



CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO Informe Científico¹

PERIODO²: 2016

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: ARCE

NOMBRES: VALERIA BEATRIZ

Dirección Particular: Localidad: City Bell

Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):

varce@ciop.unlp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas fabricadas con química húmeda y por ablación láser de pulsos cortos. Aplicaciones a la biología y el medioambiente.

PALABRAS CLAVE (HASTA 3) nanopartículas ablación láser plasmónica

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asitente Fecha: 5/7/13

ACTUAL: Categoría: Asitente desde fecha: 5/7/13

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: CIOp

Facultad:

Departamento:

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: Cno. Centenario y 506 Nº: -

Localidad: Gonnet CP: 1897 Tel: 484-0280

Cargo que ocupa: Invetigador Asitente

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

Apellido y Nombres: Schica Daniel

Dirección electrónica: daniels@ciop.unlp.edu.ar

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 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-206, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.





Firma del Director (si corresponde)	Firma del Investigador

6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

1) Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas, bimetálicas y con estructuras core@shell conformadas por un núcleo metálico y un recubrimiento dieléctrico o con núcleo dieléctrico y recubrimiento metálico.

Fabricación de nanopartículas metálicas por procesos físicos: ablación con pulsos ultracortos intensos de luz (utilizando un láser de femtosegundos de Ti:Za). Análisis de mecanismos.

Síntesis química de partículas metálicas, bimetálicas y con estructuras core@shell conformadas por un núcleo metálico y un recubrimiento dieléctrico, con núcleo dieléctrico y recubrimiento metálico.

2) Estudio de las aplicaciones de las nanopartículas sintetizadas para efectos bactericidas y sensores de contaminantes orgánicos.

Se desarrollan películas nanocompuestas biodegradables, con el fin de obtener envases con capacidad antimicrobiana aptos para alimentos.

Evaluación de la capacidad de los nuevos materiales como sensores para detectar contaminantes orgánicos. Se realiza un seguimiento del pico del plasmón y un estudio del FWHM de las suspensiones de AgNP en función de la concentración de contaminante.

7. 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, explicite la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Resultados y Discusión

1- Fabricación de nanopartículas de plata en dimetilsulfóxido

Se fabricaron nanopartículas de plata por ablación utilizando un láser de Ti:Za de pulsos ultracortos de 100 fs de duración y una longitud de onda central en 800 nm, enfocado sobre un blanco sólido de plata sumergido en agua destilada, dimetilsulfóxido (DMSO) y en mezclas de dichos solventes, utilizando energías de 100 μJ y 500 μJ. Se observa que cambia la forma del espectro y que el pico del plasmón muestra un pequeño desplazamiento hacia menores longitudes de onda. Además también puede observarse un aumento en el FWHM a medida que aumenta la cantidad de DMSO en la mezcla de solventes. Estas diferencias podrían explicarse por la presencia del solvente orgánico (DMSO) rodeando la partícula, éste estaría actuando como capping y estabilizando a las AgNPs, el corrimiento observado puede deberse a la esta interacción. A medida que se incrementa la cantidad de solvente orgánico los cambios en los espectros de extinción se hacen cada vez más notorios, llegando hasta "apagar" el plasmón de las AgNPs cuando son preparadas en DMSO puro. Esto puede deberse a la formación de una capa de carbono amorfo sobre las AgNPs que hace imposible observar el plasmón. Se continúa con el estudio e interpretación de los mecanismos asociados a este tipo de fenómenos.

2- Síntesis de nanopartículas de Ag estabilizadas con sustancias húmicas





Se sintetizaron AgNP estabilizadas con ácidos húmicos mediante una modificación de la técnica propuesta por Houshen Li (2014), a partir de la cual es posible obtener suspensiones monodispersas de nanopartículas esféricas. Brevemente, sobre una solución de ácido ascórbico en ebullición se añadieron consecutivamente una solución acuosa de AgNO3 y ácidos húmicos, también se agregó NaCl o Na2SO4. La mezcla se mantuvo en ebullición con agitación durante una hora para garantizar la formación de AgNPs. También se fabricaron nanopartículas de plata por ablación utilizando un láser de Ti:Za de pulsos ultracortos de 100 fs de duración y una longitud de onda central en 800 nm, enfocado sobre un blanco sólido de plata sumergido en soluciones de ácidos húmicos. Las mismas fueron caracterizadas mediante espectroscopía de absorción óptica, que confirma la formación de AgNP ya que presenta el plasmón característico, mediante los estudios de TEM fue posible conocer el tamaño de las nanopartículas sintetizadas.

3- Estudio de las aplicaciones de las nanopartículas de plata Aplicación en tecnología de alimentos: Se realizó el estudio de la capacidad antimicrobiana de las nanopartículas de plata. Se prepararon películas de almidón de maíz con AgNP con una concentración final de Ag en las películas entre 14 y 143 ppm. Se prepararon suspensiones acuosas de almidón de maíz comercial de concentración 3% p/v. Sobre suspensiones filmogénicas se adicionó AgNO3 y maltosa como agente reductor, el sistema se mantuvo en agitación constante durante 20 min a 78° C, para asegurar la formación de las AgNPs, luego las suspensiones filmogénicas se enfriaron a 50° C, se agregó glicerol como plastificante. Las películas nanocompuestas exhiben una fuerte actividad antimicrobiana contra Salmonella spp., E. coli y Penicillium spp., por lo tanto, se espera que tengan un alto potencial para el uso como materiales activos de envasado de alimentos. Se seleccionaron películas que contenían 143 ppm de AgNP para evaluar su efecto sobre la vida útil de un producto lácteo. Estas películas activas fueron capaces de prolongar la vida útil de las muestras de queso fresco durante 21 días.

Aplicación como sensores de contaminantes: Se utilizaron nanopartículas de plata estabilizadas con sustancias húmicas para el estudio su posible aplicación como sensores de contaminantes. Se emplearon como modelo de contaminantes solventes orgánicos como THF, DMSO, etanol y acetona. Se realizó un seguimiento del pico del plasmón y un estudio del FWHM de las suspensiones de AgNP en función de la concentración de contaminante. Se observa que el corrimiento del pico del plasmón es proporcional a la concentración del contaminante, lo que permitiría desarrolla sensores a partir de las nanopartículas sintetizadas.

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

8.1 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. Asimismo, para cada publicación deberá indicar si se encuentra depositada en el repositorio institucional CIC-Digital.





Autores: Tamara A. Vico, Valeria B. Arce, María F. Fangio, Liesel B. Gende, Celso A. Bertran, Daniel O. Mártire, María S. Churio.

Título: Two choices for the functionalization of silica nanoparticles with gallic acid: characterization of the nanomaterials and their antimicrobial activity against Paenibacillus larvae.

Publicación: Journal of Nanoparticle Research, 2016, 18:348.

Abtract

Silica nanoparticles attached to gallic acid were synthesized from 7-nm diameter fumed silica particles by different functionalization methods involving the condensation of hydroxyl or carboxyl groups. The particles were characterized by thermal analyses and UV-vis, FTIR, NMR, and EPR spectroscopies. In comparison to free gallic acid, enhanced stability and increased antimicrobial activity against Paenibacillus larvae were found for the functionalized nanoparticles. Thus, both derivatization strategies result in improved properties of the natural polyphenol as antimicrobial agent for the treatment of honeybee pathologies.

Participación

En este trabajo he sintetizado las nanopartículas modificadas con ácido gálico por dos métodos diferentes, uno de los cuales requiere la modificación superficial de las nanopartículas de sílice con APTES. He realizado la caracterización de las nanopartículas por diferentes métodos, como FTIR, BET, TG, 13C and 29Si NMR y espectroscopía UV-vis, como también el análisis de los resultados. He participado de la discusión de los resultados y de la redacción del trabajo.

- 8.2 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, deber á escribir una breve justificación.
- 8.3 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.

Autores: Valeria B. Arce, Jesica M. J. Santillán, David Muñetón Arboleda, Diego Muraca, Lucía B. Scaffardi, and Daniel C. Schinca

Título: Characterization and Stability of Silver Nanoparticles in Starch Solution Obtained by Femtosecond Laser Ablation and Salt Reduction

Publicación: The Journal of Physical Chemistry C, 2017, aceptado para publicación en abril de 2017. DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b12384

Abstract

Silver nanoparticles (Ag NPs) colloids obtained by femtosecond laser ablation in soluble starch (st) solution and silver salt reduction methods were characterized using optical extinction spectroscopy, micro-Raman spectroscopy, transmission





electron microscopy, and zeta potential. Type, number density, and relative percentage of species were determined for the first time based on OES and Raman analysis. Both synthesis methods yield bare Ag and core-shell Ag@Ag2O spherical NPs with log-normal size distributions centered in the range 1–3 nm. Pulsed laser ablation produced also hollow Ag species. The presence of an Ag2O shell is fundamental for the antibacterial properties of Ag NPs through the production of Ag+ions. Stability studies based on the evolution of OES and zeta potential show that laser ablation method produces colloids that stabilize much faster than those synthesized by salt reduction method for a given st concentration. It was found that an increase in soluble st concentration produces a redshift of the Ag plasmon peak with respect to neat water, which is steeper for high pulse energy. Particularly, low energy pulses seem to produce more stable colloids than high energy pulses. Knowledge of these facts may be useful in synthesis of silver colloids for specific applications in biomedicine and food industry.

Participación

En este trabajo he sintetizado la fabricación de las nanopartículas de plata en presencia de almidón soluble. En este trabajo se compara la estabilidad de NPs de Ag fabricadas utilizando la técnica física de ablación láser de un blanco sólido en solución y un método de síntesis química, empleando almidón soluble como estabilizador en ambos casos. El estudio de la estabilidad se logró analizando la posición del pico del plasmón de los espectros de extinción obtenidos inmediatamente después de la preparación y luego de varias semanas. He participado de la discusión de los resultados y de la redacción del trabajo.

Autores: Active composite starch films containing green synthetized silver nanoparticles

Título: Florencia Ortega, Leda Giannuzzi, Valeria B. Arce, M. Alejandra García Publicación: Food Hydrocolloids, 2017, 70, 152-162. Aceptado para publicación en abril de 2017

Abstract

The aims of this work were to couple both the silver nanoparticles (AgNPs) synthesis, and filmogenic suspensions preparation, to characterize the obtained AgNPs and the derived nanocomposite films studying their antimicrobial capacity and developing an active packaging. One of the new approaches to this work is the use of low concentrations of AgNPs at which no adverse cytotoxic effects have been observed. Nanoparticles were characterized by spectrophotometric techniques and electron microscopy, finding that they are spherical with diameters varying between 5 and 20 nm and detecting the formation of agglomerates. The addition of AgNPs did not affect the filmogenic capacity of gelatinized starch suspension. The content of AgNPs caused a slight increase in film thickness and opacity, keeping the material UV-barrier capacity. A decrease in water vapor permeability with increasing concentration was observed. Besides, AgNPs allow the matrix reinforcement, developing a more resistant and tough material, with smooth and homogeneous surfaces, as evidenced by SEM, and maintaining their heat sealing capacity. Nanocomposite films containing AgNPs concentrations greater than 71.5 ppm inhibited the growth of E. coli ATCC and Salmonella spp., which are responsible for most foodborne diseases. However, films containing 143 ppm AgNPs were selected since they better maintained their integrity to microbial attack. These active films were able to extend the shelf-life of fresh cheese samples for 21 days. Thus, it was possible to develop and characterize nanocomposite films based on corn starch and containing AgNPs, which confers them antimicrobial properties.





Participación

En este trabajo he participado de la síntesis de las nanopartículas de plata acoplada a la preparación del film de almidón. También he participado en la caracterización de las nanopartículas por SEM y TE, como también de las películas activas estudiando el espesor, las propiedades ópticas, la permeabilidad al vapor de agua, la solubilidad, entre otras. He participado de la discusión de los resultados y de la redacción del trabajo.

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

Resumen trabajo 1: Stability, configuration and sizing of Ag nanoparticles generated by femtosecond laser ablation in liquid

Las nanopartículas de plata presentan interesantes propiedades físicas, químicas y optoelectrónicas con un buen potencial para el uso en diagnóstico médico. En este trabajo se presentan los resultados de la determinación de tamaño de pequeñas Nps de plata fabricadas por ablación láser en líquido utilizando espectroscopía de extinción óptica. La suspensión coloidal fue obtenida utilizando un láser de Ti:Za de pulsos ultracortos de 100 fs de duración con una longitud de onda central en 800 nm, enfocado sobre un blanco sólido de plata sumergido en una solución de agua con diferentes concentraciones de citrato trisódico, utilizando 100 mJ y 500 mJ de energía. El ajuste teórico de los espectros experimentales de las suspensiones coloidales de plata se basa en Teoría de Mie, incluyendo modificaciones con el tamaño en la función dieléctrica a través de la constante de amortiguamiento del modelo de Drude para los electrones libres como también modificaciones con el tamaño en la contribución de los electrones ligados. Los resultados obtenidos pueden ser utilizados en los procesos de fabricación para la determinación in situ del tamaño promedio de núcleo (Ag) para Nps cuyo tamaño se encuentra en el rango 1-10 nm.

Resumen trabajo 2: Application of novel fulvic acid- coated magnetite nanoparticles for CO2.- mediated photoreduction of divalent mercury

En este trabajo se estudia la foto-reducción de HgCl2 mediada por sustancias húmicas en solución, por irradiación anaeróbica con luz UV-A. Se

En este trabajo se realizó la extracción de ácidos fúlvicos partir de vermicompost (VFA) y se sintetizaron por primera vez nanopartículas magnéticas recubiertas con ácidos fúlvicos (VFANP). Recientemente se ha investigado el mecanismo de reducción de HgCl2 a Hg2Cl2 mediada por el radical anión dióxido de carbono (CO2.-) generado a partir de la fotólisis de quinonas y de ácidos fúlvicos. Se estudia la foto-reducción de HgCl2 mediada por VFA en solución y por VFANP en suspensión, por irradiación anaeróbica con luz UV-A. La ventaja de estos nanomateriales es la capacidad de su remoción en aguas por su propiedad magnética. Se caracterizaron los VFA y las VFANP por diferentes técnicas. Se calculó el rendimiento cuántico tanto para los VFA y como para las VFANP.

- **8.5 COMUNICACIONES**. Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).
- 8.6 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. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.





9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

- 9.1 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.
- **9.2 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.
- 9.3 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.
- 9.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES (desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).
- **9.5** 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.
- 10. 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.

11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN: 11.1 DOCENCIA

11.2 DIVULGACIÓN

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

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

Apellido y Nombres: Florencia Ortega

Título: Materiales biodegradables con nanopartículas de plata con capacidad antimicrobiana para mejorar los procesos de conservación de alimentos.

Dirección: Dra. María Alejandra García Co-dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: inicio: abril 2016

Categoría: becaria doctoral CONICET

Lugar: CIDCA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Apellido y Nombres: Joaquín E. Martínez Porcel

Título: Nanopartículas de sílice con revestimiento de metales nobles para uso en terapia fotodinámica de tumores.





Dirección: Dr. Daniel O. Mártire Co-dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: Inicio: abril 2015

Categoría: becario doctoral CONICET

Lugar: INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Apellido y Nombres: Celeste S. Demaría

Título: Preparación y caracterización de nanopartículas de plata y oro recubiertas con

sustancias húmicas con aplicaciones en medio ambiente

Dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: Octubre 2015- Octubre 2016

Categoría: Becas formativas para alumnos. Facultad de Ciencias Exactas

Lugar: INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

13. 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.

Tesis de grado:

Apellido y Nombres: Celeste S. Demaría

Título: Preparación y caracterización de nanopartículas de plata y oro recubiertas con

sustancias húmicas con aplicaciones en medio ambiente

Dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: Octubre 2015- Octubre 2016

Categoría: Becas formativas para alumnos. Facultad de Ciencias Exactas

Lugar: INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Tesis de postgrado:

Apellido y Nombres: Joaquín E. Martínez Porcel

Título: Nanopartículas de sílice con revestimiento de metales nobles para uso en terapia fotodinámica de tumores.

Dirección: Dr. Daniel O. Mártire Co-dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: Inicio: abril 2015

Categoría: becario doctoral CONICET

Lugar: INIFTA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

Apellido y Nombres: Florencia Ortega

Título: Materiales biodegradables con nanopartículas de plata con capacidad

antimicrobiana para mejorar los procesos de conservación de alimentos.

Dirección: Dra. María Alejandra García Co-dirección: Dra. Valeria B. Arce

Período: inicio: abril 2016

Categoría: becaria doctoral CONICET

Lugar: CIDCA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

14. 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.

Evento: XXXVIII Jornadas Internacionales de Hidatidosis -XXXI Jornadas

Nacionales de Hidatidosis





Participación: Actividad antihelmíntica de diclorofen y nanopartículas de sílice modificadas con diclorofen sobre echinococcus granulosus.

Autores: Fabbri Julia; Pensel, Patricia E; Albani Clara M; Arce Valeria B; Mártire Daniel O; Elissondo M. C.

Lugar y fecha: Corrientes, 23 al 25 de noviembre de 2016

Participación:

En este trabajo he realizado la síntesis de las nanopartículas de sílice modificadas con diclorofen, he participado en la caracterización de las nanopartículas NP. He participado de la discusión de los resultados y redacción del resumen del trabajo.

Evento: CIC y TAC 2016

Participación: Películas activas compuestas de almidón de maíz y nanopartículas de plata

Autores: Florencia Ortega, M. Alejandra García, Valeria. B. Arce

Lugar y fecha: Córdoba, 2 al 4 de noviembre de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la síntesis de las nanopartículas acoplada a la preparación del film de almidón. También he participado en la caracterización de las NP y películas activas. He participado de la discusión de los resultados, redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

Evento: VII Encuentro de física y química de superficies

Participación: Modificación superficial de Biovidrio 58S con Ácido Gálico

Autores: Joaquín E. Martínez Porcel; Valeria B. Arce; Paula Gomes; Celso A. Bertran: Daniel O. Mártire

Lugar y fecha: Santa Fe, 26 al 28 de octubre de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la modificación superficial de Biovidrio 58S con Ácido Gálico. También he participado en la caracterización del material. He participado de la discusión de los resultados, redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

Evento: 101 Reunión de la Asociación Física

Participación: Efecto del dimetilsulfóxido en las características plasmónicas de nanopartículas de plata generadas por ablación láser de fs

Autores: V. B. Arce, L. B. Scaffardi y D. C. Schinca Lugar y fecha: Tucumán, 4 al 7 de octubre de 2016.

Participación:

En este trabajo he fabricado las nanopartículas de plata generadas por ablación láser de fs y estudiado sus características plasmónicas. He participado de la redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

Evento: 101 Reunión de la Asociación Física

Participación: Detección de contaminantes orgánicos en agua mediante nanopartículas de Ag

Autores: C. Demaría, D. Muñetón Arboleda, L. B. Scaffardi, D. C. Schinca, D. O. Mártire y V. B. Arce

Lugar y fecha: Tucumán, 4 al 7 de octubre de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la síntesis de las nanopartículas de Ag y estudiado sus características plasmónicas frente a difrentes contaminantes orgánicos. He





participado de la discusión de los resultados, de la redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster

Evento: Apibio IV Simposio anual de apicultura orgánica

Participación: Toxicidad de ácido gálico y ácido gálico nanoconjugado con sílice sobre Varroa destructor y Apis mellifera.

Autores: Domínguez, E.; Gende, L.B.; Churio, M.S.; Szawarski, N.; Arce, V.B.; Mártire, D.O.; Damiani, N.

Lugar y fecha: Santiago del Estero, 6 al 10 de septiembre de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la modificación superficial de nanopartíclas de sílice con acido gálico. He participado en la caracterización del material. He participado de la discusión de los resultados, redacción del resumen del trabajo.

Evento: Jornada interdisciplinaria en recubrimientos y materiales de interés biológico Participación: Películas activas a partir de almidón y nanopartículas de plata para conservación de alimentos

Autores: Florencia Ortega, M. Alejandra García, Valeria. B. Arce

Lugar y fecha: CIDEPINT. La Plata, 12 de julio de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la síntesis de las nanopartículas acoplada a la preparación del film de almidón. También he participado en la caracterización de las NP y películas activas. He participado de la discusión de los resultados, redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

Evento: Nano 2016

Participación: Películas activas con nanopartículas de plata para la conservación de alimentos

Autores: Florencia Ortega, M. Alejandra García, Valeria. B. Arce

Lugar y fecha: Buenos Aires, 11 al 13 de mayo de 2016.

Participación:

En este trabajo he participado de la síntesis de las nanopartículas acoplada a la preparación del film de almidón. También he participado en la caracterización de las NP y películas activas. He participado de la discusión de los resultados, redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

Evento: Nano 2016

Participación: Estabilidad de nanopartículas de plata obtenidas por ablación láser en presencia de citrato trisódico y almidón soluble

Autores: V. B. Arce, D. Muñetón Arboleda, J. M. J. Santillán, L. B. Scaffardi y D. C. Schinca

Lugar y fecha: Buenos Aires, 11 al 13 de mayo de 2016.

Participación:

En este trabajo he fabricado las nanopartículas de plata en presencia de citrato trisódico y almidón soluble generadas por ablación láser de fs. He estudiado su estabilidad mediante el seguimiento de la posición del pico de plasmón y el comportamiento del FWHM. He participado de la redacción del resumen del trabajo y elaboración del poster.

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





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

Institución otorgante: Comisión de investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

Monto: \$ 11000

Subsidio personal: Destinado a tareas de investigación y desarrollo. Otorgado en el mes de diciembre de 2016.

Institución otorgante: Comisión de investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

Monto: \$ 5000

Otorgado para viajar a CICyTAC 2016. Córdoba, 2 al 4 de noviembre de 2016.

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

Participación: Grupo responsable

Título del Proyecto: Efecto de Nanomateriales Metálicos en la Generación y

Decaimiento de Oxígeno Singlete. Aplicaciones Biológicas

Código: PICT 2012- 1817

Institución: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica

Director: Daniel O. Mártire

Fecha de inicio y finalización del Proyecto: 05-2013 al 05-2015 Fecha de inicio y finalización de participación: 05-2013 a 12-2016

Título del Proyecto: Interacción de nanomateriales con sustancias húmicas, especies reactivas y la radiación solar. Efecto sobre sus propiedades fisicoquímicas

Código: PICT 2012 - 2359

Institución: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica

Director: Mónica C. Gonzalez

Fecha de inicio y finalización del Proyecto: 05-2013 al 05-2015 Fecha de inicio y finalización de participación: 05-2013 a 12-2016

Título del Proyecto: Aplicaciones ambientales de nanomateriales

Código: 11/X651

Institución: Universidad Nacional de La Plata

Director: Daniel O. Mártire

Fecha de inicio y finalización del Proyecto: 2013-2016

Fecha de inicio y finalización de participación: 2013 a 12-2016

Participación: Integrante

Título del Proyecto: Pulsos ultracortos de luz en plasmónica y generación de radiación teraherz

Código: 11/I197

Institución: Universidad Nacional de La Plata

Director: Daniel C. Schinca

Fecha de inicio y finalización del Proyecto: 2014- 2017 Fecha de inicio y finalización de participación: 2015 a la fecha

18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.





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

Cargo: Jefe de Trabajos Prácticos

Dedicación: Simple

Cátedra: Química Analítica. Facultad de Ciencias Exactas. U.N.L.P.

Carácter: Ordinario, obtenido por concurso

Periodicidad: 13-08-2010 hasta la actualidad (licencia desde 1-07-2013 hasta 10-02-2014, por incompatibilidad. Licencia desde 01-10-2014 hasta 01-03-2016 por cargo de mayor jerarquía. Licencia desde 1-07-2016 hasta 28-02-2017 por incompatibilidad)

Cargo: Jefe de Trabajos Prácticos

Dedicación: Exclusivo

Cátedra: Fisicoquímica. Facultad de Ciencias Exactas. U.N.L.P. Carácter: Interino, obtenido por orden de méritos de concurso

Periodicidad: 01-07-2016 hasta 28-02-2017.

Cargo: Profesor Adjunto Dedicación: Simple

Cátedra: Introducción a la Química y Química General. Facultad de Ciencias

Exactas. U.N.L.P.

Carácter: Interino (por registro de aspirantes) Periodicidad: 01-04-2015 hasta 29-02-2016

21. 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.

Extensión universitaria

Codirectora del Proyecto de Extensión "La Ciencia también es cosa de chicos" en el año 2016. Proyecto aprobado por la Facultad de Ciencias Exactas y por la UNLP. Directora del Proyecto: Dra. M. Paula Badenes

Presentación de proyectos

He redactado y presentado un proyecto, en cacrater de directora del mismo a la convocatoria PICT 2016 que se ecuentra actualmente en evaluación.

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

Título: Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas fabricadas con química húmeda y por ablación láser de pulsos cortos. Aplicaciones a la biología y el medioambiente.

Objetivos generales





- 1) Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas, bimetálicas y con estructuras core@shell conformadas por un núcleo metálico y un recubrimiento dieléctrico o con núcleo dieléctrico y recubrimiento metálico.
- 2) Estudio de las aplicaciones de las nanopartículas sintetizadas para efectos bactericidas, sensores de contaminantes orgánicos y catálisis.

El desarrollo desglosado de estos objetivos generales contiene tareas que se enmarcan en un plan global de investigación con proyección entre tres y cuatro años. En el próximo período se llevarán a cabo las líneas de trabajo relacionadas con la preparación de nanopartículas a partir de ablación de aleaciones, la síntesis y caracterización de partículas de tipo core@shell. Se analizarán y parametrizarán los procesos involucrados en la fabricación. Se continuará con los estudios de aplicación.

1) Síntesis y caracterización

A) Fabricación de nanopartículas metálicas por procesos físicos: ablación con pulsos ultracortos intensos de luz (utilizando un láser de femtosegundos de Ti:Za). Análisis de mecanismos.

Se continuará con la fabricación de nanopartículas metálicas en solución por ablación con pulsos ultracortos utilizando metales nobles y de transición por su interés en la formación de compósitos. El proceso de ablación se llevará a cabo en distintos solventes orgánicos y en solución acuosa en presencia de diferentes agentes estabilizantes, como almidón soluble y sustancias húmicas entre otros. Se realizará un estudio comparativo de los mismos [1-5].

También se explorará la ablación de muestras de aleaciones con el objeto de estudiar la fabricación de nanopartículas que permitan caracterizar la ubicación de la resonancia de plasmón para diversas aplicaciones. Se analizarán y parametrizarán los procesos involucrados en la fabricación de nanopartículas y su relación con variables del láser como longitud de onda, energía por pulso, etc.

A partir de la teoría de Mie [6] se reproducirán los espectros de extinción utilizando el radio de la partícula como parámetro de ajuste y se determinarán los radios medios de cada caso particular. Las muestras obtenidas se analizarán también por técnicas de microscopía electrónica, difracción de electrones y AFM.

B) Síntesis química de partículas metálicas, bimetálicas y con estructuras core@shell conformadas por un núcleo metálico y un recubrimiento dieléctrico, con núcleo dieléctrico y recubrimiento metálico o multicapas.

Se proseguirá con la síntesis de nanopartículas de plata (AgNP) estabilizadas con almidón soluble y nativo. En ambos casos las AgNP se sintetizarán mezclando AgNO3 con una solución almidón gelatinizado, utilizando maltosa como agente reductor [7]. Se continuará con la preparación de AgNP recubiertas con ácidos húmicos (AH) y se prepararán AgNP recubiertas con fúlvicos (AF) para esto se emplearán sustancias húmicas comerciales como ácido húmico de Aldrich, y extractos de AF obtenidos de vermicompost, entre otros. Las AgNP se sintetizarán por reducción de compuestos inorgánicos de estos metales (AgClO4 o AgNO3) en solución empleando agentes reductores como borhidruro de sodio, citrato de sodio, glucosa, ácido ascórbico. Se ensayarán síntesis del tipo de las de Turkevich- Frens [8] u otras utilizando como reductor y estabilizante dos compuestos diferentes [9-11]. Con el fin obtener nanopartículas monodispersas se ha realizado la técnica descripta por Houshen Li et al. [12], la cual se utilizará para preparar AgNP con diversos estabilizantes.

La preparación de nanopartículas de Cu se puede realizar por reducción de una sal de cobre con diferentes reductores como hidracina, NaBH4 o ácido ascórbico utilizando CTAB, citrato o almidón soluble como estabilizantes [13,14].





Las nanopartículas de oro se sintetizarán mezclando HAuCl4 junto con la solución de surfactante (NaAOT), luego se agregará la solución del agente reductor (NaBH4) en etanol [15].

Las nanopartículas bimetálicas pueden sintetizarse a partir de una solución que contenga Au(AOT)3 y AgNO3, en presencia de NaBH4 como reductor. Se obtienen nanopartículas Au@Ag de composiciones diferentes cuando se trabaja en diferentes relaciones molares [15]. La nanopartículas de Au@Cu pueden obtenerse de manera similar utilizando solución de Cu(NO3)2.

Las nanopartículas de SiO2 recubiertas con metales se sintetizarán por dos vías alternativas. Previo al recubrimiento metálico se funcionalizarán las nanopartículas de sílice con APTES para que se adsorba sobre las nanopartículas quedando los grupos amino en la parte externa [16], también es posible realizar la modificación superficial con APTES colocado este reactivo en la mezcla de reacción de la síntesis de las partículas de SiO2 [17]. Luego de aislar las partículas de los reactivos residuales se añadirá una dispersión coloidal de nanopartículas de plata u oro. El segundo proceso de fabricación de las esferas de sílice revestidas con plata incluye 3 pasos: adsorción de iones Sn2+sobre la superficie de las nanopartículas de sílice seguida de la reducción de iones Ag+ con los iones Sn2+ superficiales para crear núcleos de Ag metálica que actúen como semilla de cristalización y finalmente la deposición de la capa de plata que se logra en presencia de AgNO3 y formaldehido [18].Las nanopartículas de SiO2 se prepararán previamente por el método de Stöber [19].

Se continuará con la preparación de AgNP recubiertas con SiO2. Las AgNP se sintetizan previamente, por ablación láser, hasta el momento se ha realizado en agua destilada y de citrato trisódico, se realizará en presencia de otros estabilizantes, o por reducción de una sal de plata. El recubrimiento de realiza mediante la técnica Stöber [23] o una modificación de la misma utilizando dimetilamina [20].

Se prepararán estructuras multicapa del tipo Ag@SiO2@Ag empleando el método de síntesis publicado [21]. Brevemente, el método ambientalmente benigno consiste en la irradiación láser de 355 nm de nanoesferas del tipo Ag@SiO2 previamente preparadas por el método de Stöber [22] para transformarlas en estructuras sándwich Ag@SiO2@Ag.

C) Caracterización de tamaño de nanopartículas metálicas simples o core@shell en suspensión fabricadas con química húmeda o por ablación láser.

Para la caracterización se utilizará extinción espectral en el rango óptico extendido, espectroscopía de partícula simple y espectroscopía de plasmones superficiales.

Implementación de técnicas de espectroscopía de campo oscuro: La microscopía de campo oscuro es una variante de la microscopía óptica que permite realzar detalles pequeños de la muestra. Se basa en el fenómeno de reflexión total interna frustrada. La metodología a seguir para lograr este objetivo consiste en la adaptación de un microscopio óptico de campo brillante para convertirlo en campo oscuro con el fin de medir espectros de partícula simple a través de la observación de la emisión plasmónica de nanopartículas metálicas únicas.

La caracterización de nanopartículas será complementada con diversas técnicas experimentales, tales como TEM, AFM, FTIR, XPS, TGA, Raman y fluorescencia.

2) Aplicaciones

A) Actividad bactericida

Se proseguirá con el desarrollo de películas biodegradables a partir de almidón de maíz con y sin el agregado de AgNP con el fin de obtener envases con capacidad antimicrobiana aptos para alimentos.

Para la obtención de las películas se preparan suspensiones acuosas de almidón de maíz las que se gelatinizan, luego se incorporará glicerol como plastificante. Las AgNP





estabilizadas con almidón nativo o soluble, preparadas previamente, se agregaran a las suspensiones filmogénicas gelatinizadas, y posteriormente se realizará el agregado de glicerol. Las películas se obtienen por el método de moldeo [23-25].

Las películas obtenidas son caracterizadas evaluando sus propiedades fisicoquímicas, de barrera, mecánicas y ópticas así como también su microestructura. Para esto se utilizarán diversas técnicas como AFM, SEM, UV-visible y FTIR. Se determinará el espesor de las películas, por microscopía y mediante un medidor electrónico de espesores y la solubilidad en distintas condiciones. Se analizarán las propiedades ópticas midiendo el color superficial en un colorímetro. En cuanto a las propiedades de barrera se evaluarán las permeabilidades de los envases a los gases y al vapor de agua.

La determinación de la capacidad antimicrobiana de las películas activas se llevará a cabo empleando el método de difusión en agar [26]. Para este estudio se utilizarán cepas aisladas de S. aureus, Candida spp., Salmonella spp. Y Penicillium spp. Discos de las películas desarrolladas se colocarán en cajas de Petri con PCA (Plate Count Agar) para el testeo de bacterias y con Agar Malta para hongos y levaduras. Se realizarán observaciones visuales y se medirán las zonas inhibitorias de las películas a diferentes tiempos de incubación. Estas experiencias se continúan realizando en colaboración con la Dra. Leda Giannuzzi.

B) Sensores

Se prosigue con los estudios de evaluación de la capacidad de los nuevos materiales como sensores para detectar contaminantes orgánicos. Para esto se han utilizado AgNP estabilizadas con sustancias húmicas [27], se continuará con el estudio de su posible aplicación como sensores de contaminantes, realizando un seguimiento del pico del plasmón y un estudio del FWHM de las suspensiones de AgNP en función de la concentración de contaminante. Se ha realizado para algunos contaminantes orgánicos, se planea continuar con contaminantes emergentes presentes en el agua cabe destacar fármacos, compuestos perfluorados, productos de cuidado y de higiene personal, entre otros. El estudio del desarrollo y aplicación de nuevas tecnologías para su eliminación es crucial dado que el impacto ambiental de estos residuos no es despreciable. Los contaminantes a emplear serán contaminantes emergentes como carbamazepina, ibuprofeno, cafeína, entre otros.

Además se propone investigar el efecto de la presencia de contaminantes orgánicos sobre la fluorescencia de las sustancias húmicas ligadas a las AgNP. Los datos serán analizados en forma similar a la propuesta en el trabajo de Pallem [28] y también se realizarán estudios resueltos en el tiempo. Los ensayos resueltos en el tiempo demuestran que los decaimientos de fluorescencia de las sustancias húmicas en solución son multi-exponenciales [29]. La determinación de tiempos de vida de fluorescencia en suspensiones coloidales de nanopartículas de Ag y Au permitirá analizar la variación de cada una de las componentes respecto de los valores obtenidos en soluciones de los ácidos húmicos. Se espera que la fluorescencia se vea afectada en ausencia y en presencia de contaminantes.

C) Catalizadores

Se evaluarán las propiedades catalíticas de las estructuras sándwich del tipo Ag@SiO2@Ag sintetizadas previamente en la degradación de los colorantes orgánicos.

Estos materiales han sido empleados como fotocatalizadores para la degradación de Rodamina B, pero el mecanismo de acción fotocatalítica no se conoce. Por esa razón se propone la determinación de rendimientos cuánticos de producción especies reactivas de oxígeno (oxígeno singlete, radical hidroxilo, radical anión superóxido y peróxido de hidrógeno) mediante diversos métodos [30]. Se espera que los resultados sirvan para poder evaluar con buen criterio la conveniencia del empleo de estos catalizadores para la degradación de determinados contaminantes.





Referencias

- [1] L. B. Scaffardi and J. O. Tocho, Nanotechnology, 17, 1309 (2006)
- [2] L. B. Scaffardi, M. Lester, D. Skigin and J. O. Tocho, Nanotechnology, 18, 315402-8 (2007)
 - [3] Santillán, Jesica M. J. y col. 99° Reunión Nacional de Física AFA (Tandil, 2014).
 - [4] Muñetón Arboleda, D. y col. TOPFOT 2014 (Campana, Buenos Aires, 2014).
 - [5] Vasilev, K. et al.. Nanotechnology 2010, 21, 215102.
 - [6] G.Mie, Ann. Phys (Leipzig) 25, 377 (1908)
 - [7] Materials Letters 2013, 106, 332-336.
 - [8] G. Frens, 1973, Nature Physical Science, 241, 20
 - [9] C.J. Murphy et al. 2005, J. Phys. Chem. B, 109, 13857-13870.
 - [10] P. Podsiadlo et al. 2008, Langmuir, 24, 568-574.
- [11] M. Schnippering, M. Carrara, A. Foelske, R. Kötz, D.J. Fermín, 2007, Phys. Chem. Chem. Phys., 9, 725–730.
 - [12] Houshen Li et al. Langmuir 2014, 30, 2498-2504.
- [13] S.-H. Wu, D.-H. Chen. Journal of Colloid and Interface Science 273 (2004) 165–169.
- [14] M. Valodkar et al. Bull. Mater. Sci., Vol. 30, 2007, pp. 535–540. / J. Hazardous Materials 201– 202 (2012) 244– 249
- [15] Kim, M. J.; Na, H. J.; Lee, K. C.; Yoo, E.; Lee, M., 2003, J. Mater. Chem., 13, 1789–1792.
- [16] S.J. Oldenburg, R.D. Averitt, S.L. Westcott, N.J. Halas, Chem. Phys. Lett. 288 (1998) 243.
 - [17] A. Rahman et al.. Naturwissenschaften, 2009, 96, 31-38.
- [18] M. Zhu, G. Qian, Z. Hong, Z. Wang, X. Fan, M. Wang, J. Phys. Chem. Sol.2005, 66. 748–752.
 - [19] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, J. Colloid Interf. Sci. 26 (1968), 62.
- [20] Niitsoo, O.; Couzis, A., 2011, Journal of Colloid and Interface Science, 354, 887–890.
 - [21] J. Leeand D.-J. Jang, RSC Adv., 2015,5, 64268-64273
- [22] C. Li, J. Mei, S. Li, N. Lu, L. Wang, B. Chen, W. Dong, Nanotechnology, 2010, 21, 245602
- [23] García, M.A.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (1998). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(9), 3758–3767.
 - [24] Liu, Z. y Han, J.H. (2005). Journal of Food Science, 70(1), 31–36.
- [25]García, M.A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (2000)., Starch/Stärke, 52(4), 118-124.
- [26] Pranoto, Y., Rakshit, S.K. y Salokhe, V.M. LWT Food Science and Technology, 2005, 38, 859-865.
 - [27] S.T. Dubas, V. Pimpan / Materials Letters 62 (2008) 2661–2663
- [28] V.L. Pallem, H.A. Stretz, and M.J.M. Wells, 2009, Environ. Sci. Technol., 43, 7531-7535.
 - [29] C.D. Clark et al. 2002, Marine Chemistry, 78, 121-135.
 - [30] L. Carlos et al. Separation and PurificationTechnology 2012, 91, 23–29.





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 22).
 - 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.gob.ar (puntos 1 al 22), 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.

C. Sistema SIBIPA:

a. Se deberá peticionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

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.