberle P. 2002. Important aroma compounds in freshly ground whole meal and white wheat flour e identification and quantitative changes during sourdough fermentation. J Agric Food Chem, 50: 6835-40.

Deshpande SS, Sathe SK, Salunkhe DK, Cornforth DP. 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J Food Sci, 47: 1846–50.

Di Pasquale I, Pontonio E, Gobbetti M, Rizzello CG. 2020. Nutritional and functional effects of the lactic acid bacteria fermentation on gelatinized legume flours. Int J Food Microbiol, 316: 108426.

Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Muñoz R. 2005. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with Lactobacillus plantarum ATCC 14917. J Sci Food Agric, 85(2): 297-304.

Ferreira LMM, Ferreira AM, Benevides CMJ, Melo D, Costa ASG, et al. 2019. Effect of controlled microbial fermentation on nutritional and functional characteristics of cowpea bean flours. Foods, 8: 530.

Filannino P, Di Cagno R, Gobbetti M. 2018. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. Curr Op Biotechnol, 49: 64-72.

Gabriele M, Sparvoli F, Bollini R, Lubrano V, Longo V, Pucci L. 2019. The impact of sourdough fermentation on non-nutritive compounds and antioxidant activities of flours from different *Phaseolus Vulgaris* L. genotypes. J Food Sci, 84(7): 1929-36.

Gan RY, Shah NP, Wang M, Lui W, Corke H. 2016. Fermentation alters antioxidant capacity and polyphenol distribution in selected edible legumes. Int J Food Sci Tech, 51: 875-884.

Gänzle MG, Follador R. 2012. Metabolism of oligosaccharides in lactobacilli: a review. Front Microbiol, 3: 340.

Gänzle MG. 2014. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. Food Microbiol, 37: 2-10.

Gänzle MG, Loponen J, Gobbetti M. 2008. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. Trends Food Sci Tech, 19: 513-52.

Gobbetti M, De Angelis M, Di Cagno R, Polo A, Rizzello CG. 2019. The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes, pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. Crit Rev Food Sci Nutr, 60(13): 2158-73.

Granito M, Frías J, Doblado R, Guerra M, Champ M, Vidal-Valverde C. 2002. Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. Eur Food Res Technol, 214: 226-31.

Hung PV, Maeda T, Miyatake K, Morita N. 2009. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. Food Res Int, 42: 185-90.

Jezierny D, Mosenthin R, Bauer E. 2010. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: a review. Animal Feed Sci Tech, 157: 111-28.

Jhan JK, Chang WF, Wang PM, Chou ST, Young YC. 2015. Production of fermented red beans with multiple bioactives using co-cultures of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*. LWT, 63: 1281-87.

Jiménez N, Esteban-Torres M, Mancheño JM, de las Rivas B, Muñoz R. 2014. Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains. Appl Environ Microbiol, 80: 2991-97.

Kakade ML, Swenson DH, Liener IE. 1970. Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin inhibitor activity using casein. Anal Biochem, 33: 255–58.

Leroy F, De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci Tech, 15: 67-78.

Lim XX, Koh WY, Uthumporn U, Maizura M, Wan Rosli WI. 2019. The development of legume-based yogurt by using water kefir as starter culture. Int Food Res J, 26(4): 1219-28.

Limón RI, Peñas E, Torino MI, Martínez-Villaluenga C, Dueñas M, Frias J. 2015. Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts. Food Chem, 172: 343-52.

Luo YW, Gu ZX, Han YB, Chen ZG. 2009. The impact of processing on phytic acid, in vitro soluble iron and Phy/Fe molar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). J Sci Food Agri, 89: 861-66.

Makkar HPS, Siddhuraju P, Becker K. 2007. Plant secondary metabolites. Totowa, New Jersey: Humana press.

Marazza JA, Nazareno MA, Savoy de Giori G, Garro MS. 2012. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. J Funct Foods, 4: 594-601.

Mbata TI, Ikenebomeh MJ, Ezeibe S. 2009. Evaluation of mineral content and functional properties of fermented maize (Generic and specific) flour blended with bambara groundnut (*Vigna subterranean* L). African J Food Sci, 3(4): 107-12.

Nakata S, Kimura T. 1985. Effect of Ingested Toxic Bean Lectins on the Gastrointestinal Tract in the Rat. J Nutr, 115: 1621-29.

Pranoto Y, Anggrahini S, Efendi Z. 2013. Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on in-vitro protein and starch digestibilities of sorghum flour. Food Biosc, 2: 46-52.

Rizzello CG, Calasso M, Campanella D, De Angelis M, Gobetti M. 2014. Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. Int J Food Microbiol, 180: 78-87.

Rizzello CG, Coda R, Wang Y, Verni M, Kajala I, Katina K, et al. 2018. Characterization of indigenous *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc kimchii*, *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* for faba bean bioprocessing. Int J Food Microbiol, 303: 24-34.

Rizzello CG, Hernández-Ledesma B, Fernández-Tomé S, Curiel JA. Pinto D, Marzani B, et al. 2015. Italian legumes: Effect of sourdough fermentation on lunasin-like polypeptides. Microb Cell Fact, 14: 168.

Rizzello CG, Losito I, Facchini L, Katina K, Palmisano F, Gobbetti M, et al. 2016. Degradation of vicine, convicine and their aglycones during fermentation of faba bean flour. Sci Rep, 6: 32452.

Rodríguez de Olmos A, Bru E, Garro MS. 2015. Optimization of fermentation parameters to study the behavior of selected lactic cultures on soy solid state fermentation. Int J Food Microbiol, 196: 16-23.

Rodriguez H, Curiel JA, Landete JM, de las Rivas B, Lopez de Felipe F, Gomez-Cordoves C, et al. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol, 132: 79-90.

Sáez GD, Hebert EM, Saavedra L, Zárate G. 2017. Molecular identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented kidney beans flours (*Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*) in northwestern Argentina. Food Res Int, 102: 605-15.

Sáez GD, Saavedra L, Hebert EM, Zárate G. 2018. Identification and biotechnological characterization of lactic acid bacteria isolated from chickpea sourdough in northwestern Argentina. LWT, 93: 249-56.

Shimelis EA, Rakshit, SK. 2007. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. Food Chem, 103: 161-72.

Sozer N, Melama L, Silbir S, Rizzello CG, Flander L, Poutanen K. 2019. Lactic acid fermentation as a pre-treatment process for faba bean flour and its effect on textural, structural and nutritional properties of protein-enriched gluten-free faba bean breads. Foods, 8: 431.

Suárez-Martínez SE, Ferriz-Martínez RA, Campos-Vega R, Elton-Puente JE, de la Torre Carbot K, García-Gasca T. 2016. Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. CyTA - J Food, 14(1): 131-37.

Van der Poel AFB. 1990. Effect of processing on antinutritional factors and protein nutritional value of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). A review. Anim Feed Sci Tech, 29: 179-208.

Verni M, Verardo V, Rizzello CG. 2019. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes. Foods, 8: 362.

Wang NF, Le GW, Shi YH, Zeng Y. 2014. Production of bioactive peptides from soybean meal by solid state fermentation with lactic acid bacteria and protease. Adv J Food Sci Technol, 6(9): 1080-85.

Xiao Y, Xing G, Rui X, Li W, Chen X, Jiang M, et al. 2015. Effect of solid-state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 on physicochemical and functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour. LWT, 63: 1317-24.

Xiao Y, Sun M, Zhang Q, Chen Y, Miao J, Rui X, et al. 2018. Effects of *Cordyceps militaris* (L.) Fr. fermentation on the nutritional, physicochemical, functional properties and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of red bean (*Phaseolus angularis* [Willd.] W.F. Wight.) flour. J Food Sci Technol, 55(4): 1244-55.

Yasumatsu K, Sawada K, Moritaka S, Misaki M, Toda J, Wada T, et al. 1992. Studies on the functional properties of food grade soybean products: whipping and emulsifying properties of soybean products. Agr Biol Chem, 26: 719-27.

Zárate G, Perez-Chaia A. 2012. Feeding with dairy *Propionibacterium acidipropionici* CRL 1198 reduces the incidence of Concanavalin-A induced alterations in mouse small intestinal epithelium. Food Res Int, 47(1): 13-22.

Figura Nº 5-Botones Post lavado
Figura Nº 5 Botones de distintas formas

Análisis de Tendencias y posible aplicación de mercado.

Notamos una tendencia creciente de responsabilidad social y ecológica en los consumidores, podríamos decir que están cambiando sus prioridades al momento de elegir y comprar un bien o servicio.

Existe una demanda de productos de origen vegetal, ecológicos y con una reducida huella de carbono. Esta tendencia no escapa al mundo de la moda y de productos de diseño ya que los usuarios desean que las marcas se interesen por generar un mejor impacto en el medio ambiente, pero también en su bienestar físico y mental.

Es nuestra tarea entender estas nuevas exigencias, y encontrar el balance entre construir confianza, aportar seguridad y entregar productos que añaden valor a las personas. Por eso consideramos el uso de bioplásticos como motor de agregado de valor y sustentabilidad.

Un creciente porcentaje de consumidores ya no están dispuestos a comprar artículos o recurrir a servicios que provengan de empresas poco responsables con el planeta. El mercado demanda diseñadores y/o marcas que produzcan y propongan productos con un equilibrio entre la sustentabilidad, la ética y la estética; y se comprometan con estrategias para el cuidado del medio ambiente, incluyendo políticas ambientales en sus planes de marketing y de negocio para generar un bien en la comunidad.

Algunos diseñadores generan líneas completas de indumentaria con textiles orgánicos biodegradables, si bien hoy es algo alejado del usuario común, creemos que la confección de botones, avíos y accesorios en material orgánico puede significar un valor agregado muy fuerte para un producto textil

Bibliografía

- Janitzio Égido Villarreal, (2016). Biodiseño. Biología y diseño, Colección: Teoría y práctica
- Santibañez Saucedo, (2007). Biodiseño. Aportes conceptuales de diseño en las obras de los animales. Universidad de Barcelona. Fac. de Artes
- Esther Moñivas, (2016).Hacia una caracterización de las prácticas artístico-científicas actuales relacionadas con la vida sintética. Universidad Antonio de Nebrija Rev. De Filosofía Moral y Política.
- William McDonough y Michael Braungart, (2005). De la cuna a la cuna: rediseñando la forma en que hacemos las cosas. S.A. Mcgraw-Hill / Interamericana de España.
- Viollaz Clelia ,Gonzalez Karina (2017), Elaboración de Bioplásticos de Almidon de maiz-Universidad de San Pablo-Tucuman ISSN 2525-1597

DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS COMO TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN

González K.[1*], Heredia C.[1], Rivero A.[1]

[1]IDITEC Universidad de San Pablo Tucumán

*kgonzalez@uspt.edu.ar

RESUMEN

La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más antiguos utilizados a través de la historia de la humanidad. Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil. Antiguamente, frutas, granos, vegetales, carnes y pescados, se secaban al sol para tener alimentos en épocas de escasez. Técnicamente podríamos decir más claramente que el **deshidratado** es la reducción de la cantidad de agua del alimento aplicando el **calor artificial** (aire previamente calentado, superficies calientes, etc.). En cambio, el desecado es la reducción de la cantidad de agua mediante el tratamiento del alimento en **condiciones ambientales** (sol, viento, etc.), es decir, de manera natural o artesanal.

En la primera parte del proyecto se utilizó un deshidratador perteneciente a la Fundación Banco de Alimentos. En la segunda parte, con el financiamiento de la Universidad de San Pablo-T, se adquirió un horno eléctrico por convección.

El objetivo de este trabajo fue realizar deshidratados con el horno eléctrico y comparar la eficiencia del proceso con respecto a los deshidratadores tradicionales.

En esta oportunidad se realizó el deshidratado de Tomates ***(Solanum lycopersicum)***, sin tratamiento previo. Se evaluaron las características organolépticas de los mismos y se realizó la prueba de los 7 días luego del deshidratado obteniendo buenos resultados. Dado que el horno tiene características de calor por convección con una temperatura mínima de 100 °C, y la desnaturalización de las proteínas se realiza a temperaturas superiores a 70 °C, se mantuvo la puerta semiabierta del horno hasta lograr disminuir la temperatura de en un rango de 65°C a 70 °C. Se pudo observar en este primer ensayo una marcada reducción del tiempo de deshidratación en este fruto respecto al realizado en una deshidratadora tradicional. Debido a la pandemia de Covid-19 no se pudo continuar con otros frutos momentáneamente.

PALABRAS CLAVES: deshidratado, desecado, alimentos deshidratados, horno

SUMMARY

Dehydration and desiccation are the oldest preservation methods used throughout human history. Dehydrated and / or dried foods are those fresh foods from which the water has been extracted by artificial or natural methods in order to reduce the risk of contamination and increase the shelf life. Formerly, fruits, grains, vegetables, meats and fish were dried in the sun to have food in times of scarcity. Technically we could say more clearly that dehydration is the reduction of the amount of water in the food by applying artificial heat (previously heated air, hot surfaces, etc.). On the other hand, drying is the reduction of the amount of water by treating the food in environmental conditions (sun, wind, etc.), that is, in a natural or traditional way.

In the first part of the project, a dehydrator belonging to the Bank of Food Foundation was used, in the second part, with financing from the University of San Pablo-T, an electric convection oven was purchased.
The objective of this work was to carry out dehydration with the electric oven and to compare the efficiency of the process with respect to traditional dehydrators.
On this occasion, the dehydration of Tomatoes ***(Solanum lycopersicum)*** was carried out, without previous treatment, the organoleptic characteristics of the same were evaluated, the test of 7 days after dehydration was carried out giving good results. The oven has characteristics of heat by convection with a minimum temperature of 100 ° C, Denaturation of proteins is carried out at temperatures above 70 ° C to avoid this phenomenon, the oven door was kept semi-open until the temperature was reduced within a range 65 ° C to 70 ° C. Due to the CoVid 19 pandemic, I cannot continue with other fruits momentarily. A marked reduction in dehydration time was observed in this first trial in this fruit.
KEYWORDS: dehydrated, desiccated, dehydrated food, oven

INTRODUCCIÓN

Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil.

El objetivo de este trabajo fue utilizar un horno eléctrico adquirido con el financiamiento de la Universidad de San Pablo-T y comparar la eficiencia del proceso de deshidratado entre dicho horno con respecto a los deshidratadores convencionales, entendiendo por tal, el tiempo requerido para lograr el proceso de deshidratación de los frutos.

La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más utilizados a través de la historia de la humanidad. Estos tienen ciertas ventajas:

- Su principal ventaja es aumentar la vida útil.
- Reducen el peso y el volumen de los alimentos, por lo cual el espacio de almacenamiento es menor lo que optimiza el transporte y la distribución.
- No se requieren instalaciones especiales para el almacenamiento posterior.
- Añaden valor agregado al alimento utilizado.
- Evitan el desperdicio de alimentos. En el caso de algún fruto de maduración rápida es una buena técnica para su almacenamiento
- Los alimentos deshidratados son de fácil preparación y ahorran tiempo y energía.

Desventajas de la deshidratación y el desecado:

- Pérdida de vitaminas hidrosolubles (como la vitamina C) es decir aquellas que sean solubles en agua

MATERIALES Y MÉTODOS

Para poder comenzar el proceso de deshidratado lo primero que se debe hacer es una selección de la materia prima, es decir, descartar aquellos frutos que no estén en buen estado. Luego de la selección se realiza el lavado con abundante agua. Si bien en algunos casos se realiza el escaldado o sulfitacion de los frutos en esta oportunidad no se realizó.

Todo este procedimiento se realizó según las buenas prácticas de manufactura (BPM) (CAA,Cap IV).

Para realizar el trabajo se pesaron 3,025 kg de tomates, posteriormente se cortaron en rodajas de 0,5 mm aproximadamente, se las dividió en tres grupos de bandejas que se deshidrataron en diferentes días. En las bandejas se colocaron papel manteca y se procedió al deshidratado en el horno eléctrico ***Standard electric***

Fig.N°1 ***Solanum Lycopersicum***

Tabla N°1-verduras deshidratadas

Verduras	Corte (medida mm)	Temperatura °C Horno eléctrico	Tiempo (horas) horno eléctrico	Tiempo (horas deshidratadora Parte I)	Temperatura °C Deshidratadora
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**65**	**6**	**16**	**65**
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**60**	**6**	**18**	**60**
Tomate ***(Solanum lycopersicum)***	0,5 mm	**70**	**6**	**16**	**70**

Muchos alimentos poseen una capa de piel que impide eliminar la humedad de su interior formando una costra. El tomate es uno de ellos, es por esto que el aumento de temperatura se realizó de forma paulatina. El deshidratado propiamente dicho se produce en este paso, colocando las rodajas de tomate en parrillas sobre papel manteca a una temperatura de 65ºC a 70 º C en un intervalo de tiempo de 6 horas, . El papel manteca facilita mucho el despegue de las rodajas evitando las ruptura de los mismos así como también absorbe el agua del fruto. Es muy importante que los bordes de las rodajas una vez colocadas en las bandejas no tengan contacto entre sí para evitar que se peguen.

Luego de deshidratar los 3,025 kg de tomate se obtuvieron 213 gr, por lo tanto se puede estimar que un 93% es agua. Este fruto es uno de los que mayor contenido de agua tiene, es por eso que se seleccionó para este proyecto como primer ensayo.

Fig.N°2 Tomate deshidratado-0,5mm

Fig.N°3 Tomates deshidratados

Envasado y almacenamiento

Los alimentos una vez deshidratados tienen que pasar por un periodo de supervisión importante ya que de esto depende la vida útil de los mismos. En primer lugar, antes de su envasado se los debe dejar enfriar. Nunca se deben envasar en caliente. En segundo lugar se deben seleccionar los alimentos en condiciones aceptables.

Las bolsas deben ser de plásticos resistentes, permitidas por el CAA (Código Alimentario Argentino) selladas al vacío. Antes del envasado se realizó la prueba de los 7 días, que consiste en colocar los frutos deshidratados en un frasco de vidrio tapado. Se debe remover de vez en cuando y observar si se forman gotas de agua condensada en el frasco, de ser así se debe repetir la deshidratación. En el caso de los tomates utilizados en este proyecto no se formaron gotas de agua condensada por lo tanto no se los volvió a deshidratar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

El deshidratado de frutas y verduras permite disminuir el desperdicio de alimentos, ayuda en muchos casos a disminuir las pérdidas económicas de los productores de frutas y verduras, nos facilita el transporte, el almacenamiento y alarga el tiempo de vida útil.

Como se puede observar en los resultados obtenidos en la tabla Nº1 se utilizó una temperatura máxima de 70 ºC, ya que cuando se supera esta temperatura se produce la desnaturalización de las proteínas quitándole valor nutritivo al alimento.

Fig.N°4 Horno eléctrico por convección

El tiempo de deshidratado en este tipo de hornos eléctrico fue solo de 6 horas, comparado con el de los deshidratadores convencionales donde los tiempos son superiores a las 12 horas . Esta disminución del tiempo se observó en los tres ensayos. Es importante mencionar que el tomate empleado para la deshidratación es uno de los que mayor contenido de agua contiene. Otras variedades como la Roma que son más carnosas (mesocarpo más grande) y con menos contenido de agua y es probable que requieran menos tiempo para alcanzar la deshidratación.

De acuerdo a lo expresado en la tabla se puede concluir que a mayor temperatura, menor tiempo de deshidratado . Las temperaturas -como se indica en la última columna- fueron las mismas en ambos artefactos

Esta diferencia puede ser debido a la eficacia del horno, ya que cuenta con tres ventiladores: uno en la parte superior y dos en los laterales.

De los 3,025 Kg se obtuvieron 213 gr lo que implica que aproximadamente el 93% es agua. La visualización debe ser constante lo que implica un control de los frutos para tratar de evitar la formación de costras, ya que estas impiden la entrada de calor y por ende un mal deshidratado ocasionando en algunos casos quemaduras de los frutos, lo que implica pérdidas significativas.

Se utilizó papel manteca sobre bandejas de lozas para facilitar el desmoldado .Se pudo observar que los tiempos de deshidratado fueron mucho más rápidos que mediante la utilización del deshidratador convencional. Se debe recordar que en los hornos no siempre la temperatura es homogénea en todos los puntos, es por esto que se recomienda girar las bandejas, ya que los frutos que se encuentran en las cercanías de la puerta no reciben la misma temperatura.

Los hornos por convección tienen uno o varios ventiladores en los laterales o en el fondo del mismo, lo que reduce la temperatura de cocción mucho más que el horno tradicional. Sin embargo, éstos consumen mucha más energía y por lo general las piezas tienen menos vida útil que las de los deshidratadores convencionales y el horno a gas, En cuanto al costo son mucho más accesibles, pero con menos capacidad (litros) para deshidratar. También se debe mencionar que el trabajo requiere de más ensayos con diferentes frutas y verduras para poder tener unas conclusiones más amplias en relación a las posibles ventajas de la utilización del horno eléctrico.

BIBLIOGRAFÍA

http://www.anmat.gov.ar/webanmat/normativas_alimentos.asp

J.J. Water-man (1975) Relevamiento de secaderos solares agrícolas. Brace Research Institute. Canadá.

Maldonado F.(2009) Effect of temperature and pretreatment on water diffusion during rehydration of dehydrated mangoes-Journal of foods engineering

Michelis, A. (2012) Deshidratación y secado de frutas, verduras y hongos - Comunicación Tencia Nº 84 Área de Desarrollo Rural ISSN 1667-4014

T. Vázquez y otros, (1997).Energética y FAKT-Manual de Secado Solar Técnico de Alimentos. Cochabamba, Bolivia,

https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_secado.pdf

http://supercampo.perfil.com/2016/06/como-en-el-espacio-fruta-y-verdura-deshidratadas-ahora-son-snacks/

FERMENTACIÓN DE HARINAS DE LEGUMBRES CON BACTERIAS LÁCTICAS: ALTERNATIVA DE PROCESAMIENTO PARA POTENCIAR SUS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES Y TECNOFUNCIONALES

FERMENTATION OF LEGUME FLOURS BY LACTIC ACID BACTERIA: PROCESSING STRATEGY FOR IMPROVING THEIR NUTIRTIONAL AND TECHNOFUNCTIONAL PROPERTIES

ZÁRATE G.[1, 2]* **y** SÁEZ G.[1]

[1]*Universidad de San Pablo-Tucumán, Av. Solano Vera y Camino a Villa Nougués, San Pablo.* [2]*CERELA-CONICET, Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Argentina.*

RESUMEN

La incorporación de legumbres en nuestra dieta es de gran importancia debido al aporte significativo de nutrientes que proveen estos alimentos. Las mismas constituyen una fuente de proteínas de alto valor biológico, carbohidratos complejos, fibras, lípidos insaturados, vitaminas (principalmente B y E) y minerales (calcio, potasio, magnesio, fosforo y hierro). Además contienen diferentes fitoquímicos como péptidos bioactivos y polifenoles que les confieren propiedades funcionales. Estas características atraen tanto a consumidores que buscan obtener una dieta saludable, como a pacientes con patologías tales como enfermedad celíaca, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, y síndrome metabólico, entre otras. Una alternativa para el consumo de legumbres es la elaboración de alimentos a partir de las harinas obtenidas de su molienda, aunque éstas deben ser mejoradas o suplementadas para obtener propiedades reológicas y sensoriales aptas para la manufactura y el consumo de alimentos procesados. Asimismo, se deben disminuir o eliminar ciertos compuestos antinutricionales (FAN) como fitatos, taninos, inhibidores de proteasas, alfa-amilasa y lectinas, que limitan el aprovechamiento de los nutrientes. Para ello, la industria ha adoptado distintos métodos de procesamiento que permiten mejorar la calidad nutricional de las legumbres. Entre ellos, la fermentación de las harinas representa una alternativa atractiva por cuanto el metabolismo de los microorganismos impacta positivamente en las características nutricionales y sensoriales del producto final. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de bacterias lácticas (BAL) aisladas de legumbres del NOA y seleccionadas por sus propiedades tecnológicas, para fermentar harinas de poroto y garbanzo, mejorando las características tecnológicas y nutricionales de estas materias primas. *Lactobacillus plantarum* CRL 2211 y *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 fueron usadas en forma conjunta en una fermentación en sustrato semisólido (FSS) durante 24 h a 37°C y se determinó el contenido de inhibidores de tripsina, taninos, compuestos polifenólicos totales, y población microbiana láctica y fúngica, como también propiedades tecnofuncionales tales como capacidad de absorción de agua y aceite, actividad emulsificante y gelificante. La eficiencia del método fue comparada con otros procesamientos convencionales. La fermentación con BAL produjo cambios significativos con respecto a las harinas sin fermentar y fermentadas espontáneamente, como el incremento de la microbiota láctica, polifenoles, actividad antioxidante y disminución de FAN. También se observaron cambios en las propiedades tecnofuncionales. Los resultados obtenidos permiten considerar a este procesamiento biológico como una estrategia interesante y promisoria para el mejoramiento de harinas de legumbres aplicables al desarrollo de nuevos alimentos de alta calidad nutricional y funcional.

Palabras clave: Legumbres, Bacterias lácticas, Fermentación, Alimentos Funcionales.

ABSTRACT

The incorporation of legumes in our diet is of great importance due to their high nutrients contribution. Legumes are an essential source of proteins with high biological value, complex carbohydrates, fiber, unsaturated lipids, vitamins (mainly B and E) and minerals (calcium, potassium, magnesium, phosphorus and iron). Besides, they contain phytochemicals such as bioactive peptides, and polyphenols that confer them functional properties. These properties have attracted the attention of both consumers that look for a healthy diet and patients with specific pathologies such as celiac disease, type-2 diabetes, cardiovascular diseases and metabolic syndrome among others. One of the alternatives for legumes consumption is the production of foods from flours obtained from the milling of grains. However, flours have to be supplemented or improved in their rheological and sensory properties in order to be suitable for the manufacture and consumption of processed foods. In addition, the manufacture process should reduce or eliminate certain anti-nutritional compounds (ANF) such as phytates, tannins, protease and amylase inhibitors and lectins, among others, which limit the nutritional quality of these products. Therefore, the industry has adopted several physic-chemical methods to improve their quality. Among them, fermentation of legume flours is an interesting alternative since the particular metabolism of lactic acid bacteria may affect positively the nutritional and sensorial properties of the derived products. Then, the aim of this work was to assess the potential of lactic acid bacteria (LAB) isolated from legumes of the NOA region and selected by their properties for fermenting bean and chickpea flours improving their technological and nutritional characteristics. *Lactobacillus plantarum* CRL 2211 and *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 were used in a solid state fermentation during 24 h at 37C and trypsin inhibitors content, tannins, phenolic compounds and lactic and fungal microbiota were determined. Some technofunctional properties such as water and oil asorption capacity, emulsion and gelling activity were also determined. Fermentation with BAL produced significant changes with respect to unfermented and spontaneously fermented flours such as the increase in lactic microbiota, polyphenols, antioxidant activity and the decrease of FAN. Changes on technofunctional properties were also observed.

The obtained results allow to consider this biological processing as an interesting strategy for the improvement of pulses flours that could be applied to the development of novel foods with high nutritional and functional quality.

Keywords: Legumes, Lactic acid bacteria, Fermentation, Functional Foods.

INTRODUCCIÓN

Las legumbres (frutos y semillas de la Familia de las Leguminosas, art. 877 del Código Alimentario Argentino) son alimentos ampliamente producidos en países de América latina, Asia y África en los que existe acceso limitado a la proteína de origen animal o se evita su consumo por cuestiones culturales o religiosas. Estos alimentos desempeñan un rol trascendente en la dieta por cuanto son fuente de proteínas (mayor que los cereales) con gran valor biológico, carbohidratos complejos, altos niveles de fibras, lípidos insaturados (ácidos oleico y linoleico), vitaminas (B y E), minerales (calcio, potasio, magnesio, fosforo y hierro) y fitoquímicos (péptidos, ácidos fenólicos, isoflavonas, etc.) con efectos beneficiosos (Campos-Vega y col., 2010, Suarez Martínez y col., 2016).

En Argentina, las legumbres no oleaginosas más cultivadas y consumidas incluyen principalmente al poroto, garbanzo, arveja, y lenteja y sus principales regiones productoras se concentran en las provincias del NOA (porotos y garbanzos) y NEA (lentejas y arvejas). La producción anual ronda las 700.000 Tn (686.488 Tn en la campaña 2017/2018), destinándose más del 90% a exportación y sólo el 10% a consumo interno como frutos secos o procesados (Fuente: Bolsa de Comercio de Rosario, https://bcr.com.ar/es/print/pdf/node/73324). Si bien los granos pueden consumirse enteros, la harina obtenida de su molienda es también un alimento de elección de grupos con patologías especiales como la celiaquía, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad y algunos tipos de cáncer gastrointestinal, por su naturaleza libre de gluten, sus nutrientes y compuestos bioactivos (Curiel y col., 2015). Sus numerosos beneficios para la salud y el medioambiente determinaron que la Asamblea de la Organización de las Naciones Unidas, declarara al 2016 como el *Año Internacional de las Legumbres* y al 19 de febrero de cada año, a partir de 2019, como el *Día Mundial de las Legumbres* con el objetivo de aunar esfuerzos para promover la producción y revalorizar el consumo de estos alimentos (A/RES/68/231 FAO/OMS, 2014).

Sin embargo, los potenciales beneficios del consumo de legumbres se contrarrestan con la presencia de numerosos factores antinutricionales (FAN) desarrollados por las plantas como estrategia de defensa contra la predación. Entre ellos se encuentra los inhibidores de amilasa, tripsina y quimotripsina, ácido fítico, saponinas, taninos y lectinas que pueden limitar su digestibilidad, haciendo necesaria su inactivación y remoción para mejorar la calidad nutricional de los granos. El ácido fítico reduce la disponibilidad de minerales ya que actúa como agente quelante de cationes divalentes (Ca^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+}) formando complejos insolubles que no pueden ser metabolizados (Luo y col., 2009). Por su parte, los inhibidores de enzimas tienen la capacidad de inhibir las actividades proteolíticas (tripsina y α-quimotripsina) dentro del tracto gastrointestinal, disminuyendo la disponibilidad de aminoácidos, además de provocar desórdenes metabólicos en el páncreas. De igual manera, los inhibidores de α-amilasa pueden causar una reducción en la digestión del almidón (Makkar y col., 2007). Los taninos tienden a formar complejos con las proteínas, disminuyendo su bioaccesibilidad y disponibilidad y son considerados potencialmente tóxicos para los animales monogástricos, por lo que el consumo de alimentos con altas concentraciones de éstos compuestos puede causar toxicidad hepática y renal. Por otro lado, las lectinas son proteínas con unión específica a carbohidratos, con cierta resistencia a la cocción y digestión que pueden acceder biológicamente activas al intestino y/o circulación y ser recuperadas en las heces (Nakata y Kimura 1985). Su unión específica a los carbohidratos complementarios expresados por los enterocitos puede causar alteraciones ultraestructurales e inhibición de enzimas digestivas reduciendo así la función absortiva y la utilización de los nutrientes (Zárate y Pérez Chaia, 2012).

Desde el punto de vista tecnológico, las harinas de legumbres también poseen algunos inconvenientes para ser incluidas en productos derivados, por lo cual deben ser mejoradas o suplementadas para obtener propiedades reológicas y sensoriales adecuadas para la elaboración de alimentos. Actualmente existen diferentes métodos para mejorar la calidad nutricional y tecnológica de las harinas como el descascarado, remojo, extrusión o tratamientos térmicos (Van Der Poel, 1990; Jezierny y col., 2010). Entre los tratamientos biológicos se pueden emplear la germinación y tratamientos enzimáticos (Granito y col, 2002, Luo y col., 2009). Sin embargo, varios de estos métodos pueden degradar nutrientes, vitaminas y fitoquímicos relevantes y no remover completamente los compuestos indeseables (Shimelis y Rakshit, 2007).

En este sentido, se ha demostrado que la fermentación es un proceso biológico que puede mejorar ambas características. Esto es debido al particular metabolismo de los microorganismos intervinientes que permite la remoción de compuestos indeseables y la síntesis de metabolitos que dan características interesantes al producto final (Coda y col., 2014, 2015; Rizzello y col., 2014, Curiel y col., 2015).

La fermentación puede producirse espontáneamente por acción de la microbiota endógena que portan los granos (Rizzelo y col., 2014; Gan y col., 2016) o ser controlada por la inoculación de cultivos iniciadores (Coda y col., 2015; Jhan y col., 2015; Gan y col., 2016; Ferreira y col., 2019). Microorganismos pertenecientes a varios géneros, han demostrado ser efectivos en el proceso de fermentación de harinas de diferentes leguminosas como *Aspergillus, Cordyceps, Bacillus, Enterococcus, y Lactobacillus* (Jhan y col., 2015; Limón y col., 2015; Xiao y col., 2015, 2018; Gan y col., 2016). En particular, los cultivos iniciadores formulados exclusivamente con bacterias lácticas (BAL) revisten particular interés debido a su carácter inocuo (GRAS status de la FDA de los Estados Unidos y QPS status de la EFSA de Europa), su aporte de metabolitos bioactivos, actividades enzimáticas que aumentan la digestibilidad de azúcares complejos y proteínas y por su potencial probiótico (Rizzelo y col., 2018; Verni y col., 2019).

Numerosos estudios han evaluado el efecto de la fermentación en los FAN de legumbres (Bartkiene y col., 2014; Rizzello y col., 2016, Sáez y col., 2017, Gobbetti y col., 2019). Así, se ha obtenido la eliminación parcial o total de α-galactósidos, taninos, fitatos e inhibidores de tripsina de harinas de legumbres mediante fermentación espontánea (Granito y col., 2002) o por fermentación láctica con cepas seleccionadas de *Lactobacillus* (Coda y col., 2015; Sáez y col., 2017). Esto se debe a la presencia en los microorganismos de proteasas, glicosidasas, tanasas, fitasas, y la capacidad microbiana de ligar lectinas y bloquear su unión al epitelio intestinal. Investigaciones recientes han demostrado que las BAL, por acción de sus sistemas proteolíticos, pueden hidrolizar proteínas alergénicas y liberar péptidos tipo lunasina y AA no proteicos como el ácido γ-aminobutírico (GABA) con propiedades hipotensoras, antimicrobianas, inmunomoduladoras, hipoalergénicas, sedantes, anticariogénicas, antioxidantes, y fijadoras de calcio, entre otras (Wang y col., 2014; Rizzelo y col., 2015; Biscola y col., 2017).

Entre las principales aplicaciones de las legumbres fermentadas se puede destacar el uso de las harinas para elaborar panes y crackers (Sozer y col., 2019), bebidas (Marazza y col., 2012), productos fermentados semisólidos (Lim y col., 2019) o pastas tipo miso o hummus obtenidos a partir de soja y garbanzo respectivamente. Desde el punto de vista tecnológico, la fermentación de harinas de leguminosas por BAL suele mejorar las características generales de productos de panadería en propiedades claves que determinan la calidad de las masas, como la textura y el sabor pero también la digestibilidad y el poder antioxidante (Coda y col., 2010; Rizzelo y col., 2015; Gabriele y col., 2019). Por ejemplo, la acidificación de la masa debido a la producción de ácidos orgánicos (láctico y acético principalmente) aporta propiedades organolépticas aceptables, y puede activar enzimas endógenas de los granos como fitasas, que permiten incrementar la biodisponibilidad de minerales (Leroy y De Vuyst 2004). Además los ácidos orgánicos junto con péptidos antimicrobianos como las bacteriocinas inhiben el desarrollo de hongos y patógenos.

La proteólisis durante la fermentación, contribuye a la hidratación de la masa y a la retención de gas, y aumenta la concentración de aminoácidos debido a la actividad de sus peptidasas intracelulares (Gänzle y col. 2008). La degradación del almidón en la etapa inicial es la principal fuente de hidratos de carbono fermentables y azúcares reductores y es importante en la estructura de la miga del pan (Corsetti y col. 1998). Sólo unas pocas cepas de BAL (*Lactobacillus plantarum*, *Lb. amylolyticus* y *Lb. mannihotivorans)* presentan actividad amilasa extracelular (Gänzle y Follador, 2012). Sin embargo, la producción de exopolisacáridos por BAL en las masas mejora el volumen y la textura del pan, además de aumentar el contenido de fibra dietética (Gänzle y col. 2014).

La producción de compuestos de aroma y sabor es llevada a cabo a través del metabolismo de lípidos y compuestos fenólicos (Czerny y Schieberle, 2002). Al respecto, las BAL albergan un conjunto de enzimas para la conversión de compuestos fenólicos, como feruloil esterasas, tanasas, reductasas y descarboxilasas de ácidos fenólicos que participan en la remoción de FAN y liberación de compuestos bioactivos relevantes para la prevención de las patologías antes mencionadas (Fillanino y col., 2018). Estas enzimas han sido descriptas en cepas asociadas a matrices vegetales como *Lactobacillus plantarum, L. fermentum y Weissella spp.* (Rodriguez y col., 2009; Jimenez y col. 2014).

La fermentación de legumbres puede llevarse a cabo como fermentación sumergida o en sustrato sólido (FSS), aunque ésta última es una estrategia emergente para la producción de alimentos de mejor calidad nutricional, funcional y sensorial y se ha empleado para fermentar harinas de soja, poroto y garbanzo (Rodríguez de Olmos y col., 2015; Xiao y col., 2015; 2018; Sáez y col., 2017). En este sentido, se ha observado que panes libres de gluten elaborados con harinas fermentadas de habas resultaron mejores que los no fermentados mostrando mayor volumen y porosidad, incremento en la digestibilidad proteica, AA esenciales e índices nutricionales y de valor biológico (Sozer y col., 2019).

En el contexto expuesto, el empleo de BAL autóctonas seleccionadas por sus propiedades potencialmente beneficiosas, puede resultar relevante a la hora de elaborar alimentos a base de legumbres que representen una alternativa novedosa que incremente su consumo. Por lo tanto, el objetivo del

presente trabajo fue evaluar las propiedades nutricionales y tecnofuncionales de harinas de poroto y garbanzo fermentadas por bacterias lácticas. La Figura 1 resume la secuencia y relevancia del estudio planteado.

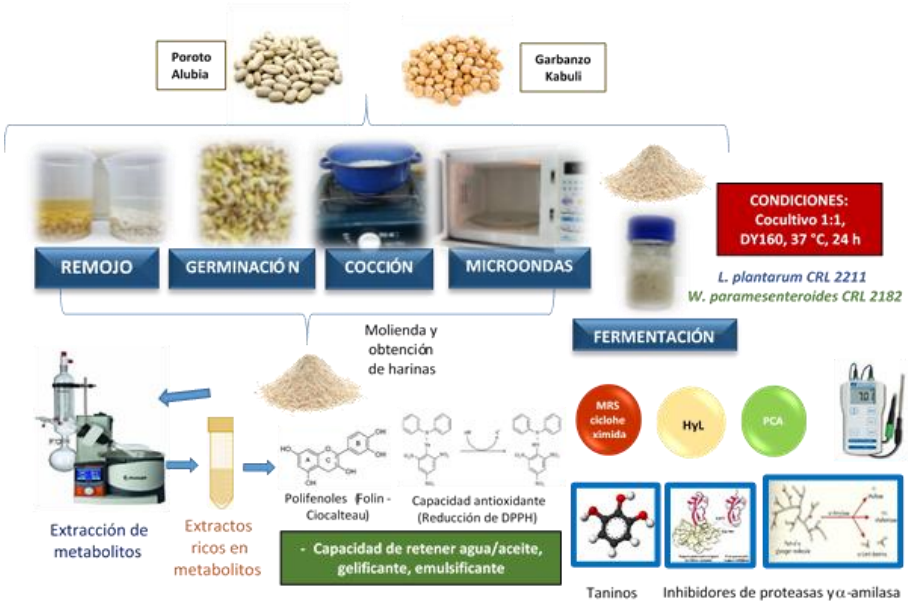


Figura 1: Secuencia esquemática del estudio y determinaciones realizadas.

MATERIALES Y METODOS

-Microorganismos y condiciones de crecimiento

Se emplearon en este estudio dos cepas de bacterias lácticas pertenecientes a la colección de cultivos del CERELA-CONICET (CRL: Centro de Referencia para Lactobacilos, CERELA, Tucumán, Argentina): *Weissella paramesenteroides* CRL 2182 y *Lactobacillus plantarum* CRL 2211. Estos microorganismos fueron aislados a partir de harinas de legumbres y caracterizados tecnológicamente en estudios previos (Sáez y col., 2017, 2018). Las cepas fueron seleccionadas por su capacidad para crecer en extractos de poroto y garbanzo, capacidad acidificante, actividad proteolítica, tanasa y galato decarboxilasa e inhibición de patógenos. Las cepas fueron conservadas a –20 ºC en leche reconstituida al 10 % (p/v) y fueron reactivadas por tres pases sucesivos cada 24 h en caldo MRS incubado a 37 °C. Cultivos activos fueron cosechados por centrifugación (7000 g, 15 min), lavados 2 veces y resuspendidos en solución salina (0,85 % NaCl) ajustando la densidad óptica a 560nm a 0,7 unidades que corresponden a una concentración celular aproximada de 10^8 UFC/mL.

-Fermentación experimental de las harinas de legumbres

Muestras de poroto alubia (*Phaseolus vulgaris*) y garbanzo kabuli (*Cicer arietinum*) provistas por el INTA-Salta (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) fueron molidas hasta harina fina empleando un molinillo de café y luego mezcladas con cantidad necesaria de agua corriente para obtener un rendimiento de masa de 160 (peso de la masa/peso de la harina) × 100. Luego del agregado de agua, las masas (100 g de peso húmedo) fueron homogenizadas, distribuidas en frascos estériles, inoculadas con el cultivo iniciador (≅ 10^7 UFC/g) (proporción 1:1 de las cepas) e incubadas durante 24 h a 37 °C. Como controles se usaron harinas fermentadas espontáneamente (24 h a 37 °C). Al T_0 (inmediatamente post-inoculación) y a las 24 h de fermentación se tomaron muestras para determinaciones microbiológicas y químicas relacionadas con la calidad nutricional y tecnofuncional de las harinas.

-Análisis microbiológico y determinaciones de pH

Fracciones de 10 g de masa fueron homogenizadas con solución salina en un disgregador mecánico (Stomacher lab-blender 400, Seward Medical, London, UK), diluidas decimalmente y

sembradas en superficie en los siguientes medios de cultivo: MRS agar (Britania, Argentina) suplementado con 0,1 % cicloheximida (Sigma, St. Louis), e incubado por 48 h a 37 °C en microaerofilia para el recuento de bacterias lácticas, y HyL agar (Britania, Argentina) para recuento de hongos y levaduras con incubación a 30°C por 5 días en aerobiosis. La acidificación de las masas fue monitoreada usando un peachímetro (Altronix TPX I, NY, USA).

-*Polifenoles totales y determinación de taninos.*

El contenido de compuestos fenólicos totales y taninos fue determinado de acuerdo a Makkar y col. (2007). Los polifenoles fueron extraídos de las masas con 70% metanol y ultrasonido (300 W) por 20 min a temperatura ambiente. Los sobrenadantes reaccionaron con el reactivos de Folin Ciocalteau 1N y las absorbancias a 725 nm fueron determinadas antes (polifenoles totales) y después del tratamiento de las mismas con polivinilpolipirrolidona (PVPP) (compuestos fenólicos no-taninos). El reactivo PVPP tiene alta afinidad por los taninos y su remoción por centrifugación después del tratamiento elimina los taninos de los extractos. La diferencia entre los valores de fenoles antes y después del tratamiento con PVPP fue tomada como medida del contenido de taninos en las muestras y expresada en equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de masa (mg GAE/100g).

-*Actividad antioxidante*

La actividad antioxidante de las muestras se determinó usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) según lo descripto por Hung y col. (2009). Brevemente, 0,1 mL de extracto alcohólico de las masas se mezcló con 3,9 mL de una solución de DPPH en metanol (6×10^{-5} mol/L), se agitó vigorosamente y se dejó reposar a temperatura ambiente por 20 minutos. La disminución de la absorbancia de la solución resultante fue determinada a 515 nm. El blanco fue preparado usando 3,9 mL de DPPH y 0,1 mL de metanol y su absorbancia fue medida como t = 0. La actividad antioxidante fue calculada como: % captura DPPH = $(1 - \text{Abs sample}_{t20} / \text{Abs control}_{t0}) \times 100$

-*Actividad inhibitoria de tripsina*

Se determinó según lo descripto por Sáez y col. (2017). Las muestras fueron preparadas con 1 g de masa y 50 mL de 0,01 M NaOH mantenidas en agitación por 3 h a temperatura ambiente. El sustrato sintético BAPNA (N-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide, 0,4 g/L en 0.05M Tris-buffer, pH 8,2) fue sometido a hidrólisis por la enzima Tripsina (20 mg/L de tripsina tipo III, de pancreas bovino, en HCl 0,001M) para producir el compuesto coloreado (amarillo) p-nitroanilida. El grado de inhibición de la producción del color por los extractos de las masas en 10 minutos a 37°C fue determinado a 410 nm usando un espectrofotómetro (Versamax, Molecular Devices, California, USA). La TIA fue expresada en milligramos de tripsina inhibida/g muestra (mg/g).

-*Actividad inhibitoria de α-quimotripsina*

En este caso, se determinaron los productos de degradación de la caseína a 280 nm producidos por una determinada concentración de quimotripsina, en presencia y ausencia de las muestras las cuales contienen las sustancias inhibidoras (Kakade y col., 1970).

-*Actividad inhibidora de α-amilasa*

Los inhibidores de α-amilasa fueron determinados a través de la reacción de los azúcares reductores producidos por la acción de la α-amilasa en presencia y ausencia de las muestras con el ácido dinitrosalicílico, y su posterior reducción a ácido nitroaminosalicílico, compuesto de color anaranjado que absorbe a 540 nm. La concentración de hidrolizados del almidón en base a una curva de calibración de maltosa se usaron para expresar la actividad de inhibidores de α-amilasa (Deshpande y col., 1982).

Propiedades funcionales de las harinas

-*Capacidad de absorción de agua y aceite:* Se determinó según el método descripto por Beuchat (1977) a temperatura ambiente (25°C), utilizando 1 g de harina en 10 mL de agua destilada (o aceite neutro) y agitando en un vortex por 30 segundos. La muestra permaneció en reposo a temperatura ambiente (25 ± 2°C) por 30 min; y seguidamente se centrifugó a 3000 rpm por 30 min. Se midió el volumen del sobrenadante en una probeta de 10 mL y se expresó el resultado como gramos de agua (o aceite) retenida por gramo de muestra.

-*Capacidad emulsionante:* Se determinó según Yasumatsu y col., (1992), para lo cual se mezcló 1 g de muestra con 20 mL de agua destilada, agitando durante 15 min. Se añadieron 7 mL de aceite neutro, nuevamente se agitó la mezcla y se centrifugó posteriormente durante 1 hora a 3000 rpm. La emulsión fue

expresada en términos de porcentaje, como la altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido.

-*Capacidad gelificante:* Se determinó según lo indicado por Chau y Cheung (1997) preparando suspensiones de la muestra en agua destilada al 4, 8, 12, 13, 14, 16, 18 y 20% (p/v). Alícuotas de estas suspensiones (5 mL) se transfirieron a tubos que se colocaron en un baño de agua a 100ºC durante 1 hora y luego en un baño de hielo durante otros 60 minutos. La menor concentración de gelificación fue aquella a la que la muestra no se desliza cuando el tubo es invertido (Chau & Cheung, 1998).

Métodos alternativos de procesamiento

A manera comparativa, las características nutricionales y tecnofuncionales de las legumbres empleadas fueron evaluadas luego de someter los granos a métodos alternativos de procesamiento como: *remojo* (en agua destilada en proporción 10% p/v, 12 h - 25 °C), *germinación* (esterilización en etanol 1 min, remojo 12 h - 25 °C, tela de algodón húmeda en oscuridad - 3 días), *cocción* (en agua corriente, 10% p/v, 100° C – 90 min), *microondas* (en agua corriente, 10% p/v, potencia máxima, 15 minutos).

Análisis estadístico:

Los ensayos y cada determinación analítica se realizaron por duplicado. Los datos presentados representan la media ± desviación estándar. La diferencia entre las medias se determinó mediante un test de Tukey luego de un ANOVA de una vía usando el programa estadístico Minitab release 14 para Windows. Un valor $p< 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fermentación es una técnica ancestral usada principalmente para la conservación de los alimentos. Sin embargo, este proceso resulta también una estrategia atractiva para remover FAN mejorando en simultáneo las propiedades nutricionales, nutracéuticas, reológicas y sensoriales de las legumbres (Ferreira y col., 2019, Verni y col., 2019, Gobbetti y col., 2019). Con este fin, en la cultura oriental suelen emplearse cultivos fúngicos (*Aspergillus, Rhizopus, Cordyceps*) o bacterias del género *Bacillus*, mientras que las fermentaciones occidentales están dominadas por BAL debido a su seguridad alimentaria y potencial probiótico y nutracéutico (Blajman y Zárate, 2020).

En el presente trabajo empleamos 2 cepas de BAL aisladas de legumbres del NOA para fermentar harina de poroto alubia y garbanzo kabuli y mejorar sus propiedades nutricionales y tecnofuncionales. El poroto alubia es un cultivo prominente en la región y la legumbre no oleaginosa de mayor producción a nivel nacional. Por su parte, el garbanzo ha incrementado significativamente en los últimos años, su área cultivada y producción en la provincia.

Como se observa en la Figura 2, ambas legumbres presentaron una microbiota endógena láctica inferior a 10^2 UFC/g y fúngica aproximada de 10^3-10^4 UFC/g. La fermentación espontánea incrementó la población de BAL y HyL en 4 y 2 órdenes logarítmicos, respectivamente. Sin embargo la inoculación con las BAL seleccionadas resultó a las 24 h de fermentación en una mayor población láctica (8,98± 0,11 log UFC/g en garbanzo y 8,60±0,08 log UFC/g en poroto) y una menor población fúngica que las harinas fermentadas espontáneamente (3,68± 0,18 log UFC/g en garbanzo y 3,70±0,31 log UFC/g en poroto). Esta microbiota con mayor dominio láctico se vio reflejada en una mayor acidificación de las masas (Tabla 1), lo cual podría impactar positivamente a nivel organoléptico en los productos derivados y en la remoción de FAN como los fitatos cuya degradación se ve favorecida a pH ácido (Di Pasquale y col., 2020).

Curiel y col. (2015) analizaron las poblaciones microbianas de masas de harinas de legumbres italianas no fermentadas y fermentadas por *L. plantarum* C48 y *L. brevis* AM7. Estos autores reportaron un número inicial de BAL de aproximadamente 1,0 a 2,5 log UFC/g, y hongos y levaduras en el orden de 1,1–3,5 log UFC/g para la mayoría de las harinas. En estas legumbres, la inoculación de las mismas con los lactobacilos seleccionados permitió incrementar la población de BAL hasta 9,8–10,2 UFC/g al final de la fermentación. Otros autores (Di Pasquale y col, 2020), emplearon también estas especies para inocular harinas de legumbres (poroto, garbanzo, arveja y lenteja) y luego de 24 h de fermentación a 30°C observaron un incremento de 2 log en la población de BAL en todas la harinas (densidad celular final de 9,54±0,05 a 9,82±0,09 log UFC/g).

.

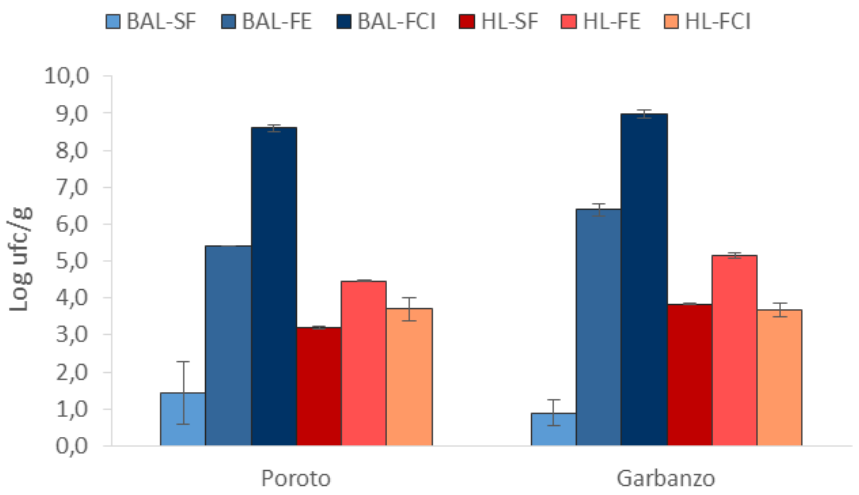


Figura 2: Recuento microbiano de las harinas de poroto y garbanzo fermentadas. BAL-SF: Microbiota láctica de masa sin fermentar; BAL-FE: Microbiota láctica de masa fermentada espontáneamente; BAL-FCI: Microbiota láctica de masa fermentada con cultivo iniciador; HL-SF: Microbiota fúngica en masa sin fermentar; HL-FE: Microbiota fúngica de masa fermentada espontáneamente; HL-FCI: Microbiota fúngica de masa fermentada con cultivo iniciador. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). La comparación se realizó por grupos microbianos, entre tratamientos, y para cada harina por separado.

Antes de la fermentación, el pH de las masas fue de 6,3±0,14 para la harina de poroto y de 6,4±0,14 para la harina de garbanzo, datos concordantes con otras masas formuladas con harinas de legumbres (Curiel y col., 2015). La fermentación espontánea por 24 horas disminuyó escasamente el pH de ambas masas y la microbiota endógena no logró disminuir el pH por debajo de 6. Por el contrario, la inoculación del cultivo iniciador produjo un efecto similar en ambas harinas acidificando significativamente las masas hasta valores próximos a 4. La fermentación láctica de otras harinas de legumbres también resultó en valores de pH que variaron entre 4,35 a 4,70 (Di Pasquale y col., 2020).

Con respecto a los FAN, los taninos e inhibidores de tripsina son responsables de la baja biodisponibilidad de las proteínas de las legumbres, por lo que su remoción resulta recomendable. Si bien la fermentación espontánea logró eliminar mínimas concentraciones de inhibidores de tripsina y taninos, la remoción de estos antinutrientes fue significativamente mayor cuando las harinas fueron fermentadas durante 24 h con *L. plantarum* y *W. paramesenteroides*. La disminución de taninos de harinas de legumbres ha sido también reportada previamente para fermentaciones con *L. plantarum* y *Weissella* (Pranoto y col., 2013; Coda y col., 2015, Curiel y col., 2015; Sáez y col, 2017) y podría deberse a las actividades enzimáticas tanasa y galatodecarboxilasa que poseen estos microrganismos.

Otros estudios han demostrado que la fermentación láctica resulta eficiente para disminuir los FAN presentes en diferentes legumbres (Granito y col., 2002; Curiel y col., 2015; Gobetti y col., 2019; Di Pasquale y col., 2020). Así, Chandra-Hioe y col., (2016) reportaron que la fermentación de harina de garbanzos y de habas con un cultivo iniciador láctico alóctono formado por *S. thermophilus* y *L delbrueckii* resultó en la disminución de 1 y 4,7% del contenido de inhibidores de tripsina. En nuestro estudio, las cepas empleadas fueron capaces de remover más del 50% de inhibidores de tripsina, lo que podría deberse al uso de cultivos autóctonos altamente adaptados a la matriz alimentaria de la cual provienen. Por su parte, Di Pasquale y col (2020) emplearon las cepas *L plantarum* MRS1 y *L. brevis* MRS4 para fermentar y mejorar las propiedades nutricionales de harinas gelatinizadas de diferentes legumbres (poroto, arveja, garbanzo y lenteja) observando disminución de ácido fítico, taninos, rafinosa e inhibidores de tripsina como también un aumento en la concentración de AA libres, digestibilidad proteica y la capacidad secuestrante de radicales libres.

Los polifenoles presentes en los vegetales son los principales responsables de la actividad antioxidante de estos alimentos y su consumo es altamente recomendado para prevenir enfermedades crónicas no transmisibles y el deterioro asociado al envejecimiento. Como se observa en la Tabla 1 el contenido de compuestos fenólicos totales fue considerablemente mayor en las masas fermentadas con BAL que en aquellas no inoculadas. La fermentación con *L. plantarum* y *W. paramesenteroides* incrementó la concentración de compuestos fenólicos desde 483±10 a 795±16 mg EAG/100g en la harina de poroto y de 476 ±15 a 997±11 mg EAG/100g en la harina de garbanzo. Di Pasquale y col (2020) también observaron un enriquecimiento de fenoles totales durante la fermentación de las harinas de

legumbres con concentraciones entre 2 a 3 veces más elevadas en las masas fermentadas que en las no fermentadas, con el mayor incremento en lentejas pero las concentraciones de fenoles más elevadas en harina de garbanzo (2,21 ± 0,03 mmol/kg). La fermentación de cereales, seudocereales y legumbres es una estrategia ampliamente usada a nivel mundial con demostrados efectos positivos en el aumento de compuestos antioxidantes de naturaleza fenólica (ácidos fenólicos, isoflavonas y otros flavonoides) y no fenólica (péptidos, exopolisacáridos, vitaminas) (Verni y col., 2019).

En concordancia, la actividad antioxidante fue también mayor en las masas inoculadas con BAL, por lo que el consumo de alimentos formulados con estas harinas podría representar un potencial beneficio para la salud del consumidor (Tabla 1). Se ha reportado que el incremento de la actividad antioxidante observada durante la fermentación láctica de diferentes variedades de harina poroto estaría asociada con la biotransformación de fenoles solubles y la liberación de compuestos fenólicos ligados (Dueñas y col., 2005; Gan y col., 2016). Al respecto, las bacterias lácticas cuentan con un arsenal de enzimas destinadas al metabolismo de los compuestos fenólicos como una estrategia de detoxificación de estos compuestos y balance energético (Filannino y col., 2018), por lo que pueden contribuir eficazmente al enriquecimiento de polifenoles en matrices vegetales.

Tabla 1: Características nutricionales y funcionales de las masas de poroto y garbanzo fermentadas. PFE: poroto fermentado espontáneamente; PF-BAL: poroto fermentado con BAL; GFE: garbanzo fermentado espontáneamente; GF-BAL: garbanzo fermentado con BAL. Medias de una misma columna con letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

	$pH_{(24h)}$	**Inh. Tripsina removidos (TIA mg/g)**	**Taninos removidos (mg EAG/100g)**	**Polifenoles totales (mg EAG/100g)**	**Act. antioxidante (mmoles EAG/mL)**
PFE	6,06±0,40[a]	0,06±0,01[a]	2,05±0,21[a]	483±10[a]	0,31±0,04[a]
PF-BAL	4,03±0,30[b]	1,71±0,77[b]	32,15±0,49[b]	795±16[b]	0,53±0,08[b]
GFE	6,12±0,13[a]	0,23±0,07[c]	6,15±0,21[c]	476±15[a]	0,49±0,09[b]
GF-BAL	4,14±0,12[b]	1,80±0,45[b]	26,2±3,68[d]	997±11[c]	0,80±0,03[c]

Métodos alternativos para el mejoramiento nutricional de legumbres

El procesamiento apropiado es más importante para las legumbres que para cualquier otro grupo de alimentos, debido a su elevado contenido de FAN. Los métodos convencionales de tratamiento incluyen el remojo, y la cocción de diferentes tipos (hervor, a presión, microondas). Los métodos biológicos como la germinación y la fermentación son menos frecuentes. La Figura 3 muestra el efecto de diferentes procesamientos en la remoción de FAN de las legumbres analizadas. La cocción fue el método más efectivo para eliminar los inhibidores de proteasas y de α-amilasas, removiendo casi la totalidad de estos compuestos. Sin embargo, la fermentación y la germinación también demostraron ser eficientes en la remoción de estos inhibidores, eliminándose más del 80 % de estos compuestos por fermentación y valores superiores al 40 % en las harinas germinadas.

Con respecto a la remoción de taninos, la fermentación produjo una disminución de estos FAN superior al 80 % (desde 7,03±0,7 a 1,33±0,6 mg EAG/100g, de taninos totales antes y después de fermentar, respectivamente), mientras que el resto de los tratamientos evaluados no presentaron cambios significativos en la concentración de estos compuestos.

En cuanto a la incidencia del procesamiento sobre la cantidad de CF, la fermentación y la germinación aumentaron su concentración. En el caso de la fermentación la concentración de fenoles totales aumentó de 466±33 a 745±25 y 1017,14±50,97 mg EAG/100g, para poroto y garbanzo respectivamente, duplicando la actividad antioxidante de las harinas. Por el contrario, los tratamientos térmicos disminuyeron este potencial.

Las propiedades funcionales de las harinas están relacionadas a sus efectos y utilidad como ingredientes en la elaboración de alimentos. En cuanto al impacto de los procesamientos en las propiedades funcionales, el remojo y la cocción disminuyeron la capacidad de retención de agua y aceite de las harinas, mientras que los tratamientos restantes no afectaron esta propiedad (Tabla 2,3). Si bien todos los tratamientos incrementaron la capacidad gelificante y emulsificante de las harinas, la fermentación potenció significativamente la formación de gel (8 % de harina fermentada requerida para gelificación vs 16 % de harina sin fermentar) y su capacidad emulsificante en un 30 %, mientras que la germinación fue el segundo método más apropiado para mejorar estas propiedades. El resto de los tratamientos no produjeron diferencias relevantes. Otros autores observaron cambios en las propiedades

funcionales de harinas de legumbres procesadas biológicamente. Así Mbata y col., (2009) determinaron que la fermentación de harina de frijol bámbara (*Vigna subterranea*) y maíz afecta a las propiedades tecnofuncionales, disminuyendo significativamente la capacidad de absorción de agua e incrementando la capacidad espumante del alimento obtenido. Por su parte, Chandra-Hioe y col., (2016) observaron que la capacidad de absorción de agua de la harina fermentada de garbanzo kabuli se incrementó, mientras que no hubo diferencias para el garbanzo desi y esta propiedad disminuyó en la harina fermentada de habas. La capacidad de absorción de aceite de estas harinas se incrementó lo que sugiere un enriquecimiento en proteína hidrofóbica insoluble y una mejor retención del flavour en el producto final. La fermentación también afectó la capacidad espumante y estabilidad de la espuma disminuyendo en general esta propiedad tanto en garbanzo como en habas fermentadas (Chandra-Hioe y col., 2016).

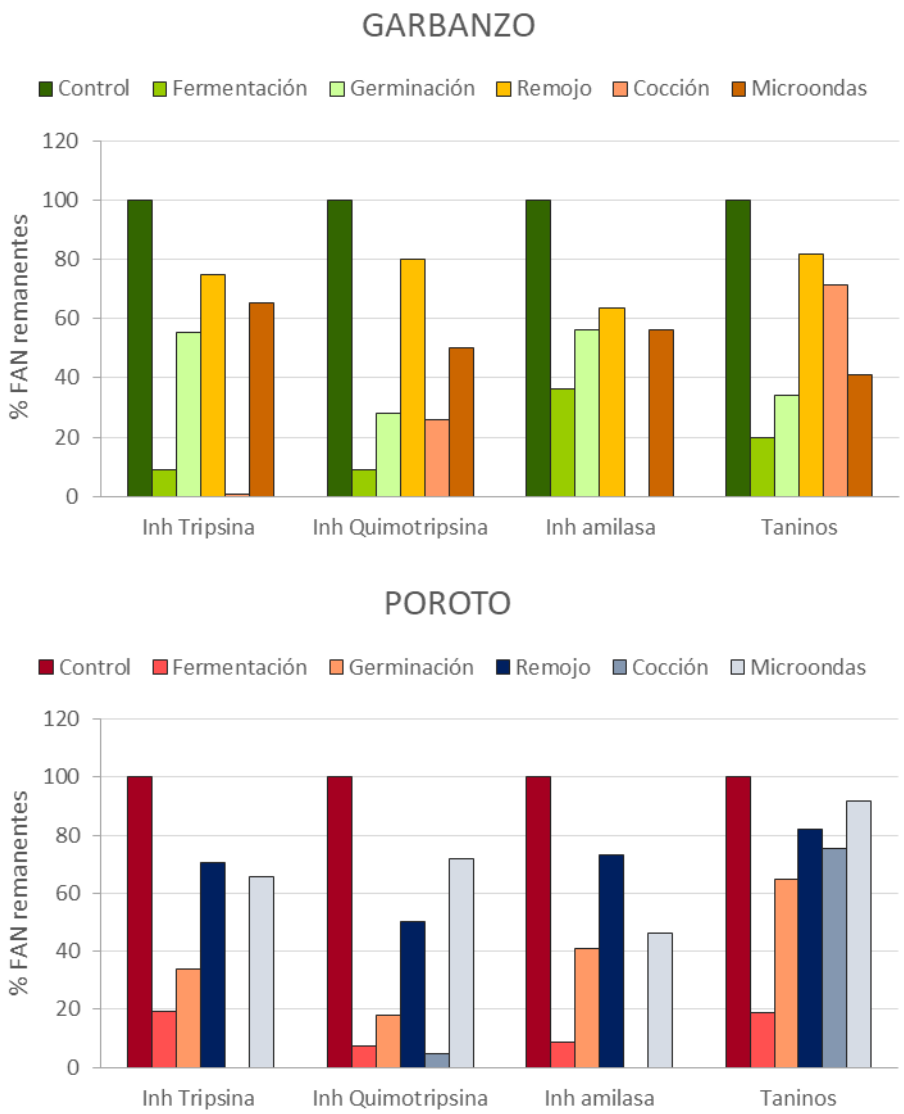


Figura 3: Porcentaje remanente de FAN en las harinas de garbanzo y poroto luego de diferentes procesamientos.

CONCLUSION

A fin de incrementar el consumo de legumbres en una población con clara tendencia al consumo de proteína de origen animal como la de nuestro país, resulta prioritario encontrar nuevas aplicaciones para estos granos e incorporarlos en alimentos novedosos y saludables. En este sentido, la fermentación con BAL puede mejorar las propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales de las materias primas vegetales, pero la correcta selección de los microorganismos y las condiciones óptimas de fermentación representan pasos claves para un resultado exitoso. En el presente estudio, dos cepas de BAL obtenidas de

legumbres cultivadas y consumidas en la región, fueron aplicadas a la fermentación de estas matrices vegetales resultando en el mejoramiento tecnofuncional de las mismas. *L. plantarum* CRL2211 y *W. paramesenteroides* CRL2182 usadas como cultivos iniciadores, en condiciones específicas (24h, 37 ºC), tuvieron influencia en la producción de compuestos bioactivos, la reducción de antinutrientes y las propiedades funcionales. La incorporación de estas harinas mejoradas en un alimento funcional derivado se encuentra actualmente en estudio.

Tabla 2: Efecto del procesamiento en la bioactividad de las masas de poroto y garbanzo. Medias de una misma columna con letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

	POROTO		GARBANZO	
Tratamiento	**Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)**	**Actividad antioxidante (mmoles AG/mL)**	**Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)**	**Actividad antioxidante (mmoles AG/mL)**
Control	466,67±33,02^{a,b}	0,29±0,03^{a}	647,14±26,19^{a}	0,41±0,01^{a}
Fermentación	745,71±24,91^{c}	0,59±0,01^{b}	1017,14±50,97^{b}	0,68±0,02^{b}
Germinación	696,19±45,05^{c}	0,53±0,02^{b}	929,05±52,96^{b}	0,60±0,02^{b}
Remojo	482,86±52,51^{a}	0,30±0,03^{a}	634,76±45,72^{a}	0,36±0,02^{a}
Cocción	354,29±70,96^{b,d}	0,19±0,04^{c}	376,19±47,86^{c}	0,19±0,01^{c}
Microondas	302,86±23,39^{d}	0,27±0,01^{a,c}	502,38±32,27^{d}	0,37±0,04^{a}

Tabla 3: Efecto del procesamiento en las características funcionales de las harinas de poroto y garbanzo. Medias de una misma fila con letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

POROTO	**Control**	**Fermentación**	**Germinación**	**Remojo**	**Cocción**	**Microondas**
Retención de agua (mL/g)	1,9±0,3^{a}	1,8±0,1^{a}	1,6±0,0^{a,b}	1,4±0,3^{a,b}	1,0±0,1^{b}	1,2±0,1^{a,b}
Retención de aceite (mL/g)	1,7±0,1^{a,b}	1,7±0,3^{a,b}	1,8±0,1^{a}	1,5±0,1^{a,b}	1,4±0,0^{a,b}	1,2±0,1^{b}
Capacidad gelificante (%)	16	8	13	13	14	14
Capacidad emulsificante (%)	23,5±2,1^{a}	30,0±2,8^{a}	27,5±4,9^{a}	25,0±4,2^{a}	22,0±0,0^{a}	23,0±2,8^{a}
GARBANZO	**Control**	**Fermentación**	**Germinación**	**Remojo**	**Cocción**	**Microondas**
Retención de agua (mL/g)	1,5±0,0^{a}	1,6±0,28^{a}	1.2±0,3^{a}	1.3±0,1^{a}	0.9±0,1^{a}	1,0±0,0^{a}
Retención de aceite (mL/g)	1,2±0,1^{a}	1,5±0,3^{a}	1,4±0,3^{a}	1,5±0,1^{a}	0,8±0,1^{a}	1,1±0,1^{a}
Capacidad gelificante (%)	16	8	12	12	13	13
Capacidad emulsificante (%)	22,0±0,0^{a}	34,5±0,7^{b}	30,5±3,5^{a,b}	29,0±1,4^{a,b}	24,5±4,9^{a,b}	24,5±3,5^{a,b}

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo contó con el financiamiento del PIP-CONICET 0319 y los Proyectos IC500, IC601 e IC802 del Instituto de Competitividad de la Universidad de San Pablo Tucumán.

BIBLIOGRAFÍA

Bartkiene E, Krungleviciute V, Juodeikiene G, Vidmantiene D, Maknickiene Z. 2014. Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. J Sci Food Agric, 95(6): 1336-42.

Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. J Agric Food Chem, 25, 258–261.

Biscola V, Rodriguez de Olmos A, Choiset Y, Rabesona H, Garro MS, Mozzi F, et al. (2017). Soymilk fermentation by *Enterococcus faecalis* VB43 leads to reduction in the immunoreactivity of the allergenic proteins β-conglycinin (7S) and glycinin (11S). Benef Microbes, 8(4): 635-43.

Blajman JE, Zárate G. (2020) Hortalizas y Legumbres fermentadas. Ferrari A, Vinderola G, Weill R. Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura. Instituto Danone del Cono Sur: Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 239-71.

Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Oomah BD. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. Food Res Int, 43: 461-82.

Chandra-Hioe MV, Wong CHM, Arcot J. 2016. The Potential Use of Fermented Chickpea and Faba Bean Flour as Food Ingredients. Plant Foods Hum Nutr, 71: 90-95.

Chau, C. F., & Cheung, P. C. K. (1998). Functional properties of flour prepared from three Chinese indigenous legume seeds. Food Chemistry, 61, 429–433.

Coda R, Di Cagno R, Gobbetti M, Rizzello CG. 2014. Sourdough lactic acid bacteria: exploration of non-wheat cereal-based fermentation**.** Food Microbiol, 37: 51-58.

Coda R, Melama L, Rizzello CG, Curiel JA, Sibakov J, Holopainen U, et al. 2015. Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean (*Vicia faba* L.) flour nutritional properties. Int J Food Microbiol, 193: 34-42.

Coda R, Rizzello CG, Gobbetti M. 2010. Use of sourdough fermentation and pseudocereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of gamma-aminobutyric acid (GABA). Int J Food Microbiol, 137: 236-45.

Código Alimentario Argentino. 1969. https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario

Corsetti A, Gobbetti M, Balestrieri F, Paoletti F, Russi L, Rossi J. 1998. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. J Food Sci, 63: 347-51.

Curiel JA, Coda R, Centomani I, Summo C, Gobetti M, Rizzello CG. 2015. Exploration of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: The pontetial of sourdough fermentation. Int J Food Microbiol, 196: 51-61.

Czerny M, Schieberle P. 2002. Important aroma compounds in freshly ground whole meal and white wheat flour e identification and quantitative changes during sourdough fermentation. J Agric Food Chem, 50: 6835-40.

Deshpande SS, Sathe SK, Salunkhe DK, Cornforth DP. 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J Food Sci, 47: 1846–50.

Di Pasquale I, Pontonio E, Gobbetti M, Rizzello CG. 2020. Nutritional and functional effects of the lactic acid bacteria fermentation on gelatinized legume flours. Int J Food Microbiol, 316: 108426.

Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Muñoz R. 2005. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with Lactobacillus plantarum ATCC 14917. J Sci Food Agric, 85(2): 297-304.

Ferreira LMM, Ferreira AM, Benevides CMJ, Melo D, Costa ASG, et al. 2019. Effect of controlled microbial fermentation on nutritional and functional characteristics of cowpea bean flours. Foods, 8: 530.

Filannino P, Di Cagno R, Gobbetti M. 2018. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. Curr Op Biotechnol, 49: 64-72.

Gabriele M, Sparvoli F, Bollini R, Lubrano V, Longo V, Pucci L. 2019. The impact of sourdough fermentation on non-nutritive compounds and antioxidant activities of flours from different *Phaseolus Vulgaris* L. genotypes. J Food Sci, 84(7): 1929-36.

Gan RY, Shah NP, Wang M, Lui W, Corke H. 2016. Fermentation alters antioxidant capacity and polyphenol distribution in selected edible legumes. Int J Food Sci Tech, 51: 875-884.

Gänzle MG, Follador R. 2012. Metabolism of oligosaccharides in lactobacilli: a review. Front Microbiol, 3: 340.

Gänzle MG. 2014. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. Food Microbiol, 37: 2-10.

Gänzle MG, Loponen J, Gobbetti M. 2008. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. Trends Food Sci Tech, 19: 513-52.

Gobbetti M, De Angelis M, Di Cagno R, Polo A, Rizzello CG. 2019. The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes, pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. Crit Rev Food Sci Nutr, 60(13): 2158-73.

Granito M, Frías J, Doblado R, Guerra M, Champ M, Vidal-Valverde C. 2002. Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. Eur Food Res Technol, 214: 226-31.

Hung PV, Maeda T, Miyatake K, Morita N. 2009. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. Food Res Int, 42: 185-90.

Jezierny D, Mosenthin R, Bauer E. 2010. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: a review. Animal Feed Sci Tech, 157: 111-28.

Jhan JK, Chang WF, Wang PM, Chou ST, Young YC. 2015. Production of fermented red beans with multiple bioactives using co-cultures of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*. LWT, 63: 1281-87.

Jiménez N, Esteban-Torres M, Mancheño JM, de las Rivas B, Muñoz R. 2014. Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains. Appl Environ Microbiol, 80: 2991-97.

Kakade ML, Swenson DH, Liener IE. 1970. Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin inhibitor activity using casein. Anal Biochem, 33: 255–58.

Leroy F, De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci Tech, 15: 67-78.

Lim XX, Koh WY, Uthumporn U, Maizura M, Wan Rosli WI. 2019. The development of legume-based yogurt by using water kefir as starter culture. Int Food Res J, 26(4): 1219-28.

Limón RI, Peñas E, Torino MI, Martínez-Villaluenga C, Dueñas M, Frias J. 2015. Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts. Food Chem, 172: 343-52.

Luo YW, Gu ZX, Han YB, Chen ZG. 2009. The impact of processing on phytic acid, in vitro soluble iron and Phy/Fe molar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). J Sci Food Agri, 89: 861-66.

Makkar HPS, Siddhuraju P, Becker K. 2007. Plant secondary metabolites. Totowa, New Jersey: Humana press.

Marazza JA, Nazareno MA, Savoy de Giori G, Garro MS. 2012. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. J Funct Foods, 4: 594-601.

Mbata TI, Ikenebomeh MJ, Ezeibe S. 2009. Evaluation of mineral content and functional properties of fermented maize (Generic and specific) flour blended with bambara groundnut (*Vigna subterranean* L). African J Food Sci, 3(4): 107-12.

Nakata S, Kimura T. 1985. Effect of Ingested Toxic Bean Lectins on the Gastrointestinal Tract in the Rat. J Nutr, 115: 1621-29.

Pranoto Y, Anggrahini S, Efendi Z. 2013. Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on in-vitro protein and starch digestibilities of sorghum flour. Food Biosc, 2: 46-52.

Rizzello CG, Calasso M, Campanella D, De Angelis M, Gobetti M. 2014. Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. Int J Food Microbiol, 180: 78-87.

Rizzello CG, Coda R, Wang Y, Verni M, Kajala I, Katina K, et al. 2018. Characterization of indigenous *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc kimchii*, *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* for faba bean bioprocessing. Int J Food Microbiol, 303: 24-34.

Rizzello CG, Hernández-Ledesma B, Fernández-Tomé S, Curiel JA. Pinto D, Marzani B, et al. 2015. Italian legumes: Effect of sourdough fermentation on lunasin-like polypeptides. Microb Cell Fact, 14: 168.

Rizzello CG, Losito I, Facchini L, Katina K, Palmisano F, Gobbetti M, et al. 2016. Degradation of vicine, convicine and their aglycones during fermentation of faba bean flour. Sci Rep, 6: 32452.

Rodríguez de Olmos A, Bru E, Garro MS. 2015. Optimization of fermentation parameters to study the behavior of selected lactic cultures on soy solid state fermentation. Int J Food Microbiol, 196: 16-23.

Rodriguez H, Curiel JA, Landete JM, de las Rivas B, Lopez de Felipe F, Gomez-Cordoves C, et al. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol, 132: 79-90.

Sáez GD, Hebert EM, Saavedra L, Zárate G. 2017. Molecular identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented kidney beans flours (*Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*) in northwestern Argentina. Food Res Int, 102: 605-15.

Sáez GD, Saavedra L, Hebert EM, Zárate G. 2018. Identification and biotechnological characterization of lactic acid bacteria isolated from chickpea sourdough in northwestern Argentina. LWT, 93: 249-56.

Shimelis EA, Rakshit, SK. 2007. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. Food Chem, 103: 161-72.

Sozer N, Melama L, Silbir S, Rizzello CG, Flander L, Poutanen K. 2019. Lactic acid fermentation as a pre-treatment process for faba bean flour and its effect on textural, structural and nutritional properties of protein-enriched gluten-free faba bean breads. Foods, 8: 431.

Suárez-Martínez SE, Ferriz-Martínez RA, Campos-Vega R, Elton-Puente JE, de la Torre Carbot K, García-Gasca T. 2016. Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. CyTA - J Food, 14(1): 131-37.

Van der Poel AFB. 1990. Effect of processing on antinutritional factors and protein nutritional value of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). A review. Anim Feed Sci Tech, 29: 179-208.

Verni M, Verardo V, Rizzello CG. 2019. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes. Foods, 8: 362.

Wang NF, Le GW, Shi YH, Zeng Y. 2014. Production of bioactive peptides from soybean meal by solid state fermentation with lactic acid bacteria and protease. Adv J Food Sci Technol, 6(9): 1080-85.

Xiao Y, Xing G, Rui X, Li W, Chen X, Jiang M, et al. 2015. Effect of solid-state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 on physicochemical and functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour. LWT, 63: 1317-24.

Xiao Y, Sun M, Zhang Q, Chen Y, Miao J, Rui X, et al. 2018. Effects of *Cordyceps militaris* (L.) Fr. fermentation on the nutritional, physicochemical, functional properties and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of red bean (*Phaseolus angularis* [Willd.] W.F. Wight.) flour. J Food Sci Technol, 55(4): 1244-55.

Yasumatsu K, Sawada K, Moritaka S, Misaki M, Toda J, Wada T, et al. 1992. Studies on the functional properties of food grade soybean products: whipping and emulsifying properties of soybean products. Agr Biol Chem, 26: 719-27.

Zárate G, Perez-Chaia A. 2012. Feeding with dairy *Propionibacterium acidipropionici* CRL 1198 reduces the incidence of Concanavalin-A induced alterations in mouse small intestinal epithelium. Food Res Int, 47(1): 13-22.

IDITEC

REVISTA ACADÉMICA

RVA

/ EDITORIAL

Ediciones USP-T

/ CONTACTO

TEL.: (0381) 453 0630

SEDE CENTRO: 24 de Septiembre 476 (S.M.T.)

SEDE CAMPUS: Av. Solano Vera y Cno. Va. Nougués, San Pablo, Pcia. de Tucumán

E-MAIL: informes@uspt.edu.ar

USP·T

UNIVERSIDAD DE SAN PABLO - TUCUMÁN

www.uspt.edu.ar