

MICROBIOLOGIA ȘI BIOTEHNOLOGIA

TULPINI AUTOHTONE DE BACTERII LACTICE PERSPECTIVE PENTRU FABRICAREA SMÂNTÂNII

¹Rudic V., ²Șveț S.

¹*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei*

²*Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare*

Introducere

Calitatea produselor lactate acide în mare măsură este determinată de calitatea culturilor bacteriene utilizate la fabricarea lor. De aceea selectarea culturilor și obținerea maielelor bacteriene cu proprietăți valoroase de producere prezintă o problemă importantă permanentă [1].

Microorganismele utilizate tradițional la fabricarea produselor lactate acide, în fond se selectează conform particularităților de creștere, capacității de coagulare a laptelui și proprietăților organoleptice ale produsului obținut [2].

Smântâna prezintă unul din cele mai populare produse lactate acide din țara noastră, datorită calității gustative și valorii biologice și energetice înalte. Procesul tehnologic de producere a smântânii este mai complicat în comparație cu alte produse lactate acide, de aceea apar mai multe probleme de dirijare a calității. Calitatea smântânii depinde de un șir de factori tehnologici, la care se referă proprietățile materiei prime și ale maielei bacteriene utilizate, condițiile de realizare a procesului tehnologic de fabricare și păstrare a produsului. Maiaua bacteriană are o importanță primordială la formarea calității smântânii, deoarece determină intensitatea proceselor microbiologice și biochimice, care au loc în timpul fermentării amestecului lactat cu conținut sporit de lipide, maturizării și păstrării produsului. Din aceste considerente, mulți cercetători din domeniul microbiologiei laptelui acordă o deosebită atenție selectării culturilor de bacterii lactice și obținerii maielelor bacteriene pentru fabricarea smântânii [1].

După părerea unor autori, maiaua bacteriană corect selectată poate micșora, iar uneori și înlătura complet un fenomen negativ frecvent întâlnit în producere - „granulozitatea” smântânii, deoarece anume maiaua bacteriană asigură densitatea, aspectul, aroma și consistența produsului [1, 6].

Pentru consistență și păstrarea structurii smântânii este importantă capacitatea de reținere a apei în coagul, care în mare măsură este determinată de proprietatea de sinereză a culturii bacteriene utilizate.

Se știe, că unii din compușii importanți, care determină aroma caracteristică a produselor lactate acide sunt diacetilul și acetoina – produse ale activității vitale a bacteriilor lactice. În industria laptelui pentru sinteza substanțelor aromatice, de rînd cu altele, se utilizează și bacteriile *Lactococcus lactis ssp.lactis biovar diacetylactis* [4, 5, 6, 7].

Scopul studiului: selectarea tulpinilor autohtone de bacterii lactice cu proprietăți biotehnologice optime pentru utilizare în componența maielelor bacteriene destinate fabricării smântânii.

Materiale și metode

Obiectul cercetărilor - tulpini autohtone de bacterii lactice mezofile, izolate din probe de smântână de fermentare spontană, prelevate din gospodării țărănești din diferite regiuni ale Republicii Moldova.

Cercetările au fost efectuate în condiții aseptice în Laboratorul de prelucrare a laptelui al Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare. În medii nutritive pe bază de lapte integral pasteurizat, inoculate cu 3 % cultură de bacterii lactice, cu termostatare la 30 °C, au fost investigați următorii parametri:

- durata formării coagulului, conform Bannicova L.A., ș.a. [12];
 - activitatea acidifiantă (aciditatea titrabilă), conform GOST 3624 [15];
 - aspectul coagulului, conform Bannicova L.A., ș.a. [12];
 - caracteristicile senzoriale ale coagulului, conform Bannicova L.A., ș.a.[12];
 - aspectul froitiului microscopic, conform GOST 9225 [14];
 - activitatea de aromogeneză (producerea diacetilului + acetoină), după reacția la proba bazică prin apariția culorii roze în filtratul de cultură din laptele coagulat, conform instrucțiunilor cu privire la selectarea tulpinilor valoroase pentru industria laptelui ale Institutului de Cercetări Științifice în domeniul laptelui din Moscova [13];
 - gazogeneza (producerea CO₂), prin reacția de ridicare a coagulului de lapte la încălzire pînă la 90°C, conform instrucțiunilor cu privire la selectarea tulpinilor valoroase pentru industria laptelui ale Institutului de Cercetări Științifice în domeniul laptelui din Moscova [13];
 - sinereza (eliminarea zerului la centrifugarea a 10 ml de lapte coagulat), care exprimă capacitatea de reținere a apei de către coagulul format de tulpină în lapte, conform instrucțiunilor cu privire la selectarea tulpinilor valoroase pentru industria laptelui ale Institutului de Cercetări Științifice în domeniul laptelui din Moscova [13];
- Rezultatele testărilor au fost evaluate, conform criteriilor cerințelor tehnologice după Bannicova L.A., ș.a. [12].

Rezultate și discuții

Tulpinile de bacterii lactice se consideră utile pentru industria laptelui numai în cazul cînd manifestă proprietăți biochimice și microbiologice în ansamblu corespunzătoare cerințelor tehnologice privind culturile destinate fabricării produselor lactat acide [14].

Din acest punct de vedere au fost cercetate 14 tulpini autohtone de bacterii lactice mezofile: *Lactococcus lactis ssp. lactis* – 9 tulpini; *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis* – 2 tulpini; *Lactococcus lactis ssp. cremoris* – 3 tulpini, care au fost selectate în cadrul cercetărilor de identificare și studiu preliminar.

Rezultatele investigațiilor biotehnologice: durata de coagulare a laptelui sub acțiunea acestor culturi, aspectul coagulului format în lapte pasteurizat, organoleptica coagulului, aspectul microscopic al froitiului, aciditatea titrabilă, proprietățile privind gazogeneza, aromogeneza și sinereza sunt prezentate în tab. 1-3 care includ deasemenea și cerințele tehnologice.

Din tabelul 1 ce conține rezultatele referitoare la *Lactococcus lactis ssp. lactis* se vede, că tulpinile nr. 26, 39, 94, 139, 229, 288 au coagulat laptele în timp de 6-7 ore dezvoltând aciditatea titrabilă de la 80°T pînă la 90°T, valori ce corespund cerințelor

tehnologice privind cultura dată. Tulpinile 5 și 101 au demonstrat activitate mai lentă, coagulând laptele cu întârziere (7,5 ore) și nu se încadrează în limita cerințelor tehnologice. Mai mult ca atât, calitatea organoleptică a coagulului inoculat cu aceste tulpini nu corespunde cerințelor tehnologice.

Tabelul 1. Proprietățile biotehnologice ale tulpinilor autohtone de *Lactococcus lactis ssp. lactis*

Tulpina	Dura- ta de coagulare (ore)	Aspectul coagulului	Gustul și mirosul coagulu- lui	Aspect- ul frotiu lui	Acidita- tea titrabilă °T	Gazoge- neza, cm	Sinereza (eliminarea zerului din coagul), ml/10ml coagulului
Cerințe tehnolo- gice	max 7	Omogen, consistență densă sau moderată, cu eliminare neînsemnată de zer	Curat de lapte fermen- tat	Coci, diplococi separați și în lanțuri scurte	75-90	Culturi pentru smântână -max 0,6	Cul- turi pentru smântână până -max 2,5 ml
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis 2</i>	6,5	Omogen, consistență densă, cu eliminarea neînsemnată de zer	Curat de lapte fermen- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	87±0,57	0,2±0,05	2,0±0,2
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis5</i>	7,5	Omogen, consistență slabă	Curat de lapte fermen- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	76±0,57	0,2±0,1	2,8±0,11
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis 26</i>	7,0	Omogen, consistență densă, cu eliminarea ne-însemnată de zer	Curat de lapte fermen- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	90±0,57	0,0±0,05	3,7±0,25
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis nr.39</i>	6,0	Omogen, consisten- ță densă, cu eliminarea neînsemnată de zer	Curat de lapte fermen- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	89±0,57	0,0±0,05	2,4±0,1

Tabelul 1. (Continuare)

<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.lactis</i> 94	7,0	Omogen, consistență densă	Curat de lapte fer- men- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	87±0,57	0,0±0,05	2,3±0,15
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.lactis</i> 101	7,5	Omogen, consisten- ță slabă	Curat de lapte fer- men- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri	80±0,57	0,1±0,05	3,0±0,1
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.lactis</i> 139	7,0	Omogen, consisten- ță moderată	Curat de lapte fer- men- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	84±0,57	0,0±0,05	2,4±0,19
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.lactis</i> 229	6,5	Omogen, consisten- ță densă cu eliminarea neînsem- nată de zer	Curat de lapte fer- men- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	88±0,57	0,0±0,05	4,1±0,15
<i>Lactococcus lactis</i> <i>ssp.lactis</i> 288	6,5	Omogen, consisten- ță densă cu eliminarea neînsem- nată de zer	Curat de lapte fer- men- tat	Coci, diplo- coci, separați și în lanțuri scurte	88±0,57	0,0±0,05	2,0±0,15

Rezultatul testării privind capacitatea de sinereză demonstrează că tulpinile nr. 2, 94, 139 au eliminat zer în cantitate redusă (2-2,5 ml/10ml coagul) în corespundere cu cerințele tehnologice față de culturile destinate fabricării smântânii, iar tulpinile nr. 26 și 229 – în cantitate sporită (3,7-4,1 ml/10 ml coagul) ceea ce nu corespunde cerințelor.

Toate tulpinile prezintă o gazogeneză neînsemnată ceea ce este pozitiv pentru culturile destinate fabricării smântînii.

Aspectul microscopic al tulpinilor se încadrează în cerințele față de această specie și prezintă coci, diplococi separați și în lanțuri scurte.

Din tabelul 2 cu rezultate referitoare la *Lactococcus lactis* *ssp. lactis* *biovar diacetylactis* se vede, că ambele tulpini cercetate au fost active în limitele cerințelor pentru astfel de culturi, coagulând laptele timp de 9-11 ore, formînd un coagul cu aspect și proprietăți organoleptice corespunzătoare cerințelor. Tulpinile demonstrează proprietăți de acidogeneză și aromogeneză, caracteristice pentru *Lactococcus lactis*

spp. lactis biovar diacetilactis. Capacitatea de sinereză corespunde culturilor utilizate la fabricarea smântânii. Tulpinile prezintă aspect microscopic caracteristic: coci, diplococi separați și în lanțuri scurte.

Tabelul 2. Proprietățile biotehnologice ale tulpinilor autohtone de *Lactococcus lactis spp. lactis biovar diacetilactis*

Tulpina	Dura ta de coa- gulare (ore)	Aspectul coagulu- lui	Gustul și mirosul coagulu- lui	Aspec- tul frotiu- lui	Acidita- tea titrabi- lă, °T	Gazoge- neza, cm	Aro- mo- gene- za, min	Sinere- za (eli- minarea zerului din coagul), ml/10ml coagulu- lui
Cerințe tehnolo- gice	max. 11	Omogen, consistență densă sau mode- rată, cu eliminarea neânsem- nată de zer	Curat de lapte fer- men-tat posibil cu aromă	Coci, di- plo-coci separați și în lanțuri scurte	75-90	culturi pentru smântână -max 0,6	Înaltă – până la 15 min, medie 15-20 min, slabă 20-25 min	Culturi pentru smântînă până -max 2,5
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis biovar diacetilac- tis 111</i>	11,0	Omogen, consistența moderată, cu elimi- nare neân- semnată de zer,	Curat de lapte fermentat cu aromă ușoară	Coci, di- plococi, separați și în lanțuri scurte	83±0,57	0,3±0,15	17	2,4±0,11
<i>Lactococ- cus lactis ssp.lactis biovar di- acetilactis 234</i>	9,0	Omogen, consistența moderată cu elimi- nare neân- semnată de zer	Curat de lapte fer- mentat	Coci, di- plococi, separați și în lanțuri scurte	85±0,57	0,4±0,15	25	2,5±0,09

Datele tabelul 3, ce prezintă rezultatele testărilor tulpinilor de *Lactococcus lactis spp. cremoris* demonstrează, că toate cele 3 tulpini selectate sînt active în limitele cerințelor pentru cultura dată. Formează în lapte coagul omogen cu consistență viscoasă (nr. 30) sau cremoasă (nr. 240) cu gust și miros curat de lapte fermentat, practic nu posedă proprietate de gazogenează iar capacitatea de sinereză este redusă, ceea ce corespunde cerințelor pentru fabricarea smîntînii. Tulpinile prezintă frotiu caracteristic: coci, diplococi separați în lanțuri medii și lungi.

Tabelul 3. Proprietățile biotehnologice ale tulpinilor autohtone de *Lactococcus lactis ssp. cremoris*

Tulpina	Durata de coagulare (ore)	Aspectul coagului	Gustul și mirosul coagului	Aspectul froitiului	Aciditatea titrabilă °T	Gazogeneza, mm	Sinereza (eliminarea zerului din coagul), ml/10ml coagului
Cerințe tehnologice	max 9	Omogen, consistență densă sau moderată, cu eliminare neînsemnată de zer, posibil viscoasă	Curat de lapte fermentat	Coci, diplococi separați în lanțuri medii și lungi	75-90	culturi pentru smântână -max 0,6	Culturi pentru smântână pînă -max 2,5
<i>Lactococcus lactis ssp.cremoris</i> 30	8,0	Omogen, consistență densă, viscoasă	Curat de lapte fermentat	Coci, diplococi, separați, în lanțuri medii și lungi	79±1,0	0,1±0,09	2,0±0,19
<i>Lactococcus lactis ssp.cremoris</i> 74	9,0	Omogen, consistență moderată	Curat de lapte fermentat	Coci, diplococi, separați în lanțuri medii	77±0,57	0,0	2,5±0,11
<i>Lactococcus lactis ssp.cremoris</i> 240	8,5	Omogen, consistență densă cremoasă	Curat de lapte fermentat	Coci, diplococi, separați, în lanțuri medii și lungi	77±1,0	0,0	2,4±0,1

Concluzii

Din 14 tulpini autohtone de bacterii lactice mezofile studiate 12 au manifestat proprietăți biochimice și microbiologice în ansamblu corespunzătoare cerințelor tehnologice pentru culturi destinate fabricării produselor lactate acide.

1. Tulpinile notate cu 2, 39, 94, 139, 228 de *Lactococcus lastis ssp.lactis*; 111, 234 de *Lactococcus lastis ssp.lactis biovar diacetylactis*; 30, 74, 240 de *Lactococcus lastis ssp.cremoris*, sunt de perspectivă pentru utilizare în culturi destinate fabricării smântânii.

Referințe

1. Анищенко И.П., Котвицкая Е.М. Бактериальный препарат ПБ-СМ для сметаны.//Молочная промышленность, 2002, № 8, с. 35.
2. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. // Москва, Агропромиздат, 1987, с.1-400.
3. Инструкции по селекции молочнокислых бактерий и бифидобактерий и подбору заквасок для кисломолочных продуктов. //Кишинев, 1997, с. 76-100

4. Кудрявцева Т.А., Леонова Н.Е. Подбор бактериальных заквасок для сметаны, стабильно обеспечивающих высокое качество продукта. //Сб. научных трудов «Научное обеспечение молочной промышленности (ВНИМИ 75 лет)», Москва, 2004, стр.157-169.
5. Потемьска О., Кігель Н., Тарадії Г. Заквашувальна культура для ряженки.//Харчова і переробна промисловість, 2002, № 9, с. 25-27.
6. Приданникова И.А. Стартерные культуры для кисломолочных продуктов.//Молочная промышленность, 2001, № 12, с. 29-30.
7. Серебренников В.М., Ворошина Л.Н., Глазунов А.В. Изучение синтеза α – ацетолактата, предшественника диацетила, периодической культурой *Lactococcus lactis*.//Биотехнология, 2005, № 3, с. 13-21.
8. Соколова О.М. Можно ли избежать «крупинчатости» сметаны путем правильного подбора заквасок. //Переработка молока, 2005, № 8, с. 34.
9. Соловьева Е., Ларагодина В. Новые заквасочные культуры для кисломолочных продуктов и сыров. //Молочная промышленность, 2005, № 9, с. 14-15.
10. Степанова Л.И. Факторы, влияющие на качество сметанных продуктов.//Молочная промышленность, 2006, № 10, с. 65.
11. GOST 9225 Методы микробиологического анализа.
12. GOST 3624 Методы определения кислотности.
13. Kosikowska M., Jakubczyk E. Napoje mleczne z udzialem tradycyjnych i nowych mikroorganizmow. //Przem. spoz., 1997, vol. 51, nr. 8, p.12-15.
14. Laudoni A. Obținerea și utilizarea culturilor pentru fabricarea diferitelor sortimente de brânzeturi. //Institutul de Chimie Alimentară, 1995, p.20.
15. Monnet C., Aymes F., Carrien G. Diacetyl and α – acetolactate overproduction by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* mutants that are deficient in α – acetolactate decarboxylase and have a low lactate dehydrogenase activity. //Appl. and Environ. Microbiol, 2000, vol. 66, № 12, p. 418-423.
16. Rondags E., Halliday E., Marc I. Diacetyl production mechanism by a strain of *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* bv. *Diacetylactis*: study of α – acetolactic acid extracellular accumulation under anaerobiosis. //Appl. Biochem. and Biotechnol. A., 1998, № 2, p. 203-212.

PROBLEMELE IDENTIFICĂRII ȘI AMELIORĂRII BACULOVIRUSURILOR

Voloșciuc L. T.

*Institutul de Protecție a Plantelor și Agricultură Ecologică al
Academiei de Științe a Moldovei*

Introducere

Intensificarea cercetărilor în domeniul identificării și geneticii baculovirusurilor a fost determinată de necesitatea elaborării și aplicării preparatelor baculovirale în sistemele de protecție integrată a plantelor [3, 7] și în agricultura ecologică [9, 27]. Deja au fost înregistrate succese remarcabile în cercetarea particularităților biologice ale virusurilor entomopatogene, cât și în folosirea preparatelor virale entomopatogene pentru combaterea biologică a insectelor dăunătoare [17, 19, 25].

Deși în scopul identificării baculovirusurilor au fost propuse diverse metode, care se referă la toate criteriile speciei, începând cu cel morfologic și terminând cu cel geografic și ecologic, totuși problema identificării baculovirusurilor, îndeosebi a Virusului Poliedrozei Nucleare (VPN) rămâne nesoluționată [2, 5]. Aceasta condiționează un