

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2012-2013

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: MURIALDO

NOMBRES: SILVIA ELENA

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: MAR DEL PLATA CP: 7600 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): silviaem@fi.mdp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

BIORREMEDIACIÓN DE EFLUENTES INDUSTRIALES

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Investigador Adjunto Fecha: 30.09.09

ACTUAL: Categoría: Investig. Independiente desde fecha: 11.12.2013

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Facultad: INGENIERIA

Departamento: QUIMICA

Cátedra: PROCESOS BIOTECNOLOGICOS

Otros: GRUPO DE INGENIERIA BIOQUIMICA

Dirección: Calle: J B JUSTO N°: 4302

Localidad: MAR DEL PLATA CP: 7600 Tel: 0223-4816600

Cargo que ocupa: JEFE DE TRABAJOS PRACTICOS

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres:

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica:

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

Firma del Director (si corresponde)

Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Desde Enero 2013 participé activamente como co-directora de la becaria de CIC la Ing. Silvina Pérez en el trabajo Caracterización de bacterias halófilas de *Engraulis anchoita* y su rol en el nivel de histamina durante la maduración de la misma que se encuentra en trámite de aceptación para el doctorado en Ing Qca en la Universidad Nac. de La Plata.

Desde el 2010-2014 colaboré en los ensayos de la becaria doctoral Mónica Galicia Giménez de Mérida, Yuc., México, en el trabajo titulado: Respuesta quimiotáctica de microorganismos anaeróbicos del rumen hacia el flavonoide daidzeína. Colaboración con Mérida, Yuc., México. Publicado en un congreso nacional y una revista indexada internacional.

En el período 2010-2012 se continuó con la aplicación del láser de speckle dinámico (del cual somos titulares de la patente que Figura en la WPO internacional: <http://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=AR5324365&recNum=1&docAn=P060104012&queryString=055432&maxRec=1>,

<http://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=AR5324365>. Esta herramienta se aplicó en la Discriminación de bacterias móviles de hongos filamentosos, este trabajo con excelentes resultados será presentado en innovar y fue publicado en una revista de alto impacto internacional .

Se continuó con el trabajo degradación de hidrocarburos de sentinas de barcos del puerto de Mar del Plata, efectuado por la Lic Melina Nisenbaum, de la cual soy directora doctoral para optar al título de DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS de la FCEyN de MdP. Como resultado se han aislado (en proceso de caracterización) bacterias que efectivamente degradan mezclas de hidrocarburos de efluentes de los barcos del puerto de Mar del Plata. Se han caracterizado efluentes de distintos tipos de barcos y se ha modelado y propuesto (en función de los resultados), un tratamiento a escala piloto de estos efluentes recalcitrantes y nocivos para la población de MdP y los turistas que asiduamente recurren al lugar. Se establecieron contactos con industrias locales que llevan los efluentes a tratamiento y disposición final a 500 km de MdP y con empresas que están diseñando equipos separadores de agua y aceite. Como fruto de ello actualmente estamos haciendo una presentación en el CIN para un posible subsidio en conjunto aportando una solución biológica en conjunto con un tratamiento físico químico de estos efluentes tóxicos. Los resultados han sido publicados en congresos y revistas indexadas internacionales, además de libros de extensión sobre vinculación tecnológica y diarios locales que vinculan la UNMdP con la sociedad. Estos resultados redundaron en nuevas líneas de investigación, y como resultado actualmente tengo bajo mi dirección una becaria postdoctoral del CONICET trabajando sobre archaeas aisladas de aguas contaminadas con HC del puerto de MdP y su potencial degradativo. Si bien durante la ejecución de este proyecto tuvimos dificultades con el equipo GC que determinaba HC, y no tuvimos subsidios para la compra del mismo, se recurrió a servicios de terceros que se abonaron con los subsidios institucionales anuales brindados por la CIC a todos sus investigadores.

Los resultados de laboratorio son extrapolados a las clases de las materias PROCESOS BIOTECNOLOGICOS E INTRODUCCION AL TRATAMIENTO DE EFLUENTES de la FI-UNMdP de la cual soy Jefe de Trabajos Prácticos.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.

PUBLICACIONES CON REFERATO EN REVISTAS INDEXADAS

22) Melina Nisenbaum, Gonzalo Hernán Sendra, Gastón Cerdá, Marcelo Scagliola, Héctor Rabal, Jorge Froilán González, and Silvia Elena Murialdo. "Hydrocarbon biodegradation and dynamic laser speckle for detecting chemotactic responses at low bacterial concentration " Journal of Environmental Sciences (ISSN 1001-0742). 2013, 25(3) 613–625.. DOI: 10.1016/S1001-0742(12)60020-5.
http://www.jesc.ac.cn/jesc_en/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=2013250324&flag=1

Abstract

We report on the biodegradation of pure hydrocarbons and chemotaxis towards these compounds by an isolated chlorophenol degrader, *Pseudomonas* strain H. The biochemical and phylogenetic analysis of the 16S rDNA sequence identified *Pseudomonas* strain H as having 99.56% similarity with *P. aeruginosa* PA01. This strain was able to degrade n-hexadecane, 1-undecene, 1-nonene, 1-decene, 1-dodecene and kerosene. It grew in the presence of 1-octene, while this hydrocarbons is toxic to other hydrocarbons degraders. *Pseudomonas* strain H was also chemotactic towards n-hexadecane, kerosene, 1-undecene and 1-dodecene. These results show that this *Pseudomonas* strain H is an attractive candidate for hydrocarbon-containing wastewater bioremediation in controlled environments. Since the classical standard techniques for detecting chemotaxis are not efficient at low bacterial concentrations, we demonstrate the use of the dynamic speckle laser method, which is simple and inexpensive, to confirm bacterial chemotaxis at low cell concentrations (less than 105 colony-forming unit per millilitre (CFU/mL)) when hydrocarbons are the attractants.

Participación de S Murialdo: directora de la becaria doctoral Melina Nisenbaum. Planeó el proyecto y elaboró hipótesis, como así también diseño de la parte experimental biológica.

21) Murialdo S E, Lucía I. Passoni, Marcelo N. Guzman, G. Hernán Sendra, Héctor Rabal, Marcelo Trivi and J. Froilán Gonzalez. 2012. "Discrimination of motile bacteria from filamentous fungi using dynamic speckle", J. Biomed. Opt. (ISSN 1083-3668) 17, 056011/1-5 (May 07, 2012);

Abstract

We present a dynamic laser speckle method to easily discriminate filamentous fungi from motile bacteria

in soft surfaces, such as agar plate. The method allows the detection and discrimination between fungi and bacteria

faster than with conventional techniques. The new procedure could be straightforwardly extended to different

micro-organisms, as well as applied to biological and biomedical research, infected tissues analysis, and hospital

water and wastewaters studies. © 2012 Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE). [DOI:

10.1117/1.JBO.17.5.056011] <http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.17.5.056011>.

Publicado en versión digital en (<http://SPIEDigitalLibrary.org/jbo>).

Participación de S Murialdo: planeamiento del proyecto y elaboración de hipótesis, como así también diseño de la parte experimental biológica.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

Review BIOREMEDIATION OF SLOP OIL POLLUTION FROM SHIPS

Melina Nisenbaum*, Benedicta Asamoah**, Jorge Froilán González*, Narjol González-Escalona**, and Silvia E. Murialdo* **ABSTRACT**

Hydrocarbons are important pollutants that accumulate in slops, resulting from the usual activity and operation of the ships, or from sank ships. The most typical slops disposition includes local burning of fuel, which tend to emit tremendous amounts of CO₂ into the atmosphere. Microbial reactions play key roles in biocatalysis and biodegradation. The recent genome sequencing of environmentally relevant bacteria has revealed previously unsuspected metabolic potential that could be exploited for useful purposes. In conjunction with their biodegradative capacities and production of biosurfactants, bacterial chemotaxis towards pollutants might contribute to the ability of bacteria to compete with other organisms in the environment and to be efficient agents for bioremediation in removal of pollutants. Several reports have

described progress in basic and applied aspects of biodegradative pathways, the characterization of biodegradation enzymes and their genes, and the use of these enzymes as industrial biocatalysts. This work reports on the importance of slops as environmental pollutants, identifying the causes of the contamination, and the best practices to reduce discharges. Also, it describes ways to recover oily sludge and how the selection of the best association of pollutant-degrading microorganisms or enzymes plays an important role in the bioremediation of hydrocarbons waste from oil slop.

1) Chemotaxis of *P. aeruginosa* and a new isolated *Achromobacter* sp toward pentachlorophenol. E. Okada y S. Murialdo.

El estudio de la quimiotaxis hacia compuestos recalcitrantes es importante ya que muchos autores sugieren que de esta manera se vería favorecería la degradación. Se han reportado la degradación y quimiotaxis hacia hidrocarburos cloro y nitroaromáticos, y aunque los CF se pueden propagar fácilmente dentro de ambientes acuáticos y contaminar agua subterráneas, no existen hasta el momento estudios de quimiotaxis hacia los CF estudiados. En un estudio reciente realizado con una bacteria degradadora de fenoles meta y orto sustituidos, los autores sugieren que la quimiotaxis juega un rol muy importante en la búsqueda activa de compuestos halogenados. El objetivo consistió en estudiar la respuesta quimiotáctica del cultivo microbiano mixto hacia PCF, 2,4,6 TCF, 2,3,5,6 TeCF y 2,4,5 TCF. Se utilizaron los ensayos de tapón de agarosa y swarming que utilizan luz blanca y se implementó un nuevo método ya utilizado y diseñado por este grupo en análisis de respuesta quimiotáctica por segmentación de muestras microscópicas captadas por videos.

Participación de S. Murialdo: Directora del proyecto y escritura del review.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

Asesoría de impacto al medioambiente al Consorcio portuario Regional de Mar del Plata (CPRMdP) durante la modificación de redes cloacales portuarias. 2013. El curso de aguas cloacales en MdP del sector portuario transcurre por una red que circula a través de toda la ciudad y culmina en Camet (al N). Cuando la red colapsa la ciudad se ve desbordada, se mezclan líquidos cloacales con los pluviales y se producen inundaciones. Por tal motivo el gobierno provincial realizó una ampliación y reemplazo de cañerías antiguas por una nueva red. Se efectuó una asesoría in situ y por escrito (privado) al sector Obras del CPRMdP. Lugar de consulta: CPRMdP. Obras. Contacto Ing. Requena y Paladino.

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

Se ha concluido aproximadamente un 50% del proyecto Biodegradación de aguas de sentinas de barcos del puerto de Mar del Plata. Dos becarias, una doctoral y otra postdoctoral, ambas bajo mi dirección se encuentran ejecutando el plan de tareas. Es un proyecto que puede ser transferible al Consorcio Portuario Regional de MdP y/o a empresas de manejo de esos residuos. Al presente hay una empresa que transporta estos residuos a tratamiento y disposición final a 500 km desde MdP. Ello trae aparejado un alto riesgo de derrames, y mayor valor agregado para los barcos que atracan en el puerto local. Como consecuencia muchas veces se vierte clandestinamente. La posibilidad de tener una planta de tratamiento "in situ", o mejorar la calidad de los efluentes durante la navegación serían metas no tan lejanas de cumplir. En este proyecto se trabaja asiduamente con esta empresa, que es la que nos provee de los residuos de sentina, y con el CPRMdP también. La generación de efluentes líquidos oleosos de sentina de buques, y su manejo inadecuado, es una de las fuentes de contaminación por hidrocarburos del Puerto de Mar del Plata, donde hasta el momento no existe una planta de tratamiento in situ para estos residuos. La existencia de instalaciones portuarias para la recepción de estos residuos y la operación de plantas de tratamiento constituyen medidas preventivas mundialmente reconocidas para eliminar o reducir las características no deseables de los efluentes con hidrocarburos. El transporte marítimo junto a la actividad pesquera, uno de los principales recursos económicos de la ciudad, constituyen los principales generadores de este tipo de residuos.

El objetivo de este trabajo de investigación consistió en adquirir la información de base necesaria para diseñar y operar una planta de tratamiento a escala piloto de aguas contaminadas con hidrocarburos provenientes de los residuos oleosos líquidos de sentina provenientes de los buques del Puerto de Mar del Plata.

En el primer capítulo de una de las tesis doctorales a concluir se detalla la caracterización física, química y microbiológica de los efluentes líquidos de sentina muestreados. Se realizó la identificación molecular de las cepas aisladas y un análisis de diversidad de cada muestra.

En el desarrollo del capítulo II, se mencionan los estudios preliminares para la aplicación de técnicas pre y post-tratamiento secundario (o biológico), como la separación por gravedad y la flotación por aire disuelto con la adición de coagulantes. Estos ensayos tuvieron por finalidad separar lodos y sólidos en suspensión, recuperar o separar hidrocarburos, metales pesados y otros compuestos no biodegradables del efluente líquido, disminuir el volumen a tratar, reducir la carga de microorganismos resultante del tratamiento, y clarificar el efluente bio-tratado (o secundario) del reactor. A continuación, se detallaron los estudios realizados con el consorcio microbiano autóctono aislado y seleccionado para evaluar su capacidad para biodegradar los compuestos hidrocarbonados del residuo como n-alcanos e hidrocarburos aromáticos. La operación de los biorreactores reveló una tasa de biodegradación de entre el 60-70% de los TPH (hidrocarburos totales del petróleo) en un tiempo de reacción de 40 días. Se demostró el crecimiento del consorcio microbiano estudiado con RLS (residuos líquidos de sentina) de diversos buques como así también la mezcla proveniente de efluentes estacionados de la empresa que transporta los residuos líquidos para disposición final. El cultivo microbiano mixto exhibió la habilidad de crecer en presencia de distintas concentraciones de RLS en el reactor como única fuente de carbono y energía. Por último se aplicó un modelo cinético no estructurado-no

segregado para la determinación de parámetros cinéticos y la predicción teórica del crecimiento de biomasa y degradación de sustrato. Los resultados de este primer estudio efectuado sobre la depuración de agua oleosa residual generada por los buques del Puerto de Mar del Plata, resultan alentadores para la aplicación de este tipo de tecnología en un futuro inmediato.

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES (*desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.*).

8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.

-PhD, Jorge Froilán González. Fac. Ingeniería. UNMdP. J B Justo 4302. B. A. tel. 0223-4816600 int. 261.

-Dra. María Isabel Passoni. Biofísica. Fac. Ingeniería. UNMdP. J B Justo 4302. B. A. tel. 0223-4816600.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

PUBLICACIONES DE DIVULGACIÓN Y EXTENSION

Artículos en libros

3) Nisenbaum M, Cerdá G, Sendra H, Passoni L, Scagliola M, Gonzalez J, Murialdo SE. Julio 2013. Biodegradación y determinación de respuestas quimiotácticas hacia hidrocarburos en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. Libro Vinculación Tecnológica Vol III (ISBN 978-987-544-494-2) p. 9-14, 3200 pp.

Abstract

Bacterial bioremediation of contaminated sites has been accepted as one of the best alternatives compared to traditional remediation methods. Microbial metabolism has the potential to provide a more efficient tool, low cost and environmentally safe. In the present study we demonstrate the ability of a strain of *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from contaminated soil and capable of metabolizing chlorophenol, to degrade pure alkenes 1-undecene, 1-octene, 1-nonene, 1-decene, 1-dodecene, the alkane n-hexadecane and kerosene. We also demonstrate the chemotactic response of *P. aeruginosa* to glycerol, n-hexadecane, 1-undecene, 1-dodecene, 1-octene and kerosene by swarming assay. Chemotaxis towards recalcitrant compounds is not always visible using traditional detection techniques because microorganism usually grow at low concentration in this substrates. In this work we report the dynamic speckle laser as usefull detection technique for chemotaxis towards HC. The classical techniques for chemotaxis detection are complicated and time and resources-consuming. The recently developed dynamic speckle laser method is a usefull tool to confirm bacterial chemotaxis at low cell concentrations (less than 105 CFU/ml) with hydrocarbons as the attractants. The results of this work are the basement to study the degradation of hydrocarbons mixtures in reactors that could possibly be

applied in industries, and provide a tool to assist in the choice of microorganisms to use for the best understanding in the reactor modelling.

S. Murialdo ha participado como directora de este trabajo de extensión llevado a cabo entre la Universidad pública y el gobierno provincial (CPRMdP).

ARTICULOS de DIVULGACION LOCAL

10- Murialdo, Passoni, Guzmán, Sendra, Rabal, Trivi, González. 28/10/2012. Aplicaciones del Láser de Speckle dinámico en microbiología. Diario La Capital. Mar del Plata. Pag. 11.

Abstract

Bacterial motility is one of the most relevant subjects in pathogenesis and biodegradation areas. In this work we propose a methodology for the analysis of bacterial motile response using image sequences obtained with biospeckle laser technique.

Bacterial motility has long been suspected to be of importance in biodegradation and pathogenesis of infections. New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections would be applied to new vaccine development, and comprehension of factors that enhance the transmission of pathogens.

Some optical techniques have been used for characterization of cells and bacteria motility and chemotaxis. For example, a laser-diffraction capillary assay was developed by Schmidt et al to measure bacterial random motility coefficients in semi-solid media. Recently, Wei Tan has demonstrated that it is possible to use Optical Coherent Tomography (OCT) to evaluate dynamic cell behavior. They investigated and characterized in thick tissue models a variety of cell processes, such as chemotaxis migration, proliferation, de-adhesion, and cell-material interactions. The images obtained by the OCT technique were compared with the images obtained by confocal microscopy (CM). Both techniques require complex and expensive equipment.

In the early 1960s the early users of the laser discovered that when illuminating a diffusion surface they observed a granular pattern of high contrast. At first they called the effect "granularity", but soon the name "speckle" became more popular. The structure of this granularity presents an irregular pattern and is appropriately described by the statistic and probability theory methods.

The biological samples as well as others dynamic processes (blood flow, vibrations, etc.), when they are observed with coherent illumination present dynamic speckle. This phenomenon is originated by the light phase change interference produced by the movement of particles where the reflection takes place (scatterers). Speckle dynamic gives information of the speed of the sample scatterers centers. It is a random pattern of interference that is described with statistical methods. Their properties and applications extensively have been treated in literature. The speckles originated in biological samples are called biospeckles. Segmentation of image laser speckle regions based on its dynamics has been approached using specific algorithms.

These antecedents lets assume that the activity assessment of the speckle patterns could be an alternative method to detect different grades of bacterial motility. In this work several results of dynamic laser speckle are shown to evince motile response of *P. aeruginosa* toward attractants.

An optical set up and a set of different algorithms are proposed for acquisition, storage and processing of the speckle patterns image sequences. Several algorithms that have presented encouraging results in previous experiences will be

analyzed for processing the frame sets, as the detection of non visible bruising in apples and the corn seeds viability.

SMurialdo ha participado diseñando los ensayos biológicos y en el trabajo en conjunto durante los experimentos con los especialistas en láser del CIOP y la UNMdP.

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

9) 2013- Co director de Silvina Pérez (DNI 31554678) en la beca de estudio 2013 de la CIC acta 1379 Anexo II modalidad B, cuya directora es la Ing. María Isabel Yeannes de la FI. UNMdP. Tema: aislamiento y caracterización de microorganismos de la anchoita salada y procesada.

8) 2010-2015 Director de la Lic. Melina Nisenbaum (CUIL 27-28187758-0) para acceder al título de Doctora (oca OCA 2244) en Ciencias Biológicas de la UNMDP. Becaria del CONICET. Actual BECA INTERNA DE POSTGRADO TIPO II por el término de 24 meses a partir del 1º de abril de 2013 (RESOLUCIONd NRO 4197). Anterior beca tipo I resolución D nro 204 CONICET. Tema: Biodegradación de hidrocarburos de sentinas de barcos del puerto de MdP.

7) 2010-2012 Colaborador en la formación de la doctoranda en ciencias agropecuarias: Mónica Marcela Galicia Jiménez. Asistente en ensayos quimiotácticos del flavonoide daidzeína en microorganismos anaeróbicos. Instituto de Genética. Universidad del Mar. Campus Puerto Escondido. Ciudad Universitaria, Carretera Vía Sola de Vega, Puerto Escondido, San Pedro Mixtepec, Juquila, Oax., México C.P. 71980.

6) 2010-2012 Colaborador en la formación del doctorando Ing. Marcelo Guzmán, asistente en ensayos microbiológicos. UNMdP. Becario del CONICET. Tema: Aplicaciones de láser de speckle dinámico.

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

8) 2010-2015. Director de la Lic. Melina Nisenbaum para acceder al título de Doctora en Ciencias Biológicas de la UNMdP. Tema: Caracterización y Alternativas Biológicas de Tratamiento de Aguas de Sentina Contaminadas Con Hidrocarburos Provenientes de Buques del Puerto de Mar del Plata

7) 2010-2012. Colaborador en la formación de la doctoranda en ciencias agropecuarias: Mónica Marcela Galicia Jiménez. Asistente en ensayos quimiotácticos del flavonoide daidzeína en microorganismos anaeróbicos. Instituto de Genética. Universidad del Mar. Campus Puerto Escondido. Ciudad Universitaria, Carretera Vía Sola de Vega, Puerto Escondido, San Pedro. 6 Mixtepec, Juquila, Oax., México C.P. 71980.

6) 2010-2014. Colaborador en la formación del doctorando Ing. Marcelo Guzmán, asistente en ensayos microbiológicos en su tesis de aplicaciones del láser de speckle dinámico. Fac. Ing. UNMdP.

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

PRESENTACIONES EN CONGRESOS Y SIMPOSIOS CON REFERATOS

45) Primer Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires

Comisión de Investigaciones Científicas (CIC). 19 y 20 de septiembre de 2013. Lugar: La Plata. Perez, Silvina; Yeannes, María Isabel; Murialdo, Silvia. "Halófilas en anchoita quimiotácticas hacia histidina y/o histamina". Poster.

Silvia Murialdo es la codirectora de la becaria de CIC S. Pérez.

44) Primer Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires. 19 y 20 de septiembre de 2013. La Plata, Buenos Aires, Argentina. Melina Nisenbaum, Murialdo Silvia, Pérez, Silvina, González Jorge. "Tratamiento de hidrocarburos tóxicos del Puerto de Mar del Plata. Poster.

Silvia Murialdo es la codirectora de la becaria doctoral de CONICET Melina Nisenbaum.

43) XIII Congreso Argentino de Microbiología y Congreso de Microbiología Agrícola y Ambiental. 23 al 26 de septiembre de 2013, CABA, Buenos Aires, Argentina. Nisenbaum M., Durruty I, González J. F., Murialdo S. E. " Enriquecimiento un consorcio microbiano indígena de sentinas en un Reactor Secuencial Batch, para el tratamiento de hidrocarburos. Revista Argentina de Microbiología Vol 45 Suplemento I 0325-7541.

Silvia Murialdo es la codirectora de la becaria doctoral de CONICET Melina Nisenbaum.

42) VII CONGRESO DE MICROBIOLOGÍA GENERAL. Samige. 4 al 6 de julio de 2012, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. "Bacterial mobility through varied density substrates". Nisenbaum M, Guzmán M, Passoni I, y Murialdo S E, González J F, Rabal H y Trivi M. Poster.

Silvia Murialdo es la codirectora de la becaria doctoral de CONICET Melina Nisenbaum. Ha diseñado experimentos, escrito papers y congresos además de supervisar tareas.

41) I Congreso Internacional De Ciencia Y Tecnología Ambiental, Y I Congreso Nacional De La Sociedad Argentina De Ciencia Y Tecnología Ambiental. Mar del Plata, Mayo 2012. Mónica Marcela Galicia-Jiménez, Rafael Rojas-Herrera, Melina Nisenbaum, Carlos Sandoval-Castro, Héctor Magaña-Sevilla and Silvia Elena Murialdo. "Chemotactic Response of the Flavonoid Daidzein and its Effect on the Composition of the Rumen Bacterial Community". ISBN 978-987-28123-0-0 Bs. As. Poster:

Silvia Murialdo ha asesorado a la actual doctora Galicia Jiménez en los ensayos de quimiotaxis.

40) I Congreso Internacional De Ciencia Y Tecnología Ambiental, Y I Congreso Nacional De La Sociedad Argentina De Ciencia Y Tecnología Ambiental. Mar del Plata, Mayo 2012. M Nisenbaum, G H Sendra, L I Passoni, J F González and Silvia E Murialdo. "Dynamic Laser Speckle for Detecting Chemotactic Responses Towards Recalcitrant Compounds". ISBN 978-987-28123-0-0 Bs. As. Poster:

S. Murialdo ha asesorado en los ensayos de quimiotaxis, escrito papers, y congresos.

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

13) 15G/364 ING 370/13 Director: González, Jorge Froilán, Alternativas de tratamiento de contaminantes 1/1/2013 hasta 31/12/2014. \$ 15000.

12) 22-10-2012 N° 2410/12. Subsidios Institucional para Investigadores CIC \$ 5.600. Director: Murialdo Silvia.

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO. *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA. *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

14-16/11/2012. Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior. CAPES Curso de postgrado FUDAMENTOS EN EVOLUCION MOLECULAR dictado por el Profesor Mauricio Bacci Jr. Brasil. Directora de la parte argentina en la Coordinación General de Cooperación Internacional CGCI. BRASIL-ARGENTINA. Ofico Nro 491/2011-CSS/cgci/dri/capes 99423/2011. Total 10 hs durante los días que duró el curso.

19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

El desempeño docente de S. Murialdo cubre un total de ocho horas semanales, es decir un 18 % de las tareas totales.

11) 2012- Jefe de trabajos prácticos regular exclusivo de la materia Procesos Biotecnológicos el primer cuatrimestre con asignación de funciones en la materia Introducción al tratamiento de efluentes industriales de las carreras Ingeniería Químicas e Ing. en Alimentos de la Fac. Ing. UNMDP. Cargo concursado por antecedentes y oposición. OCA 1298. 3/4/2012.

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

-ANTECEDENTES COMO EVALUADOR

16) 9/8/2012 Evaluador del PICT-2012-1499 Título: Nuevos compuestos antimicrobianos producidos por cepas nativas de *Pseudomonas fluorescens*: su Importancia en la competitividad bacteriana y aplicación en el biocontrol de bacterias fitopatógenas.

15) 12/2012 Evaluador del trabajo: IJMR-12-061 Spore development and biofilm formation, para International Journal of Microbiology Research (IJMR). ISSN: 2079-2093.

14) 7/2012 Evaluador del trabajo: JIMB-D-12-00699 A low molecular mass cutinase of *Thielavia terrestris* efficiently hydrolyzes Poly(esters), para Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.

13) Evaluador del trabajo: Uso de índices de calidad de agua como herramienta de gestión ambiental: estudio de caso Arroyo Sarandí. Departamento de Ingeniería Química, Facultad Regional Avellaneda Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina. I Congreso de Ingeniería CADI 2012. 8 – 10 de agosto/2012, Mar del Plata, Argentina.

12) Evaluador del trabajo: "Microbial Transformation of 2-Amino-4-methyl-3-nitropyridine" nro. JIMB-D-12-00444 para Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. 2012.

11) Evaluador del trabajo JIMB-D-12-00494: BIOTIC FACTOR DOES NOT LIMIT OPERATIONAL pH IN PACKED-BED BIOREACTOR FOR FERROUS IRON BIOOXIDATION para Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. ISSN: 1367-5435. 2012

COLABORACIÓN INTERINSTITUCIONAL:

Actualmente S. Murialdo colabora con grupos consolidados: El Dr. Héctor Rabal del CIOP (Universidad Nacional de La Plata), la Dra. María Karina Herrera Seitz del IIB. FCEyN UNMdP, el Dr. Narjol González Escalona de U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, United States, Microbiology, y La Dra. Mónica Marcela Galicia Jiménez de Mérida Yucatán México.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

TITULO: Biodegradación y bioemulsificación de hidrocarburos de aguas de sentinas provenientes del puerto de Mar del Plata.

Este trabajo formará parte de la culminación de la tesis doctoral de Melina Nisenbaum y comienzo de la becaria de postgrado Georgina Corti Monzón. De ambas soy directora de beca y tareas.

Los hidrocarburos (HC) son a menudo los principales contaminantes de los ambientes costeros (Sonja, 2006). Son numerosas sus fuentes de procedencia, entre ellas se encuentran las sentinas de los barcos que son residuos que se generan en los buques en su operación normal y están formados por líquidos provenientes del cuarto de máquinas, restos de combustibles, aceites lubricantes, agua de mar, entre otros. La legislación internacional limita o prohíbe realizar el vertido de aguas de sentina en el mar. El puerto de MDQ carece de tratamiento in situ de este tipo de residuo, que afecta la calidad de vida circundante ya sea porque es un centro turístico importante o por su cercanía a áreas sensibles en el sur del puerto de Mar del Plata, donde se encuentra una reserva ecológica.

Actualmente algunos barcos poseen a bordo equipos que separan En los depósitos de sentinas en los barcos, se produce una separación inicial de la de la fase oleosa de la fase acuosa. La fase oleosa puede ser reutilizada parte como combustible y parte debe ir a tratamiento y posterior disposición final, al igual mientras que la fase acuosa requiere la remoción de HC, tratamiento que se realiza en tierra. Los separadores tienen baja eficiencia para tratar las emulsiones que se forman entre los hidrocarburos y el agua de mar. Esta emulsión puede superar el 80% aumentando considerablemente el volumen a tratar. Existen tratamientos demulsificantes físicos (Nadarajah y col, 2002; Opawale y Burgess, 1998), y químicos (Ghojavand, y col, 2008) que agregan valor al tratamiento y/o deben ser posteriormente tratados (Huang, y col, 2010; Bordoloi, y col, 2008). La presencia de emulsiones aceite-agua en estos residuos incrementa considerablemente el volumen a tratar, aumentando los costos del proceso. Actualmente se emplean agentes demulsificantes químicos que requieren un tratamiento posterior, lo cual incrementa aún más los costos.

En relación a la eliminación de los HC, esta suele realizarse por centrifugación y filtración, lo cual genera filtros contaminados que luego deben ser tratados.

La bio-demulsificación (eliminación/disminución de emulsiones mediante microorganismos) y biorremediación (eliminación/disminución del contenido de HC a través del metabolismo microbiano) son estrategias de bajo costo y bajo impacto ambiental que se presentan como alternativas interesantes para realizar el tratamiento de las sentinas.

En el grupo de Ingeniería Bioquímica (GIB) se cuenta con bacterias que crecen y degradan HC alifáticos puros (-Nisenbaum y col, 2013 y 2014; D'Ippólito y col, 2011), y

se ha aislado y caracterizado un consorcio de bacterias (con capacidad degradativa de HC) a partir de aguas de sentinas de buques del puerto de Mar del Plata (Melina Nisenbaum, tesis doctoral en curso). En el presente proyecto se optimizará la capacidad degradativa de HC presentes en aguas de sentinas, y se por el consorcio de bacterias autóctono previamente identificado. También se evaluará, caracterizará y optimizará la capacidad de demulsificación de dichos microorganismos especies autóctonas de sentinas y otras más aisladas en nuestro laboratorio (Nisenbaum y col, 2013, 2014). Así, el proyecto pretende generar información necesaria para poder diseñar y operar una planta de tratamiento de HC de aguas de sentinas del puerto de MDQ. A su vez, la información también podría se utilizada para el tratamiento de otros residuos similares contaminados con HC.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

Lograr información necesaria para diseñar y operar una planta de tratamiento de aguas contaminadas con HC de los residuos de sentinas de buques procedentes del puerto de MDQ, o de residuos con características similares.

Objetivos específicos:

- 1) Analizar y estimular la capacidad bio-demulsificante de las cepas degradadoras de HC aisladas en el grupo de Ingeniería Bioquímica.
- 2) Establecer las mejores condiciones de degradación de HC presentes en aguas de sentinas por un consorcio bacteriano autóctono.
- 3) Modelar matemáticamente y simular un reactor para evaluar su estabilidad de operación y efecto de las principales variables estudiadas. El mismo podrá ser propuesto para el tratamiento de aguas de sentina del puerto de Mar del Plata. ver
- 4) Analizar la especificidad o preferencia de hacia HC puros de cepas bacterianas aisladas a partir de las sentinas.
- 5) Establecer el grado de toxicidad del efluente HC luego de su tratamiento biológico.

ANTECEDENTES: HIPOTESIS

Los biodemulsificadores son sustancias producidas por microorganismos y su uso es un campo de relativamente reciente exploración (Liu y col, 2009; Amirabadi y col. 2013). Comparados con los demulsificantes químicos, los biodemulsificantes pueden ser aplicados a un amplio rango de emulsiones de petróleo crudo, tienen la ventaja de alta biodegradabilidad y especificidad, baja toxicidad (no causan contaminación secundaria), son resistentes a un amplio rango de temperaturas, salinidad, a cambios en el pH y no generan un valor agregado al tratamiento, ni requieren postratamiento (Stewart y col. 1983; Huang y col. 2013). Además, al ser generados por bacterias, se pueden producir a partir de sustancias renovables y de poco valor (Desai y Banat, 1997; Fiechter, 1992; Liu, 2009). De gran importancia es que el crecimiento bacteriano y la demulsificación pueden ocurrir simultáneamente y los microbios pueden ser re-usados. Ellos son inicialmente adsorbidos a la interfase agua-aceite y subsecuentemente facilitan la coalescencia progresiva de la fase dispersa.

Además de su aplicación en industrias petroquímicas, los bioemulsificadores tienen potenciales aplicaciones en minería, en procesamiento de combustibles nucleares, producción de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, entre otros (Huang y col. 2013).

Se han aislado varios microorganismos bio-demulsificadores (ej. Das, 2001; Amirabadi y col, 2013; Huag y col. 2013) y se ha estudiado la capacidad demulsificante de un cultivo mixto bacteriano (Nadarajah y col, 2002), sin embargo no hay estudios previos al respecto en aguas de sentinas.

En el Grupo de Ingeniería Bioquímica de la Facultad de Ingeniería de Mar del Plata (UNMDP) se hacen estudios y modelados de reactores para optimizar el tratamiento

físico-químico-biológico de aguas residuales contaminantes. En el grupo se ha aislado y identificado una variedad de microorganismos capaces de degradar HC (Murialdo y col, 2003; Wolski y col, 2006; Nisenbaum y co. 2013; Nisenbaum y col. 2014). En relación al puerto de Mar del Plata, la Lic. Melina Nisenbaum (como parte de su tesis doctoral en curso) ha aislado e identificado, a partir de sentinas de barcos del puerto, un consorcio de bacterias capaces de degradar HC, siendo este el primer trabajo en donde se estudia la biodegradación de HC en sentinas del puerto. Por otro lado, actualmente (en el marco de un postdoctorado) estoy analizando la capacidad degradativa de HC de *Halomonas* sp. KHS3, una bacteria aislada de manchas de HC del agua de mar del Puerto de Mar del Plata. Los resultados indican que esta bacteria posee capacidad de degradar HC (crece en kerosene, fenantreno, nafta, gas-oil como único recurso de carbono, y tiene en su genoma una gran cantidad de genes de degradación de compuestos aromáticos) y tiene potencialidad de degradar en diferentes condiciones ambientales, pues es capaz de crecer a diferentes temperaturas (de 4 ° C a 37 ° C), a pH entre 6 y 10 y diferentes concentraciones de NaCl (de 0,5 a 12% p/v de NaCl).

La eficiencia de la bio-demulsificación depende de la composición del medio de cultivo, de el/los microorganismos presente/s y de las condiciones de crecimiento (Najafi y col, 2011; Mukherjee y col, 2006; Kosaric et al, 1983, 1987). Si bien, como se comentó previamente, la emulsificación es uno de los problemas a la hora del tratamiento de las aguas de sentina, no hay estudios sobre microorganismos demulsificantes en dichos residuos. Por lo tanto, uno de los objetivos del presente proyecto es evaluar, caracterizar y optimizar la capacidad de demulsificación de las especies aisladas en nuestro laboratorio utilizando: a-emulsiones modelo empleadas por otros autores, y b-aguas de sentinas.

Por otro lado, el tratamiento de las aguas de sentina para la eliminación de los HC contaminantes mediante el empleo de microorganismos (biorremediación) es una estrategia sumamente interesante. La biorremediación bacteriana en sitios contaminados ha sido aceptada como una de las mejores alternativas respecto a los métodos de remediación tradicionales. El metabolismo microbiano tiene el potencial de proveer una herramienta eficiente, de bajo costo y segura ambientalmente (Hebes y Schwall, 1987; Pieper y Reineke, 2000; Sonja, 2006; Zhang y col, 2011). La habilidad de degradar HC, sobre todo poliaromáticos (HPAs) como naftaleno y fenantreno, se ha demostrado en muchas cepas bacterianas (Haritash y Kaushik, 2009; Dastgheib y col. 2012).

Como previamente se comentó, durante el desarrollo de su tesis doctoral la Lic. Melina Nisenbaum aisló y caracterizó un consorcio de microorganismos degradadores de HC provenientes de sentinas de barcos del puerto de Mar del Plata. También puso en marcha un reactor discontinuo (batch) para el tratamiento de aguas de sentinas. En este plan de trabajo se plantea continuar con dichas investigaciones preliminares y optimizar las condiciones de operación del reactor a fin de optimizar la degradación de HC de las aguas de sentinas por dicho consorcio bacteriano. La configuración batch se ha elegido debido a que las descargas de sentinas son también discontinuadas durante el año. En un futuro, según el desempeño logrado con reactores discontinuos en caso de ser necesario, se podrán optimizar las condiciones para un reactor Fed batch a fin de tratar caudales de alimentación continuos. Por otro lado, se describirá la especificidad/preferencia hacia de HC de dichas cepas bacterianas aisladas de sentinas.

Con los resultados obtenidos de la optimización del funcionamiento del reactor, se procederá a un modelado matemático y simulado de un reactor para el tratamiento de aguas de sentina.

Por lo tanto, en este plan se buscarán estrategias alternativas de bajo costo para el tratamiento de aguas de sentinas, buscando microorganismos demulsificantes que colaboren con a la reducción del volumen de agua residual a tratar en tierra y la

eliminación de los HC contaminantes remanentes mediante su mineralización con microorganismos degradadores de HC. A su vez este trabajo abrirá un campo de investigación en biodegradación de mezclas de sustancias tóxicas.

El encontrar microorganismos degradadores de HC que a su vez posean capacidad bio-demulsificante generaría la ventaja de un efecto dual durante el tratamiento de aguas de sentinas. Por lo antedicho este plan pretende contrastar la hipótesis que el agua de sentinas tiene microorganismos autóctonos capaces de degradar y demulsificar HC presentes en dicho efluente industrial. El manejo de variables de operación en un reactor discontinuo permitirá optimizar el proceso a fin de obtener información de base a escala laboratorio.

La información generada podrá ser útil no solo para el tratamiento de aguas de sentinas, sino también para el tratamiento de otras aguas contaminadas con HC de características similares, como por ejemplo aguas provenientes de la extracción de petróleo por el método de fracturación hidráulica (también conocida por el término en inglés fracking).

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
 - a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período".
 - c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
 - a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: infinvest@cic.gba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.