



INFORME PERIODO.....2017

1. APELLIDO. Garro.....
Nombre. María Laura.....
Título(s) Doctora en Ciencias Veterinarias
Dirección Electrónica.... marialgarro@hotmail.com

2. OTROS DATOS

Ingreso Categoría: Profesional Asistente.....Mes enero 2001
Categoría Actual: Profesional Principal.....Mes junio 2016

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

- a) Depilado libre de sulfuro de sodio .Empleo de preparados enzimáticos como agentes depilantes
- b) Valorización de residuos sólidos de curtiembre: Biotransformación Fúngica del residuo pelo vacuno.

4. DIRECTOR: Apellido y Nombre: Dr Hours Roque.

Cargo Institución: Vicedirector CENT.DE INV EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES-
CINDEFI-.CONICET-UNLP...Investigador Principal CONICET

Dirección: Calle 50 Y 115 - Fac. Cs. Exactas UNLP.C.P...1900.Prov. BSAS...Tel.
.....0221- 483-3794

Dirección Electrónica: hours@biotec.org.ar

5. LUGAR DE TRABAJO. Centro de Investigación en Tecnología del Cuero-CITEC.

Campus Tecnológico CIC. Camino Centenario y 505, MB GONNET. 1897. Prov Buenos Aires

Teléfono: 0221-4841876.

Dependencia: CIC

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre.....

Dependencia.....

Dirección: Calle.....Nº.....

Ciudad.....C.P.....Prov.....Tel.....

7. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA (Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras)

Se realizaron trabajos relacionados con tecnologías limpias y el aprovechamiento de residuos sólidos de curtiembre. En este período se desarrolló un protocolo de trabajo para evaluar la acción a nivel de unidad pilosebácea y lámina basal de extractos enzimáticos provenientes de la fermentación de cepas fúngicas aisladas del suelo local como agentes depilantes. Se utilizó piel fresca de bovino que permaneció sumergida en contacto con las soluciones, para la observación se realizaron técnicas de microscopía electrónica de barrido. A su vez, con el propósito de evaluar el efecto del compost elaborado con mezclas de residuo pelo bovino junto con material vegetal y estiércol de conejo, se desarrollaron ensayos con semillas de acelga por ser este un cultivo con alta demanda de nitrógeno.

8. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO (Debe exponerse la actividad desarrollada, técnicas empleadas, métodos, etc. en dos carillas como máximo, en letra arial 12, a simple espacio)

INDICE

- Aplicación de enzimas queratinolíticas durante la etapa de ribera; evaluación de la acción enzimática en muestras de piel de bovino.....3-6
- . Evaluación del efecto de mezclas de compost sobre la germinación de semillas de acelga..... 6-10
- Producción de un film polimérico a partir de queratina. Observación mediante microscopía electrónica de barrido MEB de las muestras polimerizadas 11.
- Publicaciones....12
- Cursos, Asistencia a reuniones Científicas14
- Otros elementos de juicio no contemplados.....15

A.- Aplicación de enzimas queratinolíticas durante la etapa de ribera; evaluación de la acción enzimática en muestras de piel de bovino

En este período se desarrolló un protocolo de trabajo para probar la acción a nivel de la unidad pilosebácea y lámina basal de las enzimas trabajando con piel fresca de bovino que permaneció sumergida en contacto con las soluciones. Se ensayaron los extractos enzimáticos provenientes de la fermentación en sustrato sólido de las siguientes cepas fúngicas aisladas del suelo local: *Neurospora crassa* (NC), *Verticillum albo-atrum* (VA), *Trichophyton ajelloi* (TA), *Chrysosporium sp* [C], *Aspergillus sidowii* (AS), *Paecilomyces lilacinus* (PL), *Acremonium murorum* (AM), como agentes depilantes de la piel vacuna. Se buscaron las condiciones óptimas de la enzima y los agentes que facilitan su acción en las siguientes etapas de ribera: remojo, depilado/apelambrado, desencalado y purga, se incluyeron testigos de piel sin enzima y sometida a un proceso convencional.

- Procedimiento experimental: Condiciones de ensayo aplicadas durante el desarrollo de los tratamientos

Se utilizaron pieles frescas de bovino de 1cm x 1cm de área sumergidas en tubos de vidrio de 11 cm de largo y 2,5 cm de base que contenían las soluciones que se indican a continuación: Testigos: I. piel con buffer Tris-HCl 0,1 M, biocida TCMTB (Fubac 0,2% de piel húmeda) y tensioactivo isogras 0,1% II. piel con buffer Tris-HCl 0,1 M, biocida TCMTB (Fubac 0,2% piel húmeda) III. piel con el depilado convencional: primero cal al 3%, luego sulfhidrato de sodio al 1% y a los 30 minutos el SNa₂ al 2%. Los % se refieren al peso en relación a la piel húmeda. Duración y condiciones del remojo: las muestras sumergidas en las soluciones fueron agitadas en baño termostático a 37°C durante 4 h.

Enzimas (disueltas a partir de liofilizado en buffer Tris-HCl 0.1 M pH 9) Isogras 0,1% (tensioactivo utilizado para remojo), biocida TCMTB (Fubac al 0,2% de piel húmeda):

Neurospora crassa (NC),
Verticillum albo-atrum (VA)
Trichophyton ajelloi (TA),
Chrysosporium sp [C],
Aspergillus sidowii (AS),

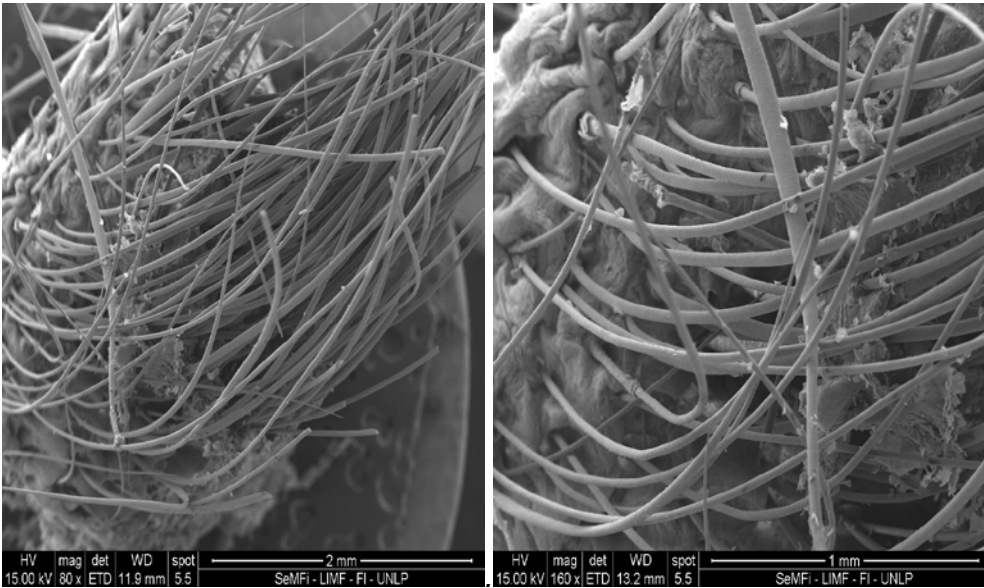
Paecilomyces lilacinus (PL),
Acremonium murorum (AM)

Duración y condiciones del depilado: en agitación en baño termostático a 37°C durante 48 h.

Microscopía Electrónica de Barrido

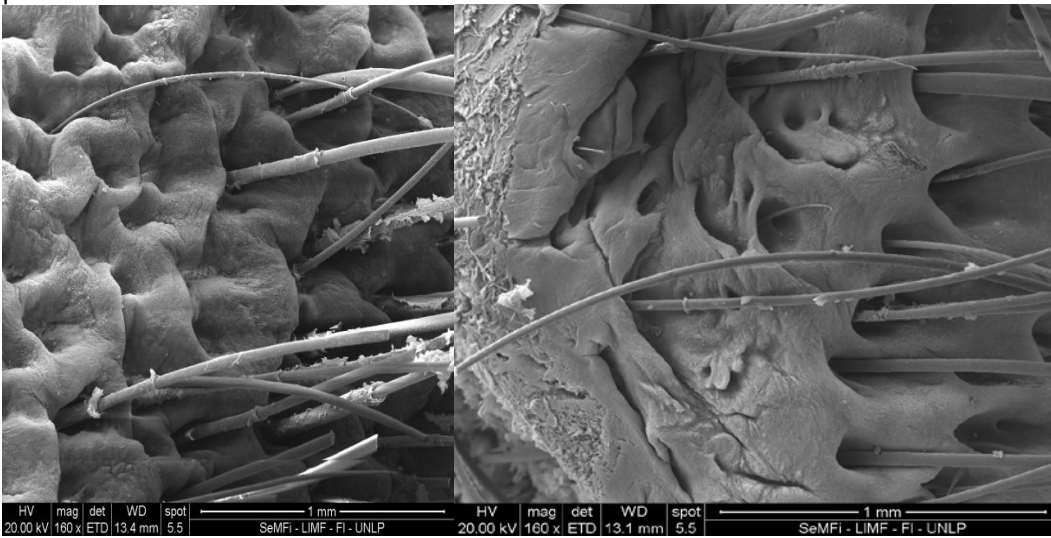
Luego de 48 horas se tomaron muestras por duplicado, de 0,5 cm de lado, de la piel que permaneció en contacto con el preparado enzimático y de los testigos para ser estudiadas mediante MEB. Este tipo de microscopía es una técnica de aplicación en trabajos relacionados con tecnología del cuero, permite la observación de los cambios morfológicos sobre la superficie de la piel.

Los pasos en el procesamiento de las muestras comenzaron con la fijación en formol 4 % durante 2 h y posfijación en igual concentración 24 horas más. Seguidamente comenzó la deshidratación en una batería de alcoholes: 30%, 50% y 70% con 3 cambios de 15 min en cada concentración. El día de la observación microscópica se cambió por alcohol 100%. Para eliminar el agua retenida en la muestra después de la deshidratación se secó por punto crítico de CO₂ a continuación, por ser material de origen biológico se realizó el metalizado ya que es necesaria una cubierta conductora metálica para evitar carga eléctrica y daño por radiación. Las imágenes se obtuvieron con un vacío aproximado de 10⁻⁶ torr con el microscopio electrónico de barrido ESEM FEI Quanta 200 del Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física "Ing. Gregorio Cusminsky" (LIMF) de la Facultad de Ingeniería UNLP.



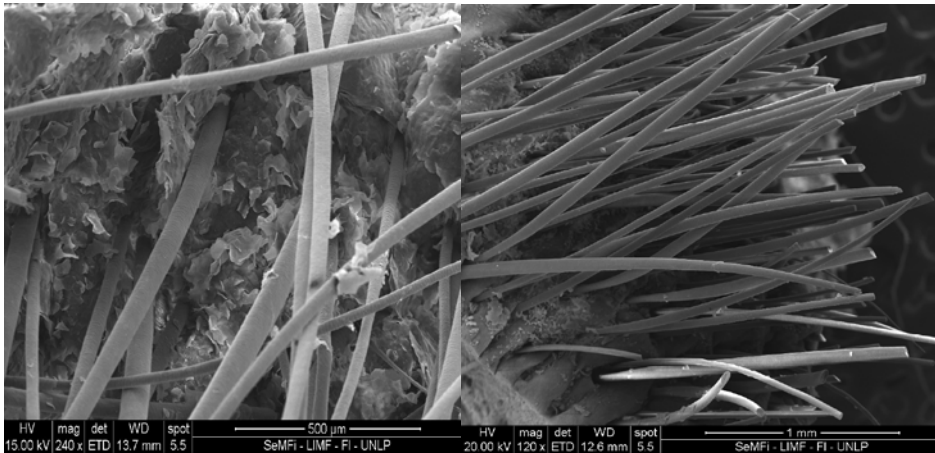
A. *Verticillium albo-atrum*(VA) 80x. B. *Acremonium murorum* (AM) 80x

Las dos cepas no generaron cambios en la la piel, se observan pelos conservando patrones normales.



C. *Neurospora crassa*(NC) 160x. D. *Trichophyton ajelloi* (TA),160x:

Las dos cepas generaron desprendimiento de pelos con folículos pilosos vacíos.



E. Testigo 240X. Buffer Tris, biocida y tensioactivo, se observan pelos y corneocitos con patrones normales.

F. Testigo 120X. Buffer Tris y biocida, pelos sin alteraciones.

B.- Evaluación del efecto de mezclas de compost sobre la germinación de semillas de acelga

Preparación y caracterización evolutiva de las mezclas a compostar

En trabajos previos se ensayó un método de compostaje del “residuo pelo” para ser reutilizado como enmienda orgánica o compost, midiendo la evolución de distintos parámetros a lo largo del tiempo de maduración.

Se probaron distintas combinaciones (mezclas, M Tabla 1) de este residuo (RP) (lavado y secado), con estiércol de conejo (E) y restos vegetales (V) hojas de roble (*Quercus pubescens*) y álamo (*Populus alba*) en unidades compostadoras de 44 dm³ durante 36 semanas con volteos e hidratación periódicos. Con muestras extraídas a distintos tiempos se prepararon extractos acuosos con una proporción 1:4 (mezcla-agua bidestilada). Se determinó: pH, conductividad eléctrica (CE), concentración de amonio soluble (método de la urea modificado), concentración de proteínas solubles (método de Bradford), materia orgánica (MO) (combustión seca a 430°C) y la relación de absorbancias a 280 nm, 472 nm y 664 nm de los ácidos húmicos previa extracción con NaOH 1 M en condiciones reductoras. Al final de los experimentos se logró la degradación del residuo pelo, proceso en el que estarían involucrados microorganismos queratinolíticos del estiércol y del suelo. De este modo fue posible lograr una enmienda orgánica-compost en cuyo proceso de maduración se alcanzó un grado aceptable de humificación para la mezcla con mayor proporción de pelo (Mezcla IV), aunque los altos valores de

conductividad limitarían su uso agronómico. Al mismo tiempo surgió la necesidad de probar el producto “in vivo” con especies vegetales con alto requerimiento de N.

Mezcla	Residuo pelo (RP)	Estiércol de conejo (E)	Material vegetal (V)
M 1	1/3	1/3	1/3
M 2	1/6	2/3	1/6
M 3	1/6	1/6	2/3
M 4	2/3	1/6	1/6

Tabla1

En base a los resultados del contenido de nitrógeno de las mezclas descritas, se propuso analizar su efecto sobre la germinación de semillas de acelga. La acelga fue seleccionada por ser un cultivo con alta demanda de nitrógeno y también por ser una planta rústica que no pierde la calidad de sus hojas frente a bajas temperaturas ([http://inta.gob.ar/INTA Ediciones, Manual de cultivo para la huerta orgánica familiar](http://inta.gob.ar/INTA_Ediciones_Manual_de_cultivo_para_la_huerta_orgánica_familiar), Enrique Goites). Se sembraron cuatro semillas por cada maceta plástica de 7 cm de diámetro y 11 cm de largo con el siguiente contenido: dos cucharadas de las mezclas M1/M4 pulverizada en procesadora combinada con seis partes de tierra negra filtrada por colador y una parte de perlita (comercial). Cada muestra M1-M4 se sembró por cuadruplicado. A su vez, fueron incorporados un testigo con dos cucharadas de lombricompost (L) y un testigo sin agregar compost (SN), ambos por cuadruplicado. Las semillas fueron provistas por la Estación Experimental Hirschhorn (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP).

Las macetas permanecieron en el interior de un laboratorio, con fuente de luz natural cercanas a una ventana, temperatura ambiente (5-23°C T° junio-julio) con una humedad relativa de 80%. El riego se realizó en forma de lluvia con agua de canilla de modo tal de mantener la tierra húmeda. Las semillas germinaron después de diez días, al mes la planta se desarrolló completamente.

Los parámetros analizados fueron: biomasa total, peso de raíz y parte aérea por separado (por calentamiento en estufa a 60°C, 72 h, a peso seco), área foliar.

El carbono se determinó mediante la determinación de materia orgánica por calcinación según la norma IRAM-SAGPyA29571-1.

El nitrógeno se determinó mediante la técnica de Micro Kjeldahl.

	C/N inicial	C/N final
1	46/1	15,5/1
2	55/1	19,8/1
3	54/1	19,2/1
4	28/1	11,9/1

El fósforo se determinó por el método de Bray-Kurtz y posterior determinación colorimétrica por formación de ácido fosfomolibdico mediante reducción con cloruro estañoso (Standard Methods for the examination of water and wastewater, Stannous Chloride Method, 4500-P), pero el método no se pudo ajustar a los valores de los compost.

Promedio de pesos secos absolutos de biomasa total, raíz y parte aérea de los distintos tratamientos (56 días)

Mezclas	Biomasa	Raíz	Parte aérea
trat 1	0,0299	0,0061	0,0238
trat 2	0,0642	0,006	0,0582
trat 3	0,0291	0,0049	0,0242
trat 4	0,0429	0,0016	0,0413
Lomb.	0,075	0,0495	0,0255
Control	0,0481	0,0034	0,0447

El tratamiento 4 tuvo un rendimiento similar en biomasa y en parte aérea al del control. El tratamiento 2 alcanzó los mayores valores en los mismos parámetros.

Aumento absoluto en el número de plantas, número de hojas y sumatoria de las alturas del número de hojas durante un período de 30 días

Mezclas	Δ plantas	Δ hojas	Δ althojas (cm)
trat 1	10	57	224
trat 2	16	65	303,9
trat 3	8	64	299
trat 4	9	43	188,3
Lomb.	17	87	375,5
control	11	60	346,5

El signo Δ corresponde a la diferencia en los valores establecidos cuando transcurrieron 30 días de desarrollo de los cultivos.

El lomb. y el tratamiento 2 desarrollaron mayor número de plantas, mayor número de hojas y de sus alturas.

Aumento relativo en el número de plantas, número de hojas y sumatoria de las alturas del número de hojas durante un período de 30 días

Mezclas	Δ plan/mac	Δ hoja/plan	Δ alt hoja
trat 1	2,25	-0,48	1,02
trat 2	3,75	1,32	0,27
trat 3	2	2,24	0,19
trat 4	2,25	1,47	1,07
Lomb.	4,25	1,96	-1,19
Control	2,75	2	0,66

(1) (2) (3)

- (1): promedio del número de plantas por maceta
 (2): promedio del número de hojas por planta
 (3): promedio de la altura de las hojas

El tratamiento 2 tuvo mayor número de plantas por maceta, número de hojas por planta. El tratamiento 4 generó la mayor diferencia en la altura de sus hojas.

Medida del área foliar

Se tomaron medidas del área foliar mediante la impronta sobre un papel en un determinado intervalo de tiempo, al comienzo y al final (14 días). Se correlacionó el peso del área del papel con el peso del mismo área de una hoja y se extrapolaron las áreas (cm²) al peso (g). Esta medida da idea de la producción de fotoasimilados de la planta.

Aumento de áreas foliares vs distintos tratamientos (14 días)

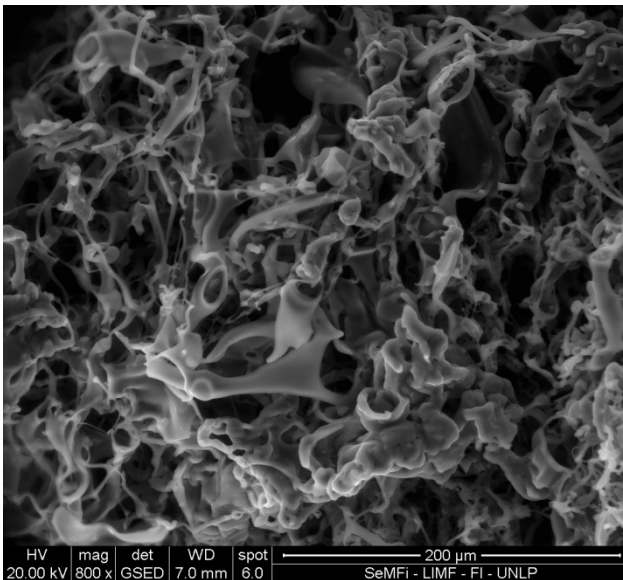
Mezclas	area(cm ²)	peso (g)
trat 1	8,6	0,0568
trat 2	21,82	0,1443
trat 3	16,33	0,1017
trat 4	15,08	0,0997
Lomb.	13,06	0,0734
Control	11,11	0,0863

El tratamiento 2 generó mayor aumento en el área de hojas por lo que este tratamiento es el que aportó mayores beneficios en el crecimiento de las plantas.

**C.- Producción de un film polimérico a partir de queratina.
Observación mediante microscopía electrónica de barrido MEB de las muestras polimerizadas**

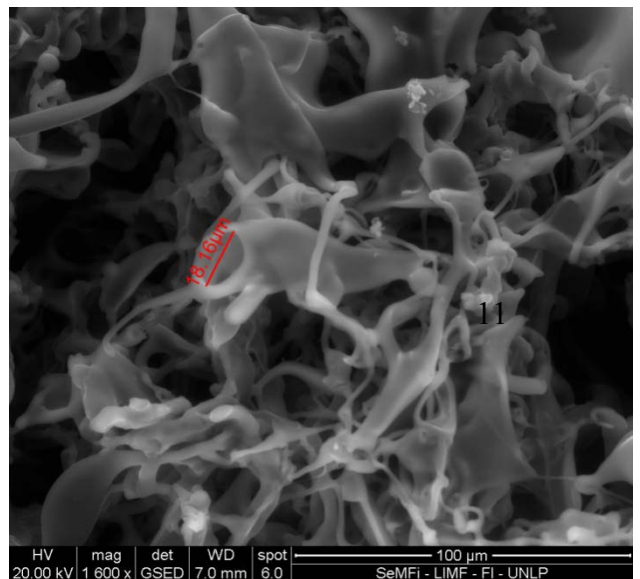
Para la formación de discos de queratina polimerizada de novo se usó como soporte portaobjetos de vidrio y una microplaca de poliestireno de base plana (96 well). Porciones de liofilizado fueron colocadas en estos soportes y se expusieron a la oxidación atmosférica durante 48 h.

La observación se realizó con el equipo ESEM FEI Quanta 200, disponible en el Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física-LIMF-FI-UNLP en modo ambiental con 4 torr de presión 6°C y 60% humedad.



Discos de queratina polimerizada de novo (800 x)

Discos de queratina polimerizada de novo (1600 x): tubos de 18,16 μm de diámetro



Se observa la presencia de una red de tubos huecos de entre 15 a 20 μm de diámetro y de hasta 300 μm de largo.

9.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC. Debe hacerse referencia, exclusivamente, a aquellas publicaciones en las cuales se ha hecho explícita mención de la calidad de personal de apoyo de la CIC. Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo en el mismo orden en que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, año y, si corresponde, volumen y página, asignándole a cada uno un número.

- “Evaluación y aplicación del tratamiento biológico de efluentes de pieles de oveja curtidas utilizando procesos de lodos activados”, Cortizo L; Garro M.L; Galarza B. *Journal of Aqeic, ISSN 2014-8011 (en prensa) a ser publicado en el Vol. 68 N°3 (Julio-Agosto-Septiembre 2017).*
- “Assessment and application of biological treatment of effluents from tanned sheepskins using activated sludge process” Cortizo L., Garro L., Galarza B., *Journal of Aqeic, (en prensa) vol 68 n° 3 julio-agosto-septiembre) (2017).*
- “Characterization and evaluation of fungal enzymatic pool with unhairing activity”, Galarza B., Garro L., Martegani J., Hours R. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists, ISSN 0144-0322, vol 100, septiembre-octubre 2016, n° 5, p. 257-262.*
- “Enzymatic unhairing: Permeability assay of bovine skin epidermis with fungal enzyme extracts” Galarza B., Garro L., Cortizo L., Greco C., Hours R. Libro de resúmenes Proceedings of the XXXIV IULTCS Congress, editorial CSIR-CLRI, ISBN 978-81-932639-0-7, pág. 59 y el trabajo completo en archivo digital, Oral lectures, page 133-141.
- “Characterization of biological treatment of effluent from tanned sheepskins”, Cortizo L., Galarza B., Garro L., Farías C., Rodríguez R., López L.M.I. Libro de resúmenes Proceedings of the XXXIV IULTCS Congress, editorial CSIR-CLRI, ISBN 978-81-932639-0-7, pág. 208 y el trabajo completo en archivo digital, Part 1, page 92-99.

9.2 CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. Indicar la denominación del curso, carga horaria, institución que lo dictó y fecha, o motivos del viaje, fecha, duración, instituciones visitadas y actividades realizadas.

- Foro y Feria Internacional de Tecnologías del Medio Ambiente, el Agua y las Energías Renovables, FITMA 2017. Buenos Aires, mayo 16-18, 2017.
- “Jornada Internacional Rumbo a la COP22. Implementación del Acuerdo de París. Políticas Públicas: Estrategias y Acciones para un desarrollo sostenible” Dirección de Medio Ambiente, Universidad nacional de La Plata, UNLP. La Plata 19 de octubre 2016.
- “Técnicas aplicadas al estudio de procesos de biodeterioro en materiales arqueológicos”, Facultad de Ciencias Naturales y Museo. FCNyM. Museo de La Plata, 20 de octubre 2016.
- Imaging Techniques for Biotechnology and Biomedical Applications-Workshop-CCT Conicet, La Plata, noviembre 30-diciembre 1, 2016.

9.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES. Indicar la denominación del evento, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo y título(s) del(los) trabajo(s) o comunicación(es) presentada(s).

- XIV Congreso Interamericano de Microscopía CIASEM 2017, Varadero, Cuba. 25-29 de septiembre 2017. Presentación póster. Resumen aceptado: “Metodología para la observación de pelo bovino colonizado por deuteromycetes mediante microscopia electrónica de barrido Sarmiento P., Garro ML, Galarza B, Hours R.
- XXXIV IULTCS Congress, Chennai, India, 5 - 8 febrero 2017. “Enzymatic unhairing: permeability assay of bovine skin epidermis with fungal enzyme extracts” Presentación oral (Galarza B.) Galarza B., Garro L., Cortizo L., Greco C., Hours R.
- “Tercer Congreso Internacional Científico y Tecnológico”, La Plata 1 de septiembre, 2016. Organizado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, participante del stand del Citec.
- 4° Congreso Internacional Científico-Tecnológico de la provincia de Buenos Aires a realizarse en la Universidad Nacional de Quilmes, Quilmes, Prov. de Buenos Aires, 1° de septiembre de 2017. Aceptado para ser

presentado: “Desarrollo de procesos destinados a minimizar el impacto ambiental de las curtiembres de la provincia de Buenos Aires” Errasti M.E., Cortizo L., López L., Garro M.L., Ungaro P., Aguyaro M., Galarza B.

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TÍTULOS ANTERIORES. (En este punto se indicará todo lo que se considere de interés para una mejor evaluación de la tarea cumplida en el período).

- Colaboración en la elaboración e integrante del proyecto “Innovación tecnológica eco-compatible aplicada a la industria del cuero” Directora: Laura López, aprobado con subsidio, “Convocatoria a proyectos para el fortalecimiento de centros CIC (propios y asociados), FCCIC 16. Primer informe de actividades presentado.
- Colaboración en la elaboración e integrante del proyecto “Diseño y desarrollo de procesos destinados a minimizar el impacto ambiental de las curtiembres de la Provincia de Buenos Aires”. Directora: Laura López, convocatoria 2016 para “Proyectos de innovación y transferencia en áreas prioritarias de la provincia de Buenos Aires” (PIT-AP-BA), organizado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.
- Colaboración e integrante del proyecto “Elaboración de compost a partir del pasto cortado y la hojarasca recolectada en el parque del Campus Tecnológico CIC”, aprobado e incluido en el predio de la licitación de la empresa que tiene a cargo el cuidado y conservación del parque (se adjunta en anexo)

