



**Universitatea “Dunărea de Jos” Galați**

# **MICROBIOLOGIE SPECIALĂ**

**Șef lucrări dr. ing. Vasile Aida**

**Departamentul pentru Învățământ la Distanță și cu Frecvență Redusă  
Galați - 2009**



## CUPRINS

<b>Capitolul I. CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND MICROBIOTA ALIMENTELOR ȘI INCIDENȚA MICROORGANISMELOR CONTAMINANTE</b> .....	5
1.1. Microbiota specifică.....	5
1.2. Microbiota nespecifică.....	6
1.3. Clasificarea microorganismelor contaminante .....	6
<b>Capitolul II. MICROBIOLOGIA PRODUSELOR DE ORIGINE ANIMALA</b>	
<b>2.1. MICROBIOLOGIA LAPTELUI</b> .....	12
2.1.1. Contaminarea internă.....	12
2.1.2. Contaminarea externă.....	13
2.1.3. Grupele de microorganisme din lapte și semnificația lor .....	14
2.1.4. Fazele de dezvoltare a microbiotei laptelui.....	15
<b>2.2. MICROBIOTA LAPTELUI PASTEURIZAT</b> .....	15
<b>2.3. MICROBIOLOGIA LAPTELUI PRAF</b> .....	16
<b>2.4. DEFECTELE DE NATURĂ MICROBIANĂ ALE LAPTELUI ȘI ALE LAPTELUI PASTEURIZAT</b> .....	16
<b>2.5. MICROBIOLOGIA PRODUSELE LACTATE ACIDE</b> .....	17
2.5.1. Defecte de natură microbială .....	19
<b>2.6. MICROBIOLOGIA UNTULUI</b> .....	20
<b>2.7. MICROBIOLOGIA BRÂNZETURILOR</b> .....	21
2.7.1. Alterări microbiene ale brânzeturilor.....	22
<b>2.8. PROCESE MICROBIOLOGICE LA PRELUCRAREA ȘI CONSERVAREA CĂRNII</b> .....	23
2.8.1. Surse de contaminare microbială a cărnii .....	24
2.8.2. Factorii care condiționează dezvoltarea microorganismelor în carne.....	25
2.8.3. Particularități ale microbiotei cărnii de pasăre .....	28
2.8.4. Particularități ale microbiotei cărnii de pește .....	28
2.8.5. Microorganisme transmisibile prin carne și factori de risc .....	29
2.8.6. Microbiologia preparatelor din carne .....	29
2.8.7. Defecte și alterări microbiene.....	30
2.8.8. Culturi starter utilizate în industria preparatelor din carne .....	31
<b>2.9. MICROBIOLOGIA OUĂLOR</b> .....	32
2.9.1. Alterări microbiene ale ouălor .....	33
<b>Capitolul III. MICROBIOLOGIA PRODUSELOR DE ORIGINE VEGETALA</b> .....	35
<b>3.1. PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA BERII</b> .....	35
3.1.1. Alterări microbiene ale berii .....	38
<b>3.2. MICROBIOLOGIA VINULUI</b> .....	40
3.2.1. Microbiota strugurilor și a mustului .....	40
3.2.2. Rolul drojdiilor în fermentarea mustului .....	41
3.2.3. Fermentația spontană a mustului de struguri .....	43
3.2.4. Fermentația malo-lactică .....	43
3.2.5. Boli și defecte microbiene ale vinurilor .....	44
<b>3.3. PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA SPIRTULUI</b> .....	47
3.3.1. Obținerea spirtului din materii prime amidonoase .....	47
3.3.2. Obținerea spirtului din melasă .....	48
<b>3.4. BIOTEHNOLOGIA OBȚINERII DROJDIEI COMPRIMATE</b> .....	49
3.4.1. Procese ce au loc la păstrarea drojdiei comprimate.....	50
3.4.2. Defecte microbiene .....	51

3.5. PROCESSE MICROBIOLOGICE ÎN INDUSTRIA DE MORĂRIT-PANIFICAȚIE .....	51
3.5.1. Microbiologia cerealelor .....	51
3.5.2. Modificări ale microbiotei și calității boabelor la conservare .....	53
3.5.3. Microbiologia făinurilor .....	55
3.5.4. Procese microbiologice la fabricarea pâinii .....	56
3.5.5. Defecte microbiene ale pâinii în timpul păstrării .....	59
3.6. PROCESSE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA PASTELOR FĂINOASE.....	60
3.7. PROCESSE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA BISCUȚILOR .....	60
3.8. PROCESSE MICROBIOLOGICE LA PĂSTRAREA SEMINȚELOR OLEAGINOASE ȘI LA FABRICAREA ULEIULUI .....	60
3.9. MICROBIOLOGIA ZAHĂRULUI ȘI A PRODUSELOR ZAHAROASE. ....	62
3.9.1. Procese microbiologice la cultivarea și păstrarea sfeclei de zahăr .....	62
3.9.2. Alterări microbiene ale sfeclei în siloz .....	62
3.9.3. Incidența proceselor microbiologice în etapele tehnologice .....	63
3.9.4. Microbiologia zahărului brut și rafinat .....	65
3.9.5. Procese microbiologice la fabricarea produselor zaharoase .....	65
3.10. MICROBIOLOGIA FRUCTELOR .....	67
3.10.1. Microorganisme agenți de alterare a fructelor .....	68
3.11. MICROBIOLOGIA SUCURILOR ȘI A BĂUTURILOR RĂCORITOARE .....	69
3.12. MICROBIOLOGIA LEGUMELOR.....	70
3.12.1. Alterări microbiene ale legumelor .....	70
3.12.2. Procese microbiologice la murare .....	71
3.12.3. Microbiologia conservelor .....	72
<b>Capitolul IV. MICROBIOLOGIA PREVIZIONALĂ .....</b>	<b>73</b>
4.1. ETAPELE MODELĂRII CREȘTERII MICROBIENE.....	73
4.1.1. Clasificarea modelelor .....	75
4.1.2. Aplicațiile microbiologiei previzionale .....	76
4.1.3. Baze de modele .....	77
<b>Teste de autoevaluare .....</b>	<b>79</b>
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>85</b>

## **CAPITOLUL I**

### **CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND MICROBIOTA ALIMENTELOR ȘI INCIDENȚA MICROORGANISMELOR CONTAMINANTE**

Produsele alimentare conțin, în mod constant și în număr destul de mare, diferite microorganisme. Studiul microbiotei alimentelor a condus la stabilirea în diferite țări a unor norme microbiologice privind încărcarea cu microorganisme a alimentelor, formarea microbiotei în condițiile proceselor tehnologice de prelucrare a alimentelor, rolul microorganismelor la creșterea valorii biologice și alimentare și rolul etiologic al unor alimente în transmiterea microorganismelor patogene.

Valoarea alimentară este dată de: valoarea nutritivă, valoarea senzorială și gradul de inocuitate (absența din alimente a microorganismelor patogene, a substanțelor toxice microbiene și a organismelor care produc infestarea: ouălor de paraziți, insecte).

Poluarea microbiană se referă la căile prin care, în produsele alimentare, pot ajunge, ocazional, microorganisme de alterare a alimentelor, ce pot forma în aliment substanțe toxice sau microorganisme patogene/toxicogene, agenți ai îmbolnăvirilor prin consum de alimente contaminate.

Microorganismele benefice, introduse în mod dirijat sub formă de culturi pure pentru creșterea calității produselor alimentare, nu sunt considerate contaminanți deși, în funcție de condițiile de activitate și de durata în care ele sunt active, acestea pot să producă uneori defecte senzoriale.

Microbiota alimentelor poate fi diferențiată în microbiota specifică și nespecifică.

#### **1.1. Microbiota specifică**

Este alcătuită din microorganisme (culturi starter) introduse dirijat în produs în scopul obținerii unor transformări dorite. În aceeași categorie intră și microbiota care se formează în etape tehnologice determinate (la murarea verzei și a altor legume, la fermentarea mustului ș.a.) și care realizează însușiri senzoriale și de compoziție obligatorii, cu o influență pozitivă asupra alimentelor.

## 1.2. Microbiota nespecifică

Include microorganismele care ajung în organe și în țesuturi ale organismelor vii, în cazul îmbolnăvirii sau distrugerii funcțiilor de barieră, în condiții de traume, înfometare, supraîncălzire/ suprarăcire a acestora. Când nu se păstrează condițiile sanitare în etapele de pregătire, prelucrare, transport și păstrare este posibilă o contaminare secundară. Microbiota nespecifică poate fi reprezentată de microorganisme organotrofe (saprofite) și patogene. Microorganismele saprofite prezente în produse pot condiționa, într-o serie de cazuri, dezvoltarea unor procese biochimice obligatorii și, deci, să condiționeze calitatea alimentelor. În acest caz, ele devin specifice pentru microbiota dată a produsului. Având însușiri antagoniste în raport cu alte microorganisme, acestea, adesea, asigură conservarea produselor alimentare și consumul este lipsit de pericol epidemiologic.

## 1.3. Clasificarea microorganismelor contaminante

Microorganismele contaminante pot fi grupate, în funcție de proprietățile fiziologice și de acțiunea lor asupra alimentelor, în următoarele categorii: organotrofe, patogene/facultativ patogene și strict patogene.

✧ **Microorganismele organotrofe (saprofite).** Sunt foarte răspândite în natură și produc degradări ale alimentelor când se află în număr mare, ca rezultat al acțiunii lor asupra compușilor organici din aliment. Microorganismele care produc alterarea produselor alimentare au mai ales activitate proteolitică. Contaminarea produselor alimentare și înmulțirea microorganismelor în produse este nedorită, deoarece ele scad valoarea nutritivă și biologică și, în unele cazuri, fac imposibilă folosirea produsului în nutriție. Alături de modificarea însușirilor senzoriale, microorganismele pot produce compuși toxici. Din această categorie de microorganisme fac parte cele prezentate în continuare.

*Bacteriile de putrefacție* degradează alimentele bogate în proteine în care, prin acest proces, se pot acumula substanțe toxice (amine biogene toxice). Aminele produc și modificări de gust și miros, ceea ce avertizează consumatorul de prezența produșilor de putrefacție. Histamina, însă, este lipsită de gust și miros, astfel încât este posibilă consumarea produselor și îmbolnăvirea. Histamina este produsă prin acțiunea lui *Achromobacter histaminicus* în produsele de carne, dar a fost detectată și în vinuri, unde se formează sub acțiunea bacteriilor din genul *Pediococcus*.

*Microorganismele toxicogene* cauzează îmbolnăviri prin consum de alimente în/pe care s-au dezvoltat, producând metaboliți cu efect toxic asupra celor care le consumă. Perioada de incubație și simptomele evidențiate prin investigații pot fi corelate cu alimentul ingerat.

Dintre agenții intoxicațiilor prin alimente contaminate fac parte

următoarele microorganisme:

- *Clostridium botulinum*, care produce intoxicații grave (botulism) datorate elaborării în alimente de neurotoxine ce produc sindrom neuroparalitic cu efect letal. Manifestarea stării de boală (uscăciunea gurii, viziunea dublă, constipație, moartea datorită paraliziei mușchilor ce funcționează reflex) are loc după 1-10 zile și cazurile letale ajung până la 68%. Toxinele botulinice au o toxicitate ridicată, încât o doză de 1μg poate omorî un om de 70 kg. Intoxicația se produce mai ales prin consum de pește și conserve de pește, produse vegetale, conserve insuficient sterilizate. Aceasta se explică prin faptul că bacteriile sporulate sunt inactivate la 120°C, în timp de 4-10 min, în timp ce la fierbere sunt necesare 6 h pentru inactivarea lor pe cale termică. Dacă sterilizarea nu este suficientă la pregătirea conservelor, endosporii supraviețuitori ai tratamentului termic pot germina la păstrare și, în stare activă de creștere, produc toxine. Tulpini non-proteolitice tip E au un minim de creștere la temperatura de 3°C și prezintă risc la conservarea produselor refrigerate;

- *Staphylococcus aureus*, care produce intoxicații cu rată redusă de letalitate și cu o perioadă scurtă de incubare, chiar după 30 min de la ingerare. Se transmite de la indivizii purtători de tulpini enterotoxice prin intermediul unor alimente gata preparate păstrate la temperatura camerei: creme, produse de patiserie, carne, lapte de la animale bolnave. Specia *S. aureus* se dezvoltă și se înmulțește bine la 37°C, dar poate crește în domeniul 6...45°C. Deși bacteriile pot fi distruse ușor, au indicele de reducere decimală  $D_{60}=2-5$  min, enterotoxinele sunt mai termostabile, astfel încât la 60°C sunt inactivate în 16h, iar la 80°C în 5-19 min. Toxinele sunt exogene, iar starea de boală se manifestă la scurt timp după ingerare. Riscul de intoxicație crește deoarece, prin dezvoltarea acestor bacterii, nu apar în mod obligatoriu modificări de gust și miros ale alimentului. Specii ale genului *Staphylococcus*: *S. faecalis*, *S. bovis*, *S. durans* provoacă posibile stări de toxiinfecție, când concentrația bacteriilor în produs este de  $10^6$ -  $10^7$ /g;

- *Bacillus cereus* și, în ultimii ani, *Bacillus licheniformis* și *Bacillus subtilis* pot fi implicate în producerea de intoxicații. *B. cereus* poate produce două tipuri de toxine. Astfel, poate produce sindrom emetic (greturi, stări de vomă) observat după 1 - 5 ore de la consum, frecvent prin consum de orez fiert/prăjit sau sindrom manifestat prin stări diareice, după 8-16 ore, ca urmare a consumului de alimente reîncălzite, preparate cu boia de ardei sau alte condimente ce pot conține un număr mare de spori;

*Mucegaiurile toxicogene* produc intoxicații denumite micotoxicoze, cu o perioadă de incubare prelungită, încât este dificilă asocierea îmbolnăvirii cu alimentul incriminat. Mucegaiurile pot forma colonii la suprafața produsului și în etapa de creștere colonială, o dată cu apariția sporilor, pot să sintetizeze produși secundari de metabolism de natură hidrocarbonată, cu o toxicitate deosebit de ridicată. Omul și animalele pot să sufere intoxicații prin consum de alimente mucegăite, intoxicații care se manifestă prin îmbolnăviri ale diferitelor organe (ficat, rinichi). Dintre bolile produse se amintesc: ergotism,

aleucie toxică alimentară (ATA), hepatocarcinogeneză, nefrotoxicoze, sindrom hemoragic, poliurie ș.a. Mico-toxinele fungice au o toxicitate ridicată și concentrația maximă admisă pentru produse mucegăite pentru a fi acceptate în consum este foarte redusă (CMA = 5-30μg/kg produs alimentar). Majoritatea micotoxinelor acționează prin inhibarea acțiunii enzimelor implicate în sinteza de proteine, pot produce modificări în structura acizilor nucleici și efectul se manifestă printr-o înmulțire anarhică a celulelor cu apariția tumorilor maligne. Deoarece aceste micotoxine nu conțin azot în moleculă, ele nu pot fi inactivate pe cale termică, fiind deosebit de termostabile. Sunt rezistente la acțiunea factorilor de mediu, se oxidează foarte greu și efectul lor se poate manifesta ani de zile. Același mucegai poate să producă mai multe tipuri de micotoxine și aceeași micotoxină poate fi produsă de mai multe specii sau genuri. Nu se cunosc metode eficiente pentru eliminarea totală a micotoxinelor din alimente. Calea unică pentru evitarea formării lor este prevenirea dezvoltării mucegaiurilor pe alimente. Deși nu toate mucegaiurile produc micotoxine, este recomandat a nu se consuma produse mucegăite pentru eliminarea riscului de intoxicație.

Produc micotoxine specii aparținând următoarelor genuri:

- genul *Aspergillus* - reprezentanții genului produc aflatoxine denumite astfel de la specia *Aspergillus flavus*; se cunosc 12 aflatoxine, dintre care cele mai toxice sunt: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>. Inițialele provin de la fluorescența pe care o dau aceste toxine prin expunerea plăcii cromatografice la radiații UV cu λ=360nm (blue = albastru, green = verde), în timp ce numerele se referă la ordinea de migrare pe cromatogramă.

Aflatoxinele M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, cu toxicitate mai redusă, pot fi detectate în laptele provenit de la animale hrănite cu furaje mucegăite cu specii toxicogene.

Mai produc aflatoxine tulpini ale speciilor: *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus wentii*. Aflatoxinele au efect toxicogen asupra animalelor și produc ciroze în 3 săptămâni de la hrănirea acestora cu 1 mg /kg corp. Încălzirea la 120°C, timp de 4 h, nu distruge în totalitate aceste micotoxine. Aflatoxinele nu sunt solubile în apă, ci în solvenți organici, dar aceștia nu pot fi folosiți pentru îndepărtarea micotoxinelor, deoarece prin extracție se pierde valoarea alimentară a produsului.

Alte micotoxine (sterigmatocistine, ochratoxine, clavacina) au o toxicitate mai redusă și sunt produse de unele tulpini aparținând speciilor: *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus ochraceus*;

- genul *Penicillium* - specii ale genului pot produce peste 60 de toxine, mai ales când se dezvoltă pe cereale și furaje. Dintre speciile producătoare fac parte: *P. islandicum* care se dezvoltă pe orez și produce 2 micotoxine: islanditoxina și luteoskirina. Pe fructe se dezvoltă *P. expansum*, care produce putrezirea albastră și sticloasă a merelor și sintetizează patulina. Patulina este rezistentă la temperaturi ridicate, la pH acid și are efect cancerigen. Dacă sucul de fructe este supus fermentației, o parte din toxină se elimină din lichidul fermentat.

Alte specii: *P. citrinum* produce citrinina; *P. citreoviridae* -citreoviridina;



*P. cyclopium* - cyclopiazina;

- genul *Fusarium*, care produce trichotecene ce pot fi sintetizate și la temperaturi scăzute, deosebit de rezistente în timp (mucegaiurile pot să moară dar toxina rezistă ani de zile). Specii toxicogene: *F. sporotrichoides* produce sporofusariogenina; *F. nivali* produce nivalenol. Prin consum de produse alimentare contaminate se produce ATA;

- genul *Rhizopus* - specii ale genului produc micotoxine care determină stări de oboseală și poliurie.

Mucegaiuri din genurile *Cladosporium*, *Ustilago*, *Stachybotris*, *Walemia* produc toxine la mucegăirea cerealelor. Consumul de furaje contaminate cu mucegaiuri toxicogene poate cauza moartea animalelor (cazuri mai frecvent întâlnite la oi și la cai), iar dacă animalul nu a ingerat doza letală, micotoxinele se acumulează în diverse țesuturi/organe, sau se pot elimina prin lapte, iar în cazul păsărilor, prin ouă.

✧ **Microorganismele patogene/facultativ patogene transmisibile prin alimente.** Microorganismele care produc toxiinfecții alimentare sunt patogene sau facultativ patogene. Ele se dezvoltă pe alimente și produc îmbolnăviri la om, atunci când gradul de contaminare al alimentului respectiv este mare. Starea de boală apare în scurt timp de la ingerarea alimentului (2-12 h) și se caracterizează prin stări de vomă, diaree, dureri abdominale acute care determină scăderea capacității de muncă a omului și, funcție de cantitatea de substanța toxică ingerată și de starea organismului, efectul este letal. În general, starea de toxiinfecție poate dura câteva zile, după care are loc vindecarea.

Dintre agenții toxiinfecțiilor alimentare fac parte bacterii aparținând următoarelor genuri/specii:

- *Salmonella*, care cuprinde specii ce sunt agenți importanți ai toxiinfecțiilor alimentare: *Salmonella enteridis*, *S. dublin*, *S. virchow*, *S. typhimurium* ș.a. Toxinele sunt intracelulare, deci se formează și rămân în celula bacteriei. După consumul produsului are loc, sub acțiunea HCl din stomac, distrugerea celulei bacteriene și eliminarea toxinei din celule. Aceste bacterii se pot înmulți pe alimente, dar nu produc modificări senzoriale. Dintre alimentele cu risc de contaminare fac parte produsele lactate, carnea de pui, ouăle. În gastroenterite, bacteriile se multiplică în lumenul intestinal și sindromul este evident după 12-24 ore de la consum.

Pot produce febra enterică, când infecția se face cu *Salmonella typhi* și *Salmonella paratyphi*;

- *Listeria monocytogenes*, care produce rar listerioze (letalitate în 30-50% din cazuri), cu o perioadă de incubație de câteva săptămâni. Recent s-a stabilit că aceste bacterii, foarte răspândite în apă, sol, plante, pot fi vehiculate prin alimente. Este o bacterie psihotrofă și crește în alimente păstrate prin refrigerare, alimente gata preparate, consumate după reîncălzire, în care produc listeriolizină;

- *Escherichia coli*, care poate prezenta tulpini oportunist patogene cu serotipuri enterotoxice - agenți ai enteritei infantile, enteropatogene care se

pot dezvolta pe epiteliul intestinal, verocytotoxice - produc colite hemoragice (se transmit prin alimente și produc infecția chiar atunci când numărul de celule este foarte redus) și serotipuri enteroinvazive asemănătoare taxonomic cu bacterii din genul *Shigella dysenteriae*. Majoritatea tulpinilor normale întâlnite în microbiota intestinală, aparținând lui *E coli*, sunt lipsite de risc și pot fi folosite ca indicatori igienico-sanitari în controlul microbiologic al alimentelor;

- *Yersinia enterocolitica*, care produce enterite caracterizate prin diaree, febră și dureri abdominale (manifestări similare apendicitei), în special la copii. La bătrâni poate produce septicemii și complicații cum ar fi artrite, meningite. Este o bacterie psihotrofă și poate crește și la temperaturi de 0...4°C; a fost izolată din lapte, înghețată, carne de porc;

- *Vibrio parahaemolyticus*, care este o bacterie halofilă izolată din ape marine (zone tropicale). Se transmite prin scoici, crustacee, pește. După consumul produsului contaminat, după o perioadă de 12-24 ore, toxiinfecția se manifestă prin diaree, asociată cu dureri abdominale acute;

- *Vibrio cholerae*, care poate produce holera și o diaree explozivă, cu efect letal în peste 40% cazuri, dacă nu se aplică un tratament adecvat. Poate crește pe diferite alimente și se consideră\* că holera demarează ca o toxiinfecție alimentară;

- *Aeromonas*, care cuprinde bacterii ce sunt contaminați comuni ai alimentelor cu aciditate redusă și  $a_w$  ridicat, păstrate la temperatura camerei sau prin refrigerare. Produce cytotoxina și hemolizina dând stări diareice la copii;

- *Clostridium perfringens*, care se elimină prin materiile de dejecție și, prin nerespectarea condițiilor de igienă, poate contamina alimentele. Creșterea lui pe produse (alimente cu carne gata preparate, insuficient tratate termic) este asociată cu formare de acid butiric și gaze; *Cl. perfringens* tip C produce enterite necrotice.

În calitate de agenți ai toxiinfecțiilor alimentare, sunt vizate și genuri mai puțin studiate ca: *Citrobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, și altele cărora în ultimii ani li se acordă o mare importanță.

✧ **Microorganismele strict patogene.** Acestea nu se pot înmulți în alimente, dar pot fi transferate de la om și animale bolnave, prin ingerare de produse ocazional contaminate, la indivizi sănătoși, dând prin infecție, după o perioadă de incubare, îmbolnăviri specifice. Răspândirea patogenilor poate fi oprită fie prin evitarea căilor de acces la aliment, fie prin tratamente care asigură distrugerea sau eliminarea lor.

✧ **Bacteriile-agenți ai toxiinfecțiilor și intoxicațiilor** prin consum de alimente contaminate pot pătrunde în organism atât pe cale digestivă cât și pe cale sanguină, devenind **strict patogene**, producând boli ca: furunculoze și infecții cutanate (*Staphylococcus aureus*), colibaciloze (*Escherichia coli*), febra tifoidă (*Salmonella sp.*). În unele cazuri, alimentele produse de la animale bolnave pot fi o sursă de infecție cu bacterii-agenți ai tuberculozei (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*), ai brucelozei (*Brucella*

*abortus*, *Brucella melitens*), și difteriei (*Corynebacterium diphtheriae*), diareii infecțioase (*Campylobacter*), antraxului (*Bacillus anthracis*).

*Rickettsiile* pot produce febra Q. Dintre acestea, *Coxiella burnetii* se poate transmite prin laptele provenit de la vaci bolnave, are o termorezistență ridicată și poate supraviețui în produse insuficient pasteurizate.

*Virusurile* (enterovirusuri, adenovirusuri, rotavirusuri) pot produce gastroenterite, hepatite (Enterovirus 72 tip A), encefalite, poliomielită ș.a.

## CAPITOLUL II

### MICROBIOLOGIA PRODUSELOR DE ORIGINE ANIMALĂ

Pentru diverse subramuri ale industriei alimentare, în tratarea microbiologiei produselor de origine animală și vegetală se prezintă sursele posibile de contaminare (internă sau externă), utilizarea culturilor starter în biotehnologii alimentare și rolul proceselor microbiologice în fabricarea, conservarea și asigurarea calității produselor alimentare.

#### 2.1. MICROBIOLOGIA LAPTELUI

Datorită compoziției sale, laptele este un mediu excelent pentru dezvoltarea numeroaselor microorganisme, condiții mai favorabile avându-le bacteriile lactice. Contaminarea laptelui se poate produce din două surse: internă și externă.

##### 2.1.1. Contaminarea internă

Contaminarea internă are loc în timpul producerii laptelui, ca urmare a pătrunderii unor microorganisme patogene transmisibile prin lapte, de la animalul bolnav. Alte microorganisme pot ajunge de pe canalele galactofore ale animalului, unde formează o microbiotă naturală ce este antrenată la mulgere. Dintre microorganismele ce provin din surse interne fac parte cele patogene și nepatogene.

##### ✧ **Microorganisme patogene.**

Din această categorie fac parte:

- **genul *Mycobacterium*** cu specia *M tuberculosis* (tip *bovis*), care se transmite de la animalele bolnave de tuberculoză. Nu se înmulțește în lapte, dar poate supraviețui chiar zile și săptămâni. Deși se pare că tipul *bovis* nu ar provoca îmbolnăviri la om, au existat situații în care indivizii cu imunitate scăzută s-au îmbolnăvit prin consum de lapte contaminat. Pentru evitarea oricărui risc, laptele posibil contaminat este preluat de către întreprinderea de industrializare a laptelui pe linii separate și, în mod obligatoriu, este supus unui tratament termic corespunzător pentru a distruge această bacterie patogenă, care are o termorezistență superioară altor patogeni transmisibili prin lapte.

Când laptele colectat de la animale cu TBC are o încărcătură microbiană mare și nu poate suferi pasteurizarea, se poate folosi la fabricarea cașului cu o perioadă de maturizare prelungită, sau la fabricarea brânzei topite, când se folosește un tratament termic adecvat pentru

inactivarea bacteriilor-agenti ai tuberculozei;

- genul *Brucella* cu speciile *B. abortus*, *B. melitens*, care se pot transmite prin lapte de vacă, ovine, caprine și pot produce îmbolnăviri manifestate prin avort spontan și septicemii. Bacteriile din genul *Brucella* sunt inactivate rapid la temperaturi mai mari de 60...65°C, în schimb în laptele nepasteurizat pot rezista mult timp;

- genul *Streptococcus* cu specia *Streptococcus pyogenes*, care produce inflamații ale țesuturilor; *Streptococcus agalactiae* este agentul mastitei (inflamarea ugerului);

- genul *Staphylococcus* cu specia *Staphylococcus aureus*, care poate produce ulceratii ale ugerului sau pielii; se înmulțește în lapte și poate produce enterotoxine.

Prin lapte se mai pot transmite și virusuri, agenți ai bolilor virale ca: poliomielita, hepatita și altele.

#### ✧ **Microorganismele nepatogene.**

Dintre acestea fac parte: *streptococii lactici*: genul *Lactococcus* - prezența lor este normală în lapte, în timp ce bacterii ale genului *Lactobacillus* sunt mai rar întâlnite. Numărul microorganismelor ce ajung în lapte din surse interne poate varia între 1000 și 1500 celule/cm<sup>3</sup>; când are loc recoltarea primelor porțiuni din lapte, indiferent de condițiile igienico-sanitare aplicate.

Prin contaminare internă mai pot ajunge, accidental, în lapte antibiotice, atunci când animalele au fost sub tratament care influențează negativ activitatea bacteriilor lactice, sensibile la antibiotice. Când animalele au fost furajate cu produse mucegăite și au ingerat eventual micotoxine, acestea pot fi transformate în organismul animal și eliminate în lapte sub formă de aflatoxine:  $M_1$ ,  $M_2$  cu efect toxic mai scăzut decât al celor de tip  $B_1$ ,  $B_2$ .

Alte substanțe ce se pot elimina în mod normal prin lapte (intrând în compoziția acestuia), sunt:

- imunoglobulinele - substanțe cu efect antimicrobian;
- lizozimul - cu activitate litică asupra peretelui celulei microbiene;
- sistemul lactoperoxidază - tiocianat - apă oxigenată;
- lactoferina;
- aglutininele (lacteninele).

Aceste substanțe fac ca laptele să protejeze fătul în prima perioadă de viață de îmbolnăviri și determină o stagnare a creșterii bacteriilor în lapte imediat după mulgere (faza bacteriostatică).

### **2.1.2. Contaminarea externă**

Această contaminare are loc în timpul mulgerii până în momentul prelucrării laptelui, prin contact cu vasele, aparatele de muls, aerul, sau în timpul transportului. O sursă importantă o reprezintă părul animalului și pielea ( $10^8$ - $18 \cdot 10^9$  celule/g păr). Contaminarea prin intermediul aerului din

grajd este mai mare dacă s-a făcut furajarea, datorită prafului, motiv pentru care mulgerea se face înainte de hrănirea animalelor. Contaminarea poate avea loc, frecvent, prin intermediul apei, al bălegarului ( $10^9$ - $10^{10}$  celule/g) și prin intermediul vaselor de colectare, deoarece laptele formează pe suprafața vaselor o peliculă, iar pe suprafața recipientului în care se face încălzirea se formează piatra de lapte (un amestec de fosfați, săruri minerale), deosebit de rezistentă, care face dificilă îndepărtarea microorganismelor aderente. Prin intermediul materiilor fecale, de la om și de la animalele bolnave se pot transmite microorganisme patogene și anume: *Bacillus anthracis* (produce antraxul); genul *Salmonella* - microorganismele se pot înmulți în lapte sau rezistă în lapte, fiind agenți ai toxiinfecțiilor alimentare; genul *Shigella* microorganismele din acest gen sunt agenți ai dizenteriei; genul *Proteus*; *Pseudomonas*; genul *Klebsiella*. Contaminarea externă este ocazională cu numeroase alte grupe de microorganisme care pot fi, în marea lor majoritate, agenți de alterare.

### 2.1.3. Grupele de microorganisme din lapte și semnificația lor

Dintre grupele de microorganisme ce alcătuiesc microbiota laptelui și pot fi active în lapte fac parte:

- **bacteriile lactice**; prezența bacteriilor lactice este de neevitat; dintre acestea fac parte streptococii lactici din genul *Lactococcus* și reprezentanții genului *Lactobacillus*;

- **bacteriile propionice**; provin din surse externe, se dezvoltă lent în lapte și pot fi utilizate industrial la maturarea brânzeturilor speciale;

- **bacteriile coliforme**; au habitatul în colon. În condiții neigienice de recoltare a laptelui pot ajunge și în lapte. Au caracterul comun de a fermenta lactoza cu formare de acid lactic, dioxid de carbon și hidrogen și sunt folosite în controlul microbiologic ca indicator al gradului de igienă la recoltarea și păstrarea laptelui. Din grupul coliform fac parte bacteriile din genurile: *Escherichia* (*Escherichia coli*), *Enterobacter* (*E. aerogenes*), *Klebsiella*, *Citrobacter*. Prezența lor în cantități mari în lapte denotă o stare precară de igienă. Dacă nu sunt distruse la pasteurizare, pot cauza defectul de balonare timpurie a brânzeturilor;

- **bacteriile de putrefacție**, care acționează asupra proteinelor laptelui și provin din surse externe. Pot produce numeroase defecte la păstrarea și prelucrarea laptelui; bacteriile din genul *Pseudomonas* se pot dezvolta într-o gamă largă de temperaturi (inclusiv la refrigerare). Dintre specii, se amintesc *P. fluorescens*, *P. mephitia*, *P. fragi*, *P. syncyanea*, *P. aeruginosa*. Prin acțiunea lor asupra lipidelor, laptele capătă un miros „de încins”, neplăcut; prin oxidarea lactozei produc acidul lactobionic cu gust amar: genul *Bacillus* cu specia *B. cereus* se poate înmulți în lapte, poate produce o coagulare neacidă și un gust amar. Când se găsește în cantitate mare, produce starea de toxiinfecție alimentară. Bacterii din genul *Proteus* cu speciile *P. vulgaris*, *P. mirabilis* pot produce degradarea cazeinei;

- **bacteriile butirice**, care sunt bacterii ale genului *Clostridium*, cu speciile: *Cl. butyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. tyrobutiricum*, *Cl. perfringens*; pot da balonarea târzie a brânzeturilor;

- **bacteriile peptonizante**, care pot produce degradări ale proteinelor cu formare de peptone și peptide amare și dau coagulare neacidă (enzimatică). Fac parte din genurile: *Microbacterium*, *Enterococcus*; (streptococi fecali)

- **drojdii**, care apar ocazional și fac parte din genul *Torulopsis*, *Kluyveromyces*, *Yarrowia*; activitatea lor în lapte este redusă, deoarece bacteriile se înmulțesc mai rapid;

- **mucegaiurile**, care apar ocazional din aer; pot fi contaminanți ai utilajelor, ai spațiilor de depozitare din întreprinderi și pot produce mucegaierea brânzeturilor. Frecvent, apare specia *Geotrichum candidum*.

Dacă, după mulgere, laptele este păstrat fără tratament termic, din punct de vedere microbiologic se constată o anumită succesiune a fazelor determinate de factorii intrinseci și de natura și concentrația microorganismelor prezente:

#### 2.1.4. Fazele de dezvoltare a microbiotei laptelui

În **faza bacteriostatică** se constată o stagnare a creșterii numărului de celule, ca urmare a prezenței substanțelor antimicrobiene. Poate dura 1-6 h la 20°C sau 24 - 48 h la 1...4°C.

În **faza microbiotei heterogene**, microorganismele prezente în lapte încep să se înmulțească și, în funcție de temperatură, se pot dezvolta bacterii psihrofile din genurile: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, prin păstrarea în condiții de refrigerare; bacteriile mezofile, aparținând genului *Lactococcus*, sau bacteriile termofile ale genului *Lactobacillus* se dezvoltă la temperaturi >40°C.

Faza de **dezvoltare a bacteriilor lactice**. Lactococii se dezvoltă până când pH-ul scade de la 6,5 la 4,5, după care activitatea lor este inhibată; lactobacilii se dezvoltă până la pH = 3,5 (pot produce maximum 350°T). Streptococii au și activitate peptidazică și produc peptide ce servesc drept sursă de azot pentru lactobacili.

Urmează faza de dezvoltare a **drojdiilor** și **mucegaiurilor** care consumă acidul lactic, sursele de azot și are loc o creștere a pH-ului până la valori de 6-7, ceea ce face posibilă dezvoltarea în continuare a **bacteriilor de putrefacție** care mai pot degrada substanțele proteice ale laptelui.

Între toate aceste microorganisme se stabilesc relații de comensalism, ce pot fi dirijate tehnologic, pentru obținerea diferitelor produse din lapte.

## 2.2 MICROBIOTA LAPTELUI PASTEURIZAT

Laptele pasteurizat mai conține o microbiotă alcătuită din microorganisme termorezistente în care predomină enterococii (număr admis

prin standard:  $3 \cdot 10^5/\text{cm}^3$  la sticle;  $5 \cdot 10^5/\text{cm}^3$  la bidoane), și bacteriile coliforme ( $3 \text{ coli}/\text{cm}^3$  la sticle;  $300 \text{ coli}/\text{cm}^3$  la bidoane).

Din microbiota laptelui pasteurizat au fost izolate bacterii din *genul Micrococcus (M. luteus)*, *Micobacterium lacticum*, bacterii ale genului *Alcaligenes*.

Laptele pasteurizat nu conține microorganisme patogene deoarece, prin pasteurizare, sunt inactivate toate bacteriile patogene transmisibile prin lapte. În laptele pasteurizat pot fi active unele enzime termostabile de natură microbială ce pot produce defecte de gust la păstrare (tabelul 1).

### 2.3. MICROBIOLOGIA LAPTELUI PRAF

Laptele praf are o umiditate de 3-3,5%, care nu permite înmulțirea microorganismelor. Laptele praf este un produs higroscopic încât, dacă, după deschiderea ambalajului, umiditatea crește la  $>11\%$  se produce mușcăre și sunt catalizate procese ce duc la rânțezirea și modificarea gustului. Din punct de vedere microbiologic se admit până la 2000 de microorganisme per  $\text{cm}^3$  lapte reconstituit 1/10, iar *Escherichia coli* să fie absent.

**Tabelul. 1 Valori ale lui D pentru enzime termostabile din lapte**

Bacterii	Enzime termostabile	Valori ale lui D	Timp de încălzire pentru pierderea a 90%
<i>Pseudomonas</i>	Lipaze	D74	54 minute
	Proteaze	D74	160 minute
		D130	8,8 minute
		D140	1,5 minute
<i>Alcaligenes</i>	Lipaze	D74	16 minute

### 2.4. DEFECTELE DE NATURĂ MICROBIANĂ ALE LAPTELUI ȘI ALE LAPTELUI PASTEURIZAT

În timpul păstrării laptelui sau laptelui pasteurizat apar anumite defecte datorate activității microorganismelor care au ajuns în lapte și nu au fost inactivate prin pasteurizare. Dintre defecte amintim:

- *acidifierea și coagularea*; are loc o acidificare prin acumulare de acid lactic, proteinele din lapte pot să precipite și are loc coagularea acidă a laptelui și separarea de zer. Când are loc acest proces, laptele este dirijat spre fabricarea brânzeturilor;

- *proteoliza și lipoliza*, care au loc prin menținerea laptelui la temperaturi scăzute și sunt produse de bacterii coliforme, bacterii ale genului *Pseudomonas* și de către bacterii lipolitice din genul *Bacillus* și genul *Acinetobacter*,



- *colorarea*, care apare la laptele crud în timpul verii în urma dezvoltării unor microorganisme producătoare de pigmenți astfel: *Chromobacterium cianogenum* și *Pseudomonas syncyanea* produc pigmenți albaștri; *Brevibacterium prodigiosus* și *Brevibacterium erytropeus* dau pigmenți roșii;

- *gustul amar*, care poate fi întâlnit în laptele proaspăt, atunci când încărcătura microbiană este foarte mare înainte de pasteurizare, și este dat de bacterii peptonizante din genul *Microbacterium*, genul *Enterobacter*, genul *Enterococcus*. Aceste microorganisme produc peptide amare prin hidroliza proteinelor laptelui. Gustul amar poate proveni și în urma activității de oxidare a lactozei la acid lactobionic sub acțiunea bacteriilor din genul *Pseudomonas*;

- *gustul de caramel*, care poate fi dat prin dezvoltarea în lapte a lui *Lactococcus lactis var. maltigenes*;

- *defectele de consistență*, care se datorează coagulării cazeinei sub acțiunea bacteriilor lactice. Poate avea loc și mărirea vâscozității laptelui datorită dezvoltării unor microorganisme ce produc substanțe de natură poliglucidică (*Alcaligenes viscolactis*, genul *Micrococcus*, genul *Enterobacter*).

## 2.5. MICROBIOLOGIA PRODUSELE LACTATE ACIDE

Tehnologiile de preparare a acestor produse au la bază utilizarea de culturi de bacterii lactice selecționate ce se folosesc sub formă de monoculturi sau culturi mixte, cu proprietăți biotehnologice corespunzătoare pentru obținerea unor produse de calitate superioară. Culturile pure de bacterii lactice se obțin în laboratoarele de cercetări specializate în care se menține puritatea culturilor, se fac studii de selecționare și conservare a proprietăților optime pentru utilizarea industrială!

**Modul de livrare a culturilor.** Culturile pure de bacterii lactice se pot livra sub diverse forme.

**Culturile lichide.** În acest caz se face pasteurizarea laptelui, inocularea cu cultura pură, se aplică un regim de termostatare optim și, după ce are loc coagularea laptelui, etapă ce coincide cu numărul maxim de celule rezultate prin înmulțire în lapte, se face repartizarea în flacoane de 100 ml, în condiții aseptice. Aceste culturi trebuie folosite repede, deoarece, dacă aciditatea crește, are loc inactivarea parțială a bacteriilor lactice. Culturile de lactococii mezofili, după inoculare, se mențin la 20°C, timp de 12-24 h, cele pentru lactobacili la 42°C, 4-6 h. În timpul verii, pentru a preveni creșterea acidității, se adaugă carbonat de calciu, astfel încât acesta neutralizează o parte din acid și se formează lactatul de calciu și dioxid de carbon, ceea ce face ca, la deschiderea sticlei, să se observe o ușoară spumare.

**Culturile uscate.** Se obțin din culturi lichide, prin uscare la temperaturi sub 70°C. Prin uscare are loc o reducere a numărului de celule vii, iar viabilitatea streptococilor este de aproximativ 40%.

**Concentratele bacteriene.** Se obțin din culturi lichide, prin centrifugarea mediului la 15 000 rot/min, când se elimină zerul și are loc o

concentrare a celulelor la valori de  $5 \cdot 10^9/g$  . Pot fi livrate ca atare sau se pot congela și livra sub formă de concentrat bacterian.

**Culturile liofilizate.** După pasteurizarea laptelui, se face inocularea și termostatarea, iar cultura se repartizează în fiole de sticlă, astfel încât, prin liofilizare, să rămână o cantitate de 1- 5 g. În prima etapă are loc o congelare lentă cu viteza de  $1^\circ C/min$ , până la  $-17^\circ C$ , se continuă congelarea rapidă până la  $-50...-70^\circ C$ , apoi are loc uscarea în vacuum. Flacoanele sunt închise ermetic și se obține o pulbere în care bacteriile sunt adsorbite pe substanța uscată a laptelui, iar procentul de viabilitate a celulelor este 10-60%. Culturile liofilizate pot fi ușor transportate și utilizate în producție.

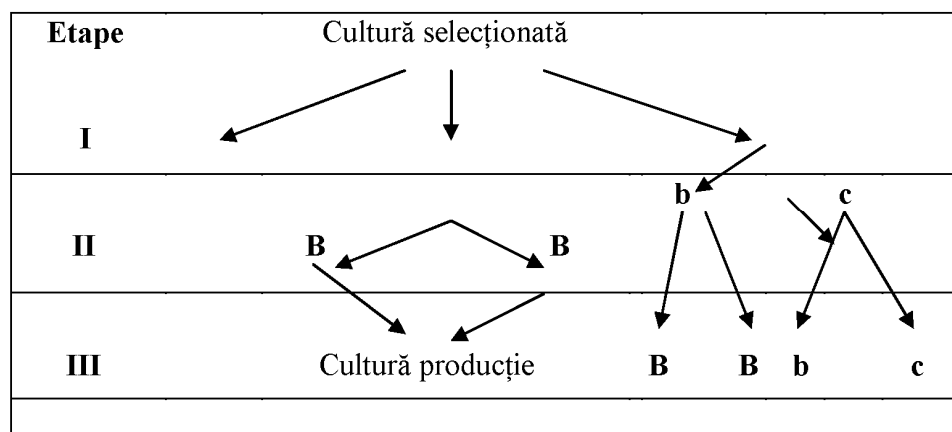
Pentru obținerea produselor lactate acide, în prima etapă se realizează, în laboratorul uzinal, activarea culturilor pure în scopul obținerii cantității de inocul necesar pentru declanșarea fermentației lactice (fig. 1.). Inoculul de producție sau maiaua trebuie preparat(ă) în cantități suficiente, încât prin inocularea laptelui pasteurizat să existe un număr de celule de bacterii lactice care să depășească de cel puțin 1000 de ori numărul microorganismelor existente în microbiota reziduală a laptelui.

Pentru activarea culturii pure de bacterii lactice, în fabrică se execută 2-4 pasaje sau inoculări succesive, inoculări care se fac la intervale în care se asigură timpul necesar și temperatura optimă pentru creșterea și activitatea celulelor inoculate (fig. 2).

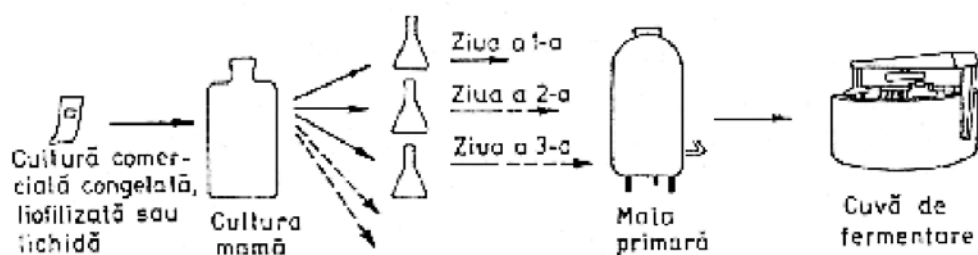
Pasajul de la volume mici la volume mari, în vederea obținerii inoculului de producție, se realizează după ce a avut loc coagularea laptelui, etapă în care concentrația de celule este maximă și corespunde cu sfârșitul fazei exponențiale de creștere bacteriană.

Între etape se face controlul calității culturii și se determină aciditatea, iar prin examen microscopic se determină puritatea și concentrația de celule prin metoda Breed.

În tabelul 2 se dau condițiile necesare pentru reactivarea culturilor liofilizate prin pasaje repetate (2-3 pasaje) pe lapte pasteurizat. În funcție de natura culturii pure diferă cantitatea necesară de inocul, condițiile de termostatare și aciditatea în grade Thörner, la care se recomandă repicarea.



**Fig. 1. Etape în obținerea culturilor de producție.**



**Fig. 2. Schema clasică de inoculare cu bacterii lactice**

**Tabelul 2 Condiții pentru reactivarea culturilor de bacterii lactice (înainte de obținerea culturilor intermediare și a culturii de producție)**

Culturi de bacterii	Cantitatea de	Temperatură °C	Timp, ore	Aciditate, °T
<i>Lactococcus lactis</i>	1-2	20...30	17-20	90-95
<i>Lactococcus cremoris</i>	1-2	25...30	18-24	86-92
<i>Streptococcus salivarius thermophilus</i>	1-2	37...40	6-10	90-100
<i>Lb. delbrueckii bulgaricus</i>	1-2	40...42	5-8	110-130
<i>Lb. acidophilus</i>	2-3	37...40	7-10	120-180
Cultură pentru iaurt	1-2	43...45	2-2,3	90-95
Culturi pentru smântână și unt	1-2	22...24	16-18	90-95

O particularitate deosebită față de celelalte produse lactate o prezintă chefirul în care, pentru preparare, se folosește un amestec de streptobacterii mezofile asociate cu drojzii din genul *Torulopsis*, microorganisme care sunt fixate pe aglomeratele de cazeină coagulată sub forma „granulelor de chefir”. Între aceste culturi apar relații de simbioză, deoarece bacteriile lactice beneficiază de vitaminele din grupa B produse de drojzii, iar drojdiile au activitate fermentativă optimă la valori acide de pH.

### 2.5.1. Defecte de natură microbiană.

În cazul produselor lactate acide păstrate mai mult timp sau ca urmare a procesului tehnologic defectuos, acestea pot suferi diferite tipuri de alterări microbiene:

- brânza proaspătă de vaci poate suferi defectul de acrire, când se păstrează la temperaturi ridicate, gustul amar atunci când predomină bacterii sporulate (acumulare a peptonelor și peptidelor amare), sau mucegăire cu *Geotrichum candidum*;

- smântâna poate suferi defectul de mucegăire cu *Geotrichum*. În condițiile în care în grăsime rămân bacterii lipolitice se produce, la păstrare, râncezirea hidrolitică cu eliberarea de acizi grași care, prin oxidare,

generează aldehide, cetone.

În smântână trebuie să fie absente bacteriile patogene și se admit 20 bacterii coliforme g<sup>-1</sup> smântână.

## 2.6. MICROBIOLOGIA UNTULUI

La fabricarea untului se poate folosi smântână dulce și, mai frecvent, smântână fermentată. În acest scop, smântâna dulce este pasteurizată și, după răcire, este inoculată cu culturi mixte de bacterii lactice aromatizante, producătoare de diacetil și acetil metil carbinol.

Dintre acestea fac parte: *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* biovar. *diacetyllactis*, *Lactococcus lactis* biovar. *acetoinicus*, *Leuconostoc citrovorum* și *paracitrovorum*. Aceste bacterii pot produce substanțe de aromă din acidul piruvic format prin fermentația lactozei sau din acidul citric prezent în lapte. După fermentare, smântâna maturată cu aproximativ 55 °C suferă operația de batere cu separarea, în zară, a unui număr mare de microorganisme. Urmează spălarea masei de unt cu apă pură din punct de vedere microbiologic, malaxarea și caluparea. Prin malaxare are loc dispersarea fină a apei. În micropicăturile cu diametrul mai mare de 5 μm pot fi prezente celule microbiene.

Numărul de microorganisme în untul proaspăt este de aproximativ 10<sup>9</sup> g<sup>-1</sup>. În absența oxigenului și a nutrienților are loc, treptat, o reducere a numărului de lactococi încât, după o lună de păstrare, în microbiota untului predomină micrococi și drojdii, microorganisme ce pot proveni din apa de spălare sau de pe suprafața utilajelor.

La păstrarea untului, în funcție de natura microorganismelor de contaminare și de numărul lor, se pot produce următoarele defecte:

- dezvoltarea microorganismelor care produc lipaze exogene ce determină hidroliza lipidelor din unt, cu formare de acizi grași și care inițiază râncezirea hidrolitică. Lipazele microbiene sunt eliberate și prin autoliza celulelor microbiene, iar activitatea lor nu este oprită la temperaturi de refrigerare. Dintre bacteriile producătoare de lipaze fac parte: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas mephitica*, specii din genul *Flavobacterium* și din genul *Alcittigenes*;

- mucegăirea untului, care poate fi produsă superficial de către mucegaiuri producătoare de lipaze din genurile *Aspergillus*, *Penicillium*; mucegăirea internă poate fi produsă de către *Cladosporium herbarum*, mucegai microaerofil ce se dezvoltă în micropicături de lichid din masa de unt, formând puncte negre inestetice.

Pentru aprecierea calității untului, standardul prevede absența bacteriilor coliforme pe gram produs și admite, în funcție de calitatea untului, între 1000 și 2000 celule de drojdii și mucegaiuri/g.

## 2.7. MICROBIOLOGIA BRÂNZETURILOR

Pentru obținerea brânzeturilor se poate folosi lapte crud, lapte în care bacteriile lactice trebuie să reprezinte peste 50% din totalul microbiotei, cu restricții privind prezența bacteriilor butirice (absente la 1 cm<sup>3</sup>), a bacteriilor coliforme, a bacteriilor de putrefacție din genul *Pseudomonas*. Pentru evitarea unor defecte și a riscului de transmitere a unor bacterii patogene de la animale bolnave, se folosește frecvent laptele pasteurizat. După răcire se face inocularea laptelui cu monoculturi sau culturi mixte specifice, iar etapele tehnologice urmăresc să asigure, în mod dirijat, activitatea utilă a culturilor starter.

Din culturile microbiene utilizate la fabricarea brânzeturilor fac parte următoarele microorganisme:

- **bacterii lactice**, dintre care lactococi (streptococi lactici) cu speciile: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis diacetylactis* și *Streptococcus salivarius varietatea thermophilus*. Dintre lactobacili se folosesc speciile *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticum*, *Lactobacillus plantarum* și *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Leuconostoc cremoris*.

În lapte are loc înmulțirea bacteriilor lactice favorizată de prezența lactozei, a surselor asimilabile de azot (aminoacizi și peptide), a potențialului de oxido-reducere. Cantitatea existentă în lapte a compușilor cu azot este limitată și se consumă după 2-3 generații. De aceea, pentru obținerea unor concentrații maxime de celule, se recomandă cultivarea mixtă a lactococilor producători de peptidaze și a lactobacililor producători de proteaze exogene. La fabricarea brânzeturilor, după fermentarea lactozei, bacteriile lactice immobilizate în masa de coagul pot, după autoliză, să fie o sursă de enzime cu rol în maturarea brânzeturilor;

- **bacterii propionice**. Aceste bacterii se folosesc în culturi pure la fabricarea brânzeturilor cu pastă tare și desen, deoarece fermentează lactoza și lactații cu formarea de acid propionic, CO<sub>2</sub> care se degajă lent și formează alveole caracteristice. Măresc valoarea brânzeturilor, prin producerea de vitamina B<sub>12</sub>, bacterii aparținând speciei *Propionibacterium freudenreichi var. shermani*;

- **bacterii alcalinizante**, numite și „bacterii ale roșului”, care sunt active la pH = 6,5-8,5, produc un pigment roșu și se dezvoltă sub forma unor colonii pigmentate la suprafața brânzeturilor cu pastă moale (Brie, Camembert). Dintre bacterii se folosesc speciile *Brevibacterium linens* și *Arthrobacter globiformis*;

- **mucegaiuri selecționate ale genului *Penicillium*** cu speciile :

- *Penicillium camemberti*, folosit la fabricarea brânzeturilor de tip Brie, Camembert, cunoscut și cu denumirea de *P.candidum* sau *P. caseicolum*. Este un mucegai alb, caracterizat prin acidotoleranță și se dezvoltă și la valori de pH = 4,5. Are activitate proteolitică și se dezvoltă la suprafața

brânzeturilor cu pastă moale, folosind ca sursă de carbon acidul lactic, și formează un fetru alb, caracteristic. Cultura de mușegai se introduce în lapte înainte de coagulare, sub formă de suspensie de spori ( $10^3$ - $10^5$  spori-cm<sup>-3</sup>) sau se procedează la pulverizarea superficială a formelor de brânză. Prin activitatea enzimatică a culturii are loc o maturare avansată a brânzeturilor de acest tip, caracterizate prin gust picant;

- *Penicillium roquefortii*, folosit la fabricarea brânzeturilor tari (brânză roquefort, brânză cu pastă albastră) în care se dezvoltă intern sub formă de miceliu. În scopul obținerii sporilor pentru inocul, cultivarea se face pe bucăți de pâine de secară, timp de 4-7 zile, până când se produce sporularea. Uscarea se face la temperaturi care să nu inactiveze sporii, apoi are loc măcinarea cu obținerea unei pulberi bogate în spori, folosită în cantitate de 50 mg/100 dm<sup>3</sup> lapte. *P.roquefortii* este un mușegai acidotolerant și se dezvoltă pe medii cu 5% acid lactic. Este microaerofil și se dezvoltă în atmosferă cu 20 - 40% CO<sub>2</sub>. Brânzeturile de tip *roquefort* au un grad ridicat de maturare și o aromă specifică, ca urmare a produșilor rezultați prin activitatea enzimatică (proteolitică și lipolitică) a culturii. Pentru a favoriza dezvoltarea internă a culturii se înțepă masa de brânză cu ace lungi în diferite direcții și, ca urmare a pătrunderii oxigenului, are loc dezvoltarea miceliului și formarea sporilor colorați caracteristic (verde-albastru).

### 2.7.1. Alterări microbiene ale brânzeturilor

În condiții de nerespectare a procesului tehnologic și a condițiilor igienico-sanitare la prelucrarea laptelui, în urma activității microorganismelor de contaminare pot avea loc alterări ale brânzeturilor cu modificarea calităților senzoriale și pierderea valorii alimentare. Dintre defectele ocazionale întâlnite la conservarea brânzeturilor, mai frecvente sunt următoarele:

- **balonarea timpurie** a brânzeturilor, care apare după 1-2 zile de la formare și este datorată prezenței în număr mare a bacteriilor coliforme: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Hafnia sp. ș.a.* Aceste bacterii se pot înmulți concomitent cu bacteriile lactice și produc fermentația lactozei cu formare de acid lactic, acid acetic, CO<sub>2</sub> și H<sub>2</sub>. Ca urmare a degajării intense de gaze, în condițiile în care coaja nu este penetrabilă, apare balonarea calupului de brânză, iar în secțiune pasta este buretoasă, cu alveole mici, neuniforme. Deoarece aceste bacterii au activitate cazeolitică, pot produce o hidroliză avansată a proteinelor și determină apariția unui gust și a unui miros „de leșie”, atipice. Prezența în concentrație ridicată a celulelor de *Escherichia coli*, facultativ patogen, producător de enterotoxine poate conduce prin consumul brânzei alterate la starea de toxiinfecție;

- **balonarea târzie**, care poate apărea după 20 - 60 de zile, în timpul maturării brânzeturilor și este datorată bacteriilor butirice cu activitate zaharolitică, cu speciile: *Clostridium butyricum* și *Clostridium tyrobutyricum*. Aceste bacterii pot proveni din sol, apă, furaje, cheag ș.a., rezistă la

pasteurizarea laptelui și rămân în stare de endospori până când pH-ul crește la valori mai mari de 6, prin neutralizarea acidului lactic de fermentație. În condiții anaerobe și de pH optim, are loc, germinarea, formarea celulelor vegetative care produc fermentația butirică a lactatului de calciu. În urma activității lor, prin formare de gaze ( $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2$ ), are loc balonarea, deformarea, cu rupturi inestetice neordonate în pastă și sesizarea gustului iute, sălcu, prin acumularea acidului butiric. Pentru prevenirea acestui defect, în afara factorilor tehnologici se pot folosi și metodele biologice. Se recomandă folosirea la fabricarea brânzeturilor a culturii de *Lactobacillus plantarum* sau a tulpinilor de *Lactococcus lactis* producător de nisină, cu efect antagonic fata de bacteriile butirice;

- **cancerul cojii**, care apare prin degradarea protidelor de către bacterii anaerobe: *Clostridium sporogenes*, *Bacillus putrificus*, cu apariția sub coajă a unor zone în care s-a produs putrefacția;

- **gustul amar**, care este datorat activității unor bacterii proteolitice ce aparțin genului *Micrococcus*, genului *Mammococcus*, sau activității drojdiei *Torulopsis amara* care favorizează formarea peptidelor amare;

- **pătarea brânzeturilor**, datorată bacteriilor din genul *Pseudomonas*; în condiții de păstrare a brânzei în mediu umed, ca rezultat al proteolizei se formează tirozina care, prin oxidare, formează melanine de culoare cenușiu-brun;

- **mucegăirea brânzeturilor**, care este un defect frecvent ce duce la deprecierea unor cantități mari de produse și se caracterizează prin apariția de pete colorate specific, miros caracteristic, degradarea cojii și a zonelor adiacente, risc de formare a micotoxinelor și de difuzie a lor în pastă. Dintre mucegaiurile izolate din microbiota brânzeturilor alterate fac parte:

- *Geotrichum candidum* cu activitate proteazică și lipazică, lipsit de potențial toxicogen;

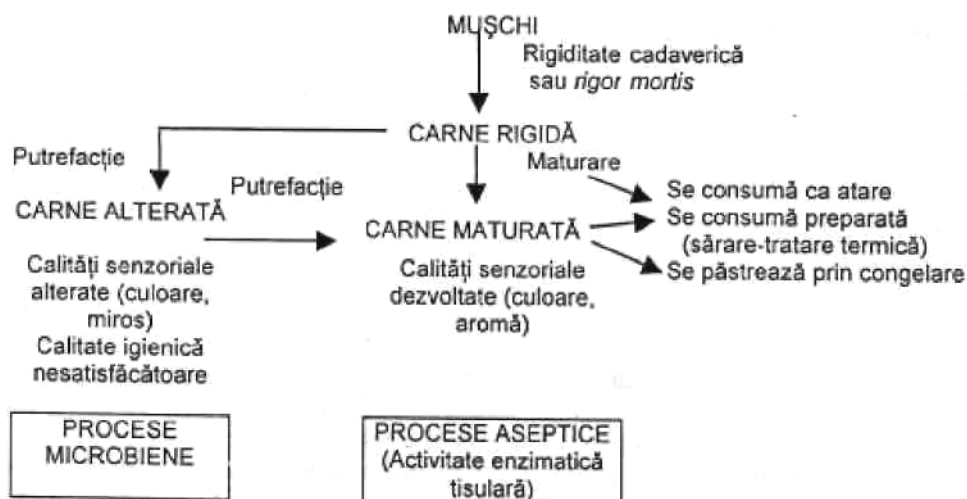
- *Geotrichum auranticum* și *Monascus purpureus*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, care produc pete diferite colorate (portocaliu, roșu, brun, verzui).

Concomitent cu mucegaiurile, pe suprafața brânzeturilor se pot dezvolta drojdii care dau modificări de culoare și care aparțin genurilor: *Rhodotorula*, *Candida*, *Yarrowia*, *Debaryomyces*.

## 2.8. PROCESE MICROBIOLOGICE LA PRELUCRAREA ȘI CONSERVAREA CĂRNII

Carnea este un aliment valoros din punct de vedere nutritiv, datorită prezenței surselor de carbon și de energie (glicogen, acid lactic rezultat prin glicoliză), surselor de azot (proteine asimilabile), sărurilor minerale, vitaminelor, unui conținut de apă liberă de 67 (carnea de vită) - 71% (carnea pui), încât asigură condiții favorabile pentru creșterea microorganismelor, în special a bacteriilor de putrefacție.

După sacrificarea animalului, carnea poate să sufere procese aseptice datorate enzimelor din țesutul muscular, care pot să producă prin maturare îmbunătățirea valorii cărnii, sau procese microbiologice, care pot să ducă la alterarea cărnii și la risc în consum (fig. 3).



**Fig. 3. Transformări ale cărnii la păstrare**

### 2.8.1. Surse de contaminare microbiană a cărnii

Animalul viu și sănătos conține în mușchi un număr foarte redus de microorganisme (absente sau o celulă la 100 g). Dacă animalul este obosit înainte de sacrificare sau este bolnav, microorganismele, care sunt vehiculate prin circuitul sanguin, nu mai sunt distruse de către fagocite și se pot concentra și localiza în anumite organe: rinichi, ficat, splină. Când animalul este bolnav, microorganismele patogene răspândite în organism pot fi transmise după sacrificare prin intermediul cărnii contaminate.

Dintre microorganismele patogene, care se pot transmite pe cale digestivă prin consum de carne contaminată, fac parte:

- *Mycobacterium tuberculosis (tip bovis)*, agent al tuberculozei, care este inactivat prin tratamentul termic al cărnii la 80...85°C, timp de 10 minute. Astfel, animalele bolnave sunt sacrificate separat și carnea este pasteurizată la 85°C timp de 30 minute;

- *Bacillus anthracis*, agent al antraxului, care se poate transmite prin carne de ovine;

- alte specii, care pot aparține genurilor: *Francisella*, *Leptospira*, *Brucella*, *Coxiella* ș.a. care produc infecția pe cale cutanată.

Contaminarea cărnii se poate produce și în momentul sacrificării; prin contactul cuțitului cu plaga jugulară pot fi antrenate microorganisme de pe suprafața pielii și părului, care sunt transmise în organismul în starea de agonie, prin circulația sângelui. Dacă, după sacrificare, nu se face rapid răcirea și eviscerarea, ca urmare a creșterii permeabilității pereților celulari și ca urmare a stresului suferit de animal, la sacrificare se poate produce un



transfer al microorganismelor din viscere și are loc contaminarea cu microorganisme de origine intestinală, entero-bacterii, din care sunt facultativ patogene/patogene: *Salmonella typhi*, *Klebsiella*, *Listeha monocitogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Proteus*, *Escherichia coli*.

Contaminarea internă a țesutului muscular, care se produce post-mortem, este redusă. În funcție de condițiile mediului ambiant și de păstrarea condițiilor igienice la procesarea cărnii (jupuire, eviscerare, despicare, toaletare), are loc contaminarea externă. Dacă în urma contaminării interne în carne poate exista 1 celulă la 10 g sau 1 celulă la 100 g, prin contaminare externă numărul de celule poate ajunge la  $10^2 - 10^3 \cdot \text{cm}^2$  suprafața carne/carcasă.

În cazul bovinelor, contaminarea externă se poate produce la jupuire, atunci când, accidental, părul care are o încărcătură microbială de  $10^7 - 10^8 \cdot \text{g}^{-1}$  vine în contact cu carnea, din surse umane, prin mâini murdare și mai ales când eviscerarea este defectuoasă.

În cazul porcinelor, contaminarea microbială poate avea loc mai intens dacă opărirea se face pe orizontală, prin imersare în bazine cu apă la 64...65°C. Prin repetarea opăririi, apa se încarcă cu microorganisme și există pericolul ca pulmonii să se încarce cu un număr mare de microorganisme, măbind riscul de contaminare, la prelucrare.

Din punct de vedere microbiologic, prin contaminarea externă pot ajunge pe carne bacterii din genurile: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Acineto-bacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* ș.a., bacterii de putrefacție, care se pot dezvolta pe carne în condiții de refrigerare.

### **2.8.2. Factorii care condiționează dezvoltarea microorganismelor în carne**

Transformările pe care le pot produce microorganismele contaminante ale cărnii sunt dependente de factori intrinseci (compoziție,  $a_w$ , pH, rH) și extrinseci (temperatura de păstrare a cărnii).

Accesul microorganismelor, situate la suprafața cărnii, la nutrienți este dificil, ca urmare a izolării acestora de către pereții celulelor din țesut. Carnea în carcasă este mai greu alterabilă decât carnea tocată, tocmai datorită acestor bariere naturale.

Carnea are un  $a_w$  de 0,98 - 0,99 optim pentru dezvoltarea tuturor microorganismelor, inclusiv a bacteriilor care necesită cele mai ridicate valori. Prin zvântarea cărnii în carcase, aceste valori optime se reduc și sunt create condiții favorizante pentru microorganisme xerofile (mușgaiuri).

În țesutul viu și, imediat după sacrificare, valoarea potențialului de oxido-reducere este în domeniul pozitiv, deci este favorizată dezvoltarea microbiotei aerobe. După 4-6 ore de la sacrificare, deoarece oxigenul nu mai este furnizat prin circulația sângelui, potențialul redox devine negativ (-50 mV) și este posibilă dezvoltarea bacteriilor anaerobe de putrefacție.

Valoarea pH-ului cărnii joacă un rol important în demararea proceselor

de alterare a cărnii. Carnea are un pH = 6,5 - 7, favorabil dezvoltării bacteriilor de putrefacție. După sacrificare, la animalul sănătos, se instalează rigiditatea, deoarece în urma procesului de glicoliză catalizat de enzime ale țesutului se formează acid lactic, iar din acizii adenilici se eliberează grupări fosfat. Prin acest proces se formează complexe rigide asociate cu o scădere a pH-ului la 5,5 - 5,7, cu efect inhibitor asupra înmulțirii bacteriilor. Faza de rigiditate, care poate dura câteva ore, este continuată cu o maturare biochimică datorată activității enzimelor proteolitice tisulare, cu formare de proteine mai solubile, ușor asimilabile și, ca rezultat al reacțiilor de dezaminare, crește pH-ul la valori de 6 - 6,5, favorabile bacteriilor de putrefacție.

Dintre factorii extrinseci, temperatura are un rol major la conservarea calității cărnii. Prin răcirea cărnii, imediat după sacrificare și păstrarea în condiții de refrigerare, este încetinită atât înmulțirea microorganismelor cât și producerea de toxine bacteriene. Astfel, dacă păstrarea se face la +10°C, producerea de toxine de către specii ale genului *Clostridium* este oprită, iar, la păstrarea la temperaturi sub +3°C, producerea de toxine este inhibată pentru toate bacteriile toxicogene. Pentru păstrarea cărnii și oprirea înmulțirii bacteriilor de putrefacție se recomandă temperatura de 0°C (în condiții de vacuum), iar la temperatura de -18°C este oprită total înmulțirea microorganismelor în carne. Se consideră că *Listeria monocytogenes*, agent al listeriozei, poate suferi modificări neletale sau subletale în carnea de vită tocată, congelată la -18°C.

**Alterările microbiene ale cărnii** sunt dependente de natura și de concentrația de microorganisme, de tipul de carne, de umezeala relativă din depozit și de temperatura de păstrare. Astfel, alterarea cărnii este specifică și, în funcție de factorii enumerați, aceasta poate fi provocată de 1-4 specii, deși pe carne există o microbiotă mult mai complexă. Se pot întâlni următoarele tipuri de alterări:

- **alterarea superficială** prin păstrarea cărnii la temperaturi de 0...10°C, care se produce lent, deoarece temperaturile scăzute scad viteza de metabolism a microorganismelor, iar modul de alterare este dependent de umezeala relativă a aerului din depozit. Dacă acesta este mai mare de 80-90% și suprafața cărnii este umedă, este favorizată înmulțirea bacteriilor psihofile și psihrotrofe ale genului *Pseudomonas*.

În carnea alterată, la creșterea numărului de bacterii la valori de aproximativ  $10^7$ .cm<sup>2</sup> este sesizat mirosul de putrefacție iar la creșterea peste  $10^8$ -cm<sup>2</sup>, acesta este asociat cu formarea de mucus. Mucusul rezultă în urma juxtapunerii sau coalescenței între coloniile de bacterii și a modificării structurii proteinelor din zona superficială. Dintre bacteriile producătoare de mucus fac parte cele ce aparțin genului *Pseudomonas*, bacterii Gram-negative, aerobe, cu activitate lipolitică și proteolitică, cu speciile *Ps. fluorescens*, *Ps. ambigua*, *Ps. fragi*, *Ps. putida*, și genuri; *Aeromonas*, *Micrococcus*.

La păstrarea cărnii în depozit cu umezeală relativă a aerului mai mică de 75%, când suprafața cărnii este zvântată, alterarea poate fi produsă de către drojdii și mucegaiuri;

- **mucegăirea**, care apare vizibilă după 1-2 săptămâni de păstrare, atunci când  $a_w$ -ul este suficient de scăzut pentru a nu permite creșterea bacteriană. Dacă în prima fază de dezvoltare mucegaiurile se pot îndepărta prin spălare, o dată cu sporularea se constată o pătrundere a hifelor în carne, pe distanțe de 1-2 cm, și prin spălare rămân pete inestetice, având loc deprecierea cărnii. Dintre mucegaiurile care se pot dezvolta pe carne în condiții de refrigerare fac parte: *Cladosporium herbarum*, *Sporotrichum carnis* (care se poate dezvolta pe carne la temperatura minimă de creștere de  $-5,7^{\circ}\text{C}$ ), *Thamnidium elegans*, specii ale genului *Penicillium*. Mucegăirea este uneori asociată cu creșterea drojdiilor psihrotrofe din genurile: *Candida* (produce lipaze ce catalizează râncezirea), *Rhodotorula*, *Debaryomyces*;

- **alterarea superficială p de profunzime**, care poate avea loc prin menținerea cărnii la temperaturi de  $10...25^{\circ}\text{C}$  (casnic, pe rețeaua de livrare etc). Această alterare are loc și atunci când răcirea se face lent după sacrificare și păstrarea se face la temperatura mediului ambiant. Poate să fie evidențiată după 2-3 zile de la sacrificare și este datorată dezvoltării bacteriilor aerobe de putrefacție psihrotrofe și mezofile aparținând genurilor *Pseudomonas*, *Lactobacillus* (*Lb. viridiscens*, *Lb. fermenti*), *Brochothrix thermosphacta*, formatoare de mucus.

Pe lângă alterarea de suprafață, în etapa finală se poate produce o alterare de profunzime, mai frecvent în partea posterioară a carcaselor, unde răcirea are loc lent și este produsă de bacterii ale genului *Bacillus* și *Clostridium* (*Clostridium perfringens*). Carnea alterată prezintă o culoare cenușiu-verzui, ca urmare a formării de către microorganisme a apei oxigenate care reacționează cu pigmentii cărnii, formând choleglobina, sau prin eliberarea de  $\text{H}_2\text{S}$  prin putrefacție, care transformă oxihemoglobina în sulfomioglobină (thiomethemoglobină) de culoare verzuie.

În cazul în care concentrația de bacterii ale genului *Bacillus* cu speciile: *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis-mesentericus* este mai mare de  $10^3 \cdot \text{g}^{-1}$ , în urma formării de acid propionic prin fermentație ca și prin eliberarea de acizi grași prin hidroliza grăsimilor din țesutul adipos, carnea capătă un miros acru, de „încins”;

- **alterarea profundă**, care poate avea loc în carne cu contaminare internă, la temperaturi de  $20...45^{\circ}\text{C}$ . Această alterare se produce când nu se face răcirea după sacrificare și climatizarea spațiilor de depozitare a cărnii este necorespunzătoare. Alterarea poate să fie sesizată după 4-8 ore, mai ales dacă eviscerarea nu este făcută imediat după moartea animalului și este datorată bacteriilor anaerobe ale genului *Clostridium*. În prima etapă sunt active clostridii glucidolitice care pot folosi în nutriție glicogenul cu specia predominantă *Clostridium perfringens*; în această fază nu este sesizat mirosul neplăcut dar, datorită formării prin fermentație a gazelor  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2$ , mușchiul devine buretos. În etapa a II-a, activitatea predominantă aparține

bacteriilor anaerobe de putrefacție: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium perfringens* ș.a care formează, prin degradarea protidelor din carne, amine toxice și alți produși finali care dau un miros dezagreabil, specific.

### 2.8.3. Particularități ale microbiotei cărnii de pasăre

Carnea de pasăre are valoare nutritivă ridicată și umidități de până la 70%, încât este un produs ușor alterabil. Carnea păsărilor vii poate suferi o contaminare internă, în special cu bacterii ale genurilor: *Salmonella*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium* și *Moraxella*. În timp ce contaminarea internă este ocazională și limitată, contaminarea externă este frecventă și are loc în cursul diferitelor operații tehnologice. Astfel, la opărire și deplumare se poate produce o contaminare masivă cu microorganisme (provenite din sol, apă, materii de dejecție), aflate pe suprafața penelor. Eviscerarea în abatorul de păsări se face prin vacuumare și dacă are loc, accidental, rupturi ale intestinelor, se produce contaminarea cu bacterii din microbiota intestinală, respectiv enterococi și enterobacterii: *Escherichia*, *Salmonella*, *Campylobacter* ș.a. O reducere a numărului de microorganisme are loc la clătirea carcaselor cu apă potabilă sau cu apă clorinată.

Alterarea cărnii de pui se face mai rapid decât cea a cărnii de vită și este datorată bacteriilor din genurile *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*. În carnea de pasăre ambalată prin vacuumare se poate produce acrirea cărnii datorată activității bacteriilor facultativ anaerobe din genurile *Lactobacillus* și *Brothrix*. În cazul în care prin activitatea bacteriilor de putrefacție au rezultat amine toxice, consumul cărnii este riscant, deoarece aminele sunt termostabile și rezistă la tratamente termice lejere.

### 2.8.4. Particularități ale microbiotei cărnii de pește

Peștele viu prezintă o microbiotă similară în component cu cea a apei în care trăiește. Microorganismele sunt reținute, prin procesul de filtrare al apei, pe suprafața branhiilor sau sunt adsorbite de mucus. Mucusul natural situat la suprafața peștelui are însușiri bactericide în raport cu unele specii, dar acestea se pierd după ce peștele este recoltat.

Alterarea peștelui se produce rapid, datorită migrării microorganismelor din intestine ca urmare a permeabilizării post-mortem a acestora, motiv pentru care este obligatorie eviscerarea rapidă a peștelui. În timp ce peștii de apă dulce au în cantitate mare bacterii de putrefacție ale genului *Alcaligenes*, la peștii din ape sărate predomină genul *Flavobacterium*. Din microbiota intestinală prin migrare în carne se pot întâlni specii ale genurilor: *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter*.

Alterarea peștelui la păstrare în condiții de refrigerare se produce mai lent și este dată de bacterii ale genurilor *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* ș.a. și mai rapid la temperatura camerei, când se produce

putrefacția dată de bacterii din genurile: *Proteus*, *Escherichia* Peștele păstrat neeviscerat suferă alterarea asociată cu umflarea, datorată formării de gaze:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , de către bacterii din genul *Clostridium*. Prin consum de pește alterat se pot produce intoxicații grave, ca urmare a prezenței de toxine produse de bacterii toxicogene sau a aminelor biogene toxice.

Alterarea sesizabilă a cărnii de pește are loc la creșterea numărului total de bacterii peste  $10^5 \cdot \text{g}^{-1}$ , iar dacă numărul depășește valoarea de  $10^6$  celule  $\text{g}^{-1}$ , peștele nu se admite în consum.

### 2.8.5. Microorganisme transmisibile prin carne și factori de risc

Prin consum de carne contaminate, există riscul de transmitere a următoarelor grupe de microorganisme:

- microorganisme patogene provenite prin contaminare internă în timpul vieții și vehiculate prin carne, microorganisme care produc stări de infecție după ingerare și învingerea forțelor de apărare a organismului, dând boli ca, de exemplu: bruceloza, rujețul, tuberculoza, leptospiroza ș.a.;

- microorganisme patogene și facultativ patogene ce provin din contaminare externă prin contact direct la manipularea cărnii, din diferite surse: sol, apă, insecte, sursă umană. Din acest grup fac parte specii ale genurilor: *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Escherichia* ș.a.

### 2.8.6. Microbiologia preparatelor din carne

Preparatele din carne se obțin într-o gamă largă de sortimente ce diferă prin compoziția chimică, conținutul de apă liberă și din punct de vedere microbiologic. Microbiota materiilor prime și auxiliare suferă modificări importante în etapele tehnologiei de preparare. La fabricarea preparatelor din carne se folosește carne tocată, care poate prezenta o contaminare bacteriană ( $10^4$ — $10^6 \cdot \text{g}^{-1}$ ). O carne tocată cu peste  $10^7 \cdot \text{g}^{-1}$  celule bacterii nu este admisă la fabricare.

Dintre materiile auxiliare, o sursă importantă de microorganisme o prezintă sarea ( $10^2$ - $10^6 \cdot \text{g}^{-1}$ ) care aduce în compoziție bacterii sporulate, bacterii tolerante la sare, inclusiv drojdii halotolerante. Cu cât sarea este mai purificată și se elimină componentele anorganice ale solului, numărul microorganisme este mai restrâns. Condimentele, deși se adaugă în proporții mici, au o încărcătură microbiologică foarte mare, mai ales în cazul plantelor aromatice care se încarcă cu microorganisme în timpul creșterii. Piperul, ienibaharul pot conține  $10^5$ — $10^6$  celule  $\cdot \text{g}^{-1}$ . Din microbiota condimentelor au fost izolate bacterii sporulate și mucegaiuri ce produc micotoxine; de aceea, există orientarea de a fi sterilizate pe cale chimică înainte de folosire (etilen oxid). Utilizarea extractelor condimentare, a diferitelor uleiuri care conțin substanțe aromatizante, este avantajoasă, deoarece pot fi dozate cu o mai mare precizie și sunt lipsite de microorganisme. În acest caz, anumite componente naturale pot avea un efect microbiostatic sau microbicid asupra

microorganismelor.

Membranele folosite pentru marea majoritate a preparatelor din carne, atunci când sunt naturale (conservate prin sărare), au o încărcătură microbială ridicată, deoarece au venit în contact cu microbiota intestinului (bacterii coliforme și alte bacterii de putrefacție). Din punct de vedere microbiologic, membranele artificiale au o încărcătură foarte redusă și, deci, nu contribuie la încărcarea produsului cu microorganisme de alterare.

La obținerea preparatelor din carne, o primă etapă constă în omogenizarea ingredientelor, care asigură o dispersie a microorganismelor în pastă. După umplere, în funcție de sortiment, se pot aplica diferite procese ca: afumarea la cald când temperatura în pastă ajunge la 50...52°C, iar la afumare ca rezultat al evaporării apei precum și al prezenței substanțelor din fum, unele cu efect micro-biostatic, poate avea loc o reducere a numărului de microorganisme, în special în zona exterioară a batoanelor; fierberea (pasteurizarea), când temperatura în centrul batonului este de 68...72°C, temperatură care inactivează eventualii patogeni nesporulați ce s-ar putea transmite prin carne, reducând, de asemenea, și o parte din microbiota bacteriană nesporulată.

În funcție de condițiile de păstrare, de calitatea microbiologică a materiei prime și auxiliare și de procesul tehnologic, în timpul păstrării în condiții ce favorizează formarea de apă liberă, sau dacă în depozit umezeala relativă a aerului este > 80-85%, se pot produce diferite alterări datorate activității microorganismelor care rămân active în produsul finit.

### 2.8.7. Defecte și alterări microbiene

Se pot întâlni tipurile de defecte și de alterări prezentate în continuare.

**Formarea de mucus** la suprafața batoanelor, datorată dezvoltării bacteriilor sau drojdiilor, este favorizată de umiditatea ridicată sau de apariția apei de condens. Se poate forma frecvent la suprafața sau sub membrană; formarea este datorată bacteriilor aerobe și facultativ anaerobe din genurile/speciile: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Lactobacillus viridiscens*, *Microbacterium thermosphactum*. În anumite condiții, formarea de mucus și apariția petelor albe pot fi datorate dezvoltării de drojdii halotolerante cu specia *Debaryomyces hansenii*.

**Mucegăirea** este un defect de suprafața și poate fi datorată mucegaiurilor ce se pot dezvolta în domeniul de refrigerare și care pot proveni din contaminare externă (aer, mâini, utilaje). Dintre mucegaiurile ce dau pete inestetice și colorate fac parte genurile: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Sporothrichum*, *Thamnidium*, *Aspergillus*.

**Colorarea** cu apariția de pete albastre, rar întâlnită, este determinată de unele bacterii din genul *Chromobacterium cyanogenum* ce pot proveni din sare sau aer.

**Acirea și înverzirea pasteii** este un defect întâlnit la prospături (parizer, polonez) și se datorează dezvoltării bacteriilor lactice

heterofermentative, care se pot înmulți în anumite condiții, dând acirea ca rezultat al formării de acid lactic. Deoarece aceste bacterii produc apă oxigenată, în absența catalazei inactivate prin pasteurizare, aceasta poate produce oxidarea pigmentilor roșii ai cărnii cu formare de porfirine de culoare verde.

Înverzirea poate fi: superficial, sub formă de inel situat la o anumită distanță de suprafață, sau în zona centrală a umpluturii, în funcție de viabilitatea bacteriilor heterolactice, activitatea lor fermentativă și activitatea catalazică.

Acest defect se caracterizează și prin modificarea gustului și este dat de bacterii lactice din genul *Leuconostoc* și *Lactobacillus* cu speciile: *Lb. viridiscens*, *Lb. plantarum*, *Lb. leichmani*; apare frecvent la preparatele din carne cu adaos de ficat, splină.

**Umflarea** apare la prospături și este un defect rar întâlnit atunci când în pastă sunt prezente bacterii ale speciei *Clostridium perfringens*. În cazul în care concentrația în celule este mare, are loc o fermentație cu producere de gaze ( $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2$ ), care determină umflarea, pasta este buretoasă și, prin consum, există riscul de toxiinfecție alimentară.

### 2.8.8. Culturi starter utilizate în industria preparatelor din carne

În tehnologia preparatelor din carne se pot folosi microorganisme cu rol util, sub formă de culturi „starter”, care se pot adăuga în pastă înainte de umplere sau sunt folosite la maturarea salamurilor uscate. Culturile starter sunt reprezentate de: culturi de bacterii lactice selecționate din genurile: *Pediococcus* (*P. cerevisiae*, *P. acidilactici*), *Micrococcus* (*M. varians*), *Lactobacillus* sp. Culturile se adaugă într-un mediu nesteril; de aceea, cantitatea culturii de producție adăugate trebuie astfel calculată, încât numărul de celule introduse în pasta de carne să fie de cel puțin 1000 de ori mai mare decât cel existent în microbiota cărnii. Aceste culturi produc o fermentație lactică, determinând astfel o scădere a pH-ului care inhibă activitatea bacteriilor de putrefacție, iar acidul lactic format contribuie la obținerea gustului plăcut. Unele culturi prezintă avantajul că produc nitrate reductază (cele care conțin micrococi), care catalizează formarea nitriților ce se combină cu pigmentii din carne, formând nitrozo-hemoglobina care menține o culoare roșie plăcută și are activitate lipolitică și proteolitică limitată, deci contribuie la acumularea de componente de gust și aromă.

Dintre culturile fungice folosite drept culturi starter, cele mai importante sunt cele din genul *Penicillium* (*Penicillium nalgiovensis*) folosite la obținerea salamurilor crude, care influențează pozitiv uscarea naturală și maturarea. Aceste microorganisme se dezvoltă ca un fetru de culoare albă la suprafața batoanelor și, prin intermediul hifelor penetrante, asigură o difuzie a umidității și o uscare uniformă, iar prin intermediul enzimelor (lipaze, proteaze) contribuie la formarea compușilor de gust și de aromă specifici acestor produse. Culturile de *P.nalgiovensis* au înlocuit culturile de *P. expansum* Link

folosite mult timp datorită vivacității lor; înlocuirea a fost determinată de faptul că, în mediu de cultură optim pentru biosinteza de micotoxine, *P. expansum* poate produce patulina (clavacina), cu efect cancerigen, fără ca aceasta să fi fost detectată în salamuri maturate.

Dintre procesele microbiologice utile întâlnite în industria preparatelor din carne, cel mai important este *maturarea bradtului*. Bradtul se menține la maturat 12 - 24 h, în acest timp fiind avantajată activitatea microorganismelor prezente și anume a micrococilor, care produc nitrat reductază și contribuie la formarea și menținerea culorii roșii naturale a pastei de carne și a bacteriilor lactice homo- și heterofermentative, care pot produce cantități foarte reduse de acid lactic și substanțe de aromă.

## 2.9. MICROBIOLOGIA OUĂLOR

Oul este un aliment foarte valoros folosit în alimentație și în industrie, pentru obținerea prafului de ou, a produselor de patiserie, a pastelor făinoase, a maionezelor, a shortening-urilor, a sosurilor.

Structura anatomică a oului îi asigură protecția, astfel încât conservarea calității este asigurată un timp limitat în funcție de temperatura și durata păstrării.

*Coaja oului* asigură protecția mecanică, iar la oul proaspăt aceasta are un strat de mucină cu efect antimicrobian, ceea ce face ca dezvoltarea microorganismelor să fie limitată; efectul se reduce după 1-2 săptămâni sau după îndepărtarea prin spălare a stratului de mucină. Coaja prezintă numeroși pori a căror dimensiune este mai mare decât a celulelor microbiene, încât, în anumite condiții, celulele pot penetra coaja. În medie, pe 1 cm<sup>2</sup> de coajă se găsesc 110 pori cu diametrul mai mare decât diametrul celulei bacteriene.

**Membrana internă** bogată în keratină este permeabilă pentru vaporii de apă și pentru unele bacterii și impermeabilă pentru sporii de mucegaiuri.

**Albușul** nu este un mediu optim, datorită pH-ului de 9,3 și a prezenței unor substanțe ce influențează negativ activitatea microbiană. Astfel, este prezent lizozimul, substanță cu efect bactericid, avidina, substanță care blochează vitaminele din grupa B ce au rol de factor de creștere pentru bacterii, conalbumina, proteină care complexează fierul, element important pentru nutriția lor minerală.

**Gălbenușul** reprezintă un mediu excelent pentru înmulțirea microorganismelor, are un pH = 6,9, este bogat în substanțe nutritive și nu conține substanțe cu efect inhibitor. Experiențele efectuate prin inocularea în gălbenuș a bacteriilor din genul *Salmonella* au stabilit că acestea se înmulțesc foarte bine și pot ajunge la valori de 10<sup>8</sup>/g· gălbenuș.

În timpul păstrării are loc o difuzie a apei din albuș în gălbenuș, se produce o omogenizare și conținutul oului devine un mediu foarte bun pentru înmulțirea bacteriilor care au pătruns în interior.

Contaminarea microbială a ouălor poate fi de 2 tipuri, care sunt



prezentate în continuare.

**Contaminarea internă** este ocazională și poate fi dată, în special, de microorganisme patogene și facultativ patogene ce pătrund în ou în perioada de formare (la păsări bolnave), sau de apa contaminată care pătrunde în oviduct, contaminare întâlnită în special la găște și rațe. Dintre microorganismele de contaminare internă amintim:

- genul *Salmonella* cu speciile: *Salmonella enteridis*, *Salmonella galinarium*, bacterii nesporulate, Gram-negative, facultativ patogene care se pot înmulți în gălbenuș, deoarece pot acționa asupra glucozei cu formare de acizi și gaze. Nu fermentează lactoza și zaharoza, se prezintă sub formă de bastonașe scurte, mobile; pot să folosească în nutriție aminoacizi și pot produce hidrogen sulfurat. Acestea pot să provină fie de la păsări care au suferit îmbolnăvirea, fie din contaminare externă (dejecția altor păsări). Bacteriile din genul *Salmonella* care se răspândesc prin ouă pot produce endotoxine; de aceea, prin ingerarea preparatelor din ouă insuficient tratate termic, acestea ajung pe cale digestivă în organism, sub acțiunea sucului gastric are loc liza pereților celulari și eliberarea de toxine, producându-se starea de toxiinfecție alimentară caracterizată prin diaree, dureri de cap și chiar moarte. În timp ce ouăle de găină au o contaminare redusă (0-7%), ouăle de rata pot fi contaminate în proporție de 1-26 %; de aceea, la prelucrare și comercializare se impun condiții de fierbere de minimum 10 minute, pentru a avea certitudinea distrugerii salmonelelor și a inactivării toxinelor (posibilă la 62...64°C în câteva minute);

- genul *Proteus*, cu specia *Proteus mirabilis*; în concentrații mari produc boli infecțioase și toxiinfecții alimentare (gastroenterite). Bacteriile se înmulțesc în ou și produc hidrogen sulfurat prin degradarea proteinelor. Prin inocularea de bacterii ( $10^3 \cdot g^{-1}$ ) în praf de ouă, după 2 luni de păstrare acestea nu au mai fost detectate în 10 grame produs;

- genul *Clostridium*, cu specia *Clostridium perfringens*, care poate proveni din contaminare externă. În prezența fosfolipidelor din gălbenuș pot produce toxine (6 tipuri de enterotoxine). Prin dezvoltarea acestor bacterii în cremele preparate cu ouă contaminate, se produce eliberarea de toxine și îmbolnăvirea dacă aceste toxine nu sunt distruse prin tratament termic;

- genul *Mycobacterium tuberculosis* (tip aviar); se produce o contaminare a ouălor provenite de la păsări bolnave.

**Contaminarea externă** are loc prin intermediul apei poluate, a aerului din cuibarul contaminat cu dejecțiile păsărilor. După expulzare, oul are o temperatură de 35...37°C, iar dacă în cuibar este rece, prin contracția conținutului, aerul este aspirat și pătrund microorganisme din stratul de aer înconjurător.

### 2.9.1. Alterări microbiene ale ouălor

În timpul păstrării ouălor, ca urmare a activității microorganismelor de contaminare se pot produce diferite alterări:

- **putrefacția verde** - conținutul oului capătă o culoare verzuie și prezintă un miros de varză acră; este datorată microorganismelor din genul: *Pseudomonas* cu speciile: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas ambigua*, *Pseudomonas convexa*. Ele produc pioverdina, pigment de culoare verzuie, cu proprietăți fluorescente;

- **putrefacția neagră**, care este profundă, cu modificarea culorii și degajarea puternică de hidrogen sulfurat datorată bacteriilor din genul *Proteus*, cu speciile: *Proteus vulgaris*, *Proteus melanogenes*;

- **putrefacția portocalie**, atunci când oul se păstrează la temperatura camerei și este dată de *Bacillus megatherium* ce produce pigmenti portocalii, gaze, amine toxice;

- **putrefacția roșie**, dată de bacterii din genul *Serratia*, care produc un pigment roșu, denumit prodigiosină;

- **mucegăirea** sub coajă, în camera de aer ce se formează prin pierderea apei; este dată de reprezentanți ai genurilor *Penicillium*, *Cladosporium*.

Pentru industrializare se folosesc numai ouăle de găină care sunt dezinfectate prin spălare, iar spargerea se face sub control, pentru a nu permite introducerea de ouă alterate în procesul tehnologic.

## CAPITOLUL III

### MICROBIOLOGIA PRODUSELOR DE ORIGINE VEGETALĂ

#### 3.1. PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA BERII

La fabricarea berii, materia primă de bază este orzul și/sau orzoaica, care suferă, în prealabil, un proces de malțificare în scopul activării și formării de enzime amilolitice și proteolitice.

Malțul obținut după germinare se combină cu nemalțificate (porumb), ce măresc cantitatea de amidon care, prin zaharificare enzimatică, contribuie la obținerea mustului de malț, cu un conținut ridicat de glucide fermentescibile.

Pentru obținerea malțului, orzul sau orzoaica trebuie să fie de calitate bună, iar la păstrare în siloz să se evite procesele microbiologice nedorite. Orzul prezintă la suprafața învelișului o microbiotă heterogenă alcătuită din mucegaiuri ( $10^3$ - $10^4 \cdot g^{-1}$ ), bacterii nesporulate din genurile: *Pseudomonas*, *Lactobacillus*; bacterii aerobe sporulate ale genului *Bacillus*. În condiții necorespunzătoare, prin păstrarea orzului și prin creșterea umidității acestuia, poate avea loc mucegăirea și încingerea cerealelor. În zona embrionară se pot dezvolta mucegaiurile genului *Penicillium* și *Aspergillus*, ce produc modificări ireversibile în embrion. În acest caz, orzul își pierde capacitatea de germinare și nu mai poate fi folosit pentru obținerea de malț. În microbiota orzului au fost identificate specii de: *Fusarium*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*. Când mucegăirea este produsă de mucegaiuri toxicogene, există riscul ca, prin prelucrare, micotoxinele să se regăsească în bere.

De exemplu, prin introducerea de ochratoxină marcată în cantitate de 10 mg/kg, s-a constatat că aceasta nu se distruge în cursul procesului tehnologic; cantitatea cea mai mare se regăsește în borhot, 8-10 %, este reținută de celule de drojii, iar 14 % a fost detectată în bere. Prin folosirea de citrinină, aceasta nu s-a mai regăsit la plămădire, ea fiind distrusă probabil la germinare. Aceste experiențe arată obligativitatea de a se folosi o materie primă de calitate bună la fabricarea berii.

Pentru obținerea malțului, orzul se spală, se îndepărtează o mare parte din microbiota boabelor, se înmoaie până la umiditatea de 40-42%, și are loc germinarea, când o parte din enzimele din orz trec din starea inactivă în starea activă sau sunt sintetizate „de novo” sub acțiunea acizilor giberellici. După ce a avut loc germinarea ( 3-4 zile ), în scopul conservării malțului, se face uscarea în trepte, fără a se depăși temperatura de 80°C în bob, pentru a preveni inactivarea enzimelor. În timpul uscării se reduce o parte din microbiota malțului, dar, după uscarea (prin transport, în silozul de malț), are loc o recontaminare a boabelor.

După uscare se îndepărtează radicelele uscate, ce pot fi folosite în industria de biosinteză ca sursă de factori de creștere pentru cultivarea microorganismelor.

Malțul este mai higroscopic decât orzul, are un conținut mai mare în substanțe asimilabile; de aceea, prin creșterea umidității prin procese de termo-hidrodifuzie, mucegăirea și încingerea malțului poate avea loc mai rapid decât în cazul orzului.

La *plămădire*, malțul măcinat cu adaos de nemalțificate măcinate și tratate termic se amestecă într-o anumită proporție cu apă și, conform unei diagrame de plămădire, este favorizată acțiunea enzimelor din malț care degradează componentele din făină și se acumulează în must substanțe asimilabile cu azot, în etapa de proteoliză (45°C), și maltoza în etapa de amiloliză a amidonului (60...70°C). În perioada de plămădire, microorganismele de la suprafața boabelor trec în must, dar această perioadă este scurtă și, de aceea, nu se constată o înmulțire a microorganismelor.

După separarea mustului, borhotul rezultat reține cea mai mare cantitate de microorganisme. Borhotul este folosit în nutriția animalelor și este foarte ușor alterabil prin acire (fermentație lactică) sau prin formarea de acid butiric (fermentație butirică).

Mustul de malț obținut este bogat în maltoză, surse de azot asimilabile, vitamine. În cazul mustului contaminat se poate produce dezvoltarea bacteriilor termofile: *Bacillus stearothermophilus* și *Bacillus coagulans* care pot forma acid lactic.

După filtrare, mustul de malț este fiert în prezenta de hamei, în scopul aromatizării lui. Hameiul, prin rășinile pe care le conține, poate avea un efect antimicrobian manifestat mai ales asupra bacteriilor Gram-pozitive.

Efectul cel mai puternic îl are humulonul, pe când lupulonul are doar 1/3 din activitatea humulonului.

În urma fierberii cu hamei, mustul poate deveni steril. În continuare se face răcirea lentă a mustului (în tăvi de răcire, operație în care riscul de contaminare este mai ridicat) în sisteme tubulare în care riscul de contaminare este mai redus. Mustul răcit este introdus în linuri închise și se face inocularea cu drojdia de cultură.

În mustul nefermentat, în mod accidental, se pot întâlni bacterii coliforme din genul *Escherichia*, *Enterobacter* (*E. cloacae*, *E. agglomerans*) și *Klebsiella* (*K. aerogenes*, *K. terrigena*, *K. oxytoca*), *Citrobacter*, *Hafnia* (*Hafnia protea*), ce au condiții să se înmulțească în must, mai ales dacă acesta nu se răcește rapid. Prin activitatea lor produc opalescenta, imprimă mustului un gust străin, produc reducerea nitratului, iar drojdiile inoculate într-un astfel de must au o activitate fermentativă diminuată.

*Inocularea mustului*, una din etapele importante ale procesului, se face cu drojdia aparținând speciei *Saccharomyces cerevisiae* de fermentație inferioară, drojdia cunoscută cu denumirea de *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*). Pentru obținerea culturii de drojdie se pornește de la cultura pură, au loc etape de multiplicare în laborator prin transferul celulelor în

mustul de malt steril. Multiplicarea celulelor se face la temperatura de refrigerare pentru a crea drojii adaptate la condițiile de fermentare și se obține așa-numitul „cuib de drojii” în laborator. Apoi, înmulțirea drojdiei are loc în multiplicatorul de drojdie și se obține cultura de producție folosită pentru însămânțarea mustului răcit; cantitatea de cultură folosită este de aproximativ 400-450 g/hl must (fig. 4).

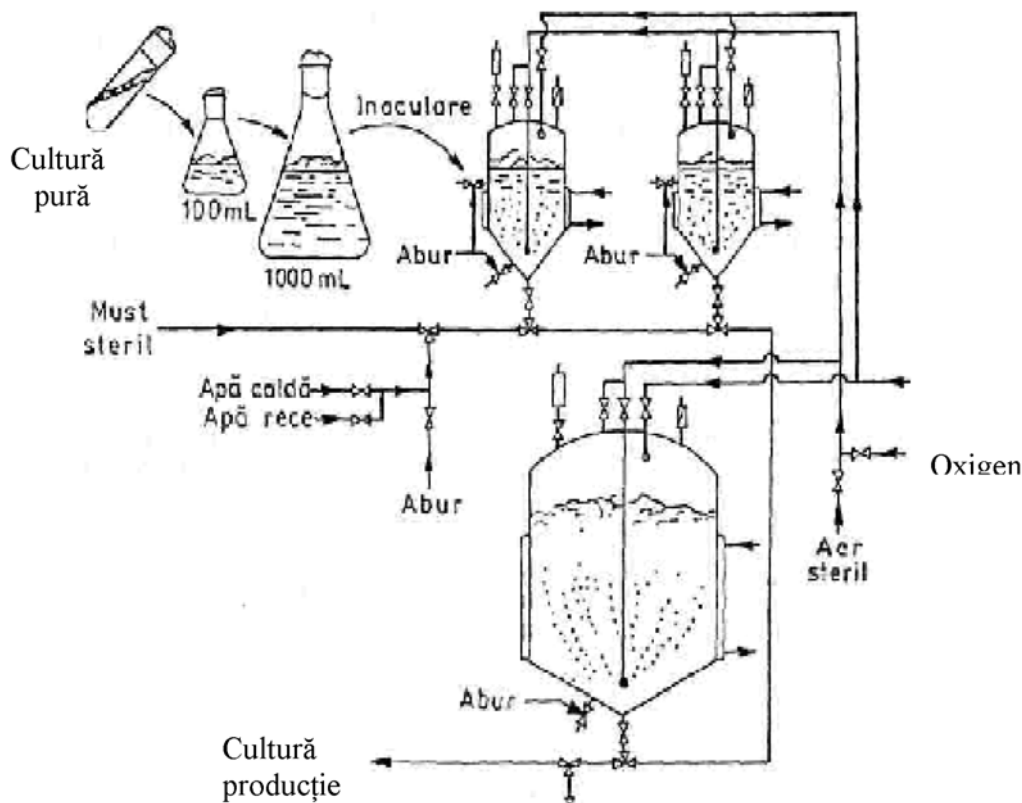


Fig. 4. Schema de multiplicare a drojdiei de bere.

**Fermentația primară** este prima etapă după însămânțare când pH-ul mustului este 5-6. Perioada de fermentație este de 7 zile, timp în care drojdiile câștigă în competiția cu alte microorganisme contaminante și produc fermentația maltozei și a unor dextrine cu molecule mici. În stadiul inițial este posibilă o dezvoltare a bacteriilor din specia *Flavobacterium proteus*, bacterii care pot proveni din apă sau de pe utilaje și care se pot înmulți în must fără să fie inhibate de hamei, dând modificări de gust. La fermentația primară, în afară de fermentația alcoolică mai are loc și înmulțirea cantității de drojdie, obținându-se de 3 ori mai multă fata de cantitatea inoculată. Prin degajarea de  $\text{CO}_2$ , la suprafața linurilor de fermentație se formează o spumă, apoi, pe măsură ce se reduce extractul mustului, viteza de fermentare scade și are loc depunerea drojdiei.

Fermentația primară are loc la 6...8°C, temperatură care protejează fermentația și împiedică dezvoltarea eventualelor bacterii mezofile/termofile. Mustul de fermentație este transvazat de pe sedimentul de drojdie în tancuri închise, pentru fermentația secundară.

**Drojdia** rămasă în urma fermentației primare poate fi valorificată

pentru însămânțarea unor noi cantități de must. În acest caz, stratul inferior care conține un număr mare de impurități este eliminat, stratul median care conține proporția cea mai mare de celule vii și active este recoltat în vane, iar stratul superficial ce conține celule mici, autolizate și rășini amare este, de asemenea, eliminat. Drojdiile din stratul median se spală cu apă rece și pură din punct de vedere microbiologic, se face controlul microscopic și, dacă procentul de celule autolizate este mic și sunt absente bacteriile de contaminare, este refolosită pentru inocularea mustului la fermentația primară. Astfel, în condiții igienice, când nu are loc contaminarea drojdiei, în practica fabricării berii se pot folosi 6 - 20 de recirculări (generații) ale drojdiei. Drojdia reziduală poate fi valorificată prin obținerea de plasmolizate, sau poate fi folosită ca sursă de vitamine în nutriția animalelor

**Fermentația secundară** are loc la 3...4°C, timp de 4 - 42 zile. Celulele de drojdie ce mai rămân în suspensie continuă să fie active din punct de vedere enzimatic și are loc saturarea cu dioxid de carbon rezultat prin fermentație ; au loc o serie de reacții enzimatice și procese fizico-chimice care contribuie prin producții rezultate la formarea compușilor de aromă.

Filtrarea berii are loc la sfârșitul fermentației secundare. Filtrarea poate fi sterilizantă mai ales dacă materialul filtrant este steril și prezintă pori ce asigură reținerea microorganismelor. După filtrare, recontaminarea se poate realiza pe circuitul de transport (lămpi de control, garnituri de etanșare a furtunurilor ș.a.).

Îmbutelierea se face în sticle sau în butoaie (din lemn, aluminiu). La îmbuteliere există un risc mai mare de contaminare a berii, în special datorită ambalajelor, dacă spălarea și dezinfecția acestora nu este corect aplicată.

### 3.1.1. Alterări microbiene ale berii

Berea, în funcție de sortiment, prezintă o compoziție variată, cu valoare nutritivă ridicată, iar diferitele componente ale berii pot servi drept substrat pentru activitatea microorganismelor ce contaminează berea. Alterarea poate fi dată de un număr restrâns de microorganisme, deoarece în bere există anumiți factori defavorizanți, pentru dezvoltarea acestora, și anume: o cantitate mică de extract ușor asimilabilă, prezența de alcooli, pH-ul acid, anaerobioză, o presiune ridicată dată de dioxidul de carbon, temperaturi reduse la păstrare (4... 15°C).

Alterarea microbiologică a berii poate fi dată de drojdie și bacterii.

**Dezvoltarea drojdiilor de cultură.** Când filtrarea nu a fost eficientă, drojdie din genul *Saccharomyces carlsbergensis* pot continua fermentația în recipient. În acest caz de tulburare, formează rapid un sediment stabil, iar la deschiderea recipientului spumarea este mai intensă, berea are extractul mai redus și o cantitate mai mare de alcool; berea poate fi consumată.

**Dezvoltarea drojdiilor fermentative de contaminare.** Unele drojdie atipice, *Saccharomyces pasteurianus*, *Saccharomyces turbidans*, pot produce contaminarea drojdiei de cultură și dau un gust specific; berea este

tulbure. Tulburarea este mai stabilă deoarece aceste drojdii au celule mai mici ce rămân mai mult timp în suspensie, iar sedimentul este pulverulent. Alte drojdii de alterare aparțin genurilor: *Brettanomyces* (produc esteri și acetat), *Candida*, *Debaryomyces*, *Filobasidium*, *Hanseniaspora*, *Hansenula* (produc esteri), *Kloeckera* (produce tulburare persistentă), *Kluyveromyces*, *Pichia* (produce voal), *Torulasporea*, *Zygosaccharomyces*. Prezența lor poate avea efect negativ asupra stabilității spumei, deoarece ele pot elibera proteaze prin autoliză. Unele specii pot câștiga în competiție datorită avantajului de a utiliza dextrine sau de a avea caracter killer.

**Alterările bacteriene** sunt produse de bacterii adaptate la condițiile existente în bere și se caracterizează prin opalescentă (turbiditate) persistentă și importante modificări ale gustului, iar berea nu este acceptată în consum.

Bacteriile de alterare a berii pot prezenta două forme de bază (bastonașe și coci) și proprietăți tinctoriale distincte.

Bacteriile sub formă de bastonașe pot fi:

- Gram-pozitive: lactobacili homofermentativi (*Lb. plantarum*) și lactobacili heterofermentativi (*Lb. brevis*, *Lb. pasteurianus*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermenti* ș.a.), care sunt mai puțin sensibili la acțiunea microbiostatică a rasinilor din hamei, pot produce diacetil, opalescentă și creșterea vâscozității;

- Gram-negative :

- aerobe (*Acetobacter rancens*, *Acetobacter viscosus*), care sunt active dacă berea este păstrată cu gol de aer; produc acid acetic, peliculă sau zooglee și opalescentă;

- facultativ anaerobe - *Zymomonas*, care nu pot folosi maltoza ca sursă de carbon și energie, produc aldehydă acetică și hidrogen sulfurat, *Enterobacter agglomerans*, *Achromobacter anaerobica*;

- anaerobe - *genul Pectinatus*, care produc în bere H<sub>2</sub>S, acid acetic, acid propionic și opalescentă.

Bacteriile sub formă de coci care alterează berea pot fi:

- Gram-pozitive: *genul Micrococcus* cu specia *M. kristinae*, care este sensibilă la rășini din hamei și la pH scăzut, *genul Pediococcus* (*P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. damnosus-cerevisiae*, *P. pentosaceus*); se prezintă sub formă de diplococi și tetrade, produc fermentarea lactozei la acid lactic, pot produce, în condiții de aerare și pH acid, cantități sesizabile de diacetil ce imprimă berii un gust dezagreabil. Bacteriile aparținând genului *Pediococcus* sunt favorizate de prezența în bere a amidonului nehidrolizat;

- Gram-negative: *Megasphaera*, coci mari rezistenți la hamei, anaerobe, care produc acid butiric, caproic și opalescentă.

Bacteriile sporulate nu au fost detectate în bere. Bacteriile patogene și facultativ patogene nu rezistă în bere. Prin inocularea cu *Escherichia coli*, celulele și-au pierdut viabilitatea după 48 ore.

## 3.2. MICROBIOLOGIA VINULUI

Diversitatea sortimentelor de vinuri este dependent\* de compoziția și caracteristica soiurilor de struguri, de calitatea și cantitatea microorganismelor care acționează în must și de factorii tehnologici de dirijare a activității microorganismelor de interes.

Formarea vinului este condițional de activitatea enzimatică a microorganismelor care ajung în mustul de struguri și care pot fi arbitrar încadrate în următoarele grupe:

- **microorganisme permanent utile**, drojdii de fermentație denumite și drojdii de cultură sau drojdii tipice care aparțin genului *Saccharomyces*, cu specia *Sacch. cerevisiae subsp. ellipsoideus (Sacch. vini)*, la care se adaugă tulpini cu capacitate fermentativă variată cu rol în formarea substanțelor de aromă, *Sacch. italicus*, *Sacch. florentinus*, *Sacch. chevalieri*, *Sacch. fructum*. Drojdia de cultură *Saccharomyces bayanus* cu var. *bayanus* și var. *oviformis* este folosită la obținerea șampaniei;

- **microorganisme condiționat utile**, drojdii cu putere alcooligenă redusă, drojdii anascogene aparținând genului *Kloeckera (K. apiculata, K. magna)* și din genul *Torulopsis (T. stelata și T. bacilaris)*. Aceste drojdii se înmulțesc în must și produc fermentația alcoolică a glucidelor până când în mustul fermentat se acumulează 6...8° alcool etilic, concentrație care le inhibă activitatea.

Unele drojdii pot folosi ca sursă de carbon acidul malic, în mustul obținut din struguri necoptiți, și pot fi folosite la reducerea acidității vinului: genul *Schizosaccharomyces* cu speciile *Schiz. pombe* și *Schiz. bailii*. Sunt bacterii sulfito-rezistente și, în anumite condiții, pot produce defectul de refermentare a vinurilor.

Bacteriile malo-lactice pot acționa la sfârșitul fermentației mustului după separarea vinului de pe drojdie, în scopul reducerii acidității. În cazul în care aciditatea este normală, fermentația produsă de aceste bacterii nu este dorită;

- **microorganisme dăunătoare**, în care pot fi incluse drojdiile oxidative care dau defectul de floare al vinurilor, bacteriile acetice și unele specii de bacterii lactice care dau alterări ale vinului la păstrare, unele mucegaiuri care, în mod indirect, influențează negativ calitatea vinurilor.

### 3.2.1. Microbiota strugurilor și a mustului

Boabele de struguri la maturitate conțin pe suprafața lor o microbiota heterogenă ce provine din surse externe: solul viei, aer, ape meteorice, insecte. Pelița bobului prezintă la suprafața un strat protector de pruină, încât, dacă bobul este intact, microorganismele epifite nu pot pătrunde în interior și bobul este steril. O excepție o prezintă *Botrytis cinerea (Botryotinia fuckeliana)* care poate pătrunde prin porii membranei și se dezvoltă sub



pielita, dând pătarea în violet a boabelor. În faza de creștere, acest mucegai poate elabora o substanță cu efect antifungic (botrioticina), cu efect asupra unor drojdii sensibile. Pe boabe de struguri mucegăite, treptat, se reduce numărul de drojdii aparținând genului *Kloeckera*, în timp ce drojdiile genului *Torulopsis* nu sunt inhibitate.

Cantitatea și natura microorganismelor pe boabe depinde de gradul de coacere, de vârsta viței de vie, de condițiile microclimatului la cultivare și recoltare etc. Numeroși fungi fitopatogeni care produc boli ale viței de vie (mana, făinarea ș.a.) pot afecta atât producția cât și calitatea strugurilor. În toamne ploioase, ca urmare a turgescenței boabelor, se poate produce crăparea acestora și, prin eliberarea de suc, are loc mucegăirea vulgară sau mucegăirea cenușie, prin dezvoltarea miceliului de *Botrytis cinerea* pe boabe și ciorchine. Folosirea strugurilor mucegăiți la fabricarea vinului conduce la apariția de defecte, deoarece la obținerea mustului prin presare trec în must enzime fungice (polifenoloxidaza și laccaza), enzime ce reduc stabilitatea la oxidare a vinurilor. În zonele viticole în care zile însorite alternează cu zile ploioase, *Botrytis cinerea* produce așa-numita „putrezire nobilă” cu o creștere limitată a miceliului vegetativ, stafidirea boabelor și acumularea în boabe a acidului gluconic, a fructozei, din care se obțin vinuri de calitate superioară.

După recoltare se recomandă prelucrarea imediată (în limita a 4 ore) a strugurilor, pentru a preveni pierderile de suc la transport și deteriorarea boabelor. Pentru obținerea mustului se face desciorchinarea și zdrobirea boabelor cu obținerea mustului ravac și, ulterior, a mustului de presă. Prin aceste operații, cea mai mare parte din microbiota strugurilor alcătuită din drojdii, bacterii, mucegaiuri ajunge în must, dar condiții favorizante pentru activitate fermentativă le au drojdiile ca urmare a prezenței următorilor factori:

- compoziția mustului, care asigură drojdiilor cantități importante de glucide, în medie  $180 - 250 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ , formate din glucoza și fructoză în raport de 1:1, cu cantități mici de zaharoză ( $0,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) precum și surse de azot asimilabile sub formă de peptide, aminoacizi;

- pH-ul acid de 2,9 - 3,5 favorabil drojdiilor, un factor important în selectarea microorganismelor active în must.

Mustul are caracter reducător, cu un potențial de oxidoreducere de aproximativ 400 mV, motiv pentru care microorganismele facultativ anaerobe sunt avantajate în competiție cu cele aerobe. Prin adăugarea de dioxid de sulf în doze de  $70 - 250 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  are loc menținerea unui rH scăzut în must, favorizând procese fermentative anaerobe la care se adaugă efectul său antimicrobian asupra unor bacterii aerobe (acetice) și asupra drojdiilor oxidative.

### 3.2.2. Rolul drojdiilor în fermentarea mustului

La începutul campaniei de vinificație se selectează struguri bine copti, se obține mustul și prin păstrare 24 - 72 ore, cu aerare ocazională, se asigură înmulțirea drojdiilor. Mustul fermentat, bogat în celule de drojdii, se folosește

în proporție de 2/3 în calitate de inocul pentru demararea fermentației alcoolice în mustul de producție. Pentru a asigura continuitatea procesului, se completează din nou cu must proaspăt, pentru a favoriza înmulțirea și activizarea celulelor de drojdii rămase în cantitatea de 1/3 de must fermentat. Inocularea cu culturi de drojdii indigene, ce provin din zona viticolă din care s-au recoltat strugurii, se mai recomandă când fermentația naturală demarează lent, ca urmare a existenței unui număr mic de celule, sau când are loc oprirea fermentației, deși există încă zahăr fermentescibil.

**Utilizarea de culturi pure de drojdii** cu proprietăți biotehnologice cunoscute este practică pe scară restrânsă. Selecționarea se face în institute de cercetare, în laboratoare centrale de vinificație și sunt livrate în funcție de necesități. Dintre drojdiile recomandate în vinificație fac parte:

- drojdiile pentru vinuri albe, în care intră toate culturile pure ce găsesc condiții favorabile pentru fermentația mustului obținut din struguri copti, care se înmulțesc rapid, fermentează complet zahărul și se depun ușor la sfârșitul fermentației;

- drojdiile pentru vinuri roșii, care trebuie să aibă aceleași calități ca și cele pentru vinuri albe; în plus trebuie să fie rezistente la concentrații mai ridicate în substanțe tanante și colorante;

- drojdii alcoolorezistente, tulpini ce aparțin speciei *Saccharomyces bayanus (oviformis)*, care se înmulțesc bine în prezența de alcool format prin fermentație la care se adaugă alte calități;

- drojdii pentru șampanie, care sunt tulpini alcoolorezistente ce pot produce fermentarea la presiuni ridicate de dioxid de carbon, până la 0,6 MPa, dând vin cu o bună spumare. Drojdiile se depun ușor și nu rămân lipite de pereții sticlei, la șampanizarea clasică;

- drojdii sulfitorezistente, drojdii care pot produce fermentația la concentrații ridicate în dioxid de sulf ( $150-200 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), obținute prin cultivarea lor în medii cu creșterea concentrației de  $\text{SO}_2$  până se produce adaptarea;

- drojdii termotolerante și psihrofile, care produc fermentația la  $30...35^\circ\text{C}$  și, respectiv, la  $4...10^\circ\text{C}$ ;

- drojdii tip Xeres, tulpini ce aparțin speciei *Saccharomyces bayanus-oviformis* care, la accesul aerului, formează rapid la suprafața vinului o peliculă cu producerea de substanțe de gust și aromă ce dau caracterul acestor vinuri speciale.

Avantajele fermentării mustului cu culturi pure sunt următoarele: mustul fermentează rapid, are loc fermentarea completă a glucidelor; ca rezultat se formează cu 0,5 -1 % mai mult alcool decât în fermentația naturală, vinul conține mai puțini acizi și esteri volatili, are un gust și un miros ce permit evidențierea soiului de struguri. Este mai puțin sensibil la alterări microbiene, se limpezește ușor.

### 3.2.3. Fermentația spontană a mustului de struguri

Datorită condițiilor din must favorizante pentru drojdii, în prima etapă a fermentației se poate produce o înmulțire a acestora, proces prin care are loc un consum de zahăr, asimilat prin respirație: în must sunt prezente în concentrații ridicate drojdii din genul *Kloeckera apiculata* și *Torulopsis bacillaris*, care pot să reprezinte până la 90% din microbiota mustului intrat în fermentație; după acumularea alcoolului etilic (4-6°) se dezvoltă în continuare drojdiile tipice de fermentație alcoolorezistente, denumite și drojdii fundamentale, ce aparțin genului *Saccharomyces* cu drojdia de vin *Saccharomyces cerevisiae subsp. elipsoideus*.

Sub acțiunea drojdiilor fundamentale are loc, în anaerobioză, fermentația alcoolică propriu-zisă, prin care glucidele fermentescibile ale mustului sunt metabolizate pe calea EMP în alcool etilic, CO<sub>2</sub> și produse secundare (de fermentație sau rezultate din metabolismul azotat al drojdiei) ce dau vinului aroma specifică. Fermentația alcoolică a mustului din struguri poate să dureze un timp variabil, între 2 și 4 săptămâni, determinat de compoziție, temperatură, natura și densitatea celulelor de drojdie. După amorsarea fermentației are loc etapa fermentației tumultuoase, caracterizată prin degajarea intensă de CO<sub>2</sub> și de spumare. Pe măsură ce se reduce conținutul în glucide fermentescibile, scade viteza de fermentație și are loc sedimentarea drojdiilor și limpezirea vinului. Dacă vinul se menține în continuare în contact cu sedimentul de drojdie, ca urmare a autolizei celulelor de drojdie, se eliberează în vin compuși asimilabili cu azot. Acest proces se recomandă atunci când vinul este prea acru și se urmărește stimularea creșterii bacteriilor-agenti ai fermentației malo-lactice. În caz contrar, vinul capătă gust de drojdie, se poate produce hidrogen sulfurat și se modifică însușirile senzoriale ale vinului. De aceea, la sfârșitul fermentației se face separarea de drojdie prin operația de filtrare, condiționarea și îmbutelierea vinului. În funcție de sortiment, se poate face păstrarea sau învechirea vinului cu îmbunătățirea calității, ca rezultat al unui complex de procese fizico-chimice și biochimice ce au loc.

### 3.2.4. Fermentația malo-lactică

Este o fermentație secundară ce poate avea loc în vin după fermentația alcoolică și este produsă de către bacterii. Este recomandată la vinurile roșii seci și la vinurile albe obținute din struguri necopti, recoltați, de exemplu, la sfârșitul perioadei de vinificație. Pentru demararea naturală a fermentației malo-lactice, vinul se păstrează pe drojdie la temperatura de 20...25°C, pentru a se îmbogăți în compuși cu azot necesari dezvoltării bacteriilor. Se poate face inocularea vinului cu culturi pure de bacterii malo-lactice ce pot aparține speciilor: *Leuconostoc oenos*, *Leuconostoc gracille*, *Micrococcus acidovorax* sau se introduce în calitate de inocul, un vin în care se produce

activ această fermentație.

Bacteriile malo-lactice se dezvoltă în vinuri cu grad alcoolic sub 12°, în care concentrația de SO<sub>2</sub> este sub 50 mg·dm<sup>-3</sup>. În momentul în care aciditatea s-a redus la o limită convenabilă, fermentația malo-lactică este oprită prin diverse tratamente tehnologice cum ar fi pasteurizarea, sulfitarea, aplicate în scopul inactivării bacteriilor, sau bentonizarea, urmată de filtrare pentru eliminarea bacteriilor din vin. Dacă fermentația malo-lactică nu este oprită la momentul oportun, are loc transformarea totală a acidului malic precum și a acizilor tartric și citric, cu acumularea de acid lactic care imprimă vinului un gust de borș și determină deprecierea acestuia.

Biochimismul fermentației malo-lactice constă în transformarea acidului malic în acid lactic și dioxid de carbon (fig. 5).

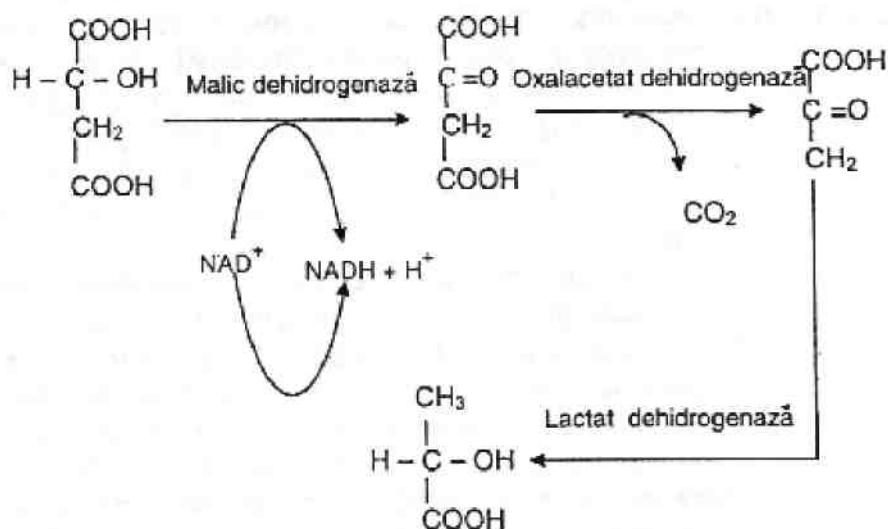


Fig. 5. Biochimismul fermentației malo-lactice.

### 3.2.5. Boli și defecte microbiene ale vinurilor

Vinul, după condiționare, poate să fie lipsit de microorganisme vii și, prin învechire, își poate îmbunătăți caracteristicile senzoriale (armonizarea gustului, formarea buchetului specific vinurilor vechi). În vin există factori restrictivi pentru activitatea unor microorganisme, cum ar fi concentrația în alcool etilic > de 12 -14° alcool, condiții de anaerobioză, pH acid, prezența unor compuși cu acțiune bacteriostatică: SO<sub>2</sub>, tanin precum și absența unor surse de C și N ușor asimilabile. Un vin de calitate din punct de vedere microbiologic poate să fie steril atunci când s-a produs îndepărtarea totală a microorganismelor prin filtrare sau conține un număr redus, de 800 - 900 celule de drojdie • dm<sup>-3</sup>.

**Defecte produse de drojdii.** În continuare se descriu trei dintre defectele produse de drojdii.

**Refermentarea** poate avea loc în vinurile dulci și poate fi datorată drojdiilor sulfitorezistente ale genului *Schizosaccharomyces*, ce produc fermentarea zahărului rezidual cu formarea pe lângă alcool etilic, dioxid de carbon, acid acetic și a acetatului de etil. Prin refermentare, vinul se tulbură,

spumează energic la deschiderea recipientului și are un gust acru. Dezvoltarea lui *Schiz. bailii* poate fi asociată cu o scădere a acidului malic folosit de drojdii ca sursă de carbon și energie.

**Defectul „de floare”** se produce la vinuri cu grad alcoolic redus, la temperaturi mai mari de 12°C, în prezența de aer, condiții care favorizează dezvoltarea la suprafața vinului a drojdiilor oxidative aparținând următoarelor specii: *Candida mycoderma (valida)*, *Pichia membranefaciens*, *Pichia fermentans*, specii ale genului *Hansenula*. La început, la suprafață se dezvoltă celule în lanț cu formarea de pseudohife și, prin asociere, formează un voal subțire; prin creșterea suprafeței, voalul se cutează, este fragil și se destramă ușor, dând tulburare și sediment. Drojdiile oxidative asimilează alcoolul etilic cu eliberare de apă și dioxid de carbon încât, prin acțiunea lor, vinul devine fad, apos, cu deprecierea calităților psiho-senzoriale. Drojdiile de floare pot să producă și oxidarea acizilor organici la produși finali. Sunt sensibile la tratare cu SO<sub>2</sub>. În stadii incipiente, ca urmare a localizării defectului sub voal, se pot aplica metode de recuperare a vinului.

**Defectele de gust și miros** pot fi produse de unele drojdii care pot forma hidrogen sulfurat din sulfiți și sulfați prin procese de reducere, sau pot să formeze mercaptani (CH<sub>3</sub> - CH<sub>2</sub> - SH) prin înlocuirea atomului de oxigen din alcoolul etilic cu atomul de sulf, care dau vinului un gust dezagreabil. Drojdiile din genul *Brettanomyces* pot degrada glicerolul, în condiții de anaerobioză, în vinuri păstrate timp îndelungat și, prin reacții ce au loc în prezența substanțelor azotate eliberate prin autoliza celulelor microbiene, rezultă acetamida care imprimă vinului așa-numitul „iz de șoarece” și deprecierea calității.

**Defecte produse de bacterii.** Dintre bacteriile care au condiții să se dezvolte în vin fac parte bacteriile aerobe și anaerobe.

**Oțetirea vinurilor** este produsă de bacterii aerobe ale genului *Acetobacter*. Este considerată o boală a vinului care se poate produce când nu se menține o igienă corespunzătoare și poate avea loc în vinuri cu grad alcoolic < 10°. Dezvoltarea bacteriilor este optimă la temperaturi de 24...30°C dar, o dată declanșată fermentația acetică, aceasta se desfășoară și la temperaturi scăzute, temperatura minimă fiind de 0...4°C. Dintre bacteriile acetice izolate din vinuri oțetite fac parte: *Acetobacter pasteurianus* care formează un voal fragil, transparent, ușor ascendent pe pereții sticlei, *Acetobacter rancens* și *Acetobacter xylinum* și *xylinoides* producătoare de voal gelatinos. Răspândirea bacteriilor acetice se realizează ușor prin intermediul musculiței de oțet, *Drosophilla cellaris*, care preia bacteriile din medii contaminate și le inoculează în vin. Defectul de oțetire este evident în tot volumul de vin, deoarece acidul acetic format prin oxidarea în zona situată sub voal, având o densitate mai mare decât a alcoolului etilic, se deplasează spre straturile inferioare ale vasului, fiind înlocuit în mod continuu de cantități de vin și alcool etilic, ce reprezintă substratul oxidabil. În stadiile inițiale este sesizat mirosul de acetat de etil format prin esterificare și se pot lua măsuri tehnologice de recuperare. Pentru prevenirea oțetirii se poate face sulfitarea

vinurilor, pasteurizarea, păstrarea vinurilor fără gol de aer.

Bacteriile anaerobe și facultativ anaerobe care produc defecte sunt predominant bacterii lactice care folosesc ca sursă de carbon acizii din vin (malic, tartric, citric) și glicerolul. Dintre defectele diferențiate în funcție de bacteriile predominante și de activitatea lor, fac parte cele prezentate în continuare.

**Manitarea** este un defect întâlnit la vinuri roșii, în special, care mai conțin zahăr nefermentat. Bacteriile care provoacă manitarea sunt: *Bacterium manitopeum*, *Bacterium intermedium*, *Bacterium gayoni*, care devin active când temperatura de păstrare a vinurilor este mai ridicată și, uneori, chiar în timpul fermentației mustului. De exemplu, *Bacterium gayoni* este activă și la 38°C. Prin fermentarea glucidelor produc acid lactic, acid acetic, iar prin reducerea fructozei se acumulează manitol în concentrații ce pot atinge valori de 30 g·dm<sup>-3</sup>. Vinul capătă un gust acru-dulceag și suferă modificări de culoare (de la roșu la cenușiu-cărămiziu). Defectul poate fi evidențiat dacă pe o sticlă de ceas se lasă să se evapore o cantitate mică de vin, când se pot observa cristale specifice de manitol.

**Borwea** sau **înăcrirea** este datorată bacteriilor lactice ale genului *Lacto-bacillus*, cu speciile *Lb. brevis*, *Lb. lindneri*, *Lb. plantarum* care produc prin fermentarea glucidelor acid lactic; în vin crește cantitatea de azot aminic, ceea ce favorizează creșterea altor bacterii asociate, care produc tulburare. Acest defect poate fi asociat cu băloșirea, ca urmare a formării de către *Bacterium viscosus vini*, *Leuconostoc sp.* a unor poliglucide care modifică consistența vinului.

**Boala presiunii** are loc în vase fără acces de aer, în vinuri seci, fiind datorată bacteriilor: *Bacterium saprogenes vini*, *Bacterium tartarophthorum*, *Leuconostoc gracille* care pot produce degradarea acidului tartric cu formarea de acid lactic, acetic, propionic și dioxid de carbon. Astfel scade aciditatea fixă a vinului, se mărește presiunea în recipient, au loc modificări de gust și de culoare, cu deprecierea totală a vinului.

**Amăreala vinului** este un defect datorat activității bacteriilor care pot produce degradarea glicerolului cu formarea de acroleină. Aceasta se poate combina la cald cu taninuri, cu formarea gustului amar, care se intensifică la pasteurizare. Bacteria izolată din vinuri cu gust amar este *Bacterium amaracrylis*.

**Defecte produse de mucegaiuri.** Mucegaiurile pot avea o influență indirectă asupra calității vinului la păstrare.

*Botrytis cinerea* prin eliberarea de oxidaze, în cazul vinului obținut din boabe mucegăite, poate produce la transvazarea vinului, în contact cu oxigenul din aer, caza oxidazică, cu modificarea culorii, apariția de precipitat și gust de oxidat sau de vin fiert. În mustul fermentat au condiții să se dezvolte, în anaerobioză, sporangiospori ai genului *Mucor*, cu formarea de celule similare drojdiilor care pot produce 1% alcool etilic prin fermentație. Mucegaiuri din genul *Aureobasidium* pot produce, în must, poliglucide mucilaginoase. Mucegaiuri din genul *Penicillium*, în pivnițe cu umezeală relativă a aerului de

peste 75%, pot produce mucegăirea dopurilor de plută și a lemnului. *Cladopsorium cellare* se dezvoltă preferențial pe pereții pivnițelor, pe lemn, pe dopuri. Este adaptat la condițiile existente, folosind în nutriție substanțele volatile ce se degajă, azotul din aer sau obținut prin digerarea insectelor (în prezența chitinazei). Formează un fetru măsliniu-negru caracteristic pivnițelor vechi. *Merulis lacrimans* este un micromicet care poate produce hidroliza enzimatică a celulozei și ligninei până la produși finali și contribuie la putrezirea lemnului. *Spherulina intermixta* se poate dezvolta pe lemn, formând pete negre mucilaginoase foarte rezistente în timp; se poate dezvolta și în vin.

### 3.3 PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA SPIRTULUI

Spirtul se poate obține prin procese de fermentație și prin procese chimice. Spirtul de fermentație este obținut din:

- materii prime amidonoase - cartofi, cereale, care suferă procese hidro-termice, apoi enzimatic, cu obținerea de plămezi dulci ce sunt apoi supuse fermentației alcoolice;

- materii prime zaharoase - melasa (din sfeclă, trestie de zahăr).

La obținerea spirtilor este utilizată drojdia *Saccharomyces cerevisiae*; alegerea ei este condițional de materia primă utilizată. În selecție se ține cont de: spectrul de glucide fermentescibile; capacitatea de a fermenta maltoza și dextrinele cu molecule mici, sau capacitatea de a fermenta rafinoza; în cazul mediului cu melasă, puterea alcooligenă, alcoolrezistentă, osmotoleranța, capacitatea de a se adapta la unele substanțe chimice folosite pentru protecția fermentației.

#### 3.3.1. Obținerea spirtilor din materii prime amidonoase

Au loc procese de zdrobire (cartofi), măcinare (cereale), apoi are loc gelatinizarea granulelor de amidon pe cale hidrotermică, pentru a favoriza hidroliza enzimatică a amidonului.

Plămada dulce este trecută în zaharificator, apoi este răcită la temperatura optimă de activitate a enzimelor amilolitice adăugate în scopul zaharificării amidonului. Drojdiile de spirt nu produc amilaze; de aceea se folosesc enzime vegetale sau microbiene pentru transformarea amidonului în glucide fermentescibile.

După zaharificarea plămezilor amidonoase are loc inocularea cu celule active de drojdii. Drojdiile adaptate la fermentarea acestora au putere de atenuare și capacitatea de a fermenta și dextrine cu molecule mici.

Pentru obținerea inoculului se pornește de la cultura pură, se obține „cuibul de drojdie” în faza de laborator. După obținerea cuibului și a culturii de producție, din plămezi se recoltează 20% din plămada fermentată, se face acidifierea cu acid sulfuric până la pH = 3 - 3,2, timp de 2 - 4 h, pentru a inactiva bacteriile de contaminare; această cantitate este folosită ca materie de

însămânțare pentru alte șarje de plămadă dulce.

Fermentația are loc în două etape:

- prima etapă durează 20 h, la 23...25°C, când se reduce 40% din extractul plămezii;

- a doua etapă durează 48 h, la 30...32°C, și la pH acid (4,3 - 4,5), când se reduce restul de extract.

După fermentație, celulele de drojdii nu se pot separa de componentele mediului; de aceea, plămada fermentată este dirijată la distilare, unde se obține spirtul brut sau, după rectificare, spirtul rafinat. Borhotul rezultat de la distilare are o mare valoare nutritivă și este folosit la furajarea animalelor ca sursă de proteine și vitamine din grupul B.

### 3.3.2. Obținerea spirtului din melasă

Melasa reprezintă un mediu bun pentru fermentație, deoarece conține aproximativ 55 % zaharoză, 2 % rafinoză, săruri minerale, factori de creștere: biotina (30μg/100g - doză optimă pentru înmulțirea drojdiilor).

Fermentarea mediilor cu melasă se face folosind drojdii din genul *Saccharomyces cerevisiae*, drojdii de fermentație inferioară, capabilă să fermenteze complet rafinoză. Drojdia trebuie să aibă toleranță la presiune osmotică ridicată, deoarece, în acest caz, se pot folosi plămezi mai concentrate în zahăr.

*Melasa din sfeclă de zahăr*, în afară de substanțele valoroase, poate să conțină și substanțe cu efect inhibitor asupra activității fiziologice a drojdiilor, formate în procesul de obținere a melasei. Dintre acestea fac parte:

- imidodisulfonatul de potasiu, care, în cantități mai mari de 5%, inhibă activitatea drojdiilor. Rezultă din nitriți și sulfiți care ajung în melasă prin activitatea unor bacterii, care contaminatează zeama de difuzie;

- nitriții prezenți în melasă în concentrate mai mari de 0,02%, care inhibă multiplicarea drojdiilor;

- acidul acetic; acidul butiric, în concentrații mai mari de 0,1-1%, care inhibă multiplicarea drojdiilor.

Melasa are o încărcare microbială ridicată și se consideră o melasă bună aceea care conține până la  $2 \cdot 10^3$  celule  $\cdot g^{-1}$ ; cea de calitate inferioară are peste  $3 \cdot 10^4$  celule  $\cdot g^{-1}$

Microbiota melasei este formată din:

- bacterii lactice: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* -tolerante la alcool (14°), nu suferă plasmoliza la concentrație ridicată de zahăr;
- bacterii butirice: *Clostridium pasteurianus*, *Clostridium nigrificans*, care influențează negativ calitatea melasei;
- bacterii de putrefacție: genul *Bacillus* cu rol în formarea de nitriți;
- bacterii acetice.

În melasă, microbiota este în stare inactivă. În anumite condiții, la păstrare, se pot produce modificări de calitate cum ar fi: spumarea și deversarea melasei cu creșterea temperaturii și pietrificarea melasei rămase



în rezervor. Acest defect este întâlnit mai ales în țările calde și are ca start activitatea microorganismelor care contribuie la acumularea de glucide reducătoare și de compuși aminici (amine, aminoacizi), care în condiții favorabile dau reacții Maillard, cu degajare de dioxid de carbon (ce determină spumarea, deversarea din rezervoare) și formarea de melanoidine de culoare închisă.

În scopul folosirii la fabricarea spirtului, melasa este diluată și se adaugă substanțe ce favorizează fermentația. Melasa păstrată în stare diluată poate suferi o degradare prin fermentare cu bacterii din genul *Leuconostoc mesenteroides*, care produc polimerizarea glucozei cu formare de dextran; acesta mărește vâscozitatea melasei și scade conținutul în zahăr fermentescibil.

*Melasa din trestie de zahăr* este mult mai contaminată comparativ cu melasa din sfeclă; se consideră melasă de calitate I, din punct de vedere microbiologic, cea care conține până la 100 000 celule  $\cdot g^{-1}$ . Dintre substanțele inhibitoare, hidroxi-metil furfurotul 0,4% inhibă activitatea drojdiilor.

În tehnologia obținerii spirtului din melasă, mediul este sterilizat, are loc inocularea cu drojdii adaptate la melasă, fermentația alcoolică durează 24-36 h, apoi au loc operațiile de distilare și rectificare.

Spirtul de fermentație conține, în afară de alcool etilic, produse secundare de fermentație: aldehide, esteri care dau o anumită aromă. Este un produs conservabil, având un efect bactericid maxim la 70° alcool, deoarece coagulează proteinele din citosolul celulelor. Se folosește pentru obținerea băuturilor alcoolice cu tărie 40 - 60° alcool, în amestec cu sucuri, extracte de fructe, zahăr etc.

Din melasa din trestie de zahăr se poate și obține **romul**, băutură alcoolică obținută prin fermentație cu culturi de drojdii: *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizo-saccharomyces pombe*, *Hansenula*, care produc, pe lângă etanol, și produși secundari ce îi oferă o aromă specifică.

### 3.4 BIOTEHNOLOGIA OBȚINERII DROJDIEI COMPRIMATE

Drojdia comprimată este o biomasă de celule din genul *Saccharomyces cerevisiae* - drojdie de fermentație superioară, adaptată să producă fermentarea glucidelor din aluat, folosită ca afănător biologic la fabricarea pâinii și a produselor de panificație.

Pentru obținerea drojdiei comprimate se folosește melasa, extract de porumb ș.a., care furnizează drojdiei sursa de carbon (zaharoza), săruri minerale, săruri de azot asimilabile, pentru a crea un mediu favorabil înmulțirii; printre factorii de creștere, pe care îi furnizează extractul de porumb, este conținutul ridicat de biotină (200 $\mu$ g/100g).

Pentru a crea condiții de multiplicare, după prepararea și sterilizarea mediului, se asigură condiții de aerare, care stimulează activitatea de biosinteză și reducerea timpului de generație. Calitatea drojdiei depinde de

procesul tehnologic care trebuie să se desfășoare în condiții stricte de igienă, pentru a evita contaminarea plămezilor, care oferă condiții optime și pentru dezvoltarea altor tipuri de microorganisme. Calitatea drojdiei depinde de gradul de igienă al instalațiilor, lucrătorilor, aerului, de calitatea culturii pure și de calitatea (microbiota) materiilor prime și auxiliare.

Ocazional, poate să se producă o contaminare a plămezilor cu drojdii sălbatice (atipice). Dacă are loc pătrunderea acestor drojdii (*Candida mycoderma*), contaminarea constă în înmulțirea mai rapidă a acestora decât a drojdiilor de cultură; se observă o spumare a plămezilor și în mediu se simte mirosul de acetat de amidon. Aceste drojdii au efect negativ asupra produsului finit, deoarece au activitate fermentativă mică, iar prezența lor în calupul de drojdie influențează durata de păstrare, deoarece intră în autoliză mai repede și, oferă, astfel, bacteriilor de contaminare un substrat favorabil dezvoltării.

Contaminarea cu bacterii poate avea loc în plămada a cincea la pH > 6, unde au condiții optime de dezvoltare. Contaminarea poate avea loc cu: *Micro-coccus flavus*, *M. luteus*, *M. candidus*, genul *Flavobacterium*, genul *Proteus*. Sunt bacterii de putrefacție și prin activitatea lor produc nitriți care inhibă înmulțirea drojdiei la concentrații mai mari de 0,02%. Prin contaminarea calupurilor reduce timpul de păstrare al drojdiei.

Contaminarea plămezii se poate face și cu mucegaiuri, dar acestea au viteză de înmulțire mai redusă decât a drojdiilor și efectul lor nu este sesizabil în cursul procesului de fabricate. Sporii care s-au separat o dată cu drojdia pot germina și produc mucegăirea exterioară sau interioară a drojdiei comprimate în timpul păstrării.

### 3.4.1. Procese ce au loc la păstrarea drojdiei comprimate

Drojdiile se livrează sub formă de calupuri (500 g) care își păstrează proprietățile tehnologice un timp variabil, de 7 zile - 3 luni, în funcție de calitatea drojdiei și de condițiile de păstrare (optim la 4°C, umezeală relativă a aerului 65 - 70%).

Drojdiile cu grad mare de puritate nu conțin bacterii de putrefacție sau drojdii atipice și se conservă până la 3 luni; drojdiile de calitate bună nu trebuie să conțină bacterii de putrefacție în cantitate mai mare de 0,1 - 0,2 % (1 g drojdie conține  $5 \cdot 10^9$ - $10^{10}$  celule, din care pot fi admise 100-1000 bacterii contaminante).

**Procesul de autoliză a drojdiei comprimate.** În timpul păstrării au loc importante modificări și se pot produce transformări intracelulare care conduc la autoliza drojdiei. În calup, celulele de drojdii sunt lipsite de mediu nutritiv, iar activitatea este întreținută prin intermediul glucidelor de rezervă (trehaloza și glicogenul). Prin consumul acestora, în absența apei nu mai are loc transport substanțelor de catabolism și se modifică pH-ul și rH-ul intracelular, la valori la care este stimulată activitatea enzimelor proteolitice intracelulare. Activitatea proteazelor este stimulată de substanțe cu caracter

reducător (Glutation-SH) și reductaze active. Din drojdii au fost izolate două endopeptidaze, dintre care una activă la pH = 3, și  $T_0 = 45^{\circ}\text{C}$ , asemănătoare pepsinei, cealaltă activă la pH = 5,3 - 6 și  $T_0 = 60^{\circ}\text{C}$ , asemănătoare papainei și polipeptidazelor active la pH = 7 - 8. Prin consumul de trehaloză și glicogen scade pH-ul, într-un domeniu în care sunt activate endopeptidazele și polipeptidazele care determină degradarea proteinelor din celulă. Astfel, drojdiile își pierd capacitatea de a produce fermentația alcoolică ca urmare a inactivării enzimelor.

Prin autoliză, ca rezultat al degradării proteinelor structural, are loc o eliberare a substanțelor din citosol, se produce înmuierea calupului și închiderea la culoare. Prin autoliză se eliberează din celule substanțe nutritive, care vor stimula dezvoltarea bacteriilor de putrefacție ce produc enzime exogene și care vor contribui suplimentar la liza celulelor.

Dacă păstrarea calupului are loc la  $4^{\circ}\text{C}$ , atunci dublarea numărului de bacterii de contaminare are loc în 20 de zile. Dacă păstrarea are loc la temperatura camerei, atunci alterarea și înmuierea calupului are loc rapid, când bacteriile de putrefacție ajung la concentrația de  $10^6$ - $10^8 \cdot \text{g}^{-1}$  drojdie. Pentru aprecierea calității microbiologice a drojdiei se determină în laborator durabilitatea prin păstrarea calupului la  $35^{\circ}\text{C}$  și se notează timpul până la înmuiere. Pentru o drojdie bună, acest interval este de 135 h, dar timpul se reduce mult când drojdia este contaminată.

### 3.4.2. Defecte microbiene

În timpul păstrării pot apărea defecte ca mucegăirea, cu *Geotrichum candidum*, care consumă acizii rezultați prin activitatea drojdiei, are activitate lipazică și proteazică și formează la suprafața drojdiei un strat cu aspect făinos. Dintre mucegaiuri se mai pot dezvolta: *Penicillium expansum*, care produce pete verzui; *Cladosporium herbarum*, care produce mucegăirea printre fisuri ale calupului; *Mucor mucedo*, la umiditate mai mare de 75 %, care determină mucegăirea și înmuierea calupului datorată enzimelor proteolitice.

## 3.5. PROCESE MICROBIOLOGICE ÎN INDUSTRIA DE MORĂRIT-PANIFICAȚIE

### 3.5.1. Microbiologia cerealelor

Cerealele, în momentul recoltării, conțin o microbiotă bogată și heterogenă alcătuită din microorganisme apărute la suprafața boabelor în timpul creșterii, formării și maturării bobului și în perioada de recoltare. Numeroase studii au arătat că planta prezintă în jurul radicelelor o microbiotă rizosferă alcătuită din microorganisme ale solului, ce se hrănesc cu substanțe pe care, în mod normal, planta le elimină în sol. Prin creșterea plantei, microbiota rizosferă este antrenată și alcătuiește microbiota epifită (de

suprafață), din microorganisme ce se mențin în stare viabilă și care, în momentul formării boabelor, ajung să se localizeze fie sub țesutul celulozic al bobului, fie la suprafața acestuia. Pe lângă microbiota provenită din cea rizosferă, se adaugă microorganisme transferate prin curenți de aer, insecte, ape meteorice și alți factori fizici și biologici.

În prima fază de coacere, faza de lapte-țeară, bobul de grâu are un conținut mare de apă și glucide ușor asimilabile și poate avea loc o înmulțire a unor microorganisme ca: bacterii, drojdii, actinomicete, mucegaiuri. Pe măsura coacerii are loc biosinteza amidonului și a altor substanțe macromoleculare, mai greu accesibile, iar umiditatea bobului scade, astfel încât se produce o stagnare în creșterea numărului de microorganisme.

O cantitate mare de microorganisme provin de la recoltare, deoarece, la separarea și baterea spicelor, se antrenează o cantitate mare de praf. Contaminarea în continuare a boabelor este dependentă de microbiota materialelor cu care intră în contact: sacii pentru ambalare, mijloacele de transport, depozitul de cereale.

Din punct de vedere calitativ, în funcție de proveniența, microbiota cerealelor poate fi reprezentată de două grupe de microorganisme:

- microbiotă „de câmp”, care include microorganismele alipite în cursul coacerii;

- microbiotă „de depozit”, care include microorganismele alipite la transport și păstrare.

Microbiota „de câmp” este formată din bacterii nesporulate: *Pseudomonas herbicola*, *Pseudomonas fluorescens*, *Xantomonas translucens*. Ele reprezintă ~ 98% din totalul bacteriilor prezente. Se mai pot găsi și actinomicete. Dintre fungi predomină genul *Alternaria*, până la 40% din total, și genurile: *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Nigrospora*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*. Drojdiile prezente fac parte din genurile: *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*.

Microbiota „de depozit” este dependentă de condițiile igienico-sanitare la transport și la păstrare. Ca rezultat al contaminării suplimentare și al unor transformări în componența microbiotei în timpul păstrării, apar astfel modificări calitative și, pe lângă microbiotă de câmp, se adaugă:

- bacterii nesporulate din genurile: *Sarcina*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Escherichia*;
- bacterii sporulate - contaminanți ai solului: *Bacillus*, *Clostridium*;
- mucegaiuri din genurile *Aspergillus* și *Penicillium*, care sunt predominante, deoarece sunt xerofite și se adaptează mai bine la condițiile din depozit.

În funcție de localizare, microbiota poate fi:

- **externă**, care este cea mai numeroasă, iar numărul de microorganisme/g boabe depinde și de structura anatomică a acestora. Astfel, secara are mai multe microorganisme decât orzul și, în succesiune, urmează grâul, porumbul și orezul, în funcție de natura învelișului rugos și de prezența șanțulețului în care se acumulează particule de praf și

microorganisme;

- **internă**, microbiotă care se instalează în perioada de formare a bobului și ~ 1 - 25 % din boabe pot suferi și o contaminare internă. În această microbiotă sunt incluși fitopatogenii care dau o scădere a producției și a calității tehnologice.

Dintre microorganismele fitopatogene mai importante, care afectează calitatea cerealelor panificabile, se pot aminti:

- agenții producători ai mălurei datorită dezvoltării unui micromicet din genul *Tilletia tritici*, care se dezvoltă în interiorul bobului și poate înlocui endospermul bobului cu chlamidospori (negri, suprafața rugoasă, miros neplăcut), boabe care în exterior au aspect normal și care folosite în panificație determină stări de intoxicație, modificări de gust al pâinii, închidere la culoare;

- genul *Ustilago*, care produce boala numită popular „tăciune”;

- genul *Puccinia*, care produce „rugina” cerealelor, afectează tulpina, frunzele producând ofilirea și reducerea cantității de boabe;

- genul *Fusarium*, care produce fusarioze și, dacă contaminarea este mai târzie, afectează conținutul boabelor care vor avea o activitate amilazică și proteazică ridicată, putând influența negativ calitățile de panificație.

Din punct de vedere cantitativ, numărul de microorganisme/g boabe este foarte variat și, în general, numărul de spori de mucegaiuri, chiar pe boabe de calitate bună, ajunge la 100-1000 ·g<sup>-1</sup>, iar numărul de bacterii, actinomicete, la 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup>·g<sup>-1</sup> în funcție de mărimea boabelor. Controlul microbiologic constă în aprecierea numărului de microorganisme/g, dar și în calitatea microbiotei. Prin teste microbiologice se evidențiază natura și localizarea pe bob a mucegaiurilor care au un rol important în conservare, se pun în evidența bacteriile sporulate ale genului *Bacillus*, care pot produce alterări ale pâinii atunci când depășesc 1000 spori·g<sup>-1</sup> Taină.

### 3.5.2. Modificări ale microbiotei și calității boabelor la conservare

Cerealele se conservă un timp mai îndelungat dacă sunt păstrate în condiții corespunzătoare (umezeală relativă în aer până la 75% și temperaturi de refrigerare). Dacă umiditatea boabelor este mai mică de 14%, microorganismele nu au condiții pentru creștere și înmulțire și, treptat, are loc o scădere a numărului de microorganisme; mai sensibile sunt bacteriile nesporulate și drojdiile. Sunt rezistente la uscăciune bacteriile sporulate, actinomicetele, spori de mucegaiuri.

În timpul conservării, când accidental are loc creșterea cantității de apă, în boabe apar condiții favorabile pentru germinarea sporilor de mucegaiuri. Mărirea cantității de apă în timpul însilozării poate fi datorată păstrării, atunci când în siloz are loc accesul aerului atmosferic umed, sau prin introducerea de cereale nesortate, cu grad mare de impurități și boabe sparte, care absorb mai ușor apa. În general, semințele străine au umiditate

mai ridicată decât boabele și, prin difuzie, transmit umiditatea boabelor adiacente.

O altă cauză este procesul de termohidrodifuzie - proces care se produce atunci când între diferitele zone ale masei de boabe apar diferențe mari de temperatură, care fac ca umiditatea să migreze spre stratul mai rece al boabelor, întâlnind acest strat rece, apa condensează și astfel apare la suprafața boabelor apa de condens, apă liberă ce este absorbită de spori de mucegaiuri și se declanșează mucegăirea și încălzirea boabelor.

Mucegaiurile sunt cele mai periculoase la conservare, deoarece sunt microorganisme xerofite și au un complex de enzime ce le permite să degradeze compuși macromoleculari: celuloze, hemiceluloze, substanțe pectice, amidon din învelișul de protecție al bobului. Sunt mezofile și se pot adapta la temperatura de păstrare a boabelor; sunt independente de prezența factorilor de creștere.

După germinarea sporilor, mucegăirea se produce mai ales în zona embrionului, deoarece acesta este de 3 ori mai higroscopic ca endospermul și nu este protejat de scutellum. Mucegaiurile cele mai active aparțin genului *Penicillium*, când temperatura de depozitare este de minimum 15°C, sau genului *Aspergillus*, când temperatura este aproximativ 25°C. Mucegăirea este asociată cu degradarea compușilor organici și, prin procesul de respirație, are loc metabolizarea completă a diferitelor surse nutritive cu formare de apă, dioxid de carbon și o cantitate mare de energie în exces fata de necesitățile culturii. Prin creșterea conținutului de apă a bobului se intensifică și procesul propriu de respirație, ca rezultat al eliberării de căldură prin procese biologice: prin respirația mucegaiurilor, a boabelor și, în cazul în care există o infestare, prin activitatea insectelor; aceasta se pierde în mediu sub formă de căldură.

**Încingerea cerealelor.** Procesul de încălzire se poate produce atunci când cantitatea de căldură eliberată este mai mare decât cea care se pierde prin termo-conductibilitate în masa de boabe, în care caz are loc o creștere a temperaturii, posibil până la 45...50°C, la cereale, și 70°C la semințe oleaginoase.

Studii experimentale au arătat că, în 24 h, 1g miceliu de mucegai degajă 1800 mg CO<sub>2</sub> și căldură, pe când 1g boabe degajă 0,02 mg CO<sub>2</sub> și căldură proporțional mai redusă; de aceea, se consideră că agentul principal în declanșarea încălzirii îl constituie mucegaiurile în stadiul activ de creștere.

Încingerea poate să aibă loc în focare (cuib), atunci când în masa de cereale există o zonă cu temperatură mai ridicată și o încălzire în strat, favorizată de termohidrodifuzie la schimbări bruște de temperatură ale mediului ambiant.

În urma creșterii temperaturii prin încălzire, apar importante modificări în microbiotă, astfel că în perioada de început, când temperatura ajunge la 25÷35°C, sunt active bacterii nesporulate mezofile și mucegaiuri. În etapa de vârf a încălzirii se produce o inactivare a bacteriilor nesporulate și a mucegaiurilor sensibile, dar se înmulțesc bacteriile sporulate (*Bacillus*,

*Clostridium*) și actinomicetele termofile. Dacă nu se intervine prin aerare sau prin alte tratamente prin care să se reducă umiditatea boabelor, după atingerea temperaturii maxime de încingere, treptat, se produce o autorăcire, deoarece prin termohidrodifuzie apa migrează din nou spre stratul mai rece, iar activitatea enzimatică a microorganismelor se reduce ca urmare a inactivării termice a enzimelor.

Mucegăirea și încingerea afectează calitatea tehnologică a cerealelor, producând importante modificări care pot duce la pierderea valorii alimentare a acestora.

**Modificările suferite de boabe la mucegăire, încingere.** La încingere au loc modificări ale calităților senzoriale, respectiv se modifică aspectul, boabele devin mate, își pierd luciul, apar boabe pătate cu zone înnegrite de culoare brună, în special în zona embrionului, cu aspect de „carbonizat”. Închiderea la culoare se datorează formării de melanoidine, compuși ce se formează prin reacții de tip Maillard.

Mirosul boabelor poate fi de „stătut” sau de „hambar”, sau, dacă se dezvoltă colonii de mucegaiuri, se simte miros de mucegai datorat uleiurilor volatile produse de diferite specii, miros care poate fi sesizat și în produsele finite (pâine).

Prin activitatea mucegaiurilor are loc o reducere în substanță uscată - boabele devin șistave, iar calitatea lor tehnologică se reduce. Ca rezultat al transformărilor enzimatică, prin hidroliza lipidelor crește indicele de aciditate al boabelor; din proteinele glutenice se formează, în prezența proteazelor, peptide, glutenul devine filant și produsele de panificație sunt de calitate necorespunzătoare. Mucegaiurile produc a-amilază, astfel încât amidonul se transformă în dextrine care modifică aspectul miezului pâinii.

Boabele mucegăite și încinse își pierd capacitatea de germinare, deoarece mucegaiurile din genurile *Aspergillus* și *Penicillium* - denumite și mucegaiuri „sterilizante” - prin dezvoltarea în embrion îi distrug structura, iar boabele nu mai pot fi folosite ca materie primă la fabricarea malțului.

Mucegăirea cu mucegaiuri toxicogene a boabelor cu umiditate mai mare de 16 - 19%, este periculoasă, deoarece acestea pot să elaboreze micotoxine care sunt foarte rezistente în timp, și care nu se distrug la coacerea pâinii. De aceea, cerealele mucegăite nu se pot folosi nici în hrana omului, nici în cea a animalelor. O variantă este folosirea la fabricarea unor solvenți (butanol, acetonă, alcool izopropilic), iar borhotul nu este recomandat pentru furajare, deoarece poate conține micotoxine.

### 3.5.3. Microbiologia făinurilor

Făinurile au o microbiotă care se aseamănă cu cea a cerealelor din care provin. Cantitativ, numărul de microorganisme este mai redus decât al cerealelor și acest număr variază cu gradul de extracție a făinii. Astfel, făinurile negre, în care există o cantitate mare de înveliș, conțin un număr mai mare de microorganisme decât făinurile albe obținute din endosperm.

Pentru obținerea făinurilor se face condiționarea cerealelor care presupune o umectare, o spălare a boabelor și păstrarea la rece sau la cald. La spălare se elimină o cantitate mare de microorganisme epifite dar, în același timp, are loc o răspândire a mucegaiurilor, aflate pe anumite boabe, în întreaga masă. Condiționarea durează 3 - 6 h la cald, 12 h la rece, perioadă în care nu au loc modificări cantitative în microbiota boabelor.

Făinurile sunt mai greu conservabile decât boabele din care au provenit, deoarece microorganismele din făină au acces liber la substanțele nutritive; de aceea, creșterea umidității la valori peste 14% favorizează destul de rapid alterările microbiene.

Dintre defectele întâlnite amintim mucegăirea și încingerea, cu aceleași efecte ca la cereale, la care se adaugă scăderea capacității de curgere a Tainurilor cu formarea de aglomerări, explicabilă prin unirea particulelor de Taină produsă de amidonul gelatinizat la încingere. Un alt defect este acrirea, care se explică prin acumularea de acizi grași sau prin activitatea unor bacterii care metabolizează: zahărul din făină (maltoza), dextrinele, amidonul, cu formare de acid lactic, acetic, propionic și butiric.

#### 3.5.4. Procese microbiologice la fabricarea pâinii

Pâinea este obținută din Taină, apă și drojdie, materii prime ce introduc în procesul de fabricație diferite microorganisme ce pot fi arbitrar clasificate în trei categorii: utile, indiferente, dăunătoare.

##### **Microorganismele utile sunt:**

- drojdia (*Saccharomyces cerevisiae*) responsabilă pentru: fermentația alcoolică a zahărului din Taină, creșterea aluatului (rol de afânător biologic); porozitatea și aroma pâinii;

- bacteriile lactice homo- și heterofermentative introduse în aluat sub formă de culturi pure sau o dată cu făina, responsabile de fermentația lactică a glucidelor din aluat și de formarea substanțelor de aromă;

- bacteriile propionice folosite în culturi starter, deoarece produc CO<sub>2</sub> și acid propionic cu efect fungistatic, ce contribuie la conservarea mai bună a pâinii și la prevenirea mucegăirii.

**Microorganismele indiferente** sunt componente ale microbiotei făinii, apei, sării, care nu au condiții de creștere în perioada de fermentație a aluatului și care sunt distruse la coacere: bacterii aerobe nesporulate, spori de mucegaiuri.

**Microorganismele dăunătoare** sunt componente ale microbiotei, a căror prezență este nedorită, deoarece prin activitatea lor modifică în sens negativ calitatea pâinii, iar acțiunea lor poate avea loc fie în aluat, fie după coacere. Aparțin bacteriilor sporulate (*Bacillus*, *Clostridium*), care pot fi introduse cu făina sau cu sarea și care, datorită endosporilor termorezistenți pe care îi formează, nu sunt inactivate la coacere; în timpul păstrării pâinii produc boli prin degradarea amidonului și a proteinelor din miez. În acest grup intră și mucegaiurile ce pot contamina pâinea după coacere și care, în



condiții optime de umiditate, germinează producând mucegăirea pâinii.

O dată cu fabricarea aluatului, la frământare, microorganismele se omogenizează în masa de aluat și nu se produce o creștere a numărului de microorganisme datorită timpului scurt și a cantității reduse de apă liberă.

La fabricarea pâinii prin procedeul direct se adaugă în aluat un număr suficient de celule de drojdii active din punct de vedere enzimatic, care produc fermentația alcoolică în aluat. Dacă procedeul este indirect se folosesc maiele de producție lichide în care raportul Taină: apă este de la 1:3 la 1:6. În acest scop, făina este opărită cu apă la 90...93°C, astfel încât are loc o gelatinizare a amidonului; enzimele din făină rămase active acționează asupra amidonului gelatinizat și se formează glucide fermentescibile (maltoza), creându-se astfel condiții pentru creșterea numărului de bacterii lactice din făină și înmulțirea drojdiilor.

**Fermentarea aluatului** este cea mai importantă etapă din întregul proces tehnologic, fermentație mixtă care are loc sub acțiunea drojdiilor și a bacteriilor lactice. În masa de aluat se stabilesc relații de simbioză și comensalism între drojdii și bacterii lactice, relații favorabile ce au loc în timpul fermentației, care au la bază procese fizico-chimice și biochimice:

- drojdiile pot consuma oxigenul dizolvat în prima etapă de frământare și astfel creează condițiile de anaerobioză necesare bacteriilor lactice; în plus, drojdiile eliberează vitamine hidrosolubile din grupa B, factori de creștere indispensabili pentru bacteriile lactice;

- bacteriile lactice, prin activitatea lor fermentativă, produc acid lactic și acetic care mențin un pH acid optim pentru activitatea drojdiilor; de asemenea, drojdiile pot folosi acidul lactic în nutriție în lipsa altor surse de carbon.

Calitatea pâinii depinde de procesele fermentative care au loc în aluat.

*Drojdiile* produc fermentația alcoolică a maltozei rezultate prin hidroliza enzimatică a amidonului, formând alcool etilic și produse responsabile de aroma pâinii precum și CO<sub>2</sub> care este reținut de masa glutenică, cu rol în asigurarea volumului și porozității pâinii. În mod indirect, în stare autolizată, drojdiile eliberează glutatoin în stare redusă care, prin reducerea potențialului de oxidoreducere în aluat, stimulează activitatea proteazelor din Taină. Deoarece în cazul făinurilor normale o activitate proteolitică în exces face ca glutenul să devină filant și să nu mai rețină CO<sub>2</sub>, acest proces nu este de dorit; de aceea, cantitatea de drojdii prin rețetă nu trebuie să depășească 2% raportat la făină, iar calitatea microbiologică a drojdiei trebuie să fie bună, să nu existe un procent mare de celule autolizate. Celulele de drojdii sunt inactivate la coacere la temperaturi mai mari de 65...80°C și contribuie, prin compoziția lor chimică, la gustul și aroma pâinii.

*Bacteriile lactice* sunt mezofile, provin din microbiota făinii, dar pot fi și adăugate o dată cu drojdia. În tehnologiile moderne pentru stimularea fermentației lactice se adaugă culturi starter. În țara noastră s-au folosit culturi de *Lactobacillus delbrueckii*, bacterie lactică temnofilă ( $T_0$  - 45°C), care

nu se înmulțește în timpul fermentării aluatului și are la 32°C în aluat o activitate fermentativă mai scăzută. De aceea, se recomandă culturi de bacterii lactice mezofile care să fie folosite la fermentarea aluatului, cu temperatura optimă de 32°C și putere de acidifiere. Se recomandă selecționarea de bacterii lactice heterofermentative care să metabolizeze maltoza și dextrinele cu formare de acid lactic, alcool etilic, acid acetic și CO<sub>2</sub>. Acești compuși sunt precursori de gust și aromă. Există sortimente de pâine cu aciditate ridicată (de exemplu, pâinea neagră de seară) în care se lucrează cu aluaturi acide. Ca rezultat al scăderii pH-ului în aluat este inhibată activitatea bacteriilor sporulate care pot contamina Taina (active la valori neutre de pH).

Se cunosc experimentări de folosire a *bacteriilor propionice* în calitate de culturi starter, cu efect benefic asupra creșterii în volum a pâinii și asupra prelungirii duratei de apariție a mucegăirii pâinii.

După etapa de fermentare se face *divizarea*, urmează apoi dospirea finală și coacerea. Prin divizare poate avea loc o stimulare a activității drojdiei ca rezultat al accesului aerului.

*Coacerea* are loc la temperaturi de peste 250°C, temperatură care, în funcție de dimensiunile pâinii, determină, gradat, importante modificări fizico-chimice și biochimice. La creșterea temperaturii peste 35..45°C are loc activarea enzimelor din făină și a enzimelor microbiene; de asemenea, începe să se producă o dilatare a gazului din masa de aluat și creșterea în volum. La temperaturi peste 60..70°C are loc inactivarea parțială a microbiotei aluatului și rămân în stare viabilă endosporii bacterieni.

Se consideră că pâinea este sterilă pe o distanță de 3 cm, deoarece la suprafață se ating 165°C; au loc procese coloidale, fizico-chimice și se produce dextrinizarea și închiderea la culoare a cojii. În centrul geometric al pâinii, temperatura maximă este de 95..98°C, temperatură care se menține 5-10 min, regim termic care nu asigură inactivarea endosporilor bacterieni. Endosporii de tip *Bacillus* rămân în stare activă, iar în perioada de răcire a pâinii, în intervalul de temperatură 40..20°C, acești endospori germinează și se înmulțesc activ dând îmbolnăvirea pâinii la păstrare. În afară de bacterii sporulate, în funcție de forma/dimensiunea pâinii, de concentrația de celule, în centrul pâinii mai pot rămâne în stare vie un număr redus bacterii lactice și spori de mucegaiuri, dar acestea nu au condiții de a produce transformări nedorite în miez.

*Răcirea* se realizează în depozite; se recomandă să se facă în spații climatizate rapid până la 10..15°C, astfel încât intervalul 40..20°C să fie cât mai scurt.

**După răcire**, pâinea se poate contamina prin contact direct (cu banda transportoare, navetele, mâinile lucrătorilor), sau prin contaminare indirectă prin intermediul curenților de aer.

### 3.5.5. Defecte microbiene ale pâinii în timpul păstrării

În cele ce urmează sunt prezentate două dintre aceste defecte.

**Mucegăirea pâinii.** În microbiota aerului din fabrici există un număr important de mucegaiuri și numărul lor crește dacă nu se face în mod repetat igienizarea depozitului. Se constată că pe suprafața pereților, ca urmare a particulelor aderente de Taină, a umidității în exces și a temperaturii optime pentru creșterea microorganismelor mezofile, este favorizată dezvoltarea de mucegaiuri cu sporularea lor activă, mai ales în zonele de condens a apei. În absența curenților de aer, sporii se depun cu o viteză de  $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ . La păstrare, umiditatea din miez difuzează spre coajă, cu un conținut ridicat în substanțe ușor asimilabile (zahăr, dextrine) și, în condiții favorabile, sporii germinează și dau colonii colorate caracteristic, modificând aspectul, mirosul, și gustul pâinii. Pentru consum se îndepărtează zona mucegăită precum și o zonă adiacentă coloniei, pentru a evita riscul de a consuma eventuale micotoxine extracelulare .

Experimentele de inoculare a pâinii sterile cu spori ai mucegaiurilor aparținând lui *Aspergillus parasiticus*, producător de micotoxine, au stabilit că dezvoltarea are loc atunci când umezeala aerului depășește 90 %, iar temperatura de păstrare este de 35 °C. În aceste condiții, aflatoxinele  $B_1$  și  $B_2$  au fost elaborate după 3-6 zile de la germinare, o dată cu apariția sporilor colorați și au fost identificate și în zona adiacentă a coloniei. Difuzia micotoxinelor în pâine a depins de umiditatea miezului, de porozitate și de stadiul de creștere a miceliului.

Prin mucegăire se pierde o parte importantă (până la 16%) din totalul pâinii fabricate în lume. Dintre mucegaiurile care produc mucegăirea pâinii fac parte: *Aspergillus reperis (glaucus)*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*. În general, se pot dezvolta toate mucegaiurile ce conțin amilaze, proteaze și au condiții minime de umiditate necesare pentru germinarea sporilor. Dintre fungii care produc pigmentarea superficială a pâinii și nu au potențial toxicogen fac parte: *Geotrichum auranticum* și drojdia *Saccharomycopsis (Endomycopsis)*.

**Boala întinderii (a cartofului)** este datorată activității bacteriilor sporulate ale genului *Bacillus*, bacterii care pot ajunge în aluat prin făină contaminate și nu se distrug la coacere. Este dată de: *Bacillus subtilis* (sinonime-*Bacillus subtilis vulgatus*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus panis viscosus*). În stadiul incipient al bolii, la tăierea pâinii se sesizează un miros specific (de miere, valeriană, pepene galben), iar consumul pâinii nu este periculos. În stadii mai avansate au loc importante modificări: degradarea amidonului gelificat, degradarea proteinelor glutenice, închiderea la culoare a miezului și o consistență cleioasă a miezului. Cantitatea de amidon se reduce de la 64 % la 16 %. Prin ruperea pâinii se observă niște fire subțiri extensibile rezultate în urma hidrolizei proteinelor glutenice, de unde denumirea de „boala întinderii”. În stadiu avansat al bolii, pâinea își pierde

din calitate, iar prin consum se produc îmbolnăviri cu simptom gastrointestinal.

Pentru prevenirea bolii se face controlul microbiologic al făinurilor și, dacă în făină există mai mult de 1000 endospori-g<sup>-1</sup> se iau măsuri tehnologice adecvate pentru inhibarea activității lor.

### **3.6. PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA PASTELOR FĂINOASE**

La pastele făinoase, regimul tehnologic de uscare este lent încât, dacă aluatul se menține un timp îndelungat în prima treaptă de uscare și dacă raina este contaminată cu bacterii heterolactice, care produc acid lactic și CO<sub>2</sub>, poate apărea defectul de bășicare a pastelor, cu modificarea aspectului comercial. Defectul este produs de *Enterobacter aerogens* (sin. *Bactehum levans*).

Prin intermediul ouălor contaminate pot fi introduse, eventual, bacterii facultativ patogene care nu sunt inactivate la uscare; de aceea, în cazul pastelor cu ouă, este obligatoriu ca bacteriile din genul *Salmonella* să fie absente în 25 g produs. Pastele făinoase se conservă timp îndelungat, datorită cantității mici de apă liberă. Factorii care conduc la creșterea umidității favorizează mucegăirea lor.

### **3.7. PROCESE MICROBIOLOGICE LA FABRICAREA BISCUIȚILOR**

La biscuiți se poate întâlni un defect caracterizat prin sesizarea unui „gust de săpun”, datorat activității microorganismelor cu activitate lipazică, ce pot acționa asupra grăsimilor cu creșterea conținutului de acizi grași liberi. Acești acizi reacționează cu bicarbonatul de sodiu adăugat în rețeta de fabricate și, în urma reacției chimice, rezultă săpunuri. Biscuiții, datorită masei reduse, se sterilizează la coacere. Prin contaminare după coacere, la creșterea umidității, defectul cel mai frecvent este mucegăirea.

### **3.8. PROCESE MICROBIOLOGICE LA PĂSTRAREA SEMINȚELOR OLEAGINOASE ȘI LA FABRICAREA ULEIULUI**

La fabricarea uleiului se folosesc, ca materii prime oleaginoase, diferite semințe recoltate sezonier, care asigură o producție continuă. Semințele oleaginoase prezintă o microbiotă heterogenă variabilă din punct de vedere cantitativ și calitativ în funcție de: structura anatomică a boabelor, suprafață, rugozitate, integritate, puritatea masei de semințe, condițiile de cultivare.

Planta de floarea-soarelui poate suferi îmbolnăviri microbiene: viroze, bacterioze, micoze. Dintre micoze (produse de mucegaiuri fitopatogene) mai importante sunt:

- mana produsă de *Plasmopora helianthi*, care afectează creșterea

plantei, producând semințe cu conținut mic în ulei;

- putregaiul alb - produs de *Sclerotinia*;

- putregaiul cenușiu - produs de *Botrytis cinerea*, care se manifestă prin putrezirea tulpinii, iar semințele capătă un gust amar.

Cantitativ, semințele de floarea-soarelui pot conține  $10^3$  UFC mucegaiuri- $g^{-1}$  și  $10^6$  UFC bacterii- $g^{-1}$ . În microbiota de câmp apar: *Pseudomonas herbicola*, *Pseudomonas fluorescens*, genul *Sarcina*, genul *Micrococcus*, mucegaiuri din genul *Alternaria*, *Cladosporium*. La microbiotă de depozit se adaugă mucegaiuri din genul *Aspergillus* și *Penicillium*. Semințele oleaginoase care prezintă spărturi sunt mai higroscopice și, prin păstrare în depozit în condiții de umezeală a aerului peste 75%, permit dezvoltarea microorganismelor. Primele microorganisme care au condiții să se dezvolte pe coajă sunt mucegaiurile xerofite. Prin ameliorarea soiurilor și prin creșterea conținutului în ulei se observă o scădere a rezistenței mecanice a cojii și, deci, aceasta poate fi mai ușor degradată enzimatic. În timpul păstrării, prin procese de termohidrodifuzie și, prin apariția apei de condens, se poate produce încălzirea semințelor, când se ating temperaturi ridicate (60...70°C). Se citează cazuri în care măcinătura de soia păstrată în depozit a suferit încălzirea la 70°C, temperatură la care prin reacții chimice au rezultat gaze pirofore și autoaprinderea.

Semințele oleaginoase mucegăite/încinse suferă importante modificări care conduc la reducerea calității tehnologice. Semințele mucegăite au un conținut mic în ulei, cu indice crescut de aciditate, deoarece toate mucegaiurile și majoritatea bacteriilor (genul *Pseudomonas*, *Bacillus*) produc lipaze active. Uleiul obținut din boabe încinse are o culoare mai închisă și este mai greu de prelucrat. Pe semințele oleaginoase se pot dezvolta și pot să producă micotoxine diverse mucegaiuri din genul *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. restrictus*, *A. niger* ș.a. Aceste micotoxine se pot acumula în concentrații ridicate și s-a stabilit că în procesul tehnologic, la tratarea hidrotermică a semințelor, aceste toxine nu sunt complet denaturate; ele pot rămâne în proporție de 65% în șrot, după extracție. Procesele tehnologice ulterioare elimină în cea mai mare parte micotoxinele rămase, dar, în experimentări cu adaos de micotoxine, s-a observat că 5% din cantitatea inițială se poate regăsi în ulei.

Uleiul este un produs cu un conținut mic de microorganisme (0-40-cm<sup>3</sup>) care nu au condiții să se dezvolte în ulei datorită absenței apei. S-a constatat că microbiota uleiurilor este formată din bacterii sporulate, spori de mucegaiuri, prin contaminare în contact cu pânze de filtrare sau ambalaj. Deși nu se dezvoltă, aceste microorganisme pot elibera în timpul păstrării uleiului cantități mici de lipaze și, astfel, este inițiată râncezirea hidrolitică a lipidelor.

### 3.9. MICROBIOLOGIA ZAHĂRULUI ȘI A PRODUSELOR ZAHAROASE

#### 3.9.1. Procese microbiologice la cultivarea și păstrarea sfeclii de zahăr

Sfecla de zahăr, materia primă de la fabricarea zahărului, poate fi atacată în timpul cultivării de microorganisme fitopatogene care, prin acțiunea lor asupra aparatului foliar, diminuează procesul de fotosinteză, rezultând rădăcini mai mici, cu un conținut mai mic în zahăr, reducându-se și perioada de păstrare și conservare a calităților tehnice. Microorganismele fitopatogene pot determina:

- viroze (mozaicul dat de *Marmor betae*, caracterizat prin vestejirea frunzelor);
- bacterioze (putregaiul vârfului rădăcinii, cu înmuiere începând de la vârf, provocat de *Bacterium betae*, *Erwinia betivora*);
- micoze (cercosporioza, cu apariția unor pete sferice colorate pe frunze ce determină putrezirea);
- mana sfeclii, produsă de *Perenospora schachtii*;
- făinarea, produsă de *Eurisphe comunis*.

Rădăcinile ce au suferit îmbolnăviri în timpul cultivării sunt primele care se alterează în timpul însilozării.

Fabricarea zahărului este un proces sezonier; de aceea, o parte din sfeclă este însilozată în silozuri de scurtă sau lungă durată. În silozuri, după decoletare, în rădăcinile de sfeclă continuă procesele biochimice. Cel mai important este procesul de respirație prin care se consumă zaharoză și se eliberează energie, apă (0,58 kg apă/ kg zahăr) și dioxid de carbon. În silozul în care nu există o bună aerare, pentru a permite eliminarea apei, apar condiții favorabile dezvoltării microorganismelor ce aderă la suprafața rădăcinii, care, în marea lor majoritate, provin din sol (~ 6-7% din masa sfeclii).

Rădăcina sănătoasă și intactă are un sistem imunitar pasiv și activ. Dintre factorii pasivi mai importantă este structura țesuturilor de natură celulozică, care conferă rezistența mecanică.

Factorii activi se reflectă prin capacitatea rădăcinii de a produce și dirija la locul de infecție substanțe cu efect antimicrobian: acid cafeinic, ferulic, polifenoli. Colina, sub acțiunea colin-dehidrogenazei, se transformă în betaină cu efect toxic. De asemenea, se observă izolarea locului infectat prin formarea unui strat de suberină ca un ecran protector. Dacă rădăcina este ofilită sau a suferit o congelare/decongelare, ea pierde această imunitate activă.

#### 3.9.2. Alterări microbiene ale sfeclii în siloz

În timpul însilozării se pot produce următoarele alterări:

- **putrezirea în siloz**, care este realizată de mucegaiurile *Botrytis*

*tinerea*, *Rhizopus betivora*, specii ale genurilor *Fusarium*, *Pleospora* și *Phoma*. În sfeclă se pot forma cantități mari de acid oxalic, ceea ce determină reducerea pH-ului la 4-4,5. Ca rezultat al activității mucegaiurilor, se reduce cantitatea de zahăr prin consum sau zahărul poate fi invertit, ceea ce produce dificultăți la cristalizare.

- **înmuierea**, care are loc după acțiunea mucegaiurilor ce produc degradarea învelișului celulozic și a substanțelor pectice. Alterarea rădăcinilor poate fi datorată și bacteriilor, care pot sintetiza poliglucide (dextran și levan), din glucidele rezultate prin inversia zaharozei. Dintre acestea fac parte bacteriile din genul *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*. Ele produc terciuirea și înnegrirea sfeclei (în prezența tirozinazei).

Alterarea în siloz este foarte gravă, deoarece prelucrarea rădăcinilor se face greu, are loc o scădere a conținutului în zahăr și se acumulează compuși ce fac dificilă cristalizarea (cu creșterea conținutului de zahăr în melasă).

### 3.9.3. Incidența proceselor microbiologice în etapele tehnologice

Din siloz, sfecla este transportată în fabrică pe cale hidraulică. În timpul transportului are loc o detașare a particulelor de sol și, prin spălare, apa de transport se îmbogățește rapid cu o microbiotă foarte variată. În timpul transportului, din rădăcini difuzează în apă o cantitate de zahăr (0,04-0,1%) și, tot prin procesul de osmoză, rădăcinile pot să absoarbă o cantitate de apă de până la 1,3 %. Astfel, zahărul solubilizat în apă favorizează înmulțirea microorganismelor, iar prin adsorbția apei de către rădăcini se produce o contaminare suplimentară.

În apele de transport sunt întâlnite, frecvent, bacterii sporulate (*Bacillus subtilis* și *Bacillus cereus*), bacterii lactice heterofermentative (*Leuconostoc*, *Enterobacter*) și bacterii coliforme (*Escherichia coli*). Pentru a preveni răspândirea microorganismelor din apa de transport, în caz de recirculare, se recomandă clorinarea acesteia.

Sfecla este dirijată în mașina de spălat și apoi în cea de obținere a tăițelilor. Procesul fiind continuu, aceste utilaje se încarcă cu microorganisme ce beneficiază de substanțe nutritive și se constată că, prin adaptare, acestea au rezistența mai mare la temperatură și la presiune osmotică ridicată comparativ cu aceleași tulpini izolate din natură. La obținerea tăițelilor, microorganismele aflate pe suprafața de contact a utilajului sau în stratul superficial al rădăcinilor, prin intermediul cuțitelor, sunt transferate pe suprafața tăițelilor.

Principalul proces tehnologic este difuzia, care se realizează în difuzoare de mare capacitate, în care tăițeii și apa circulă în contracurent. În prima parte a difuzorului, temperaturile sunt mici (~45°C), cu creșterea la valori de 75...85°C, la ieșirea zemii din difuzor. Aceste temperaturi pot să stimuleze activitatea microbiană în zeama de difuzie și, ocazional, pot avea

loc două tipuri de contaminări.

*Contaminarea mezofilă* are loc în perioada în care în zeama de difuzie temperatura atinge valori de aproximativ 45°C, care favorizează activitatea micro-organismelor mezofile, producându-se importante modificări fizico-chimice și microbiologice. Sub acțiunea microorganismelor mezofile, zaharoza este metabolizată în acizi (lactic, propionic, butiric), cu eliberare de dioxid de carbon și apă. Prin polimerizarea fructozei/glucozei se poate forma levan sau dextran. Contaminarea mezofilă este sesizată prin modificarea de pH sau prin creșterea vâscozității datorată formării poliglucidelor.

Bacteriile cele mai importante care se pot dezvolta în zeamă aparțin speciilor mezofile ale genului *Leuconostoc*; *Leuconostoc mesenteroides* apare sub formă de diplococi sau de lanțuri scurte de coci și în mediu de zaharoza se înconjoară cu o capsulă de dextran, care produce creșterea vâscozității zemii de difuzie; împreună cu *Leuconostoc dextranicum* poate să transforme 2,3 mg zaharoză/h.

Acumularea de dextran în zeamă produce erori de analiză la determinarea zahărului pe cale polarimetrică, zaharoza având un unghi de polarizare  $a_D^{20}$  de +66,5, iar dextranul  $a_D^{20} = +195$ . Prelucrarea ulterioară a zemii este

îngreunată datorită formării dextranului. În contaminarea mezofilă mai pot fi întâlnite bacteriile coliforme (*E coli*, *Enterobacter*), bacterii mezofile sporulate (*Bacillus subtilis*, *B cereus*, *B pumillus*, ce consumă 200 mg zaharoză/h) și drojdii ce consumă 2 g zahăr/h. Pentru prevenirea efectelor negative ale contaminării cu bacterii mezofile se folosesc dezinfectanți în doze șoc (formol, septozol etc.).

*Contaminarea termofilă* este evidentă în intervalul de temperaturi între 45 și 85°C, care stimulează activitatea bacteriilor termofile aerobe (*Bacillus sthearotbermophilus* și *Bacillus coagulans*), facultativ anaerobe (*Lactobacillus thermophyllus*) și anaerobe (*Clostridium nigrificans*, *Cl. thermohydrosulfuricans*, *Cl. thermosaccharolyticum*). Are loc creșterea acidității în zeamă datorită transformării zahărului în acid lactic, crește conținutul în nitriți, care pot rezulta prin oxidarea amoniacului sau prin reducerea nitraților existenți în zeamă. Nitriții se acumulează înainte de acidul lactic; de aceea, detectarea contaminării microbiene se poate face cu benzi de hârtie indicatoare de nitriți. Nitriții sunt nedoriți, deoarece se pot combina cu SO<sub>2</sub>, dând combinații de tipul imidodisulfonatului de potasiu, dar pot să rămână și ca atare, acumulându-se în melasă și reducându-i calitatea.

Sub acțiunea microorganismelor contaminante au loc pierderi nejustificate de zahăr ce pot atinge valori de 0,2-0,4 % fata de sfeclă, iar acidul lactic rezultat determină o coroziune mai rapidă a utilajelor cu care vine în contact zeama acidă.

Urmează operațiile de purificare și concentrare, care determină ca numărul de microorganisme să se reducă foarte mult, astfel încât în zeama concentrată numărul acestora este redus (0-100/g masă groasă) și, în general, pot fi prezente bacterii sporulate termorezistente.



După concentrare urmează centrifugarea și obținerea zahărului brut, care poate fi prelucrat pentru obținerea zahărului rafinat. După concentrarea și cristalizarea zaharozei se poate face contaminarea cristalelor fie la centrifugare, prin contactul cu aerul impurificat, fie prin contact direct al cristalelor cu banda transportoare, ambalajul ș.a.

#### 3.9.4. Microbiologia zahărului brut și rafinat

Zahărul brut are cristalele de culoare gălbuie, înconjurate de un microfilm de melasă cu puritate redusă. Acest microfilm este mai higroscopic decât zaharoza; de aceea, dacă păstrarea are loc în mediu cu umezeală mare, prin absorbția apei se creează condiții de dezvoltare a microorganismelor prezente la suprafața cristalelor, care produc solubilizarea și fermentarea zahărului.

În zahărul brut un rol important îl au drojdiile osmotolerante, invertazopozitive/negative, care sunt incluse în genul *Zygosaccharomyces*, dar care sunt active la presiuni osmotice ridicate și care se diferențiază între ele prin rezistența la plasmoliză. Astfel, există drojdii osmodurice care se mențin în stare viabilă fără să sufere plasmoliză, dar nu produc fermentația în mediu cu concentrate mare de zahăr (*Zygosacch. rose*, drojdii din genurile *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces*). Alte drojdii sunt drojdii osmotolerante propriuzise, care pot produce fermentația mediilor cu concentrație mare de zahăr (46%) și care produc fermentația alcoolică, dar pe lângă alcoolul etilic și CO<sub>2</sub> formează și acid acetic ca produs principal (*Zygosaccharomyces rouxi*, *Z. mellis*).

În zahărul rafinat, numărul de drojdii poate să varieze între 250 și 1·10<sup>5</sup>/g. Zahărul brut, dacă este păstrat în depozit cu 85% umezeală relativă; la temperatura de 25...29°C se compactizează și formează bulgări duri sau se poate lichefia.

În microbiota zahărului mai pot fi întâlnite bacterii din specia *Leuconostoc mesenteroides*, bacterii sporulate din genul *Bacillus* (*B. sthearothermophilus*, *B. filaris*, *B. glutinosus*, *B. petasites*). Din microbiota zahărului brut au mai fost izolate mucegaiuri xerofite ca *Penicillium steckii*, *Penicillium diversum* și *Aspergillus restrictus*.

Zahărul rafinat se obține din zahărul brut prin dizolvare, tratare cu cărbune activ, concentrare și recristalizare. Zahărul rafinat are o puritate de 95-99%, iar încărcătura microbială este mult mai redusă, având valori de 10-10<sup>3</sup>·g<sup>-1</sup>.

#### 3.9.5. Procese microbiologice la fabricarea produselor zaharoase

Produsele zaharoase se obțin într-o gamă variată de sortimente, iar microbiota acestora depinde de cea a materiilor prime și auxiliare utilizate și de factorii extrinseci de producție. Aceste produse sunt conservabile datorită conținutului mare de zahăr. La obținerea unor produse zaharoase se folosesc

siropurile de zahăr sau zahărul invertit. Pentru a se conserva din punct de vedere microbiologic, aceste siropuri trebuie să aibă mai mult de 72° Brix. Dacă concentrația este sub această valoare, în funcție de microbiota zahărului, se pot produce două tipuri de alterări: fermentația alcoólico-acidă, produsă de drojdii osmotolerante, sau, dacă în sirop există un număr mare de celule și concentrația siropului este mai mică de 40 %, are loc o fermentație heterolactică dată de *Leuconostoc mesenteroides*, cu formare de acid lactic, acetic, alcool etilic, dioxid de carbon; se acumulează dextran care face ca siropul să devină filant, vâscos.

**Procese care au loc la fermentarea și păstrarea boabelor de cacao.** Boabele de cacao sunt folosite fie sub formă de pudră, fie ca materie primă pentru extracția untului de cacao utilizat la fabricarea produselor de ciocolată. La recoltare, boabele au o umiditate de 60%, un gust astringent neplăcut și prezintă un mucilagiu la suprafață; calitatea se îmbunătățește printr-un proces de fermentație spontană datorat microorganismelor care se atașează de suprafață în timpul recoltării și transportului. Prin fermentație are loc eliberarea sucului, astfel încât se reduce umiditatea și au loc importante modificări biochimice și microbiologice.

Fermentația spontană a boabelor de cacao este inițiată de unele drojdii, care produc fermentarea surselor hidrocarbonate și asimilarea acizilor organici. Procesul este predominant în primele 2 zile. Drojdiile aparțin genurilor *Saccharomyces* și *Candida*. După fermentarea produsă de drojdii, prin eliberarea factorilor de creștere și prin consum de oxigen sunt create condiții favorabile pentru dezvoltarea bacteriilor lactice heterofermentative ale genului *Lactobacillus*, ce produc acid lactic și produși secundari, precum și a bacteriilor din genul *Enterobacter*. După faza bacteriilor lactice, are loc o a treia etapă, cea a bacteriilor acetice, care au nevoie de un pH acid și de prezența alcoolului etilic pe care îl oxidează la acid acetic. Are loc creșterea temperaturii la 40...45°C, ceea ce influențează și activitatea enzimatică a bobului.

În fermentația acetică, după 3-5 zile de la pornirea fermentației boabelor, ca rezultat al activității heterogene a bacteriilor cu activitatea proteazică (*Enterobacter*, *Escherichia*), are loc o creștere a pH-ului. Fermentația boabelor de cacao este un proces complex ca rezultat al relațiilor de comensalism stabilite în mod natural între grupele de microorganisme întâlnite la suprafața boabelor. După fermentație, prin care se obține macerarea pulpei, distrugerea embrionului și formarea substanțelor de aromă, se continuă uscarea până la umiditate de 6-10%. În timpul uscării există posibilitatea de înmulțire a mucegaiurilor din genurile *Geotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* și a drojdiei *Candida krusei*, care se poate dezvolta și în interiorul bobului, dând pete albe considerate ca defect la aprecierea calității boabelor. Boabele de cacao prezintă la suprafață o microbiotă foarte bogată, dar cele mai periculoase sunt mucegaiurile ce pot produce toxine și imprimă boabelor un gust de mucegăit, care nu se elimină la prăjire, și determină pierderea aromei. La prăjire are loc reducerea numărului de

microorganismele de la  $10^7$  la  $10^3 \cdot g^{-1}$ .

**Aspecte microbiologice la fabricarea ciocolatei.** Ca materii prime se folosesc praful de cacao, zahărul, untul de cacao ș.a.

O operație importantă este conșarea, respectiv amestecarea untului de cacao cu diferite ingrediente, operație ce durează 12-24 de ore, la temperaturi de 45...70°C. La conșare nu se constată o creștere a numărului de microorganisme. La păstrarea ciocolatei, mai ales când apar diferențe mari de temperatură, poate apărea apă de condens între ambalaj și produs și este posibilă mucegăirea datorată lui *Penicillium simplex* (sin. *Catenulaha fulginea*), ce produce o modificare a aspectului și o decolorare a ciocolatei (aspect de praf). Poate să mai apară ca defect: explozia ciocolatei datorată lui *Clostridium sporogens*, ce formează prin fermentare dioxid de carbon și H<sub>2</sub>. Se produce spargerea și formarea de cavități în masa de ciocolată.

La bomboanele fondante, la fructele glasate și la bomboanele cu marțipan poate avea loc o fermentație dată de drojii și se observă spargerea glazurii și formarea unui miez poros (la fondante).

### 3.10. MICROBIOLOGIA FRUCTELOR

Microbiota fructelor este heterogenă și variază cantitativ în funcție de soi, dimensiuni, structură anatomică, grad de coacere și condiții de recoltare, transport și conservare. Fructele se consumă în stare proaspătă; de aceea, ele pot fi vehiculante ale unor microorganisme facultativ patogene, astfel încât, din punct de vedere microbiologic, este important ca înainte de consum să se facă spălarea lor cu apă potabilă. În cazul epidemiilor se recomandă dezinfectarea pentru distrugerea patogenilor și apoi clătirea cu apă potabilă.

În microbiota fructelor apar accidental (mai ales la fructele care se află în apropiere de sol, când contaminarea lor este posibilă prin ape de irigare sau prin ape fecalo-menajere) microorganisme patogene și facultativ patogene: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, bacterii care produc îmbolnăviri sau toxinfecții alimentare.

Alt grup este cel al microorganismelor fitopatogene, care dau îmbolnăviri ale plantelor fructifere. De exemplu, micromicetele *Phytophthora* produc mumificarea fructelor. Unele microorganisme fitopatogene se localizează în interiorul fructului, în căsuța seminală, fructul în exterior având aspect normal, dar la depozitare, când mucegaiurile devin active, se produce putrezirea amară de la interior la exterior (*Diplodia*, *Gloeosporium*, *Fusarium*).

Se pot dezvolta pe fructe mucegaiuri comune, organotrofe, care produc micotoxine (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichothecium*).

Fructele, prin structură și compoziție, prezintă o imunitate atunci când sunt intacte, care se manifestă prin factori activi (formarea la locul de infecție a compușilor fenolici) și factori pasivi (prezența unor acizi ca acidul malic, citric, tartric, ce dau pH acid). Fructele de pădure conțin acid salicilic și benzoic, cu efect antimicrobian. Alți factori pasivi sunt reprezentați de

învelișul protector de natură celulozică și de stratul ceros, care nu permite atașarea în număr mare a microorganismelor.

Fructele sunt bogate în substanțe energetice, conțin proteine, lipide, puține vitamine din grupa B care reprezintă factori de creștere mai ales pentru bacterii. Clorofila în concentrate de 12 mg/kg are efect antimicrobian.

### 3.10.1. Microorganisme agenți de alterare a fructelor

Dintre microorganismele care produc alterări ale fructelor fac parte: bacterii, drojdii, mucegaiuri.

**Bacteriile** au un rol minor în alterarea fructelor, deoarece nu pot acționa asupra fructului intact sau nu au condiții de dezvoltare la pH acid. Atunci când fructele sunt zdrobite se pot dezvolta, ocazional, bacterii acidotolerante (lactice) și bacterii acetice, în asociație cu drojdii, de la care folosesc factorii de creștere sau produsele de catabolism.

**Drojdii** sunt foarte răspândite în microbiota epifită a fructelor și produc alterări când vin în contact cu sucul dulce. Activitatea lor se manifestă în fermentarea alcoolică și la înmuierea datorată enzimelor pectolitice. Drojdiile din genul *Rhodotorula* și *Sporobolomyces* se caracterizează prin formarea unor pigmenti roșii; speciile genurilor *Candida*, *Hansenula*, *Kloeckera* și *Torulopsis*, în asociație cu specii de *Saccharomyces* și *Schizosaccharomyces bailii*, folosesc ca sursă de carbon acidul malic, care le permite dezvoltarea pe fructe acide.

**Mucegaiurile** sunt cele mai active și mai periculoase deoarece posedă un echipament enzimatic complex, în care intră celuloze și pectinaze, astfel încât în timpul păstrării fructelor, când are loc scăderea protecției imunitare, acestea se dezvoltă și produc mucegăirea externă/internă și, în final, duc la putrezirea umedă sau uscată, respectiv la deprecierea fructelor. Dintre genurile des întâlnite fac parte:

- *Alternaria*, care produce alterarea fructelor dulci și putrezirea brună (pepene galben, pere, citrice);

- *Aspergillus*, care se dezvoltă pe fructe foarte dulci cu umiditate scăzută (alune, nuci); *A. flavus* prin creștere pe alune produce aflatoxine;

- *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis tinerea*), care dă putrezirea umedă cenușie a fructelor dulci (struguri, căpșune, cireșe);

- *Byssochlamis fulva*, *Byssochlamis nivea*, care se dezvoltă pe fructe și produc alterarea conservelor, deoarece ascosporii sunt rezistenți la temperaturi de pasteurizare;

- *Cladosporium*, care produce mucegăirea pepenilor formând pete de culoare brun-negru și putrezirea uscată a fructelor;

- *Diplodia*, care dă putrezirea în copac a sămburoaselor, producând pagube prin reducerea producției;

- *Gloeosporium*, care dă mucegăirea internă a merelor (sp. *Gloeosporium perenans* și *Gloeosporium fructigenum* dau gust amar);

- *Fusarium oxysporium*, *Fusarium roseum*, care dau un gust amar și

putrezirea uscată;

- *Mucor*, *Rhizopus*, care dau putrezirea acidă și umedă, se dezvoltă pe fructe cu umiditatea mare chiar și la temperaturi de refrigerare;

- *Penicillium*. Speciile acestui gen dau putrezirea verde umedă, sunt foarte răspândite și se dezvoltă pe cireșe, caise, vișine, citrice, mere, pere. *P. expansum* produce micotoxinele patulină și citrinină; *Penicillium digitatum*, de culoare verde-oliv, se dezvoltă frecvent pe citrice, produce enzime pectolitice și duce la înmuierea fructelor, dând un gust amar puternic; *P. italicum* produce pe portocale mucegăirea verde;

- *Sclerotinia (Monillia)*, care produce o mucegăire pe întreaga suprafață a fructelor, formând un fetru de culoare albă pe care la maturitate apar scleroți de culoare neagră;

- *Trichothecium roseum*, care apare pe smochine, fructe dulci puțin acide și produce mucegăirea uscată și alterarea fructelor.

Pe fructe păstrate în stare uscată se pot întâlni drojdii osmotolerante ca *Zygosaccharomyces* și *Hanseniaspora valbyensis*, care se dezvoltă la o umiditate mai mare de 22%; dintre mucegaiuri, se dezvoltă *Aspergillus restrictus* (gr. glaucus), *Penicillium* sp.

În cazul păstrării fructelor în stare congelată, nu are loc distrugerea microorganismelor aflate pe suprafața și, în funcție de condiții, se poate produce o inactivare parțială a enzimelor și a microorganismelor. Din microbiota acestora s-au izolat peste 100 specii de drojdii, spori de mucegaiuri sau bacterii din genul *Pseudomonas* și din genul *Bacillus*.

### 3.11. MICROBIOLOGIA SUCURILOR ȘI A BĂUTURILOR RĂCORITOARE

Sucurile de fructe se conservă prin pasteurizare. Ocazional, alterarea este dată de drojdii care, prin fermentație și acumulare de CO<sub>2</sub>, produc spargerea și bombajul recipientelor. Se întâlnesc și alterări cu bacterii lactice din genurile *Lactobacillus* și *Leuconostoc*; mucegăirea este posibilă dacă există gol de aer și este produsă de speciile genurilor *Phyalophora* și *Byssochlamys*, cu spori termorezistenți.

Sucurile se folosesc și la obținerea băuturilor răcoritoare nealcoolice, care se conservă ca urmare a unui pH scăzut și a concentrației de dioxid de carbon. Alterările sunt date de drojdii și bacterii, care pot proveni din zahăr sau din microbiota sucurilor. Ca rezultat al activității lor se produce un gust acru, neplăcut, precum și formarea de dextran, care, în concentrație de 0,5 - 1%, dă o băutură filantă cu consistența albușului de ou. În cazul alterării cu drojdii, în afară de pierderea gustului dulce, atunci când fermentația este dată de drojdii osmotolerante, se simte un gust acru, ca rezultat al formării acidului acetic, și un gust străin, datorat formării de diacetil care, în combinație cu gustul acru, dă o aromă neplăcută.

### 3.12. MICROBIOLOGIA LEGUMELOR

Legumele au o microbiotă foarte bogată deoarece, în funcție de natura lor, vin în contact cu solul și pot avea peste  $10^7$  UFC·g<sup>-1</sup>. Pe foi de varză,

În zona centrală, se pot găsi bacterii lactice în concentrații de aproximativ  $10^3$ ·cm<sup>-2</sup>. La extragerea rădăcinoaselor (morcovi, pătrunjel) are loc ruperea perilor radiculari și eliberarea sucului intracelular. Aceste zone sunt ușor accesibile pentru dezvoltarea microorganismelor.

Legumele au o compoziție valoroasă și posedă sisteme de protecție fata de atacul microbial. Unele legume conțin substanțe fitoncide (usturoiul, ceapa, hreanul). În cazul irigației cu ape necorespunzătoare din punct de vedere igienic, prin legume se transmit microorganisme patogene și facultativ patogene: *Esherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*. Dintre bacteriile agenți ai toxiiinfecțiilor alimentare, pe legume se pot întâlni *Bacillus cereus* (pe frunze) și *Bacillus thuringiensis* ce poate fi folosit în calitate de insecticid biologic, care rezistă pe suprafața plantelor și, în cantitate mare, are efect toxic. Cu legume contaminate mai pot fi vehiculate și *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter (Vibrio parahemolyticus)*, *Listeria*, *virusul hepatic*.

În timpul păstrării, legumele sunt mai puțin protejate comparativ cu fructele, deoarece au un pH apropiat de neutru.

#### 3.12.1. Alterări microbiene ale legumelor

Putrezirea legumelor poate fi cauzată de bacterii și mucegaiuri, în timp ce drojdiile au un rol minor.

Bacteriile din sol și apă (*Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris*) care produc enzime pectolitice, determină înmuierea țesuturilor vegetale. Cartofii sunt alterați de bacterii din genul *Pseudomonas*, care se pot dezvolta pătrunzând prin leziuni ale cojii; *Corynebacterium sepedonicum* produce degradarea sub coajă a rădăcinoaselor se conțin amidon. Bacteriile filamentoase din genul *Actinomyces* hidrolizează celuloza și amidonul. Alterarea bacteriană se produce atunci când bacteriile au acces direct la substanțele nutritive și legumele au umiditate mare; în alte condiții alterarea predominant este de natură fungică.

Mucegaiurile sunt agenții cei mai periculoși la păstrarea legumelor, având condiții bune de dezvoltare. Ei sunt agenți ai putrezirii albe, negre și cenușii. Dintre mucegaiurile întâlnite frecvent fac parte:

- *Sclerotinia sclerotiorum*, care produce putrezirea albă la morcovi, țelină, napi. Acestea se acoperă cu un fetru alb în care apar scleroți alungiți cu ascospori și dau înmuierea țesuturilor;

- *Rhizoctonia*, care dă putrezirea brună caracterizată prin apariția unor pete de culoare brun-negru la morcovi, sparanghel, varză, țelină. La început apare un miceliu violet, apoi degradarea are loc în profunzimea țesutului;

- *Alternaria*, care produce putrezirea neagră și umedă. *A. radicina*, *A.*

*bra-sicae* produc înnegrirea frunzelor la varză și la tomate;

- *Colletotrichum*, care produce pătarea cu necrozarea țesuturilor la păstăi, ceapă, dezvoltând scleroți de culoare neagră de-a lungul fibrelor;

- *Didimella lycopersici*, care produce putrezirea tomatelor. În exterior sunt vizibile pete mici, iar în interior țesutul este întărit și are o culoare închisă pe o zonă extinsă;

- *Botrytis cinerea*, care produce putrezirea cenușie a frunzelor de varză; la ceapă același defect este produs de *Botrytis allii*;

- *Phoma*, care dă putrezirea neagră la tomate, morcovi, țelină (*Ph. destructiva*, *Ph. rostupii*);

- *Phytophthora infestans*, care produce mana la cartofi; cartoful prezintă în secțiune un țesut de culoare negru închis;

- *Peronospora*, care dă putrezirea uscată la diferite legume;

- *Rhizopus* și *Mucor*, care dau mucegăirea tomatelor coapte și putrezirea umedă.

### 3.12.2. Procese microbiologice la murare

Numeroase legume, ca varza, castraveții, gogonelele se pot păstra prin murare. La murarea verzei, aceasta se imersează în soluție de saramură, care determină o plasmoliză a foilor de varză și eliberarea sucului celular. Prin creșterea valorii nutritive a zemii apar condiții favorabile pentru fermentații acide.

Murarea are loc în trei etape.

În primele zile sunt active numeroase microorganisme aerobe ce consumă oxigenul dizolvat. Dintre acestea, specii de *Pseudomonas* și *Flavobacterium rhenanum* produc colorarea zemii în gălbui. Sub acțiunea microbiotei heterogene se formează diferiți acizi, care contribuie la formarea gustului și aromei.

În a doua fază se dezvoltă bacterii din genul *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*, bacterii facultativ anaerobe, care produc fermentarea zahărului cu formare de acid lactic, puțin acid acetic, alcool etilic și dioxid de carbon; la acumularea de 1% acid lactic dezvoltarea lui *Leuconostoc* este inhibată.

Ultima fază are rolul cel mai important, deoarece are loc fermentația homolactică produsă de *Lactobacillus plantarum*, rezistent la concentrații mari de sare, cu acumularea de acid lactic. Fermentația lactică continuă până la acumularea de 2,5-3% acid lactic. Asociat cu *Lactobacillus plantarum* se dezvoltă și *Bacterium acetilcholini*, care produce acetilcolina cu efect hipotensiv.

Ca rezultat al activității microbiene, zeama are și valoare terapeutică, fiind o sursă de vitamine produse de bacteriile lactice. Faza poate dura 3-6 săptămâni și, spre sfârșit, ocazional, pot fi întâlnite bacterii heterolactice din genul *Lactobacillus brevis* care fermentează pentoze, ducând la acumularea de produși de gust și de aromă. Conservarea are loc datorită acidului lactic și

a epuizării substanțelor nutritive.

Alterarea legumelor murate se poate datora unor microorganisme acido-tolerante, care pot consuma acidul lactic, de exemplu drojdii acidotolerante ca cele din genul *Candida* și *Geotrichum candidum*. În acest caz, aciditatea scade treptat, este favorizată dezvoltarea bacteriilor de putrefacție și se produce alterarea zemii.

### 3.12.3. Microbiologia conservelor

Prin regimul de pasteurizare se impune distrugerea microorganismelor patogene, care se pot transmite prin produsul respectiv, și formele vegetative ale altor microorganisme contaminante. Nu sunt distruși endosporii bacterieni.

Sterilizarea se realizează la temperaturi mai mari de 100°C, iar regimul de sterilizare este astfel stabilit încât să fie distruse bacteriile sporulate toxicogene. Ca indicator este folosit *Clostridium botulinum*, bacterie toxicogenă periculoasă, care pentru a fi inactivată necesită un timp de menținere, la 120°C, de 4-10 min. În urma șocului termic, bacteriile sunt inactivate, deoarece energia calorică acționează în puncte asupra structurii acizilor nucleici, dând transformări ireversibile, prin coagularea proteinelor din citoplasmă și învelișul celular. Dacă șocul este subletal, se constată că formele sporulate germinează mai greu, iar bacteriile termofile pot să se dezvolte bine și la temperaturi inferioare temperaturii lor optime.

Regimul termic nu trebuie să influențeze negativ calitatea produsului; de aceea, în funcție de încărcarea microbială inițială a produsului, poate să rămână o microbiotă remanentă, în stare inactivă în condiții normale de timp și temperatură.

**Alterarea conservelor** este dependentă de compoziția produsului și valoarea de pH care condiționează dezvoltarea specifică a microorganismelor.

**Conservele cu pH > 4,5 (5,3 -7)** suferă alterarea plat-acidă dată de *Bacillus stearothermophilus* și alterări cu bombaj datorate bacteriilor aerobe (*Bacillus polymixa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*) și bacteriilor anaerobe (*Clostridium ther-mosaccharolyticum*, *Clostridium sporogenes*). În conserve cu aciditate redusă este posibilă și dezvoltarea bacteriilor producătoare de toxine: *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*.

**Conservele acide (pH < 4,5)** suferă alterare plat-acidă cu *Bacillus coagu-lans* și alterare cu bombaj cu *Clostridium pasteurianum* și *Clostridium nigrificans*.

Pe plan mondial, există multe preocupări pentru standardizarea metodelor microbiologice, pentru asigurarea circuitului de produse alimentare la nivel internațional. Un accent mare se pune pe determinarea indicatorilor igienico-sanitari. Pentru produsele alimentare ușor alterabile există standarde și norme microbiologice.



## CAPITOLUL IV

### MICROBIOLOGIA PREVIZIONALĂ

**Microbiologia previzională** este un domeniu al microbiologiei produselor alimentare în care răspunsurile microorganismelor la acțiunea controlată a factorilor de mediu sunt exprimate sub formă de modele matematice, pe baza cărora se pot elabora previziuni cu privire la răspunsul microorganismelor în condiții ce nu au fost testate practic. Elaborarea previziunilor microbiologice reprezintă o nouă modalitate de stabilire a calității și siguranței alimentelor, care, spre deosebire de analiza microbiologică clasică, are avantajul rapidității de obținere a unui răspuns cu cheltuieli mai mici.

Deși microbiologia previzională este considerată un domeniu nou, microbiologia produselor alimentare a constituit din totdeauna o disciplină în care modelarea matematică și-a găsit numeroase aplicații (calculul rezistenței termice a microorganismelor, determinarea duratei tratamentelor termice ș.a.).

În ultimii ani, creșterea interesului pentru microbiologia previzională se datorează:

a) *preferinței consumatorilor pentru produse alimentare proaspete sau minim prelucrate*, ceea ce a condus la crearea unei noi tehnologii de conservare a produselor alimentare, tehnologia obstacolelor, pentru aplicarea căreia este nevoie să se creeze modele matematice capabile să simuleze numeroasele interacțiuni ce e pot stabili între diverșii factori care asigură integritatea microbiologică a produselor;

b) *necesității de a stabili limitele critice în punctele cheie ale prelucrării sau manipulării alimentelor*, ceea ce constituie una din etapele analizei hazard (HACCP);

c) *anvergurii procesului de creare de produse noi și dorinței de a beneficia de informații cu privire la încărcarea microbiană dintr-un cât mai mare număr de alimente sau ingrediente alimentare prezente în comerțul internațional*, ceea ce ar ușura luarea de decizii la stabilirea gradului de securitate a alimentelor;

d) *dezvoltării tehnicii de calcul*, care a permis prezența calculatoarelor personale pe masa de lucru a numeroși oameni de știință și utilizare de programe care au stimulat dezvoltarea aplicațiilor matematice în microbiologie.

#### 4.1 ETAPELE MODELĂRII CREȘTERII MICROBIENE

##### **Identificarea parametrilor care limitează conservarea produsului**

Deoarece modelele microbiologice sunt utilizate pentru a determina data limită până la care produsul își va păstra caracteristicile senzoriale și va

fi sigur pentru consum, trebuie să se stabilească ce microorganisme limitează durata de păstrare a produsului și care sunt limitele pe care acestea nu trebuie să le depășească. Parametrii limitanți vor fi identificați pe baza normativelor microbiologice ale produselor alimentare și pe baza informațiilor furnizate de întreprinderi cu privire la cauzele retururilor.

**Delimitarea câmpului experimental** Această etapă cuprinde următoarele acțiuni:

- selectarea factorilor ce vor fi luați în considerare (temperatură,  $a_w$ , pH, inhibitori, atmosferă);
- determinarea pentru fiecare factor a intervalului de valori ce permite multiplicarea microorganismelor;
- delimitarea limitelor de variație a factorilor în produsul alimentar luat în considerare.

**Planificarea experimentelor.** În această etapă se va stabili, pentru fiecare factor, atât numărul de niveluri ce urmează a fi testate cât și distribuția acestor niveluri (progresie aritmetică sau geometrică) și se vor alege combinațiile de factori (planuri experimentale) adecvate fiecărui produs.

**Culegerea de date.** După stabilirea mediului de cultură pe care vor fi variați factorii luați în considerare, a tipului de inocul folosit și a concentrației acestuia și după alegerea metodei de numărare a microorganismelor, se realizează experimentele ce vor furniza datele necesare creării modelelor. Datele obținute vor fi introduse într-o bază de date. În baza de date mai pot fi incluse date provenind din experimentele realizate în laboratoarele universităților, ale diferitelor asociații de cercetare a produselor alimentare sau din laboratoarele fabricanților de produse alimentare.

**Modelarea propriu-zisă.** Aceasta presupune construirea unui model care să stabilească o legătură între condițiile experimentale și creșterea microbială, pornind de la rezultatele obținute experimental, astfel încât pe baza lui să se poată realiza previziunile microbiologice. Modelul trebuie definit de un număr limitat de parametri,  $X$  (perioada de latentă),  $\mu$  (viteza de creștere) și  $A$  (numărul maxim de indivizi dintr-o populație microbială) fiind cei preferați.

**Validarea modelului.** Se realizează în două etape:

- validarea matematică, în care se verifică dacă diferențele dintre valorile teoretice prevăzute de model și cele obținute în condițiile ce au servit la realizarea modelului nu sunt exagerate;
- validarea în produse, în care se verifică dacă diferențele dintre valorile teoretice prevăzute de model și cele reale, obținute pe produsul fabricat industrial și contaminat natural, nu sunt prea mari.

**Previziunea.** Modelele validate sunt introduse într-o bază de date, prin intermediul căreia modelele sunt puse la dispoziția diferitelor categorii de utilizatori. Acestea pot fi utilizate pentru elaborarea previziunilor microbiologice, cu condiția ca variația factorilor să se situeze în limitele pentru care s-a făcut validarea. Un model creat pentru un anumit tip de

produs va putea servi la elaborarea de previziuni microbiologice numai pentru produse de același tip.

#### 4.1.1. Clasificarea modelelor

Modelele matematice folosite de microbiologia previzională se pot clasifica în funcție de evenimentul microbiologic studiat, de ipoteza folosită în conceperea modelului și de numărul sau de tipul variabilelor conținute.

Dacă se ia în considerare tipul evenimentului microbiologic pe care modelele îl descriu, acestea pot fi modele de creștere microbian și modele de inactivare microbian.

Din punct de vedere al conceptului folosit la crearea modelelor, acestea pot fi modele probabilistice și modele cinetice.

*Modelele probabilistice* se bazează pe ipoteza că probabilitatea multiplică unei celule microbiene într-un anumit mediu este dependentă de proprietățile fizico-chimice ale mediului. Aceste modele caută să identifice combinații de „obstacole” capabile să reducă la un nivel acceptabil șansa ca un microorganism de interes să se dezvolte într-un anumit aliment. Modelele de acest tip sunt utilizate pentru a estima probabilitatea ca patogenii să germineze, să crească, să se multiplice sau să producă toxine într-un anumit produs.

*Modelele cinetice* se sprijină pe ipoteza că multe din alimentele perisabile reprezintă un mediu propice dezvoltării microorganismelor și că multiplicarea bacteriilor într-un astfel de mediu seamănă cu o cultivare statică. În această ipoteză, nutrienții nu vor limita creșterea până la producerea alterării sau până când limita de contaminare admisă nu va fi depășită, iar factori ca temperatura, pH-ul,  $a_w$ , compoziția atmosferei, conservanții vor dicta viteza și gradul de proliferare al microorganismelor. Astfel, cunoașterea în detaliu a modului în care creșterea microbian este influențată de factorii de mediu stă la baza previziunilor de proliferare a microorganismelor în alimente în timpul prelucrării, transportului și depozitării, în cazul monitorizării condițiilor de mediu în care sunt plasate alimentele în timpul acestor operații. Modelele sunt realizate pe baza creșterii numărului de indivizi ai unei populații microbiene sau pe baza creșterii cantității de biomasă formate de aceasta, pentru o combinație de factori de interes, pentru a elabora previziuni cu privire la durata fazei de lag, viteza de creștere a microorganismelor și densitatea maximă a populației formate. Recent, a fost propusă o clasificare suplimentară a modelelor în: primare, secundare și terțiare.

*Modelele primare* sunt expresii matematice ale curbilor de creștere sau de supraviețuire a microorganismelor, acestea descriind răspunsul în timp al unui microorganism la un set specific de condiții.

*Modelele secundare* descriu impactul variabilelor culturii și ale mediului asupra creșterii microorganismelor sau asupra caracteristicilor de supraviețuire a acestora.

**Modelele terțiare** sunt utilizate pentru incorporarea modelelor primare, secundare sau a unei combinații a acestora, în programe de aplicații și sisteme-expert.

#### 4.1.2. Aplicațiile microbiologiei previzionale

**Formularea produselor alimentare.** Modelarea permite să se determine dacă o anumită rețetă conferă unui produs alimentar o rezistență intrinsecă la acțiunea microorganismelor sau dacă este necesară modificarea ei; dacă este necesară o reformulare a unui produs, mai multe variante pot fi evaluate comparativ cu rețeta inițială, cu mai puține cheltuieli. Utilizarea previziunilor microbiologice în acest caz permite eliminarea problemelor potențiale încă înainte de începerea fabricării unui produs.

**Proiectarea de lanțuri de fabricare, conservare și distribuie.**

Proiectele pot fi supuse evaluării modelistice înainte de a fi realizate practic.

**Conceperea de tehnologii noi.** Aceste tehnologii minimizează riscurile microbiologice pe căi mai rafinate decât un tratament termic brutal sau adăugarea unui conservant într-o doză masivă. În această situație, previziunea microbiologică constituie o unealtă prețioasă, care permite apropierea de idealul creării de produse, unde calitatea și securitatea produsului este garantată de modul în care este conceput.

**Determinarea duratei limită de consum (DLC).** Modelarea permite determinarea unei DLC rezonabile sau obținerea unei anumite DLC prin modificarea rețetei sau procesului tehnologic. De asemenea, previziunea microbiologică poate ajuta la stabilirea modului de utilizare a produsului de către consumatori.

**Punerea în aplicare a metodei HACCP** Previziunea microbiologică intervine în trei din etapele analizei hazard.

În etapa de analiză a fazelor procesului de fabricate și localizarea punctelor critice, care necesită colectarea de date tehnice privind comportamentul microorganismelor într-o mare varietate de condiții, previziunea microbiologică evaluează posibilitatea supraviețuirii microorganismelor patogene, a ieșirii acestora din starea de latentă și a multiplicării lor în anumite condiții sau într-un anumit punct al procesului.

La alegerea criteriilor ce trebuie aplicate în punctele critice și stabilirea limitelor de toleranță ce li se atribuie, previziunea microbiologică permite înlocuirea criteriilor microbiologice, care necesită o durată mare de răspuns, cu criterii fizico-chimice măsurabile pe flux, datorită relației pe care modelele o stabilesc între aceste două tipuri de criterii. Această substituție permite determinarea în avans a acțiunilor corective ce trebuie aplicate în cazul unui accident tehnologic.

În etapa de verificare și documentare, modelarea dă posibilitatea să se dovedească unui inspector că un anumit tratament aplicat la fabricarea unui produs este suficient pentru a garanta securitatea produsului.

**Formarea cadrelor de specialiști.** Utilizarea modelelor microbiologice în procesul de instruire a tehnologilor le dezvoltă acestora capacitatea de înțelegere a efectelor caracteristicilor produselor și a procedeelelor de fabricate asupra microorganismelor, ceea ce facilitează luarea de decizii.

**Realizarea reglementărilor de către organismele abilitate.** Previziunile microbiologice oferă un fundament științific reglementărilor ce vizează siguranța produselor alimentare.

#### 4.1.3. Baze de modele

În prezent sunt accesibile două baze de date: **Pathogen Modeling Program** și **Food Micromodel**

Baza **Pathogen Modeling Program** a fost realizată de Grupul pentru Securitate Alimentară al Departamentului pentru Agricultural al Statelor Unite (USDA), de la Eastern Regional Research Centre din Philadelphia. Ea include modele privind efectul temperaturii, pH-ului,  $a_w$ -ului, concentrației de nitriți și compoziției atmosferei asupra creșterii următoarelor microorganisme: *Listeria mono-cytogenes*, *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* 0157 și *Yersinia enterocolitica*. Cu acest sistem se pot genera curbe care estimează creșterea microorganismelor selectate în condiții determinate de: temperatură, pH, concentrație de NaCl, concentrație de nitriți, atât în aerobioză, cât și în anaerobioză. Sistemul poate estima durata perioadei de latentă, timpul de generație și timpul necesar pentru ca o populație microbială să atingă o anumită densitate. Programul este distribuit gratuit pe dischete.

Baza **Food Micromodel** este rezultatul programului coordonat de Ministerul Agriculturii, Pescuitului și Alimentației (MAFF) din Marea Britanie. Acest sistem, la care se poate accede prin intermediul dischetelor, dar pentru care se plătește o taxă anuală, a beneficiat deja de o validare largă. Microorganismele de interes pentru care au fost create modelele din această bază de date și domeniile în care variază factorii luați în considerare sunt prezentate în tabelul 3.

La Wageningen, în Olanda, este în curs de elaborare o bază de modele, iar alte baze de date existente, ca cea a societății UNILEVER, sunt private.

În ce privește utilizarea bazelor de modele, specialiștii sunt unanim de acord că ele trebuie utilizate ca sisteme de ajutor în luarea deciziilor, și nu ca oracole. Se speră ca previziunile elaborate pe baza modelelor, cu privire la determinarea duratei de conservare a produselor alimentare, a securității și calității acestora, să se dezvolte pe măsură ce bazele de modele vor deveni mai accesibile și validarea modelelor se va face pentru un număr mai mare de alimente, în cadrul colaborărilor internaționale.

**Tabelul 3 Microorganismele pentru care s-au elaborat modelele din baza Food Micromodel și domeniile lor de operare**

Microorganismul	Domeniile de operare a modelelor					
	Temperatura, °C	pH	$a_w$	NaCl, %	Nitrit de sodiu, ppm	Glicerol, %
<i>Bacillus cereus</i>	5...30	5,4-7,2	0,95-1	0,5-6,5	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	10...34	4,8-7,0	0,90-1	-	-	0-28
<i>Campylobacter jejuni</i>	5...42	4,5-8,5	-	0,5-4,5	-	-
<i>Clostridium botulinum</i>	5...30	5,0-7,0	-	0-5	-	-
<i>Escherichia coli</i>	10...30	4,5-7,0	-	0,5-6,5	-	-
<i>Listeria</i>	3...30	4,6-7,4	0,5-0,8	-	0-200	-
<i>Salmonella sp.</i>	10...30	4,0-6,8	-	0,5-4,5	0-200	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	10...30	4,5-7,0	-	0,5-13,5	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0...30	4,5-7,0	-	0-8,0	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2...30	4 -7,5	-	0-7,0	-	-

## Teste de autoevaluare

1. Valoarea alimentară este data de:
  - a) valoarea nutritivă, valoarea senzorială și gradul de inocuitate
  - b) valoarea energetică
  - c) valoarea de piață
  - d) valoarea biologică
  
2. Microbiota alimentelor se diferențiază în:
  - a) microbiota specifică
  - b) microbiota nespecifică
  - c) microbiota de fermentație
  - d) microbiota de alterare
  
3. Microorganismele contaminante pot fi grupate în funcție de proprietățile lor fiziologice și acțiunea lor asupra alimentelor în următoarele categorii:
  - a) organotrofe
  - b) patogene/facultativ patogene
  - c) strict patogene
  - d) organotrofe/facultative organotrofe
  
4. Contaminarea produselor alimentare de origine animală se produce din surse:
  - a) interne
  - b) externe
  - c) calorică
  - d) financiară
  
5. Microorganismele din surse interne ce se pot transmite prin lapte pot fi:
  - a) microorganismele patogene
  - b) microorganismele nepatogene
  
6. Din categoria microorganismelor patogene fac parte bacteriile:
  - a) genul *Mycobacterium*, genul *Brucella*, genul *Streptococcus* genul *Staphylococcus*
  - b) genul *Lactobacillus*, genul *Streptococcus*
  - c) genul *Sacharomyces*, genul *Candida*
  - d) genul *Acetobacter*, genul *Leuconostoc*
  
7. Contaminarea externă a laptelui are loc prin:
  - a) contact cu vasele, aparatele de muls, aerul sau în timpul transportului
  - b) prin intermediul apei, al părului și pielii
  
8. Microbiota laptelui este alcătuită din următoarele grupe de microorganisme:
  - a) bacterii lactice, propionice, coliforme, de putrefacție, butirice, peptonizante
  - b) drojdii
  - c) mucegaiuri
  - d) bacterii, drojdii, mucegaiuri și alge

9. În laptele pasteurizat sunt prezente:
- bacterii coliforme ( $3 \text{ coli/cm}^3$ )
  - bacterii patogene
  - enzime termostabile
  - drojdii și mucegaiuri
10. Defectele de natură microbiană ale laptelui și laptelui pasteurizat pot fi:
- acidifierea și coagularea
  - băloșirea
  - proteoliza și lipoliza
  - gust amar și de caramel
11. Produsele lactate acide se obțin utilizând:
- culturi de bacterii lactice selecționate (monoculture sau culture mixte)
  - culturi de bacterii acetice
  - culture de mucegaiuri
  - culture de drojdii
12. La fabricarea brânzeturilor se utilizează culture selecționate din următoarele microorganisme:
- bacterii lactice, bacterii propionice, bacterii alcalinizante, sau culturi mixte
  - bacterii lactice, bacterii acetice
  - bacterii lactice, bacterii de putrefacție
  - bacterii lactice, mucegaiuri din genul *Aspergillus*
13. Balonarea timpurie a brânzeturilor este dată de prezența în număr mare a:
- bacteriilor coliforme
  - bacteriilor acetice
  - bacteriilor lactice
  - bacteriilor peptonizante
14. Balonarea târzie a brânzeturilor apare după 20 – 60 zile în timpul maturării și este dată de:
- bacterii butirice (*Clostridium Butyricum* și *Clostridium tyrobutyricum*)
  - bacterii lactice
  - bacterii coliforme
  - bacterii acetice
15. Alterările microbiene ale cărnii sunt dependente de:
- natura și de concentrația de
  - tipul de .....
  - umezeala relativă din .....
  - temperatura de .....
16. Alterarea superficială prin păstrarea cărnii la temperaturi de  $0...10^{\circ}\text{C}$  se produce ....., deoarece temperaturile scăzute scad viteza de metabolism a .....



17. Mucegăirea cărnii apare vizibilă după ..... săptămâni de păstrare, atunci când  $a_w$ -ul este suficient de scăzut pentru a nu permite creșterea .....

18. Pe lângă alterarea de ....., în etapa finală se poate produce o alterare de ....., mai frecvent în partea posterioară a carcaselor, unde răcirea are loc lent și este produsă de bacterii ale genului *Bacillus* și *Clostridium*.

19. Defecte și alterări microbiene ale preparatelor din carne sunt:

- a) *formarea de* ..... la suprafața batoanelor, datorată dezvoltării bacteriilor sau drojdiilor, este favorizată de umiditatea ridicată sau de apariția apei de condens.
- b) *m*..... este un defect de suprafață și poate fi datorată mucegaiurilor ce se pot dezvolta în domeniul de refrigerare și care pot proveni din contaminare externă
- c) *c*..... cu apariția de pete albastre, rar întâlnită, este determinată de unele bacterii din genul *Chromobacterium cyanogenum* ce pot proveni din sare sau aer.
- d) *a*..... și *î*..... pastei un defect întâlnit la prospături (parizer, polonez) și se datorează dezvoltării bacteriilor lactice heterofermentative
- e) *u*..... apare la prospături și este un defect rar întâlnit atunci când în pastă sunt prezente bacterii ale speciei *Clostridium perfringens*

20. Prin consum de carne contaminată se pot transmite următoarele grupe de microorganisme:

- a) microorganisme provenite prin contaminare, și vehiculate prin carne, dând boli ca bruceloză, rujețul, tuberculoza, leptospiroza ș.a.
- b) microorganisme patogene și facultativ patogene ce provin din contaminarea .....din diferite surse: sol, apă, insecte, om.

21. Carnea tocată folosită la fabricarea preparatelor din carne, trebuie să aibă o încărcătură microbiană:

- a) de  $10^4 - 10^6$  m.o./g
- b) mai mare de  $10^7$  m.o./g

22. Contaminarea microbiană a ouălor poate fi:

- a) contaminare internă dată de microorganisme patogene și facultativ patogene (la păsări bolnave)
- b) contaminarea externă are loc prin intermediul ..... și din .....

23. Alterările ouălor sunt:

- a) putrefacția verde dată de microorganisme din genul.....
- b) putrefacția neagră dată de microorganisme din genul .....
- c) portocalie dată de *Bacillus*.....
- d) mucegăirea sub coajă este dată de microorganisme din genul .....

24. Berea se obține prin fermentarea mustului de malț cu culturi pure de drojdii aparținând genului:
- Saccharomyces*
  - Debariomyces*
  - Schizosaccharomices*
  - Enterobacter*
25. Alterarea microbiologică a berii poate fi dată de:
- dezvoltarea drojdiilor de cultură
  - dezvoltarea drojdiilor fermentative de contaminare
  - dezvoltarea bacteriilor adaptate la condițiile existente în bere
26. Bacteriile care produc alterarea berii sunt sub formă de :
- bastonașe
  - coci
  - spirili
  - spirocheți
27. În bere sunt prezente:
- bacterii sporulate DA/NU
  - bacterii patogene DA/NU
  - bacterii facultativ patogene DA/NU
28. Diversitatea sortimentelor de vinuri este dependentă de:
- compoziția și caracteristica .....
  - calitatea și cantitatea de .....ce acționează în must
  - factorii tehnologici de dirijare a microorganismelor .....
29. Microorganismele care ajung în mustul de struguri sunt încadrate arbitrar în următoarele grupe:
- microorganismele permanent utile, aparținând genului.....
  - microorganismele condiționat utile care produc fermentarea alcoolică până ce se acumulează 6 – 8 ° alcool etilic, aparținând genurilor.....
  - microorganismele dăunătoare care cuprind drojdii....., bacterii....., unele specii de mucegaiuri.....
30. Fermentația malo-lactică este produsă de:
- bacterii
  - drojdii
  - mucegaiuri
31. Fermentația malo-lactică este recomandată la:
- vinurile roșii seci
  - vinurile albe obținute din struguri necoți
  - vinurile roșii dulci
  - vinurile albe dulci

32. Factorii restrictivi pentru activitatea microorganismelor n vin sunyt:
- concentrația în alcool > 12 – 14 ° alcool
  - condiții de anabioză
  - pH acid
  - prezența unor compuși cu acțiune bacteriostatică (SO<sub>2</sub>, tanin)
  - absența unor surse de C și N ușor asimilabile
33. Defectele vinurilor produse de dojdii pot fi:
- refermentarea
  - defectul de floare
  - defectul de gust și miros
  - defectul de culoare
34. Bacteriile care au condiții să se dezvolte în vin pot produce următoarele defecte:
- oțetirea produsă de A.....
  - manitarea produsă de bacterii din genul B.....
  - borșirea dată de bacterii lactice din genul .....
  - boala presiunii dată de bacterii din genul B.....
35. Fermentația malo-lactică:
- reduce aciditatea vinurilor în cazul vinurilor roșii seci sau la cele albe obținute din strugurii necopți;
  - transformă acidul malic în lactoză și CO<sub>2</sub>.
36. Drojdiile cele mai importante care constituie microflora boabelor de struguri sunt:
- Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*, *Kloeckera apiculata*, *Torulopsis stellata*, *Saccharomyces oviformis*, *Candida sp.*;
  - Cladosporium*, *Schizosaccharomyces sp.*, *Alternaria*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*;
  - Enterobacter*, *Leuconostoc*, *Botrytis*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*.
37. Putrezirea nobilă se manifestă prin:
- stafidirea boabelor de struguri, creșterea cantității de zahăr, acumulare de acid gluconic, fructoză și este produsă de *Botrytis*;
  - stafidirea boabelor de struguri, creșterea cantității de zahăr, acumulare de acid gluconic, fructoză și este produsă de *Botrytis*, *Alternaria*, *Cladosporium*
38. Spirtul de fermentație se obține din:
- materii prime amidonoase
  - materii prime zaharoase (melasa)
  - materii prime vegetale
  - materii prime animale
39. Fermentația alcoolică are loc în două etape
- prima etapă durează 20 de ore la temperatura de .....°C când se reduce 40% din extractul plămezii
  - a doua etapă durează .....ore la temperatura de .....°C când se reduce restul de extract.

- c) prima etapă durează 10 ore la temperatura de 23 – 25 °C când se reduce 50% din extractul plămezii.  
d) a doua etapă durează 72 de ore la temperatura de 30 – 32 °C la pH 4,3 – 4,5 când se reduce restul de extract.
40. Microbiota melasei este formată din:  
a) bacterii lactice, bacterii butirice, bacterii de putrefacție, bacterii acetice.  
b) drojdii, mucegaiuri, bacterii  
c) bacterii acetice, viruși, bacteriofagi  
d) bacterii lactice, bacterii acetice, bacterii lipolitice
41. Drojdia comprimată este o biomasă de celule din:  
a) genul *Saccharomyces*  
b) genul *Candida*  
c) genul *Torula*  
d) genul *Kluyveromyces*
42. Mucegăirea făinii:  
a) are loc odată cu creșterea umidității făinii;  
b) produce modificări de gust și miros;  
c) are loc cu formarea acizilor organici care influențează din punct de vedere calitativ și cantitativ glutenul.
- 43 Care sunt principalele alterări ale făinii?  
a) mucegăirea, putrezirea bacteriană, încingerea;  
b) mucegăirea, acirea, încingerea
44. Alterarea microbiologică a conservelor se datorează:  
a) tratamentului termic insuficient;  
b) pasteurizării la temperaturi mai mari de 95°C;  
c) închiderii ermetice a capacelor.
45. Contaminanții băuturilor nealcoolice proveniți din zahăr și siropuri sunt:  
a) mucegaiuri și bacterii din genul *Leuconostoc*;  
b) drojdiile osmofile.
46. Acțiunea produsă de *Acetobacter* în alterarea siropurilor concentrate:  
a) imprimă un gust de unt;  
b) duce la formarea de gaze;  
c) produce un gust „înțepător”.

## BIBLIOGRAFIE

1. Anghel, I. ș.a. Biologia și tehnologia drojdiilor. Editura Tehnică, București, v.I, 1989; v.II, 1991; v.III, 1993.
2. Bâlbâie, V. Bacteriologie medicală. Editura Medicală, București, 1987.
3. Bourgeois, CM., Mesele, J.F., Zucea J. (coord) Microbiologie alimentaire, Collection Sciences et techniques agroalimentaires, Technique & Documentation, Paris, v.I, 1996.
4. Braunstein, A. E. Protest i ferment! kletocinovo metabolisma. Moskva, 1987.
5. Buchanan R.L. Predictive food microbiology. Trends in Food Science and Technology, v.4, 1993, p.6-11. 6.Dan, V. Microbiologia produselor din industria alimentară extractivă. Universitatea Galați, 1977.
6. Dan, V. Microbiologia cerealelor și produselor derivate. Universitatea Galați, 1975.
7. Dan, V. și colab. Memorator drojdii. Universitatea Galați, 1995.
8. Duca, E., Duca, M., Furtunescu, G. Microbiologie medicală. Editura Didactică și Pedagogică, București, 1979.
9. Egorova, M.S. Promâslenaia microbiologhia. Moskva, 1989. 11.Elinov, H.P. Himiceskaia microbiologhia. Moskva, 1989.
10. Fasatiova, O. Moulds and Filamentous Fungi in Technical Microbiology. Progresses in Industrial Microbiology. v.22, 1986.
11. Florescu, M. Lucrurile simpozionului de microbiologie industrială Iași, 1986.
12. Gorbuleva, V.G. Promdslenaia microb i uspehi geneticeskoi inginerie. Moskva, 1984.
13. Grinevici, A.G., Bocenko, N.M. Tehniceskaia microbiologhia. Minsk, 1986.
14. Jay, M.J, Modern Food Microbiology. Ed. IV, Avi Book, New York, 1992.
15. Konovalov, S.A. Biohimia drojei. Moskva, 1990.
16. Pivovarov, I.P., Lapenkov, M.I., Mereniuk, G.V. Opredeteli sanitamo-znacinîh micro-organizmov. Kisinev, 1982.
17. Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. Microbiology. W.C. Brown Publish.,1990.
18. Pricst, F.G. Extracellular enzymes. New York, 1987.

19. Ross, T., McMeekin, T.A. Predictive Microbiology and HACCP, HACCP in Meat, Poultry and Fish Processing, Adv. in Meat Research Series, editată de Pearson A.M. și Dutson T.R. la Blackie Academic & Professional, v.10, 1995, p.330-355.
20. Schlegel, H.G. Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York, 1987.
21. Stanier, E. Adelberg General microbiology. Prentice Hall Inc., USA, 1977.
22. \*\*\* Food Micromodel, Information Pack, elaborat de MAFF, 1992.
23. Banu C., Tehnologia laptelui și a produselor lactate, partea I Universitatea Valahia Târgoviște 1996.
24. Banu C., Camelia Vizireanu, Procesarea industrială a laptelui, Editura Tehnică București 1998.
25. Bărzoi D., Microbiologia produselor alimentare de origine animală, Editura Ceres 1985.
26. Geogescu, Gh., Laptele și produsele lactate, Editura Ceres, 2000
27. Moțoc, D., Microbiologia produselor alimentare, Editura Tehnică, 1964.
28. Letiția Oprea, Mihaela Adriana Tita, Microbiologia laptelui, Editura Universitatii Lucian Blaga Sibiu, 2001.
29. Clemansa Tofan, Gabriela Bahrim, Anca Nicolau, Margareta Zara, Microbiologia produselor alimentare - Tehnici și analize de laborator, Editura Agir București, 2002.