



Código	FPI-002
Objeto	Protocolo de presentación de proyectos de investigación SIGEVA UNLaM
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	4
Vigencia	12/11/2021

**Unidad Ejecutora:
Ciencias de la Salud**

**Programa de acreditación:
CyTMA2**

Título del Programa de Investigación¹:

Director del Programa:

**Título del proyecto de investigación:
Estudio de la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* en tres matrices
alimentarias de base farinácea**

PIDC:

Elija un elemento.

PII

**Director del proyecto:
Watson, Dana Zoe**

Co-Director del proyecto:

**Integrantes del equipo:
Sburlati, María Laura
Vilas, Noelia Ivon
Saura, Eugenio Luis**

Fecha de inicio: 01/01/2022

Fecha de finalización: 31/12/2023

¹ Completar solo en caso de que el presente proyecto se encuadre en el marco de un Programa de Investigación

1-Cuadro resumen de horas semanales dedicadas al proyecto por parte de director e integrantes del equipo de investigación:²

Rol del integrante	Nombre y Apellido	Cantidad de horas semanales dedicadas al proyecto
Director	Dana Zoe Watson	12 horas
Co-director		
Director de Programa		
Docente-investigador UNLaM	María Laura Sburlati Noelia Ivon Vilas	8 horas 12 horas
Investigador externo ³		
Asesor-Especialista externo ⁴	Eugenio Luis Saura	12 horas
Graduado de la UNLaM ⁵		
Estudiante de carreras de posgrado (UNLaM) ⁶		
Alumno de carreras de grado (UNLaM) ⁷		
Personal de apoyo técnico administrativo		

2-Plan de investigación

2.1. Resumen del Proyecto:

En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de los microorganismos con efecto probiótico, mostrando que ciertas cepas pueden generar efectos benéficos sobre la salud humana a través de su participación con el microbioma del individuo

Los microorganismos probióticos pueden ser vehiculizados a través de matrices alimentarias o de suplementos dietarios. Los probióticos son definidos por la OMS como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped. Estos microorganismos no colonizan permanentemente el intestino y deben permanecer vivos a lo largo del intestino.

Dentro de los microorganismos con función probiótica demostrada en el organismo humano, se encuentra el *Bacillus coagulans*. Este probiótico es una bacteria gran positiva, ácido láctica

² Incluir todos los integrantes del equipo de investigación, agregando tantas filas para cada rol de integrante del equipo de investigación como sea necesario.

³ Deberá adjuntar FPI 28, 29 y 30 debidamente firmados.

⁴ Idem nota 2.

⁵ Idem nota 2

⁶ Adjuntar certificado de materias aprobadas de estudiantes de carrera de posgrado.

⁷ Adjuntar certificado de materias aprobadas de estudiantes de carrera de grado.

formadora de esporas, que muestran una alta estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento del producto alimenticio.

Las matrices alimentarias de uso habitual para la vehiculización de probióticos son los lácteos, especialmente los yogures, ya que estos no requieren tratamiento térmico previo a su consumo y aportan un medio adecuado para la sobrevivencia del microorganismo. Esto es una limitación para el desarrollo de productos alimentarios probióticos de distinta naturaleza, tales como los panificados y los productos cárnicos que requieren de cocción. El uso de *Bacillus coagulans* puede ser una buena opción para resolver esta limitación y ofrecer alimentos probióticos de base farinácea que sean de consumo habitual de la población destinataria.

Este proyecto tiene por objetivo el estudio de la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* en tres matrices de base farinácea.

2.2. Palabras clave: probióticos – panificados – *Bacillus coagulans* – microbiota

2.3 Resumen del proyecto (inglés):

In recent years, progress has been made in the knowledge of microorganisms with a probiotic effect, showing that certain strains can generate beneficial effects on human health through their participation with the individual's microbiome.

Probiotic microorganisms can be carried through food matrices or dietary supplements. Probiotics are defined by the WHO as living microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a benefit to the health of the host. These microorganisms do not permanently colonize the intestine and must remain alive throughout the intestine.

Bacillus coagulans is one of the microorganisms with a proven probiotic function in the human organism. This probiotic is a highly positive, spore-forming lactic acid bacterium, which shows high stability during food processing and storage.

The food matrices commonly used for the transport of probiotics are dairy products, especially yogurts, since these do not require heat treatment prior to consumption and provide a suitable medium for the survival of the microorganism. This is a limitation for the development of probiotic food products of a different nature, such as baked goods and meat products that require cooking. The use of *Bacillus coagulans* may be a good option to solve this limitation and offer probiotic foods with a farinaceous base that are commonly consumed by the target population.

The aim of this project is to study the survival of *Bacillus coagulans* in three farinaceous-based matrices.

2.4 Palabras clave (inglés): probiotics - baked goods - *Bacillus coagulans* - microbiota

2.5 Disciplina desagregada:

3105 MEDICINA-NUTRICION

2158 INGENIERIA-TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

2.6 Campo de aplicación:

530 Higiene, alimentación y nutrición

810 Alimentos

2.7 Especialidad: Biología del *Bacillus coagulans*

2.8 Estado actual del conocimiento:

La salud es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades (OMS, 2014). En función de ello, es de importancia trabajar en acciones que permitan tener una perspectiva de prevención en salud para la población general, entendiéndose por prevención a las medidas destinadas no solamente a prevenir la aparición de la enfermedad, tales como la reducción de factores de riesgo, sino también a detener su avance y atenuar sus consecuencias una vez establecida (OMS, 1998).

En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de los microorganismos con efecto probiótico, mostrando que ciertas cepas pueden generar efectos benéficos sobre la salud humana a través de su participación con el microbioma del individuo (Fontanéa et al, 2018). El microbioma es el conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado. A diferencia de éste, la microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado, como el intestino humano. La microbiota intestinal de cada individuo se caracteriza por una combinación específica de especies bacterianas con variaciones interindividuales e intraindividuales a lo largo de la vida humana (Marchesi et al, 2015). Algunas funciones de la microbiota son el mantenimiento de la integridad estructural de mucosa gastrointestinal, participar en la inmunomodulación y protección contra los patógenos y poseer funciones específicas en el metabolismo de nutrientes (Valdes, 2018; Rinninella et al, 2019).

Los microorganismos probióticos pueden ser vehiculizados a través de matrices alimentarias o de suplementos dietarios. En relación a esto, en Argentina, el Código Alimentario Argentino (CAA) ofrece el marco legal para la comercialización de alimentos y, los productos con probióticos se encuentran incluidos en el mismo. El Capítulo XVII, Artículo 1389 - (Resolución Conjunta SPReI N° 261/2011 y SAGyP N° 22/2011), define que los probióticos son aquellos microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del consumidor. Para que una cepa pueda ser utilizada como ingrediente probiótico para alimentos debe cumplir con ciertos requisitos que incluyen la identificación de la cepa, la caracterización de la misma, contar con ensayos “in Vivo” e “in Vitro” que demuestren el efecto probiótico adjudicado debidamente documentados y respaldados en estudios efectuados por organismos nacionales y/o internacionalmente reconocidos, además de asegurar que la cepa probiótica no es riesgosa para la salud (CAA, 2021). El CAA también define a los Alimentos con Probióticos como aquellos alimentos con una carga de células viables que esté comprendida entre 10^6 y 10^9 UFC/g durante su período de duración mínima. Estos productos podrán ser rotulados: “... con probióticos” llenando el espacio en blanco con la denominación de venta del alimento correspondiente (CAA, 2021).

Los probióticos también fueron definidos por la Organización por la Food and Agriculture Organization (FAO) y por la OMS como: “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped. Estos microorganismos no colonizan permanentemente el intestino y deben permanecer vivos a lo largo del intestino. Por lo tanto, para ser consideradas buenas candidatas, las cepas bacterianas deben tener ciertas características que contribuyan a la colonización del huésped: tolerancia al pH bajo en el estómago, resistencia a las sales biliares y adherencia al epitelio del huésped (FAO, 2001).

Dentro de los microorganismos con función probiótica demostrada en el organismo humano, se encuentra el *Bacillus coagulans*. Este probiótico es una bacteria gran positiva, ácido láctica formadora de esporas; crece en un rango de temperatura entre 35 a 50°C y su rango de pH óptimo está entre 5.5 y 6.5. La formación de esporas de este probiótico permite que sea resistente a los ácidos gástricos y a la bilis para llegar intacto al intestino grueso, gracias a la cápsula que lo protege (Cardona-Arengas et al, 2019). También pueden sobrevivir sin nutrientes y son extremadamente resistentes a factores adversos, como la radiación ultravioleta, la deshidratación, las temperaturas elevadas, la congelación y los productos químicos (Libreros López et al, 2011). Son una forma de duración muy estable y muestran una alta estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento del producto alimenticio (Bader et al, 2012).

En 2008, *Bacillus coagulans* se reconoció por la Food and Drug Administration (FDA) como “producto reconocido generalmente como seguro” por sus siglas en inglés (GRAS) después de la evaluación de estudios toxicológicos. Además, la especie *Bacillus coagulans* se incluyó en la lista de agentes biológicos de presunción de seguridad (QPS) que pueden añadirse a los alimentos (Panel EFSA, 2013; López Cabanillas Lomelí, 2017).

Los beneficios en salud del *Bacillus coagulans* reportados van desde mejoras en el tratamiento de la hiperlipidemia, la adenovirus, la influenza, la estomatitis aftosa y la caries dental, hasta tratamientos para la artritis. Estudios clínicos reportan efectos benéficos en el dolor de estómago de niños, con una mezcla de *Bacillus coagulans* y prebióticos tales como los fructooligosacáridos; además, también se ha visto su efecto favorable en el tratamiento de la diarrea infantil y de la hipercolesterolemia. El *Bacillus coagulans* es un probiótico potencial en alimentos funcionales debido a su capacidad para soportar altas temperaturas, y su formación de esporas lo hace más apto para trabajar en matrices alimentarias basadas en frutas, vegetales, cereales o granos. Por consiguiente, este probiótico se hace atractivo en el amplio espectro del ámbito de la industria alimentaria, en su línea funcional (Cardona-Arengas et al, 2019).

Las matrices alimentarias de uso habitual para la vehiculización de probióticos son los lácteos, especialmente los yogures, ya que estos no requieren tratamiento térmico previo a su consumo y aportan un medio adecuado para la sobrevivencia del microorganismo. Esto es una limitación para el desarrollo de productos alimentarios probióticos de distinta naturaleza, tales como los panificados y los productos cárnicos que requieren de cocción. Frente a esta dificultad se han encontrado diferentes soluciones, tales como la microencapsulación de probiótico para su protección durante el tratamiento térmico o el uso de films enriquecidos con los microorganismos, que son aplicados luego de la cocción, al producto ya terminado (Seyedain-Ardabili et al, 2016; Soukoulis et al, 2014; Chávez et al, 2021; Penhasi et al, 2021).

Con el reciente estudio de microorganismos con funcionalidad probiótica con capacidad para formar esporas, se abre la posibilidad de poder ofrecer productos alimentarios probióticos más variados que hasta el momento no se podían desarrollar. Tal es el caso de los productos panificados. Antecedentes del estudio de *Bacillus coagulans* que reciben tratamiento térmico y muestran sobrevivencia, es el trabajo realizado por Mojtaba y colaboradores (2017) que trabajaron con la elaboración de salchichas inoculadas con *Bacillus coagulans* y *Bacillus subtilis* que luego fueron tratadas térmicamente a través de hervido, cocción en microondas y por fritura, obteniendo buenos resultados, especialmente para la cocción por hervido (Mojtaba et al, 2017). Otro estudio realizado es el de López (2017), que estudió la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* en una barra

de cereal rellena de fruta y en galletitas de avena, en los que encontró una sobrevivencia adecuada (López Cabanillas Lomelí, 2017).

Como se mencionó anteriormente, la matriz más utilizada para vehiculizar probióticos es de base láctea. En Argentina, los datos reportados por la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNYS) muestran que el consumo de lácteos en el país es bajo (Ministerio de Salud de la Nación, 2006). Matrices alimentarias, tales como el pan, resultan de interés para vehiculizar nutrientes y compuestos que favorezcan un mejor estado de salud debido a que forman parte de la mesa diaria de la población argentina, llegando a un consumo diario de 190 g de pan/per cápita/año (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021). Los productos de base farinácea más consumidos en el país son el pan de panadería, en primer lugar, seguido de galletitas y amasados de pastelería (Zapata y col, 2016). Hasta el momento no se cuenta en el mercado con productos panificados con aporte de probióticos, debido a que su elaboración atraviesa un tratamiento térmico que impide la supervivencia de los microorganismos luego de la cocción.

2.9. Problemática a investigar:

No se han encontrado trabajos en los que se estudie la supervivencia de *Bacillus coagulans* en productos de base farinácea que sean de panaderías artesanales y representativos de la alimentación argentina.

Hasta el momento no se encuentran disponibles en el país productos de base farinácea con agregado de microorganismos probióticos. Los únicos productos alimentarios probióticos son de base láctea y su consumo en Argentina es bajo. Desarrollar productos panificados que son de consumo habitual en la mesa argentina, permitiría ampliar su consumo con el beneficio que estos microorganismos proveen a la salud. Promover el enfoque de la prevención en la salud, incluye propiciar ambientes y entornos más saludables para las personas. Para ello es necesario ampliar la disponibilidad de productos saludables y que las personas puedan acceder con mayor facilidad a productos saludables para su consumo.

Se busca estudiar la factibilidad de vehiculizar *Bacillus coagulans* en 3 matrices farináceas de consumo habitual en la alimentación de la población argentina: pan francés, galletitas de agua y budín, ya que cada matriz tiene distintos ambientes para el microorganismo que podrían favorecer o perjudicar la sobrevivencia del mismo en el producto. Se va a evaluar su sobrevivencia durante el procesamiento y durante la vida útil de cada producto.

2.10. Objetivos:⁸

Objetivo general:

-Estudiar la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* en tres matrices alimentarias de base farinácea.

Objetivos específicos:

-Desarrollar los prototipos de las matrices con agregado de *Bacillus coagulans*.

-Evaluar la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* luego de la cocción en las tres matrices.

-Evaluar la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* durante el período de vida útil de las tres matrices.

2.11. Marco teórico:

En función de lo expuesto en el apartado Estado actual del conocimiento, *Bacillus coagulans* es un microorganismo con funcionalidad probiótica segura y comprobada. Al ser una bacteria que forma esporas, ofrece la posibilidad de ser vehiculizada en matrices alimentarias que requieren tratamiento térmico durante su elaboración, asegurando su sobrevivencia para poder generar un efecto beneficioso en el organismo humano. Los productos de base farinácea como los panificados, consumidos ampliamente dentro de la alimentación argentina, resulta un buen vehículo para ofrecer microorganismos probióticos a la población.

Este trabajo permitiría comenzar a tener evidencia disponible acerca del comportamientos del *Bacillus coagulans* en tres matrices de consumo habitual en Argentina: pan de panadería, galletitas de agua y budín, con el objetivo de avanzar en el conocimiento para llegar a poder desarrollar estos productos y ponerlos al alcance de la población general. Los pasos iniciales buscar conocer la supervivencia de este microorganismo luego del tratamiento térmico y durante la vida útil de productos alimentarios antes mencionados.

2.12. Hipótesis de trabajo o los supuestos implícitos (según corresponda al diseño metodológico):⁹

-*Bacillus coagulans* sobrevive a la cocción y durante la vida útil en las tres matrices de base farinácea.

2.13. Metodología:

Las matrices seleccionadas para realizar este estudio serán: pan tipo francés, budín de vainilla y galletitas de agua. En el primer caso la selección obedece a ser uno de los panificados de mayor

⁸ Detallar objetivo general y objetivos específicos.

⁹ En proyectos de desarrollo tecnológico puede ser reemplazada una hipótesis de trabajo por la propuesta de solución al problema de investigación mediante el diseño de un prototipo o elemento equivalente.

consumo, en tanto que en los dos casos restantes se pretende sumar barreras al desarrollo del microorganismo como es el caso de un elevado contenido de sacarosa (budín) o un menor contenido de agua (galletita) en comparación con el pan francés.

Se trabajará con la cepa de *Bacillus coagulans* (BC4) (SACCO System, Via Manzoni 29/A - 22071 Cadorago, Como – Italia). Esta especie es de comprobada actividad como probiótico y presenta, además, la característica de poder formar esporas ante condiciones adversas para su crecimiento lo que la vuelve de interés para ser utilizada en matrices alimentarias que pasen por una etapa de horneado a posteriori de la incorporación del probiótico, como es el caso de las matrices planteadas en este trabajo.

Las elaboraciones se realizarán en las instalaciones del Laboratorio de Nutrición de la Universidad Nacional de La Matanza. Previo a los ensayos de viabilidad se efectuarán pruebas para determinar el tiempo de horneado en cada caso. Se respetarán las normas de bioseguridad establecidas por la institución, a fin de garantizar la seguridad de los investigadores durante el trabajo en el laboratorio.

Para cada matriz se prevé la realización de una elaboración control, sin el agregado de probiótico (blanco), a la vez que las pruebas de sobrevivencia se realizarán por triplicado para cada una de las matrices.

A los fines del recuento se tendrán como puntos de muestreo:

Empaste

Post-fermentación (para el caso del pan únicamente)

Post-horneado

Vida útil del producto (diferente según la matriz)

La evaluación de la viabilidad de los microorganismos se realizará mediante la técnica de recuento en placa con siembra en profundidad de acuerdo a la Norma ISO 7218:2007 (Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations). Para ello la muestra inicial se preparará a partir de 5 gramos de producto que se homogeneizarán en 45 ml de agua peptonada al 0,1% m/m. De esta muestra se prepararán diluciones seriadas, también en agua peptonada, a partir de las cuales se realizará la siembra en placas de Petri por duplicado para cada dilución, utilizando como medio de cultivo Agar TSA (Tripteína Soya Agar), incubándose las placas a 37°C durante 48 hs. Luego de la incubación se realizará el recuento correspondiente.

Los resultados se expresarán como porcentaje de la población inicial, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Sobrevivencia (\%)} = \frac{\log UFC \text{ final}}{\log UFC \text{ inicial}} \times 100$$

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos se expresarán como medias \pm desviaciones estándar. Todos los datos serán tratados mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA). La comparación entre los promedios de tratamiento se realizará mediante test de Tukey (post hoc) al nivel de significancia de $p < 0.05$ (nivel de confianza del 95%). El análisis estadístico se realizará con el software SPSS, versión 20 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE. UU.).

2.14. Bibliografía:

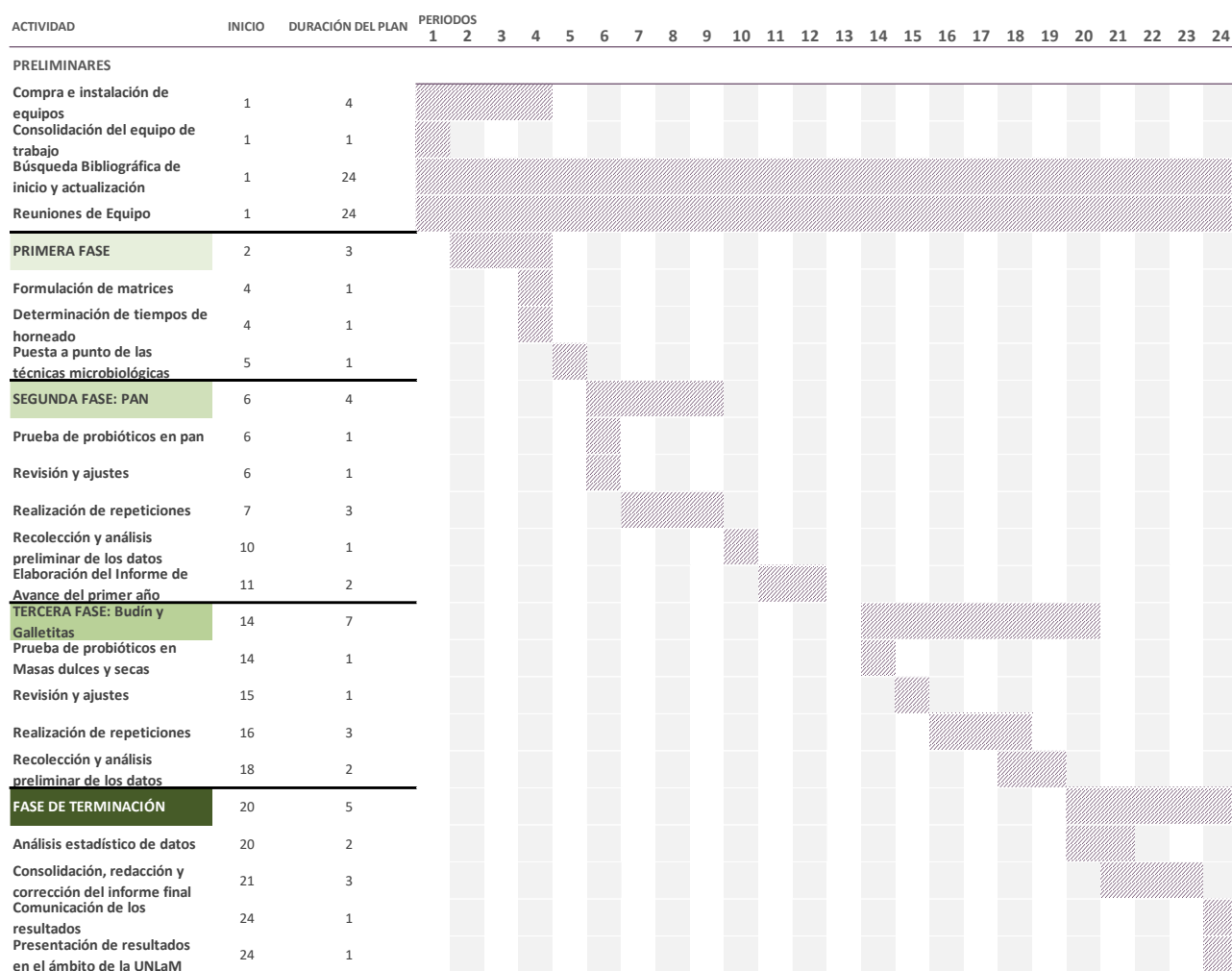
- ANMAT. Código Alimentario Argentino. 2021.
- Cardona-Arengas MA, López-Marín BE. Los probióticos: alimentos funcionales para lactantes. MÉD. UIS.2019;32(2):31-9.
- Chávez S, Rodríguez-Herrera R, Silva S, Nery S, Flores C, Ruelas X. Formulation of a Gluten-free Cookie with Prebiotics and an Edible Cover Enriched with Probiotics. Platinum Open Access Journal, 2021; 11(2): 3459-3469.
- Food and Agriculture Organization (FAO) and World Health Organization Expert Consultation (WHO). Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Food Nutr Pap. 2001;85:71-50.
- Fontanéa L, Benaiges D, Godaya A, Llauredó G, Botet JP. Influence of the microbiota and probiotics in obesity. 2018.
- Libreros López ML, Jiménez Porras M. Adición de Bacillus Coagulans (Lactobacillus Sporogenes) a una Mezcla en Polvo a Base de Cereales Instantáneos Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales, 2011; 6:123-129.
- López Cabanillas Lomelí M. Incorporación de Bacillus coagulans a productos a base de cereales. Universidad Autónoma de Barcelona, España, 2017.
- Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. Microbiome, 2015.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Alimentos Argentinos: productos panificados. Disponible en:

<http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=522>

Fecha de acceso: 2 de octubre de 2021.

- Ministerio de Salud de la Nación. 2da Encuesta Nacional de Nutrición y Salud, 2019. Disponible en: <https://fafran.org.ar/wp-content/uploads/2020/01/Encuesta-nacional-de-nutricion-y-salud.pdf>
Fecha de acceso: 01/10/21.
- Mojtaba J, Mortazavian AM, Hosseini H. Effect of household cooking methods on Bacillus probiotics in cooked sausage. Nutrition and Food Sciences Research Vol 4, No 1, Jan-Mar 2017, pages: 47-56.
- Panel EB. Scientific opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed. EFSA Journal, 2013; 11(11), 3449.
- Penhasi A, Reuveni A, Baluashvili, I. Microencapsulation May Preserve the Viability of Probiotic Bacteria During a Baking Process and Digestion: A Case Study with Bifidobacterium animalis Subsp. lactis in Bread. Curr Microbiol, 2021; 78: 576–589.
- Organización Mundial de la Salud. Documentos básicos. 48° edición. OMS, Italia, 2014.
- Organización Mundial de la Salud. Promoción de la Salud – Glosario. OMS, Ginebra, 1998.
- Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A and Mele MC. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. Microorganisms, 2019; 7-14.
- Seyedain-Ardabili S, Sharifan A, Tarzi BG. Synbiotic bread with encapsulated probiotics. Food Technol. Biotechnol. 54 (1) 52–59 (2016).
- Soukoulis C, Yonekura L, Gan HH, Behboudi-Jobbehdar S, Parmenter C, Fisk I. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. Food Hydrocolloids, 2014; 39: 231e242.
- Valdes AM. Role of the gut microbiota in nutrition and health. BMJ, 2018; 361: j2179.
- Zapata ME, Roviroso A, Carmuega E. La mesa argentina en las últimas dos décadas. Cambios en el patrón de consumo de alimentos y nutrientes (1996 – 2003). Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Centro de Estudios sobre Nutrición Infantil (CESNI), 2016.

2.15. Programación de actividades (Gantt):¹⁰



2.16. Resultados en cuanto a la producción de conocimiento:

Se espera comenzar a tener evidencia disponible en relación con el uso de microorganismos esporulados (específicamente *Bacillus coagulans*) con funcionalidad probiótica en el uso directo en matrices que requieran cocción, para conocer su comportamiento para posterior aplicación en desarrollo de alimentos de fácil acceso y para la población general.

2.17. Resultados en cuanto a la formación de recursos humanos:

En esta primera instancia se busca la consolidación de este equipo de trabajo y dar inicio a esta línea de investigación en la UNLAM para, luego, incorporar estudiantes becarios a los proyectos subsiguientes que se desprendan del presente.

¹⁰ Definir la programación de actividades para cada objetivo específico, y las personas responsables de su ejecución.

2.18. Resultados en cuanto a la difusión de resultados:

Se prevé realizar la comunicación de los resultados encontrados en, al menos, un congreso nacional y la publicación de un artículo científico.

2.19. Resultados en cuanto a transferencia hacia las actividades de docencia y extensión:

Los resultados serán transmitidos hacia los estudiantes dentro del programa de la asignatura Técnicas y Manejo de Alimentos, correspondiente a 2do año de la carrera de Licenciatura en Nutrición.

2.20. Resultados en cuanto a la transferencia de resultados a organismos externos a la UNLaM:

Los resultados que surjan de esta primera instancia de trabajo permitirán continuar trabajando sobre esta línea de investigación, permitiendo un siguiente paso de simulación digestiva. Se busca la producción de matrices alimentarias específicas, desarrollando formulaciones que podrán ser patentadas por la UNLAM, para luego realizar transferencia tecnológica, tanto a empresas pertenecientes a la industria alimentaria, como ajustando los requisitos para poder ser desarrollados a menor escala en pequeñas plantas elaboradoras. De esta manera, podrían ofrecerse a la población general, productos panificados de consumo habitual con probióticos que favorezcan un adecuado estado de salud en el marco de una alimentación saludable. Organismos tales como el Ministerio de Salud, también podría beneficiarse de este desarrollo, pudiendo ofrecer este tipo de formulaciones como parte de sus políticas de salud, tal como se trabajó en el Programa “Menos sal, más vida” con la adhesión voluntaria de panaderías e industria alimentaria.

2.21. Vinculación del proyecto con otros grupos de investigación del país y del exterior:

Este primer proyecto se realizará con la participación de un investigador perteneciente a la Universidad Nacional de Luján.

2.22. Destinatarios:

Tipo de destinatario		Subtipo de destinatario ¹¹	¿Cuál? Especificar	Demandante ¹²	Adoptante ¹³
Sector Gubernamental	Gobiernos	Del Poder Ejecutivo nacional			
		Del Poder Ejecutivo provincial			
		Del Poder Ejecutivo municipal			
	Otras Instituciones gubernamentales	Poder Legislativo en sus distintas jurisdicciones			
		Poder Judicial en sus distintas jurisdicciones			
Sector Salud		Hospitales, centros comunitarios de salud y otras entidades del sistema de atención			
Sector Educativo	Sistema universitario		UNLAM		X
	Sistema de educación básica y secundaria				
	Sistema de educación terciaria				
Sector Productivo	Empresas		Ind. Alimentaria, Panificadoras		X
	Cooperativas de trabajo y producción				
	Asociaciones del Sector				
Sociedad Civil	ONG's y otras organizaciones sin fines de lucro				
	Comunidades locales y particulares				

¹¹ Marcar con una X

¹² Demandante: entidad administrativa de gobierno nacional, provincial o municipal constituida como demandante externo de las tecnologías desarrolladas, que determina la necesidad del proyecto por su importancia social. Marcar con una X

¹³ Adoptante: beneficiario o usuario en capacidad de aplicar los resultados desarrollados (organismos gubernamentales de ciencia y tecnología nacionales o provinciales; universidades e institutos universitarios de gestión pública o privada; empresas públicas o privadas; entidades administrativas de gobierno nacionales, provinciales o municipales; entidades sin fines de lucro; hospitales públicos o privados; instituciones educativas no universitarias; y organismos multilaterales. Marcar con una X

3-Recursos existentes¹⁴

Descripción / concepto	Cantidad	Observaciones
Horno convector	1 (uno)	Laboratorio de Nutrición - UNLAM
Utensilios de cocina	varios	Laboratorio de Nutrición - UNLAM
Balanza de precisión	1 (uno)	Laboratorio de Nutrición - UNLAM
Medidor de humedad	1 (uno)	Laboratorio de Nutrición - UNLAM
Esporas de <i>Bacillus coagulans</i>		Donación
Contador de colonias	1 (uno)	
Autoclave eléctrico	1 (uno)	
Estufa de cultivo	1 (uno)	
Estufa de esterilización	1 (uno)	
Homogeneizador	1 (uno)	

4-Recursos financieros¹⁵

	Rubro	Año 1	Año 2	Total
Gastos de capital (equipamiento)	a) Equipamiento (1)			
	b) Licencias (2)			
	c) Bibliografía (3)			
	Total Gastos de Capital	\$ 0,00	\$ 0,00	\$ 0,00
Gastos corrientes (funcionamiento)	d) Bienes de consumo			
	d.1) Materias primas para elaborar matrices	\$ 500	\$ 3.000	\$ 3.500
	d.2) Cápsulas de Petri esterilizables x 50 un	\$ 22.000		\$ 22.000
	d.3) Pipetas 1 ml esterilizables x 500 un	\$ 10.000		\$ 10.000
	d.4) Tubos plásticos autoclavables x 100 un	\$ 3.000		\$ 3.000
	d.5) Medio de cultivo Agar TSA x 500 g		\$ 18.000	\$ 18.000
	d.6) Agua peptonada x 500 g		\$ 12.000	\$ 12.000
	d.7) Bolsas estériles x 100 un	\$ 3.500		\$ 3.500
	e) Viajes y viáticos (4)	\$ 2.000	\$ 2.000	\$ 4.000
	f) Difusión y/o protección de resultados (5)			
	f.1) 1 inscripción a congreso nacional		\$ 8.000	\$ 8.000
	g) Servicios de terceros (6)			
	h) Otros gastos: materiales de vidrio varios (7)	\$ 4.000	\$ 2.000	\$ 6.000
	Total Gastos Corrientes	\$ 45.000	\$ 45.000	\$ 90.000
Total Gastos (Capital + Corrientes)	\$ 45.000	\$ 45.000	\$ 90.000	

¹⁴ Antes de confeccionar el presupuesto del proyecto, será necesario que el Director incluya en esta tabla si dispone de recursos adquiridos con fondos de proyectos anteriores (equipamiento, bibliografía, bienes de consumo, etc.) a ser utilizados en el proyecto a presentar, y además se recomienda consultar en la Unidad académica la disponibilidad de recursos existentes factibles de ser utilizados en el presente proyecto.

¹⁵ Justificar presupuesto detallado. Para compras de un importe superior a \$15000.- se requieren tres presupuestos. (Resolución Rectoral N°177/2021.)

Aclaraciones sobre rubros del presupuesto

- 1 Equipamiento: Equipamiento, repuestos o accesorios de equipos, etc.
- 2 Licencias: Adquisición de licencias de tecnología (software, o cualquier otro insumo que implique un contrato de licencia con el proveedor).
- 3 Bibliografía: En el caso de compra de bibliografía, ésta no debe estar accesible como suscripción en la Biblioteca Electrónica.
- 4 Viajes y viáticos: Viajes y viáticos en el país: Gastos de viajes, viáticos de campaña y pasantías en otros centros de investigación estrictamente listados en el proyecto. Gastos de viaje en el exterior: (no deberán superar el 20% del monto del proyecto).
- 5 Difusión y/o protección de resultados: Ej.: (Gastos para publicación de artículos, edición de libros inscripción a congresos y/o reuniones científicas).
- 6 Servicios de terceros: Servicios de terceros no personales (reparaciones, análisis, fotografía, etc.).
- 7 Otros gastos: Incluir, si es necesario, gastos a realizar que no fueron incluidos en los otros rubros.

4.1 Orígen de los fondos solicitados

Institución	% Financiamiento
UNLaM	100 %
Otros (indicar cuál)	



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance/final de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	7
Vigencia	04/09/2023

Departamento:
Ciencias de la Salud

Programa de acreditación:
CyTMA2

Programa de Investigación¹:

Código del Proyecto:
C2SAL-058

Título del proyecto
Estudio de la sobrevivencia de *Bacillus coagulans* en tres matrices
alimentarias de base farinácea

PIDC:
Secretaría De Ciencia Y Tecnología

PII:
Elija un elemento.

Informe Final

Directora:
Prof. Dra. Dana Zoe Watson

¹ Los Programas de Investigación de la UNLaM están acreditados con resolución rectoral, según lo indica la Resolución HCS N° 014/15 sobre **Lineamientos generales para el establecimiento, desarrollo y gestión de Programas de Investigación a desarrollarse en la Universidad Nacional de La Matanza**. Consultar en el departamento académico correspondiente la inscripción del proyecto en un Programa acreditado.



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance/final de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	7
Vigencia	04/09/2023

A. Desarrollo del proyecto

A.1. Grado de ejecución de los objetivos inicialmente planteados, modificaciones o ampliaciones u obstáculos encontrados para su realización (*desarrolle en no más de dos (2) páginas*)

Los objetivos planteados en este proyecto de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general: Estudiar la supervivencia de *Bacillus coagulans* BC4 en tres matrices alimentarias de base farinácea.

Objetivos específicos:

Objetivo 1- Desarrollar los prototipos de las matrices con agregado de *Bacillus coagulans* BC4.

El objetivo fue realizado completamente, sin encontrar obstáculos para su realización.

-Cepa: en el presente estudio se trabajó con esporas de *Bacillus coagulans* BC4 (SACCO System, Via Manzoni 29/A - 22071 Cadorago, Como – Italia). La dosis utilizada en las tres matrices fue calculada de tal manera que la carga final fuese de 10^8 esporas por gramo de producto horneado, para lo cual se realizaron los cálculos correspondientes considerando que el liofilizado del cual se partió presenta una carga de 5×10^{10} esporas/gramo.

-Matrices: Se desarrollaron los prototipos de pan francés, galletita de agua y budín de vainilla para ser inoculados con esporas de *Bacillus coagulans* BC4.

- Para la matriz pan francés se utilizó receta estandarizada: harina de trigo 000 (marca Día), agua potable, levadura fresca (marca Calsa), sal fina de mesa (marca Día), sacarosa (marca Día). Cocción: 200 °C durante 20 minutos. Se realizaron muestras de 30 g peso cocido.
- Se estandarizó la receta para la matriz galletita de agua: harina 000 (marca Día), agua potable, aceite de girasol (marca Día), sal fina de mesa (marca Día). Cocción: 200 °C durante 8 minutos. Se realizaron muestras de 5 g peso cocido.
- La receta estandarizada para la matriz budín de vainilla: harina de trigo 0000 (marca Día), huevos (marca OPI), manteca (marca La Serenísima), azúcar (marca Día), esencia de vainilla (marca Ali-cante). Cocción: 180 °C durante 20 minutos. Se realizaron muestras de 30 g peso cocido.

Los ingredientes de todas las matrices fueron pesados en balanza digital calibrada (marca Systal, precisión 0,1 g) y cocinados en horno convector con control de temperatura.

Los ingredientes fueron elegidos controlando que fueran del mismo lote de fabricación y se utilizaron previos a su fecha de vencimiento.

En todos los casos se realizaron prototipos control o blanco (sin inocular) y prototipos inoculados con esporas de *Bacillus coagulans* BC4. El presente trabajo se llevó a cabo sin plantear ninguna estrategia que facilitara la supervivencia de la cepa en las matrices estudiadas, sino que estas fueron elegidas por presentarle al microorganismo tres escenarios diferentes en cuanto a condiciones físico-químicas que podrían favorecer o perjudicar su supervivencia en el producto.

Todo el trabajo se realizó en los laboratorios de la Universidad Nacional de La Matanza.



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance/final de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	7
Vigencia	04/09/2023

Objetivo 2-Evaluar la supervivencia de *Bacillus coagulans* BC4 luego de la cocción en las tres matrices.

El objetivo fue realizado completamente, sin encontrar obstáculos.

La viabilidad del microorganismo se estudió mediante la técnica de recuento en placa con siembra en profundidad (Norma ISO 7218:2007). La muestra inicial se preparó con 5 g de producto en 45 ml de agua peptonada al 0,1% m/m (marca Britania), homogeneizado durante 3 minutos con *blender* tipo *Stomacher* (marca Numak, modelo HPS). Se prepararon diluciones seriadas (hasta un orden logarítmico inferior a la dosis inoculada) en agua peptonada y se sembró en placas de Petri por triplicado, en medio de cultivo Agar TSA (Tripteína Soya Agar, marca Britania) con incubación en estufa de cultivo (marca Hessico) a 37 °C de 48 h. Previo a la siembra parte del homogenato fue sometido a tratamiento térmico (75 °C/30 minutos), luego se enfrió a temperatura ambiente (20 °C). Estas muestras se identificaron como “CTT”. La otra parte se realizó sin tratamiento térmico (“STT”). Se utilizó la metodología analítica: ICMSF-Microorganismos de los Alimentos I (2000). En todos los casos las colonias obtenidas se analizaron mediante microscopio óptico (marca Arcano, modelo XZS 100 BN) realizando observación directa y con coloración de Gram. Los resultados encontrados se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de los cultivos realizados en las tres matrices

ETAPA	PAN FRANCÉS			BUDIN DE VAINILLA			GALLETITA DE AGUA		
	BCO*	STT**	CTT***	BCO	STT	CTT	BCO	STT	CTT
Empaste	2,0.10 ³	8,6.10 ⁵	4,0.10 ⁷	1,0.10 ⁴	6,6.10 ⁴	3,5.10 ⁶	5,4.10 ³	8,3.10 ³	1,6.10 ⁴
Post Fermentación	3,2.10 ³	3,0.10 ⁶	1,1.10 ⁷						
Post Horneado	2,8.10 ²	1,0.10 ⁴	3,5.10 ⁵	2,6.10 ³	1,0.10 ²	6,2.10 ³	7,0.10 ²	8,2.10 ³	2,7.10 ⁴

*Blanco / **sin tratamiento térmico / ***con tratamiento térmico

De los resultados encontrados se desprende que:

-Cuando se aplicó tratamiento térmico la carga de *Bacillus coagulans* BC4 fue mayor que cuando no se aplicó tratamiento térmico en las tres matrices, en los diferentes puntos de muestreo.

-En el punto de muestreo Empaste ya se observa un descenso de la carga calculada en las tres matrices, pero siendo de diferente magnitud para cada una de ellas. La matriz pan francés es la que presenta el menor descenso en Empaste.

-En el punto de muestreo post-horneado no se observó una influencia del tratamiento térmico sobre la carga residual de espora en la matriz Galletita de agua; disminuyó a la mitad en Budín de vainilla y descendió a 2/3 en Pan francés.

En futuros proyectos se buscará estudiar estrategias para mejorar los resultados de tal manera de poder obtener productos finales con cargas más altas de *Bacillus coagulans* BC4.

Objetivo 3-Evaluar la supervivencia de *Bacillus coagulans* BC4 durante el período de vida útil de las tres matrices.

El Código Alimentario Argentino (ANMAT) ofrece el marco legal para la comercialización de alimentos y en el Capítulo XVII define a los Alimentos con Probióticos como aquellos alimentos con una carga de células viables que esté comprendida entre 10⁶ y 10⁹ UFC/g durante su período de duración



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance/final de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	7
Vigencia	04/09/2023

mínima. Debido a que los resultados observados no cumplieron con la carga mínima luego del horneado en ninguna de las tres matrices estudiadas, se decidió no llevar adelante el objetivo 3. En futuros trabajos se buscarán estrategias que favorezcan la supervivencia a la aplicación del tratamiento térmico de *Bacillus coagulans BC4* en las matrices estudiadas.

A.2. Actualizar *Publicaciones, Desarrollos, Formación de RRHH*, y demás actividades en el **Banco de datos de actividades de CyT** dentro de SIGEVA UNLAM, para que se vea reflejado en el informe dentro de la plataforma.

B. Vinculación²: Indicar conformación de redes, intercambio científico, etc. con otros grupos de investigación; con el ámbito productivo o con entidades públicas. Desarrolle en no más de dos (2) páginas.

Durante el transcurso del presente proyecto se realizaron intercambios con docentes investigadores de la Universidad Nacional de Luján y de la Universidad Nacional del Litoral.

C. Otra información. Incluir toda otra información que se considere pertinente.

En relación con la producción científica, se presentó un resumen en formato póster en el Congreso CYTAL 2023, durante el mes de octubre. Se proyecta presentar un segundo resumen en un congreso nacional del área de los alimentos durante el año 2024 con los resultados obtenidos durante el último año de trabajo.

Fueron enviados dos artículos para su evaluación, un artículo original y una revisión narrativa:

-Trabajo Original enviado para su evaluación. Autores: Saura EL, Vilas NI, Veneziani FT, Sburlati ML, Watson DZ. Assessment of the viability of *Bacillus coagulans BC4* following baking processes for bread, crackers, and muffins. Journal of Negative and No Positive Results. ISSN: 2529-850X. Con revision de pares.

-Revisión narrativa enviada a evaluación. Autores: Veneziani FT, Saura EL, Vilas NI, Sburlati ML, Watson DZ. Uso de cepas de *Bacillus coagulans* como microorganismo probiótico en productos de panadería y pastelería: una revisión narrativa. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba (Universidad Nacional de Córdoba). ISSN: 0014-6722. Con revisión de pares.

Durante el año 2022, el grupo de trabajo dio una charla a la comunidad durante la Semana Nacional de la Ciencia y la Tecnología, organizado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, sobre microbiota, pre y probióticos.

² Entendemos por acciones de “vinculación” aquellas que tienen por objetivo dar respuesta a problemas, generando la creación de productos o servicios innovadores y confeccionados “a medida” de sus contrapartes.



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance/final de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	7
Vigencia	04/09/2023

Siendo este el primer proyecto acreditado del grupo de trabajo, sus integrantes realizaron capacitaciones en el área de microscopía y microbiología, favoreciendo la formación y consolidación de este equipo para futuros proyectos de investigación en la temática. Así mismo, como parte del proyecto, se hizo la compra de equipamiento que permitió la apertura de un Laboratorio de Microbiología en la Universidad Nacional de La Matanza, posibilitando futuras investigaciones en el área dentro de la institución. Este Grupo de investigación se encuentra enmarcado dentro de la Resolución HCS N° 586/2023 y de la Línea de Investigación UNLaM titulada “Formulación y caracterización de alimentos y productos alimentarios saludables y para fines especiales” (Resolución HCS N° 128/2023).

D. Cuerpo de anexos:

- Anexo I:
 - FPI-013: Evaluación de alumnos integrantes. (si corresponde)
 - FPI-014: Comprobante de liquidación y rendición de viáticos. (si corresponde)
 - FPI-015: Rendición de gastos del proyecto de investigación acompañado de las hojas foliadas con los comprobantes de gastos.
 - FPI-035: Formulario de reasignación de fondos en Presupuesto.
- Anexo II: FPI 017³ Alta patrimonial de los bienes adquiridos con presupuesto del proyecto
- Nota justificando baja de integrantes del equipo de investigación.

Prof. Dra. Dana Zoe Watson
Firma y aclaración
del director del proyecto.

Lugar y fecha: San Justo, 28/02/2024

³ Solo ante la presentación del Informe Final