

CZU: 579.6

DOI: 10.46727/c.v1.18-19-03-2023.p179-181

EVALUAREA VIABILITĂȚII BACTERIILOR LACTICE DIN CNMN

ASSESSING VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA FROM NCNM

*Nina Bogdan-Golubi, dr., Institutul de Microbiologie și Biotehnologie,
Universitatea Tehnică a Moldovei*
*Valerina Slanina, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie,
Universitatea Tehnică a Moldovei*

*Nina Bogdan-Golubi, PhD, Institute of Microbiology and Biotechnology,
Technical University of Moldova*
ORCID: 0000-0003-2199-4414, nina.bogdan@imb.utm.md
Valerina Slanina, Institute of Microbiology and Biotechnology, Technical University of Moldova
ORCID: 0000-0002-9833-7933,

Abstract. *This study aimed to assess the viability of lactic acid bacteria strains lyophilized and stored in the National Collection of Non-pathogenic Microorganisms (NCNM). Authentic storing and maintain purity and viability of strains is the first aim of each collection of microorganisms. Lactic acid bacteria are important agents used for dairy products such as sour cream, yogurt or cheese. Morphological and cultural properties shape, edge, diameter of the colony, color and consistency were studied. The technological properties of the strains were carried out by the coagulation activity, lactic acid production and time coagulation determining. Freeze-drying ensures the preservation of strain with technological properties for a long time.*

Keywords: *lyophilization, lactic acid bacteria, collection, viability*

Introducere

Bacteriile lactice cuprind o largă varietate de genuri, incluzând un număr considerabil de specii, care diferă după forme: coci, streptococi (genul *Lactococcus* și *Streptococcus*), diplococi (genul *Leuconostoc*), tetrade (genul *Pediococcus*) și bastonașe (genul *Lactobacillus*). Bacteriile lactice din genurile *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* și *Leuconostoc* sunt utilizate la crearea culturilor starter pentru obținerea produselor lactate fermentate.

Genul *Lactobacillus* conține peste 40 specii și biovariante, care sunt utilizate pentru acidifierea și maturarea unor produse alimentare.

Din genul *Lactococcus* reprezentantul tipic este *Lactococcus lactis*, pe suprafața mediului agarizat formează colonii de tip S în formă de picături cu margine regulată, cu zone transparente condiționate de transformarea carbonatului de calciu sub acțiunea acidului lactic în lactat de calciu solubil. În profunzime coloniile au formă lenticulară.

Reprezentantul principal al genului *Streptococcus* este *Streptococcus thermophilus*, pe mediile solide formează colonii mici, uniforme, cu margini regulate, lucioase, nepigmentate, semitransparente.

Genul *Pediococcus* este responsabil de fermentarea varzei, transformând-o în murătură. În acest proces, zaharurile din varza proaspătă sunt fermentate până la acid lactic, care conferă varzei murate gust acrișor și calități bune de păstrare. Speciile de *Pediococcus* sunt adesea folosite și pentru obținerea nutrețurilor.

Genul *Leuconostoc* include speciile cu importanță practică *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc citrovorum* și *Leuconostoc paracitrovorum*, *Leuconostoc mesenteroides* și *Leuconostoc dextranicum* producătoare de dextran.

Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene (CNMN) prezintă unicul depozit național de microorganisme neapatogene de interes științific, didactic și industrial, conține peste 300 tulpini de microorganisme, din care o parte prezintă bacterii lactice. Menținerea viabilității și purității acestor tulpini cu păstrarea proprietăților valoroase sunt sarcini importante ale fiecărei colecții de microorganisme - de la cercetare științifică până la implementare.

Liofilizarea reprezintă o metoda răspândită și sigură pentru păstrare a stabilității proprietăților biologice ale microorganismelor. Aceasta permite menținerea fără reînsămânțare a culturilor pentru o perioadă îndelungată, deoarece reînsămânțarea permanentă duce la modificări ale proprietăților biologice, ce constituie un avantaj vădit [2].

Scopul cercetărilor a constat în evaluarea viabilității și stabilității bacteriilor lactice depozitate în CNMN după perioada îndelungată de păstrare în stare liofilizată.

Materiale și metode

Drept obiect de studiu au servit tulpinile de bacterii lactice depozitate în CNMN. Reactivarea și reînsămânțarea culturilor a fost realizată conform metodelor standard [1, 3, 4]. Cultivarea a avut loc la temperatura +30°C și +40°C, timp de până la 48 ore. În calitate de mediu protector pentru liofilizare a servit laptele degresat. După resuspendarea tulpinii în mediul protector și repartizarea în fiole a câte 1 mL, probele au fost supuse congelării la temperatura -80°C în ultracongelator ARCTICO ULTF 80, apoi liofilizate la liofilizatorul Free Zone Plus, după care au fost sigilate și păstrate la +4°C.

După reactivare a fost verificată puritatea culturilor pentru a detecta orice modificare a proprietăților fenotipice. Proprietățile morfologice (forma, mărimea, amplasarea celulelor) și caracterele tinctoriale ale bacteriilor lactice au fost studiate prin microscopie. Au fost determinate caracteristicile organoleptice, activitatea de acidifiere și producerea acidului lactic, durata de coagulare, viabilitatea.

Rezultate și discuții

Până în prezent metoda de liofilizare prezintă o metodă de garanție a conservării cu succes ale culturilor microbiene. Dacă toate condițiile sunt îndeplinite corect (respectarea strictă a tuturor detaliilor procesului de liofilizare, precum și a condițiilor de depozitare a culturii liofilizate) distrugerea celulelor culturii are loc foarte lent.

S-a stabilit că din toate grupurile de microorganisme cel mai bine suportă liofilizarea formele bacteriene. Conform rezistenței la uscare bacteriile din genurile *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Salmonella*, *Bacillus* sunt foarte rezistente și viabilitatea lor după uscare constituie 70-100% [5].

În publicațiile de specialitate sunt prezentate rezultatele privind variabilitatea activității biochimice a bacteriilor lactice pe parcursul proceselor de cultivare și păstrare, fapt ce explică necesitatea de a determina stabilitatea și viabilitatea tulpinilor în timpul depozitării.

În urma stresului suportat în timpul liofilizării, tulpinile de bacterii lactice restabilite din stare liofilizată au atins valoarea viabilității min. 78%. Pe suprafața mediului agarizat au format colonii izolate sub formă de picătură, lucioase, cu margini netede, lenticulare în profunzime, de culoare alb-cremă, consistență păstoasă. Microscopia a arătat, că toate culturile sunt pure, prezintă coci și diplococi separați, sau plasați în lanțuri de diferite lungimi.

Principali indici ce determină utilitatea industrială a tulpinilor concomitent cu viabilitatea culturii sunt: activitatea fermentativă a bacteriilor, acumularea acidului lactic și proprietățile

organoleptice. Tulpinile studiate au manifestat o viteză înaltă de acidulare a laptelui pînă la 9,5 ore, au format coagul omogen cu consistență densă, cu gust de lapte fermentat (gust acrișor, dulce-acrișor, gust dulce, slab acru), fără miros străin, ceea ce corespunde cerințelor.

Cea mai rapidă modificare biochimică a produsului fermentat este acidifierea ca rezultat al fermentării lactozei de către bacterii și transformarea ei în acid lactic. Tulpinile studiate au o viteză de acidulare înaltă, cantitatea acidului lactic variind de la 0,57g/100g pînă la 1,08g/100g cu limita de aciditate 105 °T. Rezultatele obținute confirmă păstrarea proprietăților biotehnologice și capacitatea sporită de regenerare a tulpinilor, descrise și de alți autori.

Concluzii

Viabilitatea celulelor culturii microbiene este principalul parametru al eficacității procesului de liofilizare. Analizând datele obținute putem concluziona că după 15 ani de depozitare în stare liofilizată viabilitatea tulpinilor de bacterii a scăzut, dar titrul de celule viabile se menține la nivel suficient pentru păstrarea proprietăților valoroase.

Rezultatele au fost obținute în cadrul Proiectului din Programului de Stat (2020-2023) cu cifra 20.80009.7007.09

Bibliografie

1. ZARNEA G., MIHĂILESCU Gr., VELEHORSCHI V. Principii și tehnici de microbiologie generală, București: Ed. Univ., 1991, 330 p.
2. КУПЛЕТСКАЯ, М., НЕТРУСОВ, А. И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизмов после 50 лет хранения. В: *Микробиология*. 2011, № 80(6), с. 842-846.
3. ЛУСТА, К. А. *Методы определения жизнеспособности микроорганизмов* / К. А. Луста, Б. А. Фихте. - Пушино: ОНТИ НЦБИ, 1990, 186 с.
4. *Микробиология: культивирование и рост бактерий. Практическое руководство для студ. биологич. спец. вузов* / И. И. Концевая. М-во образования РБ, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины. - Чернигов: Десна Полиграф, 2017, 44 с.
5. СИДОРЧУК, А., КРАСНОВА, А. Сохранность культур бактерий различных групп при длительном хранении в лиофилизованном состоянии. В: *Российский ветеринарный журнал: с.-х. животные*. 2016, № 3, с. 22-25.