

Ioana Adriana ȘTEFĂNESCU

**MICROBIOLOGIA
PRODUSELOR ALIMENTARE
ȘI A
PRODUSELOR BIOTEHNOLOGICE**

Îndrumar de lucrări practice

CUPRINS

| | |
|--|-----------|
| I. DOTARI MINIMALE ALE LABORATORULUI DE MICROBIOLOGIE A PRODUSELOR ALIMENTARE ȘI PRODUSELOR BIOTEHNOLOGICE..... | 7 |
| I.1. Spațiul și amplasarea laboratorului de microbiologie | 7 |
| I.2. Aparatură, ustensile și materiale caracteristice laboratorului de microbiologie | 8 |
| I.2.1. Aparatură de laborator | 8 |
| I.3. Ustensile de laborator | 9 |
| I.4. Sticlărie de laborator..... | 9 |
| II. MĂSURI DE PROTECȚIA MUNCII ÎN LABORATORUL DE MICROBIOLOGIE A PRODUSELOR ALIMENTARE ȘI PRODUSELOR BIOTEHNOLOGICE..... | 11 |
| II.1. CĂI DE TRANSMITERE ȘI PORȚI DE INTRARE A MICROORGANISMELOR ÎN ORGANISM | 12 |
| III. PREGĂTIREA STICLĂRIEI ȘI A MATERIALELOR PENTRU LUCRU. METODE DE STERILIZARE..... | 14 |
| III.1. Pregătirea sticlăriei și a materialelor pentru determinările microbiologice | 14 |
| III.1.1. Spălarea sticlăriei noi..... | 14 |
| III.1.2. Spălarea sticlăriei întrebuințate..... | 14 |
| III.1.3. Scurgerea și uscarea sticlăriei | 14 |
| III.1.4. Curățarea lamelor și a lamelor de microscop..... | 15 |
| III.1.4.1. Lamele..... | 15 |
| III.1.4.2. Curățirea lamelor..... | 15 |
| III.1.5. Pregătirea sticlăriei spălate și uscate pentru sterilizare..... | 15 |
| III.2. Metode de sterilizare..... | 16 |
| III.2.1. Sterilizare prin caldură uscată..... | 16 |
| III.2.2. Sterilizarea prin căldură umedă | 17 |
| III.2.3. Sterilizarea prin raze (radiații) ultraviolete | 18 |
| III.2.4. Sterilizarea prin radiații ionizante..... | 18 |
| III.2.5. Sterilizarea prin filtrare | 18 |
| III.2.6. Centrifugarea..... | 18 |
| III.2.7. Sterilizarea prin agenți chimici | 18 |
| III.2.8. Metode de prezervare..... | 19 |
| III.3. Factori care influențează eficacitatea metodelor de control | 19 |
| IV. MEDII DE CULTURĂ | 21 |
| IV.1. Clasificarea mediilor de cultură..... | 21 |
| IV.2. Prepararea câtorva medii de cultură utilizate în laboratorul de microbiologie a produselor alimentare și a produselor biotehnologice | 23 |
| IV.3. Aplicație practică..... | 24 |
| V. TEHNICI DE ÎNSĂMÂNȚARE | 26 |
| V.1. Tipuri de însămânțări | 27 |

| | |
|---|-----------|
| V.1.1. Însămânțarea cu ansa | 27 |
| V.1.2. Însămânțarea prin înțepare | 29 |
| V.1.3. Însămânțarea în plăci Petri | 29 |
| VI. EXAMENUL CARACTERELOR CULTURALE BACTERII, DROJDII ȘI MUCEGAIURI..... | 32 |
| VI.1. Caractere morfocoloniale ale bacteriilor | 32 |
| VI.1.1. Culturi în medii lichide în tuburi | 32 |
| VI.1.2. Culturi în medii solide în plăci Petri..... | 33 |
| VI.1.3. Culturi în medii solide în plan înclinat | 34 |
| VI.2. Caractere morfocoloniale ale drojdiilor..... | 34 |
| VI.3. Caractere morfocoloniale ale mucegaiurilor | 35 |
| VI.3.1. Determinarea vitezei de creștere a coloniilor de mucegai | 35 |
| VII. ELEMENTE DE MICROSCOPIE | 37 |
| VIII. EXAMINAREA CARACTERELOR MORFOLOGICE ȘI TINCTORIALE LA BACTERII, DROJDII ȘI MUCEGAIURI..... | 41 |
| VIII.1. Executarea frotiului..... | 41 |
| VIII.2. Examinarea microorganismelor în preparate native | 42 |
| VIII.2.1. Examenul între lamă și lamelă:..... | 42 |
| VIII.2.1.1. Studiul microscopic al culturilor de drojdii | 42 |
| VIII.2.1.2. Studiul microscopic al culturilor de mucegai | 43 |
| VIII.2.1.3. Evidențierea microscopică a bacteriilor | 44 |
| VIII.2.2. Colorația vitală..... | 45 |
| VIII.2.2.1. Colorația cu albastru de metilen..... | 45 |
| VIII.2.2.2. Colorația cu fucsină Pfeiffer | 46 |
| VIII.3. Examinarea microorganismelor pe preparate colorate..... | 46 |
| VIII.3.1. Colorația dublă Gram..... | 46 |
| VIII.3.2. Colorația Ziehl-Neelsen | 47 |
| IX. EVIDENȚIEREA COMPONENTELOR CELULARE A MICROORGANISMELOR..... | 49 |
| IX.1. Evidențierea nucleului la bacterii | 49 |
| IX.2. Evidențierea nucleului la drojdii - (după Bradshaw)..... | 50 |
| IX.3. Evidențierea volutinei | 50 |
| IX.4. Evidențierea peretelui celular bacterian..... | 52 |
| IX.5. Evidențierea sporului bacterian | 52 |
| IX.5.1. Punerea în evidență a sporului bacterian prin metoda indirectă (fiziologică)..... | 52 |
| IX.5.2. Metode directe (de colorare=morfologice)- Metoda Moiler | 53 |
| IX.6. Evidențierea incluziunilor polizaharidice | 54 |
| IX.7. Evidențierea incluziilor lipidice..... | 54 |
| X. TEHNICA IZOLĂRII BACTERIILOR ÎN CULTURI PURE..... | 56 |
| X.1. Metoda diluțiilor succesive în medii lichide | 57 |
| X.2. Metoda diseminării produsului de studiat pe medii solide | 58 |
| X.3. Metoda asocierii diluțiilor succesive cu diseminarea produsului de studiat..... | 58 |
| X.4. Metode de izolare bazate pe acțiunea căldurii | 58 |

| | |
|---|-----------|
| X.5. Metode de izolare prin adaos de substante bacteriostatice | 58 |
| X.6. Metode de izolare și identificare bazate pe evidențierea anumitor proprietăți enzimaticе..... | 59 |
| X.7. Metode de izolare și identificare utilizând medii cu un anumit pH | 59 |
| X.8. Metoda inoculării la animale receptivе..... | 59 |
| XI. DETERMINAREA PRINCIPALILOR PARAMETRI MICROBIOLOGICI URMĂRIȚI ÎN PRODUSELE ALIMENTARE ȘI PRODUSELE BIOTEHNOLOGICE | 61 |
| XI.1. Determinarea numărului total de germeni (NTG) | 61 |
| XI.2. Determinarea numărului total de spori de bacterii aerobe..... | 62 |
| XI.3. Determinarea numărului de clostridii sulfitoreducătoare | 63 |
| XI.4. Determinarea numărului total de drojdii și mucegaiuri..... | 64 |
| XI.5. Determinarea numărului de celule somatice din lapte crud prin metoda microscopică | 65 |
| XII. INFLUENȚA FACTORILOR DE MEDIU ASUPRA CREȘTERII MICROORGANISMELOR..... | 68 |
| XII.1. Influența temperaturii asupra creșterii microorganismelor | 68 |
| XII.1.1. Influența temperaturii de cultivare asupra vitezei de creștere a mucegaiurilor | 68 |
| XII.1.2. Determinarea bacteriilor psihrofile | 69 |
| XIII. EFECTULUI ANTIBIOTICELOR ASUPRA MICROORGANISMELOR..... | 70 |
| XIII.1. Efectuarea antibiogramei prin metoda discurilor..... | 70 |
| XIII.1.1. Evidențierea acțiunii bacteriostatice a unor antibiotice prin metoda discurilor | 70 |
| XIV. EXAMINAREA CARACTERELOR BIOCHIMICE | 72 |
| XIV.1. Evidențierea proprietăților bacteriilor de a degrada glucide..... | 72 |
| XIV.1.1. Examinarea proprietăților de a degrada zaharurile în apa peptonată cu albastru de bromtimol..... | 72 |
| XIV.1.2. Testul de hidroliză a amidonului | 73 |
| XIV.2. Evidențierea proprietăților proteolitice ale bacteriilor..... | 73 |
| XIV.2.1. Testul de gelatinoliză..... | 74 |
| XIV.2.2. Testul de hidroliză a cazeinei..... | 74 |
| XIV.3. Evidențierea produșilor rezultați din descompunerea aminoacizilor.. | 75 |
| XIV.3.1. Evidențierea producerii H ₂ S | 75 |
| XIV.3.1.1. Metoda cultivării pe mediu cu acetat de plumb..... | 75 |
| XIV.3.1.2. Metoda benzilor cu acetat de plumb | 75 |
| XIV.4. Testul de hidroliză a ureei..... | 76 |
| XIV.5. Evidențierea proprietăților reducătoare ale bacteriilor | 76 |
| XIV.5.1. Evidențierea capacității de reducere a nitraților- (Testul de denitrificare)..... | 76 |
| XIV.5.2. Reacția Voges-Proskauer | 77 |
| XIV.5.3. Evidențierea catalazei la bacterii | 78 |
| XIV.5.4. Testul de oxidare-fermentare (testul Hugh și Leifson)..... | 78 |

| | |
|---|------------|
| XIV.6. Teste biochimice pe medii cu conținut de substanțe asimilabile ori toxice la care numai anumite bacterii pot fi rezistente | 79 |
| XIV.6.1. Testul cultivării pe mediul cu citrat de sodiu..... | 79 |
| XIV.6.2. Testul cultivării pe mediu cu KCN | 80 |
| XIV.7. Teste enzimatiche | 80 |
| XIV.7.1. Testul fosfatazei..... | 80 |
| XIV.7.2. Testul coagulazei | 81 |
| XIV.7.2.1. Testul coagulazei pe lamă..... | 81 |
| XIV.7.3. Evidențierea activității lipolitice în plăci cu geloză cu ulei steril | 81 |
| XV. ANALIZA MICROBIOLOGICĂ A LAPTELUI ȘI A PRODUSELOR LACTATE | 82 |
| XV.1. Determinarea numărului total de germeni..... | 82 |
| XV.2. Determinarea numărului probabil al bacteriilor coliforme | 82 |
| XV.3. Proba reductazei cu albastru de metilen..... | 84 |
| XV.4. Examinarea chimică a zerului | 85 |
| XV.4.1. Evidențierea acidului lactic din zer cu ajutorul reacției fenolice ... | 85 |
| XV.4.2. Evidențierea acidului lactic din zer, cu ajutorat reacției aldehidice | 85 |
| XVI. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL CĂRNII ȘI PREPARATELOR DIN CARNE..... | 87 |
| XVI.1. Controlul microbiologic al cărnii crude..... | 87 |
| XVI.1.1. Recoltarea probelor..... | 87 |
| XVI.1.2. Examen bacterioscopic | 87 |
| XVI.1.2.1 Examen direct microscopic..... | 87 |
| XVI.1.3. Examen cultural al cărnii crude | 88 |
| XVI.1.3.1. Pregătirea extractului | 88 |
| XVI.1.3.2. Determinarea numărului de microorgansime | 88 |
| XVI.1.3.3 Determinarea testului HIL | 88 |
| XVI.1.3.4 Determinarea testului I..... | 89 |
| XVI.1.3.5 Determinarea testului L | 89 |
| XVI.2. Controlul microbiologic al mezelurilor | 89 |
| XVI.2.1. Recoltarea probelor..... | 89 |
| XVI.2.2. Examen bacterioscopic | 89 |
| XVI.2.3. Examen cultural | 90 |
| XVI.2.4. Efectuarea testului H.I.L..... | 90 |
| XVII. CONTROLUL STĂRII DE IGIENĂ A AERULUI..... | 91 |
| XVIII. BIOSINTEZA PE CALE MICROBIANĂ A UNOR COMPUȘI DE INTERES INDUSTRIAL..... | 93 |
| XVIII.1. Obținerea de biomasă din fungi | 94 |
| XVIII.2. Obținerea de enzime pectolitice din <i>Aspergillus niger</i> | 95 |
| XVIII.3. Obținerea pigmentilor microbieni | 96 |
| XVIII.3.1. Biosinteza orezului roșu fermentat cu <i>Monascus purpureus</i> | 96 |
| Anexă – Principalele medii de cultură utilizate în analiza microbiologică.. | 98 |
| Indicatori utilizați în microbiologie..... | 109 |
| BIBLIOGRAFIE..... | 110 |