

MINISTERUL AGRICULTURII, DEZVOLTĂRII REGIONALE ȘI MEDIULUI

UNIVERSITATEA AGRARĂ DE STAT DIN MOLDOVA

FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ

Departamentul Siguranța alimentelor și sănătate publică

Cu titlu de manuscris

CZU: 619:614.31:637.3

BORDEA DANIELA

**Tema: CERCETĂRI MICROBIOLOGICE PRIVIND MICROFLORA
BRÂNZEI DE CASĂ ÎN DIVERSE CONDIȚII DE REFRIGERARE ȘI
CONGELARE**

Specialitatea 841.1 – Medicină Veterinară

TEZĂ DE ABSOLVIRE A STUDIILOR SUPERIOARE INTEGRALE

„Se admite spre susținere”

Șef interimar departament:

Osadci Natalia,

Dr., conf. univ.,

_____ (semnătura)

_____ (data)

Conducător științific:

Golban Rita,

Dr., conf.univ.

_____ (semnătura)

Autor: Bordea Daniela

_____ (semnătura)

CHIȘINĂU, 2022

CUPRINS

ADNOTARE.....	4
LISTA ABREVIERILOR.....	5
ÎNTRUDUCERE.....	6
1. EVALUAREA LITERATURII ÎN DOMENIU.....	8
1.1. Microorganismele din brânzeturi și importanța lor în alimentația umană.....	8
1.2. Sursele de contaminare microbiană a brânzeturilor.....	12
1.3. Defectele brânzeturilor în diverse condiții de păstrare.....	15
1.4. Infecțiile microbiene transmise prin brânzeturi.....	18
1.5. Procesele refrigerare-congelare și condițiile sanitaro-igienice de fabricare a brânzeturilor.....	20
1.6. Culturile starter microbiene utilizate în industria brânzeturilor.....	23
2. PARTEA SPECIALĂ.....	31
2.1. Materiale și metodologie de studiu.....	31
2.2. Metoda microscopică.....	31
2.3. Metodologia însămînțărilor pe medii de cultură.....	32
2.4. Determinarea microorganismelor aerobe	32
2.5. Determinarea microorganismelor anaerobe	33
2.6. Determinarea microorganismelor patogene.....	34
2.7. Determinarea microorganismelor levurice.....	35
3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	37
3.1. Cercetări microbiologice privind microflora brânzei de casă proaspătă.....	37
3.2. Cercetări microbiologice privind microflora brânzei de casă congelată.....	39
3.3. Cercetări microbiologice privind microflora brânzei de casă refrigerată.....	43
4. CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI.....	47
5. BIBLIOGRAFIE.....	48

6. ANEXE.....	51
Anexa 1. Declarația privind asumarea răspunderii.....	51
Anexa 2. CV al autorului.....	52
Anexa 3.....	53
Anexa 4.....	54
Anexa 5.....	55
Anexa 6.....	56

ADNOTARE

Bordea Daniela „Cercetări microbiologice privind microflora brânzei de casă în diverse condiții de refrigerare și congelare”

Studiul științific al tezei de absolvire a studiilor superioare integrale a fost efectuat în incinta laboratorului de microbiologie a Departamentului Siguranța alimentelor și Sănătate Publică a Universității Agrare de Stat din Moldova, facultatea de medicină veterinară.

Structura tezei constă din: 3 compartimente, introducere, adnotare, evaluarea literaturii în domeniu, partea specială, material și metode de studiu, concluzii și recomandări practice, bibliografie, anexe.

Teza de absolvire a studiilor superioare integrale este redată pe 56 pagini text de bază, constă din 2 tabele și 14 figuri.

Sursele bibliografice sunt constituite din 51 surse bibliografice, 6 anexe.

Cuvinte-cheie: Brânză de casă, Bacteriologie, Streptococcus, Lactobacillus, Microfloră.

Domeniul de studiu. Teză de absolvire a studiilor superioare integrale în medicină veterinară.

Scopul și obiectivele lucrării: constituie evaluarea din punct de vedere calitativ microflora brânzei de casă proaspătă și după diverse intervale de timp de congelare și refrigerare.

Obiectivele au constituit realizarea efectuării cercetărilor microbiologice și diferențierii cantitative a speciilor microbiene a microflorei brânzei de casă prin intermediul conduitei de laborator microbiologice.

Studiul microbiologic a fost efectuat pe prelevate de brânză de casă refrigerată și congelată și concomitent în stare proaspătă, care a constatat în evidențierea germenilor microbieni prin metodele clasice de investigare microbiologică de laborator.

Semnificația teoretică. Studiile microbiologice a microflorei brânzei de casă au fost efectuate în scopul identificării calității acestui produs alimentar privind microflora sa saprofită și patogenă,.

Concomitent s-a determinat numărul celulelor și coloniilor microbiene a speciilor microbiene prezente și diferențierea în aspect comparativ în diverse condiții de refrigerare și congelare.

Noutatea științifică. Investigațiile privind noutatea științifică ne-a permis de a aprecia metodele microbiologice de cercetare a microflorei brânzei de casă și de a interpreta importanța rezultatelor obținute după indicii privind calitate și contaminarea bacteriană.

Valoarea aplicativă a lucrării. Cercetările microbiologice efectuate a microflorei brânzei de casă au confirmat importante valori, care relevă microflora prezentă în produsul lactat brânza de casă și ne confirmă calitatea acestui produs alimentar frecvent folosit în alimentația umană.

LISTA ABREVIERILOR

A – agar

B – bulion

E - Endo

CS –culturi starter

BL – bacterii lactice

CSMZ - culturi starter mezofile

CST – culturi starter termofile

CSM – culturi starter mixte

ÎNTRUDUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate. Brânza este un produs alimentar stravechi important folosit în alimentația umană, ale cărei origini datează din istorie. Istoria produselor lactate datează de mai bine de 3500 ani. Descoperită în Asia Centrală și în Orientul Mijlociu, producerea brânzei s-a răspândit în Europa și alte țări și a devenit o industrie sofisticată în timpul Imperiului Roman Antic.

Brânzeturile prezintă oferte excelente de alimente proteice, valori nutriționale bune digeribile, și plăcerii pe care o creează consumul lor. Interesul nutrițional pentru acest aliment rezidă în principal din prezența în compoziție a diferitelor elemente nutritive care determină valoarea acestui produs alimentar de o importanță majoră.

Este cunoscut că la obținerea brânzeturilor se poate folosi lapte crud în care bacteriile lactice trebuie să reprezinte peste 50% din totalul microbiotei, cu restricții privind prezența bacteriilor butirice, a bacteriilor coliforme, a bacteriilor de putrefacție din genul *Pseudomonas*.

Sunt luate în considerație unele microorganisme binecunoscute implicate în fabricarea și maturarea brânzei, inclusiv bacteriile saprofite și bacteriile lactice, enterococii, micrococii, stafilococii, corineformele, bacteriile cu acid propionic, drojdiile și mușgaiurile.

Sunt, de asemenea, discutați diferiți factori implicați în controlul multiplicării microbiene, inclusiv activitatea apei, sare și apă, potențialul redox, pH-ul, prezența nitratului și temperatura. De asemenea, sunt discutate organismele de alterare, de exemplu, clostridiile și coliformii găsiți în brânză.

Brânza este un produs important al bacteriilor fermentative ale acidului lactic. În special în trecut, brânza era apreciată pentru perioada de valabilitate lungă. Datorită conținutului redus de apă și pH-ului acid, dezvoltarea bacteriilor este sever inhibată. Acest lucru face ca brânza să se devalorizeze mult mai lent decât alte produse lactate. În consecință, arta producției de brânzeturi s-a răspândit în toată Europa, fiecare țară producând multe tipuri diferite de brânzeturi.

Importanță privind producția brânzei prezintă etapele de producere a brânzei de casă, a cașului și alte sortimente de brânzeturi, unde participă bacteriile fermentative ale acidului lactic.

Alterarea alimentelor a fost o problemă importantă de-a lungul istoriei omenirii. Găsirea modalităților de a depăși această problemă a fost crucială, deoarece era nevoie de un anumit sistem pentru a menține conținutul de nutrienți al diferitelor alimente pentru perioade lungi de timp și pentru a le împiedica să putrezească și să devină necomestibile.

Se consideră că alterarea alimentelor este cauzată de multiplicarea microorganismelor, în principal bacterii și levuri, care transformă nutrienții în energia pe care o folosesc pentru propria lor creștere. Epuizarea conținutului de nutrienți al alimentelor, precum și secreția de produse secundare din acest proces biochimic sunt două lucruri care contribuie la deteriorarea alimentelor, făcându-le necomestibile.

Deaceia din cele mai vechi timpuri, oamenii au folosit multiple metode pentru a prelungi perioada de valabilitate a alimentelor, deși nu au înțeles întotdeauna cum funcționează aceste procese. Sărarea și uscarea sunt două tehnici foarte simple care împiedică putrezirea. Conservarea este o altă tehnică dezvoltată pentru prima dată la sfârșitul secolului al XVIII-lea de Nicholas

Appert, un cofetar francez, care, după 15 ani de cercetări, și-a dat seama că, dacă alimentele sunt suficient de încălzite și apoi sigilate într-un recipient etanș, nu se vor altera. Ulterior savantul francez Louis Pasteur prin intermediul descoperirilor fermentărilor a demonstrat definitiv că microorganismele sunt responsabile pentru alterarea alimentelor.

Prin urmare invențiile privind microorganismele în alimente au putut fi folosite pentru producerea și conservarea diferitelor tipuri de alimente, iar fermentarea prezintă fără îndoială, cel mai timpuriu exemplu de biotehnologie și se referă la procesul metabolic prin care microbii produc energie în absența oxigenului și a altor acceptori terminali de electroni din lanțul de transport de electroni.

Scopul cercetărilor destinat acestei teze a fost evaluarea din punct de vedere calitativ microflora brânzei de casă proaspătă și după diverse intervale de timp de congelare și refrigerare.

Au fost urmărite următoarele **obiective**:

- Investigarea microscopică și prin pasaje a microorganismelor prezente în prelevatele din brânză de casă proaspătă, congelată și refrigerată în diverse intervale de timp;
- Diferențierea speciilor microbiene identificate saprofite lactice și patogene;
- Identificarea celulelor microbiene levurice;
- Interpretarea calității produsului lactat după valorile microbiologice obținute.

Noutatea științifică. Studiul științific efectuat a confirmat prezența microflorei saprofite specifice acestui produs lactat alimentar din punct de vedere comparativ a speciilor microbiene identificate privind diverse perioade de timp de congelare și refrigerare.

Importanța teoretică. Caracteristicile microbiologice a brânzei de casă de diferită proveniență a relevat importante aspecte a bibliografiei acestei tematici și ne-a permis aprecierea microflorei acestui produs alimentar important în alimentația umană printr-o sigură siguranță alimentară.

Valoarea aplicativă a lucrării. Investigațiile microbiologice ne-a permis obținerea unor date caracteristice importante privind microflora bacteriană a brânzei de casă microflora și relevarea datelor prevalării unor specii microbiene frecvent întâlnite în brânza de casă în diverse perioade de timp de cercetare.

Aprobarea rezultatelor. Rezultatele investigațiilor pe tematica tezei au fost examinate în cadrul Departamentului Siguranța alimentelor și sănătate publică a facultății de Medicină Veterinară a UASM.

Sumarul compartimentelor tezei. Teza de absolvire a studiilor superioare integrale include următoarele compartimente: adnotare, lista abrevierilor, introducere, evaluarea literaturii în domeniu, partea specială, material și metode de studiu, cercetări proprii, rezultate și discuții, concluzii și recomandări, bibliografie cu 51 surse științifice citate.

Lucrarea este expusă pe 56 pagini text de bază, 6 anexe, conține 2 tabele și 14 figuri.

BIBLIOGRAFIE

1. Abd-Elhamed, A. et al. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Egyptian Laban Rayeb and the use of some isolated cultures in the preparation of Laban Rayeb. In: Dairy Science. 2009, vol. 37, (2), 99 p. ISSN 0022-0302.
2. Adolfsson, O. et al. Yogurt and gut function. In: American Journal of Clinical Nutrition. 2004, vol. 80 (2), pp.45–56. ISSN (Print) 0002-9165.
3. Badis, A. et al. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolate from raw goat milk of four Algerian races. In: Journal Food Microbiology. 2004, vol. 21(5), pp.579-588. ISSN 0740-0020.
4. Băisan, I. Operații și tehnologii în industria alimentară: curs pentru studenții specializării mașini și instalații pentru agricultură și industria alimentară. Universitatea Tehnică „Gh. Asachi” Iași, 2015. 365 p.
5. Banu, C. Tratat de industrie alimentară. Ed. ASAB, 2010, p.68.
6. Betty, A. et al. Weissfeld – Laboratory methods in basic mycology. In Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 12th ed., 2007, 629-716.
7. Beukes, E. et al. The microbiology of South African traditional fermented milks. In: International Journal Food Microbiology. 2001, vol .63, pp. 189-197. ISSN 0168-1605.
8. Bissonnette, F. et al. Characterization of mesophilic mixed starter cultures used for the manufacture of aged cheddar cheese. In: International Dairy Science. 2000, vol. 83, pp. 620-627. ISSN (Online) 1811-9751 .
9. Blazenka, K. et al. Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. In: World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2008, vol. 24(5), pp. 699-707. ISSN (Online) 1573-0972.
10. Bogdan, A., Țogoe, Iu., Cîmpeanu Gh. Microbiologia alimentelor Vol.2. Asclepius, București, 2011, p. 35-40.
11. Bogdan, A., Țogoe, Iu., Cîmpeanu, Gh. Microbiologia alimentelor Vol.1. Asclepius, București, 2011, p. 78-90.
12. Bud, I., Vlădău, V., Petrescu-Mag, V. Raising rabbits, Ed. Ceres. Bucharest, 2011, p. 24.
13. Burgain, J. Lactic acid bacteria in dairy food: Surface characterization and interactions with food matrix components. In: Advances in Colloid and Interface Science. 2013, vol. 213, pp. 21-35. ISSN 0001-8686.
14. Carp-Cărare C. Microbiologie generală. Iași: Ion Ionescu de la Brad, 245 p. ISBN 978-973-147-153-, 2014.
15. Carp-Cărare C., Guguianu E., Rîmbu C. Bacteriologie specială. Iași: editura “Ion Ionescu de la Brad”, p.177. ISBN 978-973-147-180-8, 2015.
16. Cartășev, A. Tulpini autohtone noi de Streptococcus thermophilus și utilizarea lor pentru fabricarea produselor lactate fermentate: tz. de doct. în biologie. Chișinău, 2018. 180 p.
17. Chirlici, A., Jalba, U. Igiena alimentației: compendiu de lucrări practice. Chișinău: Medicina, 2000. 528 p. ISBN 9975-945-44-9.
18. Coev, G. et al. Colecția Ramurală de tulpini de bacterii lactice cu proprietăți tehnologice valoroase pentru industria laptelui. În: Buletin Științific, Științele naturii. 2009, vol. 10(23), pp. 190-197. ISSN 1857-0054.
19. Costin, G. Produse lactate fermentate. România: Editura Academica, Galați, 2005. 586 p. ISBN 9738316855.

20. Carafa, I. et al. Microbial evolution of traditional mountain cheese and characterization of early fermentation cocci for selection of autochthonous dairy starter strains. In: Journal Elsevier, Food Microbiology. 2016, vol.53, pp. 94–103. ISSN 0740-0020.
21. Dan, S., Mihaiu, M., Dalea, I. Researches regarding the psychrotrophe microbial load and configuration from meat products. Buletin USAMV-CN, 2006, 64, ISSN 1454-2382, p. 251-256
22. Dan, V. Microbiologia alimentelor. Alma, Galați, 2001, p. 52.
23. Darie, N. Biochimia alimentară dinamică. Ed. ULB, Sibiu, 2001, p. 76.
24. Debeleac L, Popescu-Drânda C. Microbiologie. Ed Medicală AMALTEA, București, 2003
25. Deanna , A. Sutton Specimen Collection, Transport and Processing: Mycology. Patrick R. Murray, Michael A. Pfaller, Robert H. Tenover, Ellen Jo Baron, James H. Tenover. In Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. 2007,1728-1737.
26. Fitzsimons, N. et al. Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. In: Applied Environ. Microbiology. 1999, vol.65, pp. 3418-3426. ISSN (Online) 1098-5336.
27. Fiț, N. Microbiologie generală. Cluj-Napoca: Editura AcademicPres, 248 p., 2015.
28. Gandhi, D. Microbiology of fermented dairy products. Dairy Microbiology Division. National Dairy Research Institute, Karnal. Haryana. India. 2006, pp. 1-31.
29. Golban R. Microbiologie generală. Curs de prelegeri, UASM, Chișinău: uasm.moodle.md, 2015, pp.125-128, 4,5 c.a <https://moodle-uasm.isa.utm.md/course/view.php?id=298>.
30. Golban R. Microbiologie specială. Curs de prelegeri, UASM, Chișinău: uasm.moodle.md, 2015, pp.80-84, 4,5 c.a. <https://moodle-uasm.isa.utm.md/course/view.php?id=321>
31. Golban, R., Microbiologie alimentară. Curs de prelegeri, UASM, Chișinău: uasm.moodle.md, 2015, 142p. <https://moodle-uasm.isa.utm.md/course/view.php?id=557>
32. Golban R. The activity of the immunocompetent cells in correlation of the immune status at the newborn calves in dependence of age. În Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+), USAMV Iași, Medicină Veterinară, 2015, vol. 58, partea 3, p. 523-530., 0,4 c.a. ISSN 1454-7406
https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/31606/golban_523-530.pdf?sequence=1&isAllowed=y
33. Golban R. Aspects regarding the activity of the phagocytic mechanisms in immunity regulation of the new-born calves. În Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+), USAMV Iași, Medicină Veterinară, 2016, vol. 59, partea 3, p. 264-269., 0,4 c.a. ISSN 1454-7406.
https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/31739/golban_264-269.pdf?sequence=1&isAllowed=y
34. Golban R., Carp-Cărare M., Rîmbu C., et al. Investigations on lymphocytes blastization mechanism as a result of stimulation with a specific antigen. În Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+), USAMV Iași, Medicină Veterinară, 2016, vol. 59, partea 3, p. 270-275., 0,4 c.a. ISSN 1454-7406.
https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/31732/golban_270-275.pdf?sequence=1&isAllowed=y

35. Rîmbu C., Guguianu E., Golban R., et al. Staphylococcus aureus isolated from intramammary infection in immunologically protected goats. În Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+), USAMV Iași, Medicină Veterinară, 2016, vol. 59, partea 4, p. 479-485., 0,4 c.a. ISSN 1454-7406.

https://repository.iuls.ro/xmlui/bitstream/handle/20.500.12811/1703/LSMV_v.59_p.4_STAPHYLOCOCCUS%20AUREUS%20ISOLATED%20FROM%20INTRAMAMMARY%20INFECTION%20IN%20IMMUNOLOGICALLY%20PROTECTED%20GOATS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

<https://repository.utm.md/handle/5014/34250>

36. Le Bars, D., Ivon, M. Formation of diacetyl and acetoin by Lactococcus lactis via aspartate catabolism. In: Journal Applied Microbiology. 2008, vol. 104 (1), 304 p. ISSN (Online) 1365-2672.

37. Lejkova, J. et. al. Isolation of autochthonous lactic acid bacteria from ewes' lump cheese, bryndza cheese and barrelled ewes' cheese, and their characterization using Fourier transform infrared spectroscopy. In: Journal of Food and Nutrition Research. 2015, vol. 54 (4), pp. 308–313. ISSN (Online) 2333-1240.

38. Malcolm D. Richardson & David Warnock. In Fungal infection, Diagnosis and Management, 3rd ed., 2003, 2,14-28.

39. Mark, E. Mesophilic and thermophilic cultures used in traditional cheesemaking. In: Microbiology Spectrum. 2013, vol. 1(1), pp.1-18. DOI: 10.1128/microbiolspec.CM-0004-2012. ISSN (Online) 2165-0497.

40. Mihai Mares, Olimpia Bazgan, Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de fungi : Tratat de Microbiologie Clinica. Editia a II-a, Edit. Medicala 2008,38, 953-1030.

41. Moldovan, R. și colab. Lucrări practice de Microbiologie, Editura Victor Babes Timisoara, 2013, ISBN 978-606-6456-19-5

42. Oprean, L. Microbiologia produselor alimentare. Vol 2, Ed. Univ. „Lucian Blaga”, Sibiu, 2002, p. 78-94.

43. Răpunțean Gh., Răpunțean S. Bacteriologie veterinară specială. Cluj-Napoca: Academic Pres, 354 p. ISBN 973-7950-95-X, 2005.

44. Servin, A. Antagonistic activities of Lactobacilli and Bifidobacteria against microbial pathogens. In: FEMS Microbiology Reviews. 2004, vol. 28 (4), pp. 405–440. ISSN (Online) 1574-6976.

45. Stănciulescu, M., Sârbulescu, V. Animal productions, Ed. Ceres, Bucharest, 2012, 111 – 112p.

46. Sunde, M., Norström, M. The prevalence of, associations between and conjugal transfer of antibiotic resistance genes in Escherichia coli isolated from Norwegian meat and meat products. J. Antimicrob Chemother. 2006, 58(4), 741-747p.

47. Tașbac, B. Bacteriologie veterinară specială. București: Editura Larisa Câmpulung. 284 p. , 2017.

48. Tașbac, B. Bacteriologie veterinară specială. București: Editura Larisa Câmpulung, 2016, 284 p.

49.Taşbac, B. Microbiologie generală alimentară. Bucureşti: Editura Larisa Câmpulung Muscel, 2018, 225 p.

50.Taşbac, B., Țogoe, I. Microbiologia alimentelor. Bucureşti: Editura Larisa Câmpulung Muscel, 2018, 101

51.Țifrea, A. Cercetări privind îmbunătățirea calității și a însușirilor nutritive produselor lactate cu adaos de produse naturale bioactive: tz. de doct. în tehnică. Sibiu, 2012. 160 p.În limba engleză