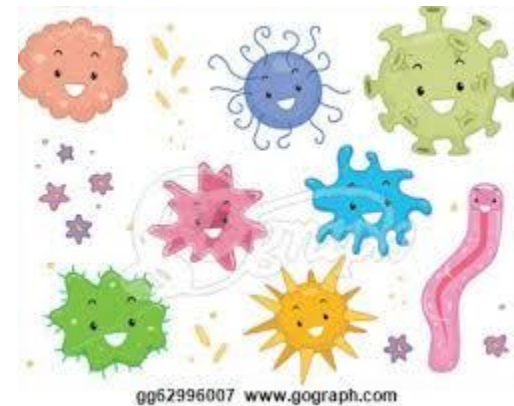


# MICROBIOLOGIE ALIMENTARA SI INDUSTRIALA

---



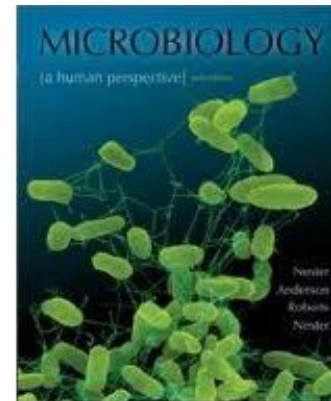
# Microorganisme & Microbiologie

## Microorganisme

- sunt sisteme cu organizare complexă, monocelulare sau pluricelulare, cu metabolism propriu și continuitate genetică, cu o infinită diversitate a caracterelor morfologice și fiziologice.
- În sensul acestei definiții din imensul grup al microorganismelor fac parte:
  - bacterii,
  - alge microscopice,
  - fungii (drojdii – levuri și mucegaiuri – fungi filamentoși),
  - protozoare etc

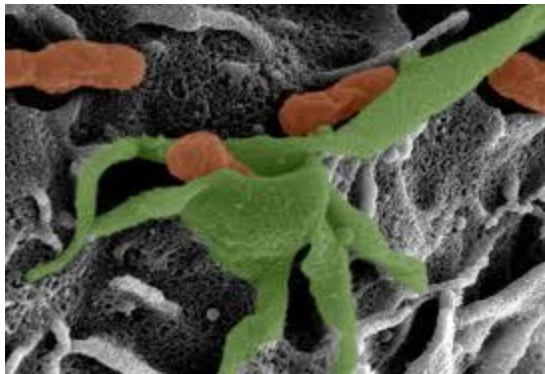
## Microbiologia

- este o știință fundamentală care studiază morfologia, fiziologia și sistematica microorganismelor, originea și evoluția lor, fenomenele de ereditate și variabilitate microbială.
- Etimologia cuvântului provine din limba greacă:
  - micros = mic; bios = viață; logos = știință.



# Microorganismele & Microbiologie

- microbiologia chimică
- microbiologia produselor alimentare
- microbiologia industrială
- microbiologia solului, a apei, microbiologia geologică, fitopatologia, microbiologia sanitară, agricolă, ecologică, cosmică, genetica microbiană, biologia moleculară



# Microorganismele

- sunt ubicuitare
  - majoritatea nepatogene
  - unele condiționat patogene
  - un mic procent patogene



În contrast cu dimensiunile atât de mici ale microorganismelor, rolul lor în natură este imens. Implicate direct în uriașele transformări ale materiei organice nevii, prin procese de putrefacție-putrezire, fermentații etc., microorganismele asigură în natură un circuit al principalelor elemente universale ce intră în structura organismelor vii și au rol vital în menținerea ecosistemelor, deoarece fără activitatea lor „**pământul s-ar transforma într-un uriaș cimitir**”.



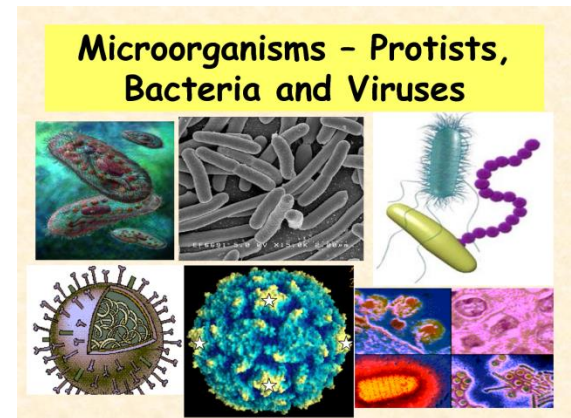
# Microorganismele



- au dimensiuni *microscopice*, ceea ce le face invizibile cu ochiul liber;
- in general au *organizare unicelulara*. Chiar daca unele microorganismele formeaza asociatii pluricelulare, ele raman, in esenta, organisme unicelulare, deoarece, o celula izolata din complexul multicelular isi pastreaza viabilitatea, creste, se divide si reface asociatia;
- structura lor interna este relativ simpla, comparativ cu a macroorganismelor.
- Au roluri pozitive dar si negative atat in organism cat si in industrie

# Rolul pozitiv al microorganismelor

- Producere de oxigen: cianobacterii
- Circulația biologică a materiei în natură: saprofiți
  - descompunerea substanelor organice din sol în produse simple (ciclul oligoelementelor: C, N, S, P, Fe)
- În industrie
  - fabricarea alcoolului etilic
  - vinificație
  - industria berii
  - panificație
  - produse lactate: iaurt, lapte acru, brânzeturi
  - murături
- Protecția mediului
  - descompun deșeurile rezultate din activitatea industrială



# Microorganismele in vietile noastre



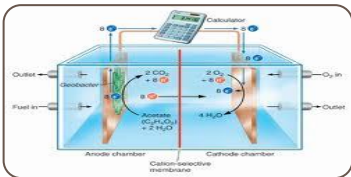
Produse alimentare

- *Lactococci*
- Lapte fermentat



Tratarea apelor

Anumite bacterii in special apartinand genului *Bacillus*



Energie

- Produc metan



Stiinta- laboratoare



Patogene -anthrax

# Microorganismele

- Microorganismele și produse alimentare
  - 1) Previn degradarea
  - 2) Se utilizează la obținerea a numeroase produse alimentare
- Microorganismele și energia
  - 1) Gaze naturale (metan)
  - 2) Etanol (biocombustibil)
  - 3) Bioremediere
- Microorganismele și viitorul
  - 1) Inginerie genetică



# Microorganismele și producerea de boli







# Gânduri pentru azi:

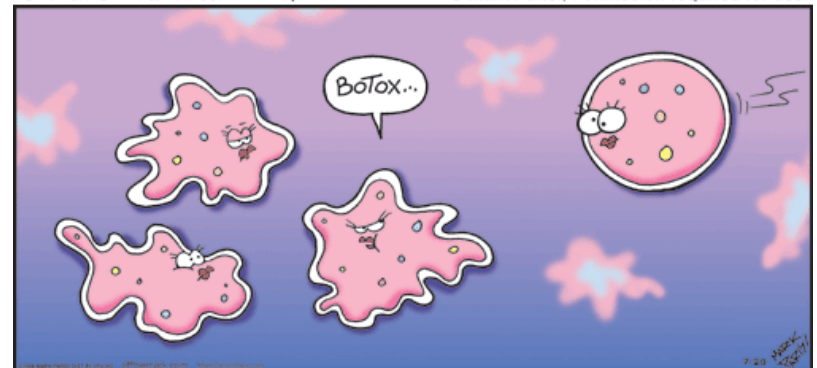
Deci, cum pot microorganismele sa ne fie utile?

- În mâncare?
- În mediul?
- În prevenire a bolilor?
- În agricultură?
- În obtinerea de energie?
- În tratarea apelor reziduale?

off the mark.com

by Mark Parisi

© Mark Parisi, Permission required for use.



# Cum putem vedea microorganismele?

- Unități de măsură:

Atunci când vorbim despre celulele și organisme microscopice, unitatea de măsurare folosită este MICROMETRU (abreviat:  $\mu$ --microni) sau  $\mu\text{m}$  (micrometru).

$$1 \mu\text{m} = 1 \times 10^{-6} \text{ metri} / 1 \times 10^{-3} \text{ mm}$$

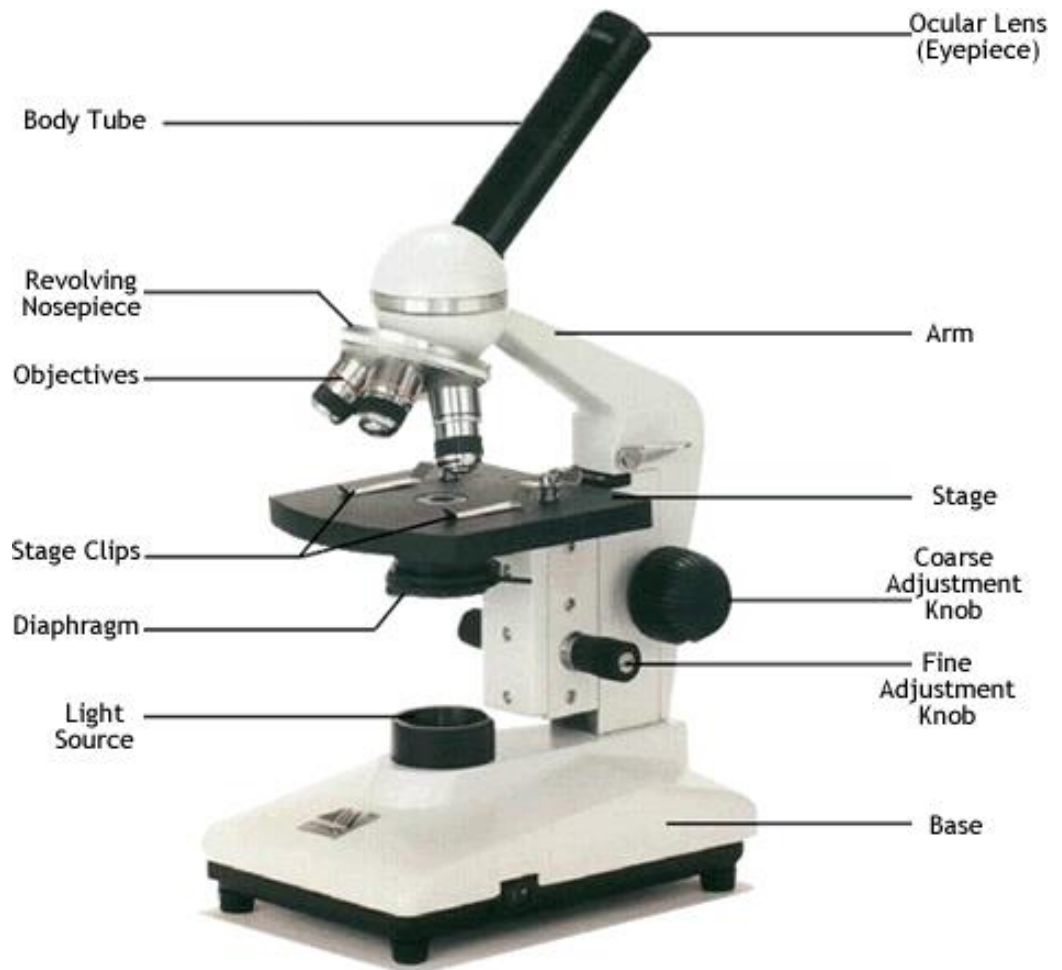
$$1 \text{ mm} = 1 \times 10^6 \text{ nanometri} / 1 \times 10^3 \mu\text{m}$$

Pentru a vă oferi idee de cât este de mic un micrometru:

- 1- un fir de par uman are lățimea de aproximativ  $100 \mu\text{m}$ ,
- 2- o celulă roșie din sânge are lungimea în jur de  $8 \mu\text{m}$
- 3- dimensiunea tipică a unei celule animale ar fi de  $10\text{-}100 \mu\text{m}$

# Microscop

Un microscop este un instrument optic de mare precizie, care foloseste o lentila sau o combinatie de lentile, pentru a produce imagini mult mai mari ale unor specimene sau obiecte mici – in special atunci cand sunt prea mici pentru a le observa cu ochiul liber.



# Microscop optic

- Imaginea este amplificata de oculare

**Grad mărire = Grad mărire obiectiv x Grad mărire ocular**

Puterea de marire variaza intre 40 si 1000 de ori dar poate merge pana la 1500x sau 2000x. Cea mai importanta zona folosita este cea intre 400x-500x

In cazul acestui tip de microscop, pentru a obtine o imagine marita, lumina are un traseu unic care trece printr-o serie de lentile – in linie – fiecare lentila marind imaginea deja marita de lentila care a precedat-o. Pe scurt: un singur traseu al luminii si mai multe lentile. Sistemul de lentile consta dintr-un obiectiv (cea mai apropiata lentila de obiect sau specimen), un ocular (cea mai apropiata lentila de ochiul observatorului), un mecanism de focusare a imaginii si unul de pozitionare a specimenului sau obiectului. In plus, microscopul foloseste lumina (reflectata de o oglinda, naturala, de la o alta sursa sau de la un iluminator incorporat) pentru a ilumina specimenul sau obiectul astfel incat acesta sa poata fi vazut cu ochiul.

# Alte tipuri de microscop

- Cu contrast de faza – este un microscop care foloseste diferentele din fazele luminii transmise sau reflectate de un specimen pentru a forma imagini distincte si contrastante a diferitelor parti ale specimenului
- Polarizante – un microscop la care specimenul observat este iluminat cu lumina polarizata – pentru analiza unor materiale ne-organice precum cristalele, in chimie sau mineralogie optica.
- Fluorescente – microscop care folosesc o metoda de iluminare pentru localizarea materialelor marcate fluorescent (proteine, enzime, gene) extragand o lungime de unda in speranta ca elemente fluorescente vor aparea emitand o lumina la o lungime de unda distincta.
- Metalurgice – microscop folosite pentru identificare, inspectia si analiza diferitelor metale sau aliaje.
- Cu raza de electroni – Pretul acest tip de microscop trece de obicei de suma de 100.000\$. Un astfel de microscop foloseste o raza cu electroni in locul luminii, pentru a face examinari de mare finete a unor specimene. Pot ajunge la mariri de peste 250.000x si se pot examina la un specimen topologia, morfologia, compozitia, etc.
- Digitale – Combinatii intre un microscop si o camera digitala. Cele mai populare camere digitale sunt cele care folosesc senzori CMOS sau CCD. Camera poate fi incorporata sau atasabila. Folosind un software dedicat, utilizatorul poate vedea, salva si edita imaginea. Unele programe deloc ieftine pot face si diferite tipuri de analize ale imagini (medicale, de exemplu)





# O scurta istorie a microbiologiei

## Dezvoltarea microscopiei

- (384-322) **Aristotel și alții** credeau că organismele vii s-ar putea dezvolta din materiale moarte.
- 1590: **Hans and Zacharias Janssen** (Dutch lens grinders) au montat două lentile într-un tub pentru a produce primul microscop.
- 1660: **Robert Hooke** (1635-1703) a publicat "Micrographia" cu desene și observații detaliate ale materialelor biologice realizate cu cel mai bun microscop și sistemul de iluminare disponibil.
- 1676: **Anton van Leeuwenhoek** (1632-1723) prima persoana care a observat microorganismele.
- 1883: **Carl Zeiss** și **Ernst Abbe** pionieri în microscopie (au descoperit lentilele cu imersie și lentilele apochromatice care reduc aberațiilor cromatice) care există până în ziua de azi.
- 1931: **Ernst Ruska** a construit primul microscop electronic.

# Descrierea lui van Leeuwenhoek despre bacterii

Din dantura proprie, el a observat

(A) - bacili

(B)- bacili sub forma de tija

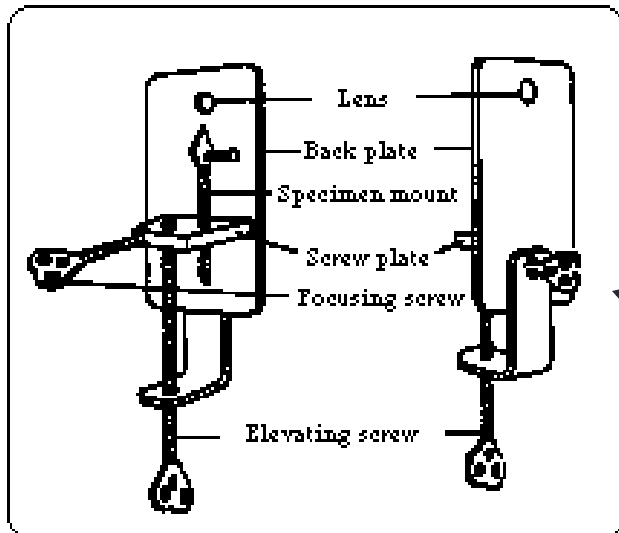
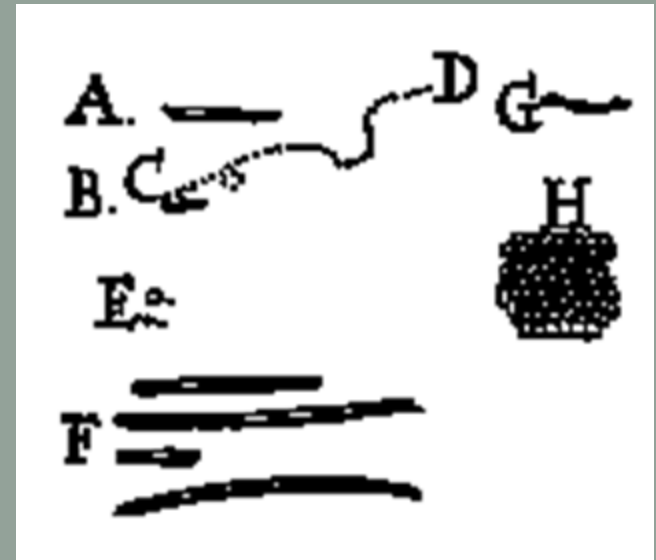
(C) & (D)- cai de mișcare

(E)- forme sferice

(F)- formă alungită

(H)- aglomerari

-Royal Society letter (Sept 17<sup>th</sup>, 1683)



Microscopul utilizat  
simplu (o singura lentila)



Bazele microbiologiei moderne au apărut odată cu infirmarea teoriei generației spontane și acceptarea teoriei celulare (sau teoria germenilor) ca și cu descoperirea microscopului.

"omne  
vivum a  
vivo" (tot ce  
e viu vine  
din ceva  
viu).

1688: **Francesco Redi** (1626-1678) a fost un medic italian, care a respins ideea de generare spontană arătând că, carnea în putrezire păstrată cu atenție la adăpost de muște nu va produce spontan viermi.



1836: **Theodor Schwann** (1810-1882) a contribuit la dezvoltarea teoriei celulare a organismelor vii: toate organismele vii sunt compuse din una sau mai multe celule și că celula este unitatea funcțională de bază organismelor vii.



1861: **Louis Pasteur's** (1822-1895) celebrele experimente cu baloane de gât de lebădă care în cele din urmă au dovedit că microorganismele nu apar prin generare spontană.



# Epoca de aur a Microbiologiei ~1857-1914 (aproximativ 50 ani)

Începând cu munca lui Pasteur, descoperirile au inclus: relația dintre microbi și boli, imunitatea și medicamente antimicrobiene

## Robert Koch



- a. A identificat bacteria care cauza antrax
- b. A utilizat gelatina, ansa de inoculare pentru a transfera bacterii și a obține culturi pure.
- c. A introdus "Koch's Postulates" și conceptul că o boală este cauzată de un singur organism.

## Joseph Lister (1865)



- a. A introdus tehnicile "antiseptice".
- b. A utilizat fenol ca dezinfectant.

## Martinus Beijerinck (1884 - 85)

- a. A descoperit "virusi" (toxine, otrăvuri).
- b. Agenți infecțioși în fluidele de plantă de tutun.

## Paul Ehrlich (1910)

- a. A introdus conceptul de chimioterapie.
- b. Utilizarea de salvarsan pentru tratamentul sifilisului.

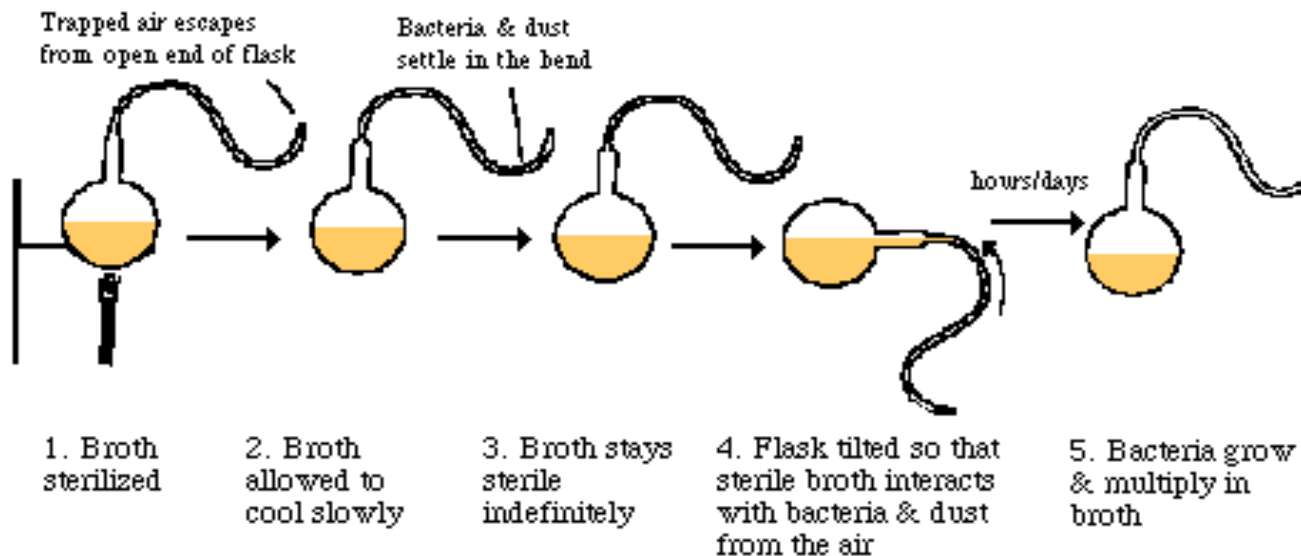
## Alexander Fleming (1928)

- a. A descoperit primul antibiotic - penicilina.

Louis Pasteur's (1822-1895) famous experiments with swan-necked flasks

Aceasta a condus la:

- Dezvoltarea sterilizării și a tehnicilor aseptice.
- Deși această teorie mai fusese propusă anterior, [Louis Pasteur](#) are meritul să fi reușit, în 1862, să dovedească printr-o serie de teste riguroase că [fermentația](#) nu apare spontan, ci este produsă de microorganismele care se dezvoltă în mediile bogate în nutrienți, în urma expunerii acestora la aer. Pasteur a arătat că fermentația poate fi prevenită dacă aerul care ajunge la mediul de cultură este trecut printr-un filtru sau printr-un tub lung ținut în flacără. Prin aceste experimente, Pasteur nu numai că a infirmat definitiv teoria generației spontane, dar a și pus bazele tehnicilor moderne de [sterilizare](#).





# Dovada că microbii cauza bolii



1546: **Hieronimus Fracastorius** (Girolamo Fracastoro) a scris "On Contagion", prima analiza a fenomenelor implicate in infectii contagioase.

1835: **Agostino Bassi de Lodi** a arătat că o boală care afectează viermii de mătase a fost cauzată de o ciupercă – prima data când s-a demonstrat că un microorganism poate provoca boala altui organism

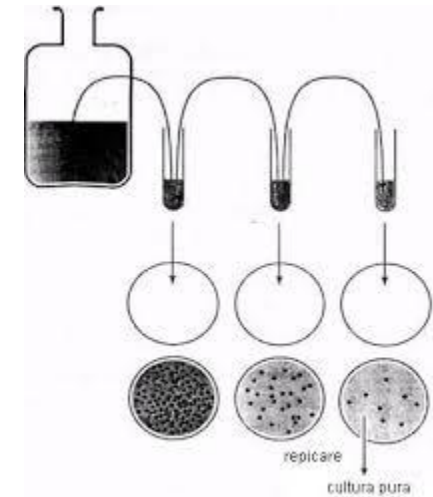
1847: **Ignaz Semmelweiss** (1818-1865), a fost primul ce a observat că doctorii spitalelor din Viena răspândeau infecții puerperile și i-a obligat să-și spele mâinile înainte de naștere.

1857: **Louis Pasteur** stabileste principiul specificitatii microbiene, punand bazele teoriei bolilor infectioase si demonstrand ca acestea sunt rezultatul patrunderii in organism a unor agenti patogeni: intre activitatea unui agent patogen si particularitatile pe care le determina exista o anumita specificitate. Pasteur evidentiaza principiul vaccinarii si stabileste bazele stiintifice ale prepararii vaccinurilor. A demonstrat pentru prima data ca agentii patogeni, chiar cei mai periculosi, pot fi modificati pentru a fi folositi ca vaccinuri. El a numit vaccinuri culturile avirulente utilizate pentru inocularea preventiva ce stimuleaza imunitatea organismului fata de tulpina microbiana virulenta..

1876: **Robert Koch** (1843-1910) a elaborat o serie importanta de tehnici de izolare, utilizand mediile de cultura solidificate (cu gelatina) pe care cresterea microorganismelor se face sub forma de colonii izolate. Cum o colonie microbiana reprezinta descendenta unei singure celule parentale, insamantarea ei ulterioara intr-un mediu steril genereaza o cultura de celule din aceeasi specie sau tulpina. Descoperirea acestei posibilitati de a obtine culturi pure a constituit un progres care a stat la baza Microbiologiei moderne, deoarece a oferit un mijloc simplu si sigur de izolare a bacteriilor, in vederea studierii biologiei lor, a identificarii si incadrarii lor sistematice. Koch a utilizat tehnici de colorare pentru preparatele microscopice (frotiuri) si in 1882 a identificat bacilul care-i poarta numele (B.K.), agentul patogen al tuberculozei. In 1905, Koch este recompensat cu premiul Nobel pentru fiziologie si medicina.

## IZOLAREA ȘI IDENTIFICAREA MICROORGANISMELOR

Pentru a putea fi studiat un microorganism trebuie scos din mediul în care trăiește în mod natural. Scoaterea unui microorganism din mediul lui natural de face prin metode de izolare.



Prelevarea (recoltarea probelor) este operația prin care specialistul reține un eșantion dintr-un mediu natural sau produs ce urmează să fie analizat. Numărul de probe prelevate, trebuie să varieze în funcție de obiectivul urmărit, de densitatea posibilă a microorganismului de izolat sau de răspîndirea sa într-un anumit interval de timp.

Microorganismele sunt raspândite pretutindeni în natură: aer, apă, sol și pe suprafața corpului viețuitoarelor, pe toate obiectele pe care le manipulăm. În cercetările de microbiologie, este necesar să se asigure sterilitatea mediului de laborator și a aparaturii cu care se lucrează. Prin steril în microbiologie se înțelege lipsa totală a oricăror microorganisme de pe suprafața și din interiorul obiectelor, dintr-un spațiu sau de pe o suprafață. Această condiție este asigurată prin operațiunea numită **sterilizare**.

Prin sterilizare se înțelege **distrugerea sau îndepărtarea tuturor microorganismelor**, atât în formă vegetativă, cât și sub formă de spori, din medii sau de pe obiectele supuse sterilizării.



## A. STERILIZAREA PRIN AGENȚI FIZICI

Dintre agenții fizici cu acțiune sterilizantă cei mai importanți sunt:

### 1. sterilizare prin caldură uscată:

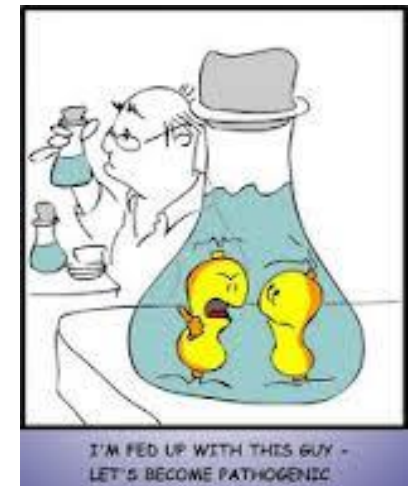
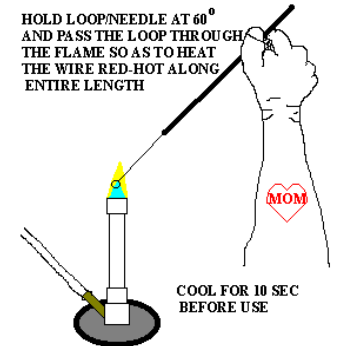
- sterilizare prin flambare;
- sterilizare prin încălzire la roșu;
- sterilizare prin aer cald.

### 2. sterilizare prin caldură umedă:

- sterilizare prin fierbere;
- sterilizare prin vapori de apă sub presiune;
- sterilizare prin pasteurizare;
- sterilizare prin tindalizare.

### 3. sterilizare cu razele ultraviolete;

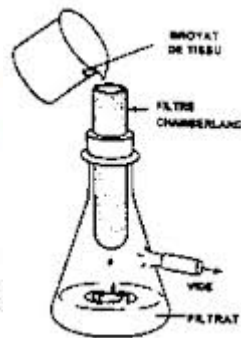
### 4. sterilizare cu ultrasunete.



## B. STERILIZAREA PRIN FILTRARE

Tipuri de filtre:

- Filtre Chamberland. Sunt confectionate din portelan, având forma de bujii.
- Filtre BerKefeld, din kiselgur
- Filtre Seitz, din azbest
- Filtre de sticlă - Schott-Jena
- Membrane filtrante: celuloza, PTFE, PVDF.





## C. STERILIZAREA PRIN AGENȚI CHIMICI

Pentru sterilizarea prin agenți chimici este folosit în special termenul de **dezinfecție**.

Ea are drept scop distrugerea germenilor patogeni în vederea înlăturării posibilităților de infecție.

Se folosesc în mod curent următorii agenți chimici sterilizanti, de uz curent:

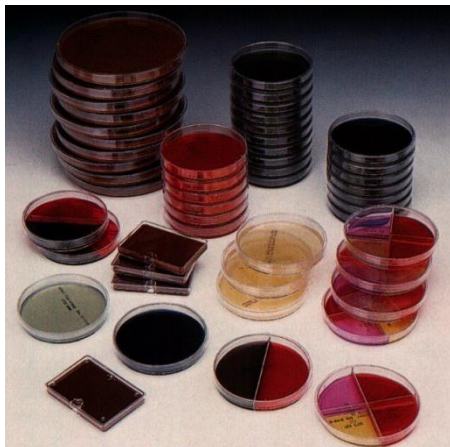
- soluția de **sublimat corosiv** 0,1%, pentru dezinfecția meselor, mobilierului din sticlă și faianta, pentru dezinfecția mai riguroasă a mâinilor;
- soluția de **bicromat de potasiu** 5%, pentru dezinfecția pipetelor întrebuințate;
- **alcool etilic 70%**, pentru dezinfecția curentă a mâinilor;
- **formol 40%**,
- **fenolul** în concentrație de 5%, pentru dezinfecția diferitelor obiecte din sticlă, porțelan, metal;
- **apa oxigenată** în concentrație de 3%, pentru dezinfecția mâinilor și mucoaselor;
- soluție de hidroxid de sodiu 20%, pentru sterilizarea mobilierului și dușumelelor;
- **cloramina 1%**, pentru dezinfecția mâinilor, iar în concentrație de 5-6%, pentru dezinfecția meselor de laborator
- **clorul** pentru dezinfecția apei;
- diferiți detergenți, pentru dezinfecția sticlăriei și a rufelor.

Sterilizarea prin agenți chimici este folosită în laboratoarele de microbiologie numai pentru obiectele și materialele întrebuințate. De asemenea, se mai folosesc agenți chimici sterilizanti și pentru conservarea lichidelor organice (ser sanguin, sânge, urină) și a altor materiale biologice (seruri imune și vaccinuri).

Un **mediu de cultură** reprezintă un substrat nutritiv complex, steril, care trebuie să asigure microorganismelor cantitatea necesară de apă, sursa de carbon, de azot, săruri minerale, factori de creștere, deci care să le furnizeze substanțele și energia necesare în procesele de creștere, reproducere și întreținerea funcțiilor vitale.

Mediul de cultură trebuie să îndeplinească următoarele condiții:

- ❖ să corespundă din punct de vedere nutritiv,
- ❖ să aibă o concentrație a substanțelor dizolvate care să nu influențeze negativ schimburile osmotice ale celulei
- ❖ să nu conțină substanțe toxice,
- ❖ să aibă un anumit pH
- ❖ să fie steril (lipsit de microorganisme vii), astfel încât să se dezvolte numai celulele introduse prin inocul.



După scopul utilizării lor, mediile de cultură se împart în:

A. medii de cultura de laborator

- medii de cultură **simple (generale)** care asigură dezvoltarea unui mare număr de specii
- medii de cultura **complexe** care sunt utilizate la izolari de microorganisme, pentru cresterea si pastrarea lor
- medii de cultură **speciale**:
  - **selective** care permit dezvoltarea unui număr restrâns de microorganisme
  - **de diferențiere** care permit separarea speciilor în funcție de anumite caractere biochimice
  - **de îmbogățire** destinate separării și cultivării unor microorganisme pretențioase din punct de vedere nutritiv sau care se află în număr redus
  - **de conservare** destinate menținerii în viață și păstrarea proprietăților fiziologice și biochimice ale microorganismelor

B. medii de cultură **industriale**

Din punct de vedere al compoziției chimice, mediile de cultură se împart în 3 categorii:

- ❖ medii **naturale** de origine animală sau vegetală;
- ❖ medii **sintetice**;
- ❖ medii **semi-sintetice**.

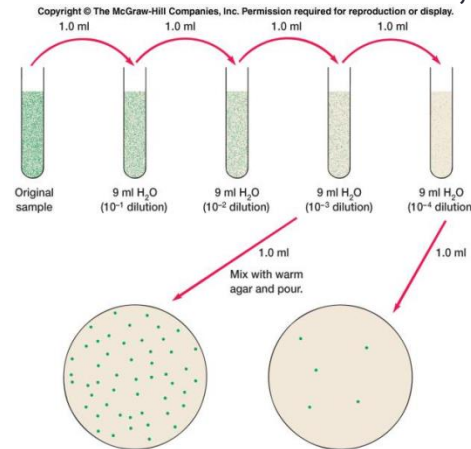


Pentru a putea fi studiat un microorganism trebuie scos din mediul în care trăiește în mod natural.

**Izolarea unui microorganism**, constă în operații de

1. Prelevarea unor probe biologice dintr-un mediu potențial,
2. Cultivarea eșantioanelor de probă în laborator pe un mediu de cultura steril și
3. Separarea microorganismelor din probă
4. Identificarea și caracterizarea microorganismului.

**Tehnica plăcilor turnante** a lui Koch ne indică că diluția la care trebuie să se lucreze în cazul bacteriilor este de 1/100.000, iar în cazul ciupercilor diluția optimă este de 1/1.000.



Metodologia de identificare și caracterizare a unui microorganism cuprinde o serie de teste:

- morfologice,
- fiziologice,
- biochimice,
- serologice și genetice.

# ORGANIZAREA COLECTIILOR DE MICROORGANISME SELECTIONATE PENTRU INDUSTRIE

---

# Microorganismele

- sunt elemente de bază în microbiologie și biologie celulară, sunt organisme vii, fiind instrumente de cercetare, producători de compuși deosebit de importanți pentru industrie, combustibili, și baza pentru predare și educație în microbiologie.
- sunt cultivate și utilizate în număr mare, în laboratoarele și industria din întreaga lume.
- trebuie menținute fără modificări pentru a se asigura reproductibilitatea și durabilitatea acestor procese.
- microbiologii stabilesc de multe ori colecții proprii de laborator pentru a se asigura că tulpinile lor cheie sunt menținute pentru o utilizare viitoare și pentru confirmarea rezultatelor.

# Colectii de culturi

- Sub formă de culturi pure sunt pastrate microorganismele aflate in studiu sau care prezinta proprietati de biosinteza remarcabile, culturi intretinute si înregistrate in colectii autorizate de microorganismе, denumite **micoteci**.
- Colectiile de culturi sunt deosebit de importante pentru comunitatea stiintifica . Prima colectie a fost infiintata de catre Frantisek Kral la Praga spre sfarsitul secolului al XIX-lea. In anii care au urmat, mai multe colectii de culturi celulare s-au stabilit la nivel mondial.
- Rolul primordial al acestor colectii a fost de a oferi comunitatii stiintifice si industriale, acces la culturi autentice si sfaturi de specialitate cu privire la cultivarea si conservarea lor.



# Organizare

**Din punct de vedere organizatoric, susținerea activităților de colectare se realizează la nivel național:**

- United Kingdom Federation for Culture Collections - UKFCC,
- United States Federation for Culture Collections - USFCC,
- Japan Federation for Culture Collection - JFCC,
- United Kingdom National Culture Collection - UKNCC,
- Belgium Coordinated Collection of Micro-organisms - BCCM .

**la nivel european** există

- Organizația Europeană a Colecțiilor de Culturi (European Culture Collection Organisation ECCO),

**iar la nivel internațional:**

- Federația Mondială a Colecțiilor de Culturi (World Federation for Culture Collections - WFCC),
- Baza de Date de Tulpini Microbiene (Microbial Strain Data Network - MSDN),
- Centrele de Resurse Microbiene (Microbial Resource Centres - MIRCENs).

# COLECTII DE MICROORGANISME PENTRU INDUSTRIA ALIMENTARA

Acronim	WDCM nr.	Colectie
NCIMB	<a href="#">WDCM 653</a>	National Collections of Industrial Food and Marine Bacteria (incorporating the NCFB)
FRR	<a href="#">WDCM18</a>	Food Science Australia, Ryde
UMFFTD	<a href="#">WDCM562</a>	Food and Fermentation Technology Division, University of Mumbai
FNCC	<a href="#">WDCM755</a>	Food and Nutrition Culture Collection- Indonesia
FTCC	<a href="#">WDCM762</a>	Food Technology Culture Collection- Malaezia
IFRPD	<a href="#">WDCM676</a>	Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Tailanda
FTCMU	<a href="#">WDCM690</a>	Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tailanda

[World Data Centre for Microorgannisms](#)

# COLECTII DE MICROORGANISME PENTRU INDUSTRIA ALIMENTARA

- BIOALIMENT

Colectia de microorganisme a laboratorului de Microbiologie MIUG (conservarea si gestiunea microorganismelor performante)



# DENUMIREA ȘI CLASIFICAREA MICROORGANISMELOR

---

- Sistemul Linnaeus de nomenclatura științifică
- Fiecare organism are doua nume :
  - 1 ) Genul
  - 2 ) Specia

# Denumire stiintifica

- Înclinat (italic) sau subliniat.
- Genul este scris cu litera mare, iar specia (denumirea specifica) este cu litere mici
- De origine latina

e.g. *Escherichia coli* (*E. coli*)

- a fost descoperita de : Theodor Escherich
- descrie habitatul obisnuit (colon/intestine)



In intestine

e.g. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

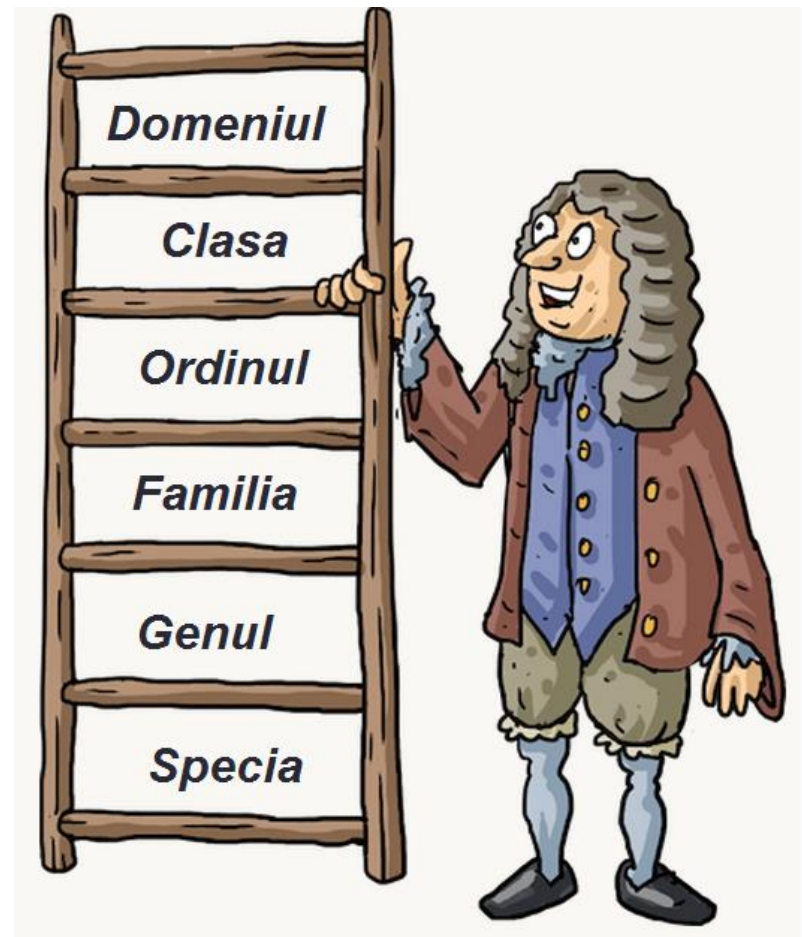
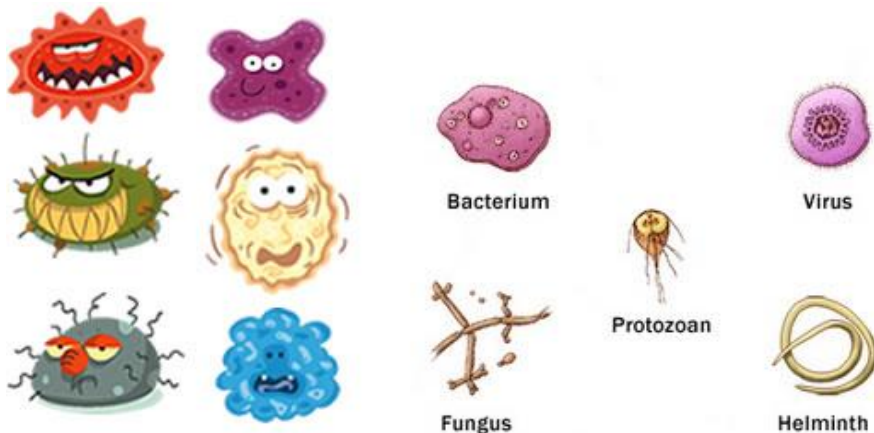
- Aglomerari (staphylo), sferice (cocci)
- Colinii colorate in auriu(aureus)



Pe piele

# Principalele categorii de nomenclatură microbială

- **Specia,**
- **Genul,**
- **Familia,**
- **Ordinul,**
- **Clasa,**
- **Diviziunea**
- **Domeniul.**



# Trandafirul

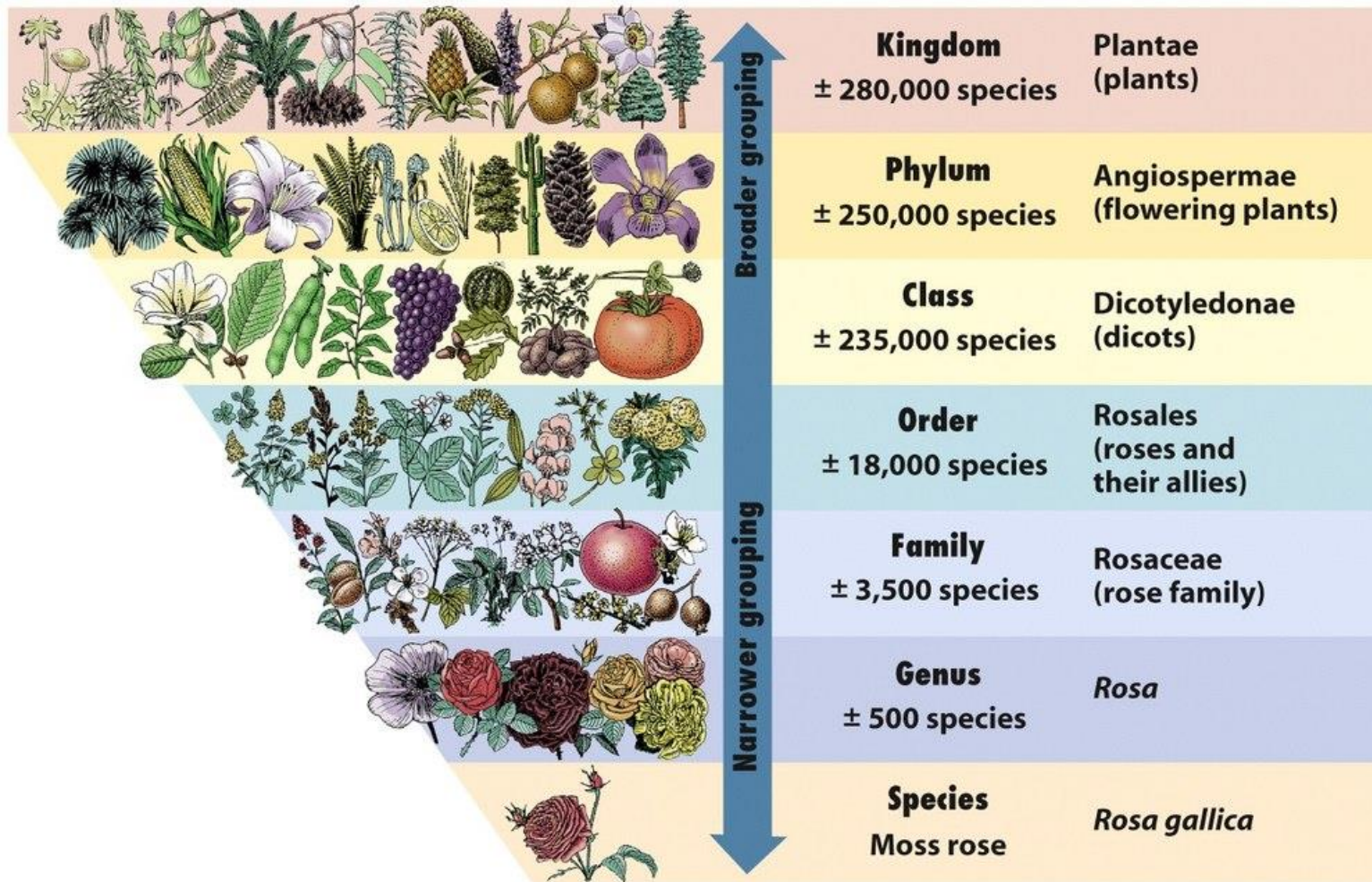
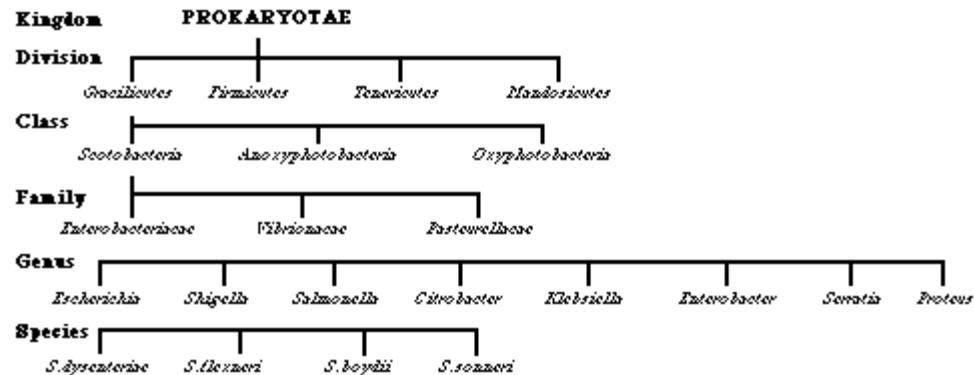


Figure 2-6 Discover Biology 3/e  
© 2006 W. W. Norton & Company, Inc.



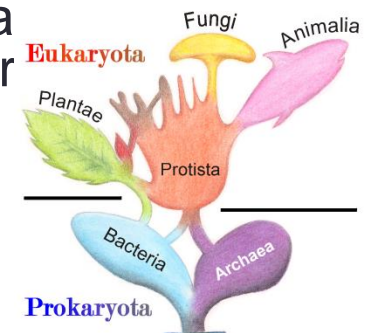
# Escherichia coli

	Exemplu
<b><i>Tulpina microbială,</i></b> <b><i>Specia,</i></b> <b><i>Genul,</i></b> <b><i>Familia,</i></b> <b><i>Ordinul,</i></b> <b><i>Clasa,</i></b> <b><i>Diviziunea sau filum</i></b> <b><i>Domeniul</i></b>	coli Escherichia Enterobacteriaceae Enterobacteriales Gammaproteobacteria Proteobacteria Bacteria

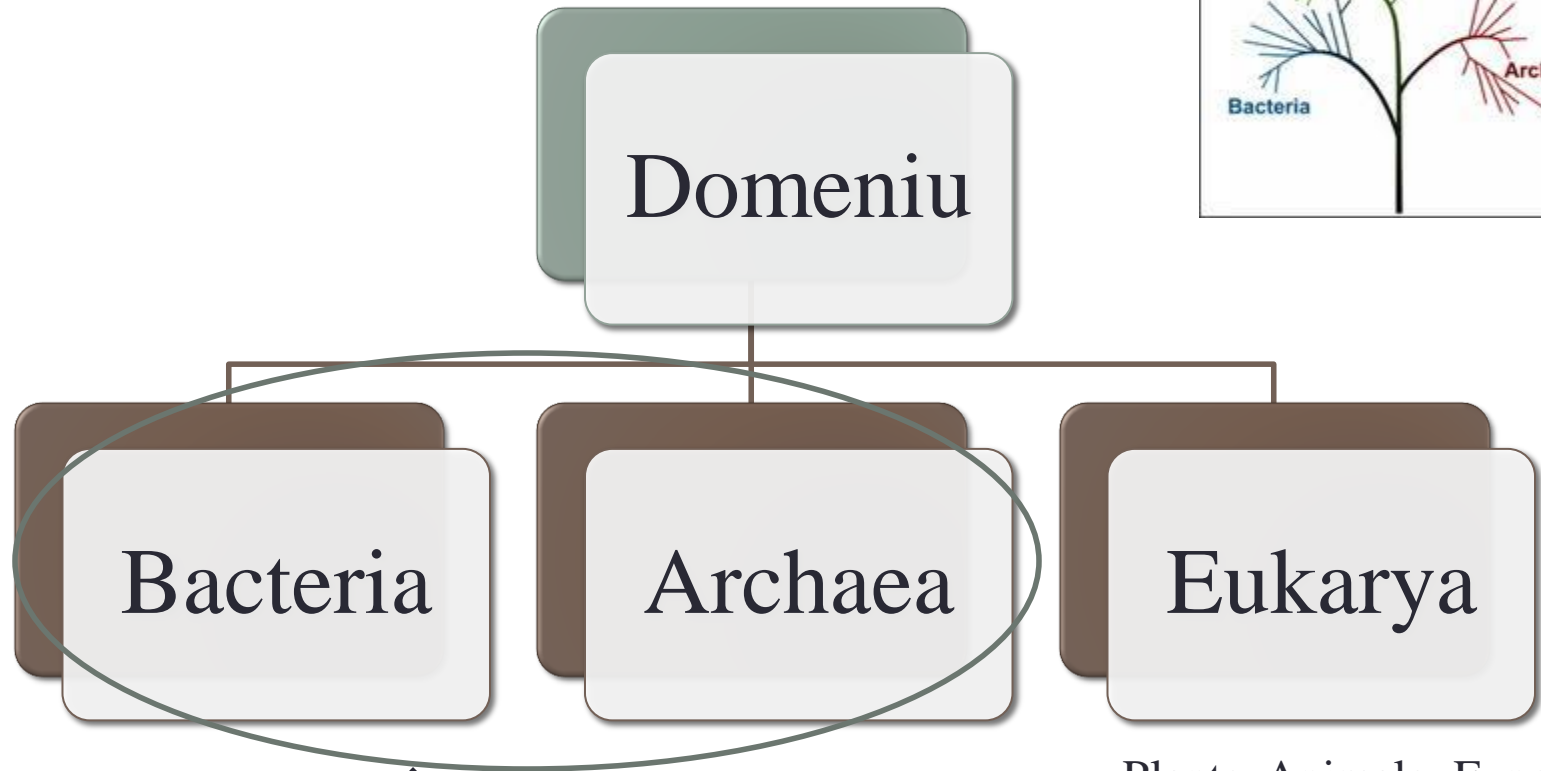
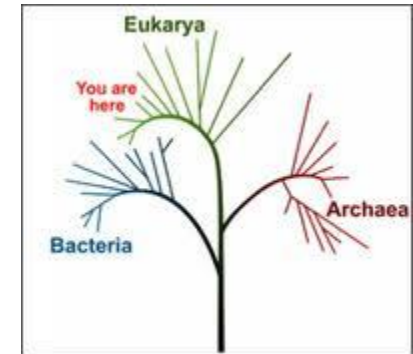


# Clasificare

- **regnul Monera** include organisme monocelulare de tip procariot cu nutriție de tip absorbtiv, cu metabolism fotosintetic sau chimiosintetic și reproducere prin diviziune asexuată;
- **regnul Protista** include organisme monocelulare de tip eucariot (inclusiv drojdii). Modul de nutriție este diferit de la un grup la altul, prin absorbție sau ingestie și reproducere sexuată/asexuată;
- **regnul Fungi** cuprinde organisme multinucleate de tip eucariot (mucegaiuri) cu nucleii dispersați în citosolul hifelor adesea septate, lipsite de plastide și pigmenți fotosintetici, cu nutriție de tip absorbtiv și reproducere pe cale sexuată și asexuată;
- **regnul Plantae**, cu organisme multicelulare de tip eucariot, cu perete celulozic, vacuole în citoplasmă și pigmenți fotosintetici în plasmide. Modul principal de nutriție este cel fotosintetic și reproducerea predominant sexuată;
- **regnul Animalia**, cu organisme multinucleate de tip eucariot celular, cu nutriție predominant prin ingestie și reproducere



# Classificare

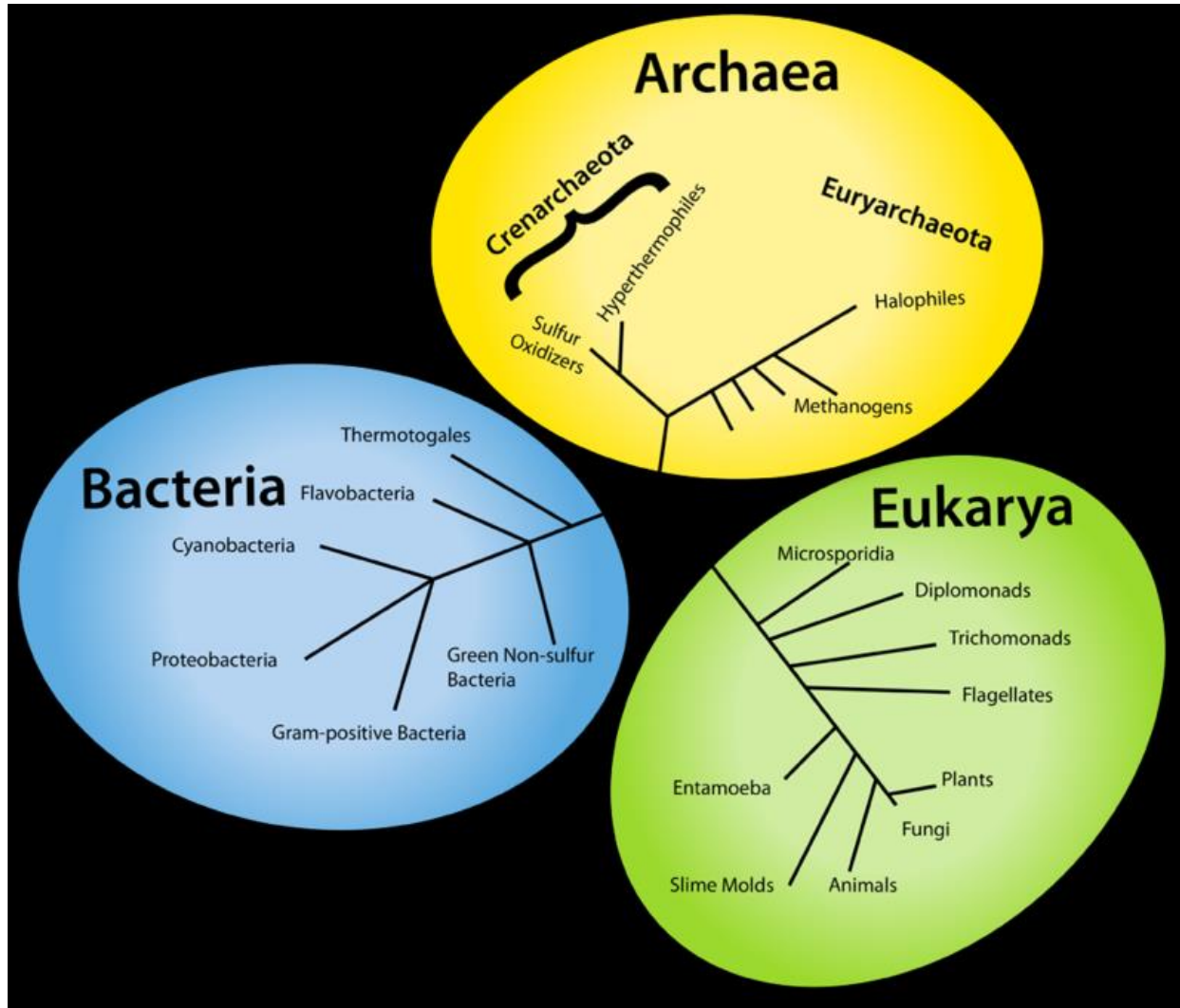


Plante, Animale, Fungi

**Microorganisme**

Include protozoare, alge, virusuri, bacterii

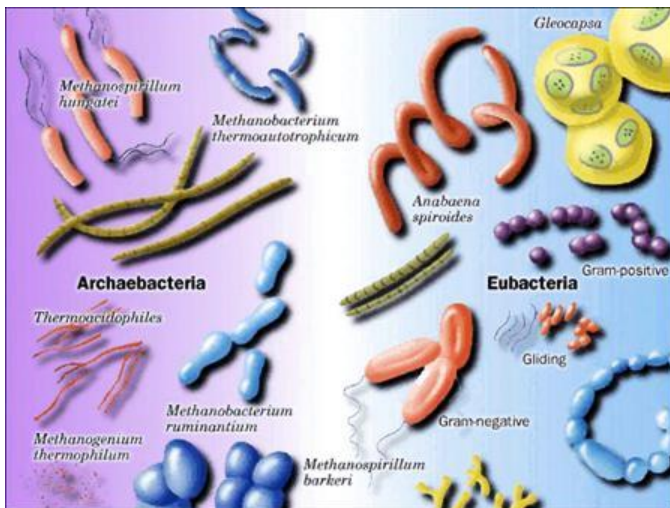
# Clasificare





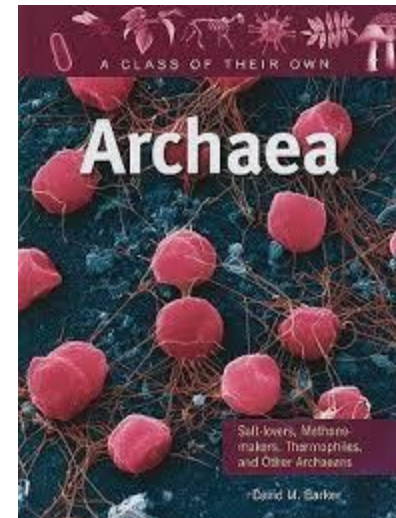
# Bacterii

- Procariote
- Prezinta peptidoglican in peretele celular
- Reproducere prin diziviune
- Utilizeaza substante organice/anorganice sau fotosinteza pt a obtine energie



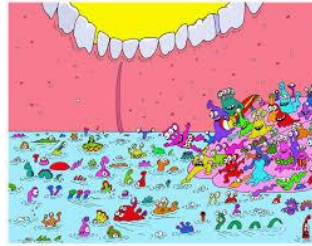
# Archaea

- Procariote
- Nu prezinta peptidoglican in peretele celular
- Se dezvoltă in conditii extreme
- Include bacterii metanogene



# Procariote

## Bacterii



Familia	Genul
<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria, Neisseria</i>
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Staphylococcus, Gaffkya, Sarcina, Micrococcus.</i>
<i>Lactobacteriaceae</i> ( <i>Lactobacillaceae</i> )	<i>Diplococcus, Streptococcus, Eubacterium, Lactobacillus</i>
<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium, Listeria</i>
<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus, Clostridium</i>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella, Shigella, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Cyrobacter, Serratia, Hafnia, Aerobacter.</i>
<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Capsularis, Zuberella</i>
<i>Brucellaceae</i>	<i>Brucella, Pasteurella, Hemophilus, Bordetella, Moraxella, Acinetobacillus.</i>
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Spirillaceae</i>	<i>Vibrio, Spirillum</i>
<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>
<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces, Nocardia</i>
<i>Treponemataceae</i>	<i>Treponema, Leptospira, Borrelia</i>
<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasma</i>
<i>Rickettsiaceae</i>	<i>Rickettsia, Coxiella</i>
<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamidia</i>

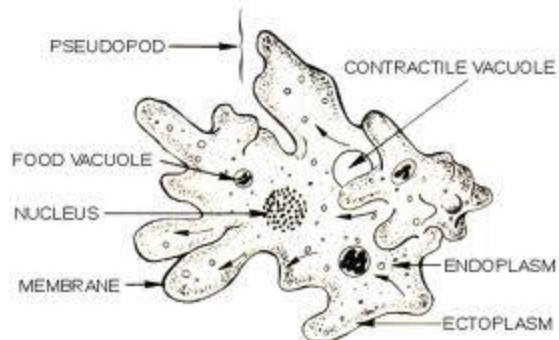
- Celula procariotă are o organizare simplă. Ea este formată din perete celular, membrană, citoplasmă și un nucleu primitiv, atipic, reprezentat de un cromozom gigant ce plutește liber în citoplasmă. Toate celulele procariote nu au o structurare definită a nucleului lor. El este lipsit de membrană nucleară, nucleol și nucleoplasmă. Informația genetică este depozitată la nivelul cromozomului și este codificată într-o singură moleculă de ADN. În timpul procesului de multiplicare, în citoplasma nedivizată, pot exista mai mulți cromozomi care însă sunt identici, rezultând din dedublarea cromozomului unic.
- Citoplasma celulelor procariote este lipsită de curenți citoplasmatici. Ea nu conține organite delimitate de membrane superior organizate. În interiorul ei nu există un reticul endoplasmatic organizat, ci numai sisteme membranare izolate.
- Membrana plasmatică este bine reprezentată și are o organizare tipică tuturor membranelor celulare.
- Peretele celular, cu foarte mici excepții (micoplasmele) este prezent la toate procariotele. El este un perete rigid, aceasta datorită prezenței în structura sa a unui polimer complex, un mucopolizaharid, cunoscut sub numele de peptidoglican. Peptidoglicanul este acea structură moleculară ce îi conferă rezistență peretelui celular.
- Celulele procariote se reproduc pe cale asexuată, adică prin diviziune directă sau sciziparitate și numai excepțional pe cale sexuată, prin conjugare



# Tipuri de Eucariote

## Protozoare

- Eucariote unicelulare
- Absorb sau transforma substante chimice organice
- Poseda organe de miscare: cili sau flageli
- e.g. Amoeba



## Alge

- Eucariote unicelulare sau pluricelulare
- Prezinta celuloza in peretii celulelor
- Isi obtine energia din fotosinteza
- Produc compusi organici



# Eucariote

## Levuri

- Fam. *Endomycetaceae*, încadrează levurile care formează asce cu ascospori, fapt pentru care mai sunt cunoscute și sub numele de *Ascomycete*. Aici sunt incluși toți reprezentanții clasei *Ascomycetes*. Cele mai importante genuri sunt: *Schizosaccharomices*, *Clavispora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulaspora*, *Zygosaccharomyces*, etc.
- Fam. *Sporobolomycetaceae*, încadrează levurile care formează bazidii cu bazidiospori, fapt pentru care mai sunt cunoscute și sub numele de *Basidiomycete*. Include toți reprezentanții clasei *Basidiomycetes*. Genurile reprezentative acestei familii sunt: *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, *Kloeckera*, *Oosporium*, *Trigonopsis*, *Trichoderma*, etc..
- Fam. *Cryptococcaceae*, încadrează levurile care formează spori speciale cunoscuți sub numele de clamidospori. Toți fungii imperfecti sunt încadrați în această familie. Cele mai importante genuri ale familiei sunt: *Candida*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Trichosporium*.

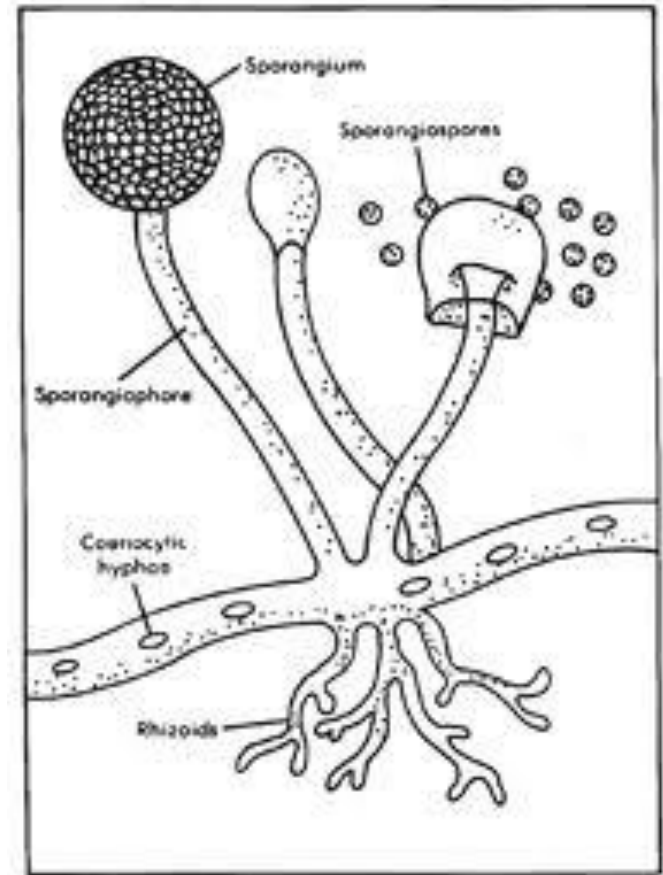
## Fungi

Sunt micro- sau macroorganisme incluse în *Phyllum Mycophyta* sau *Fungi*

Clasa	Genul
Phycomycetes	Rhizopus, Mucor.
Ascomycetes	Penicillium, Aspergillus, Levuri.
Basidiomycetes	Agaricus, Puccinia
Deuteromyces	Thricoderma, Candida, Cephalosporium.

# Fungi

- Eucariote
- Prezinta chitina in peretii celulari
- Utilizeaza substante organice pentru a produce energie
- Fungii si ciupercile sunt multicelulare, sunt alcatuite din micelii (compusi din filamente numite hife)
- Drojdiile sunt unicelulare



# Procese industriale

Un microorganism pentru a putea fi folosit într-un proces industrial trebuie să îndeplinească următoarele condiții:

- să crească rapid pe un substrat organic cât mai ieftin
- să formeze ușor o cultură abundentă
- să fie echipat cu sisteme enzimatică specifice procesului pentru care a fost izolat
- să producă transformări dorite în mod simplu și rapid, cu randamente mari și costuri energetice mici
- să poată fi conservat fără a-și schimba proprietățile biochimice și genetice
- produsele elaborate să fie ușor extractibile din lichidul de cultură sau celula microbiană



# Procese industriale



Microorganism	Produs
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Insecticide
<i>Candida utilis</i>	Proteine microbiene
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Acetona, butanol
<i>Corinebacterium glutamicum</i>	Lizina
<i>Escherichia coli</i>	Insulina, hormoni de crestere
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	laurt
<i>Penicilium chrisogenum</i>	Peniciline
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Vitamina B12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Paine, bere, vin, etanol, enzime (invertaza)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	laurt
<i>Streptomyces sp.</i>	Antibiotice
<i>Trichoderma reesii</i>	Celulaza (enzima)





THERE WAS THIS HUGE EYE THAT WOULDN'T STOP STARING AT ME!

IT'S JUST THE MICROSCOPE DREAM AGAIN... GO BACK TO SLEEP!

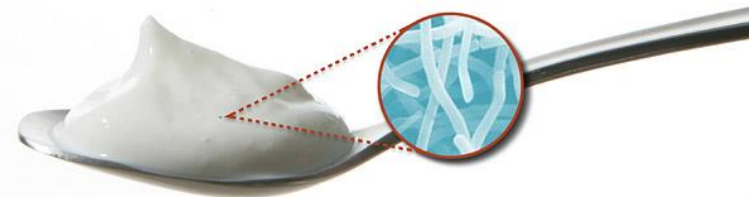
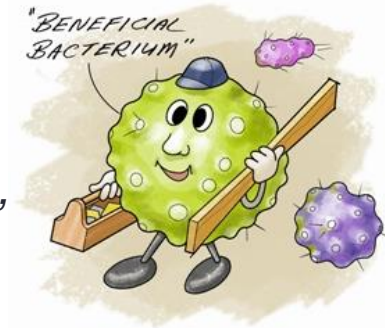
CARTOONSTOCK .com

Search ID: bwhn852



# Principalele produse lactate fermentate și microorganismele care le produc:

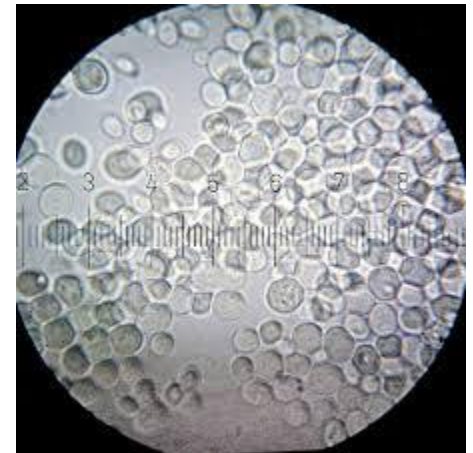
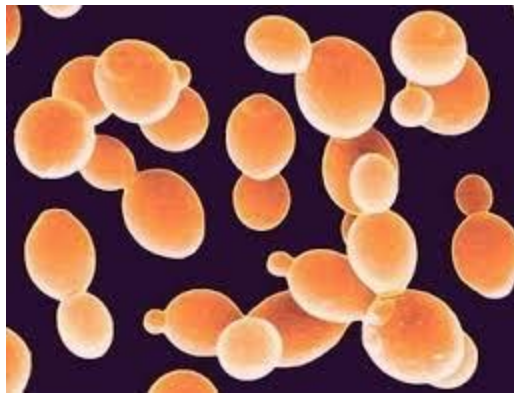
- Lapte acidulat: *Lactobacillus acidophilus*
  - Kefir: *Lactococcus lactis*, *Lb.bulgaricus*, *Saccharomyces sp.*
  - Kumiss (Produs din lapte de iapă; conține 2% alcool): *Lb.bulgaricus*, *Lb.leichmanii*, *Torula sp.*
  - Smântână fermentată: *Lactococcus sp.*, *Leuconostoc sp.*
  - Iaurt: *Streptococcus thermophilus*, *Lb.bulgaricus*
  - Unt: *Lactococcus lactis*
  - Brânza proaspătă de tip Mozzarella: *Streptococcus thermophilus*, *Lb.bulgaricus*
  - Brânza fermentată de tip cașcaval: *L.lactis*, *L.cremoris*
  - Brânza tip Brie sau Camembert: *L.lactis*, *L.cremoris*
  - Brânza tip Roquefort: *L.lactis*, *L.cremoris*
  - Brânză de tip Switzer, găurile și aroma caracteristice sunt produse în urma inoculării cu tulpini bacteriene din speciile *Propionibacterium shermanii* și *P.freundenreichii*.
  - Lapte fermentat: *Lb.acidophilus* asociate cu *Bifidobacterium sp.* (poate modifica flora intestinală, îmbunătățind starea de sănătate, el fiind recomandat în diferite diete).
- <http://education-portal.com/academy/lesson/lacti-fermentation-to-make-food.html>





# Procese industriale

- **Obținerea pâinii** și a altor produse de panificație se bazează pe utilizarea microorganismelor, în special a drojdiilor aparținând speciei *S.cerevisiae*. Pâinea ca aliment este cunoscută de foarte multă vreme, existând dovezi că ea se producea încă din anul 2100 î.C. În procesul tehnologic de producere a pâinii, creșterea drojdiilor se realizează în condiții de aerobioză ceea ce determină creșterea concentrației de  $\text{CO}_2$  și reduce producerea și acumularea de etanol.

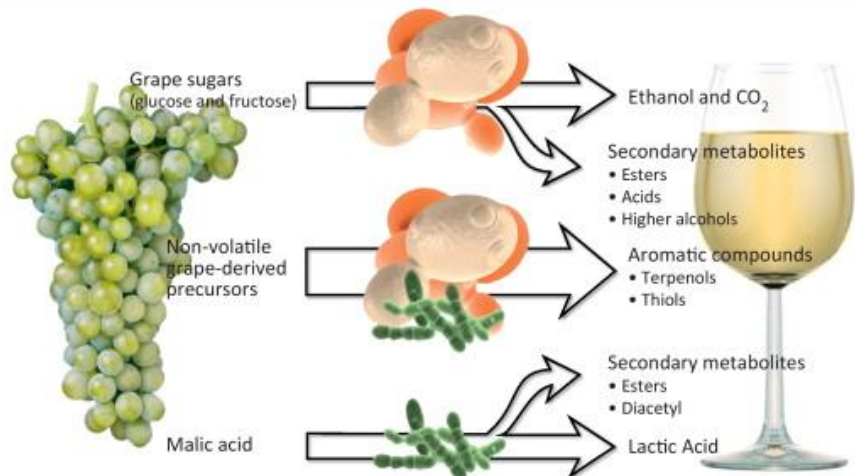


# Producerea vinului



- **Producerea vinului** reprezintă o adevărată știință, oenologia (de la cuvintele grecești oenos = vin și logos = știință), cunoscută de mii de ani. Procesul de producere a vinului presupune parcurgerea mai multor etape, pe parcursul cărora sunt utilizate diverse microorganisme: drojii din speciile *S.cerevisiae* și *S.ellipsoideus* care fermentează mustul și determină acumularea de alcool și bacterii lactice care fermentează acidul malic rezidual la acid lactic și CO<sub>2</sub>. În cazul șampaniei, procesul de fermentație este continuu și se realizează direct în sticlă, pe parcursul mai multor luni. Deseori însă vinurile se pot deprecia datorită contaminării cu diverse microorganisme. Astfel, contaminarea vinului cu bacterii din genurile *Acetobacter* sau *Gluconobacter* conduce la oxidarea alcoolului etilic la acid acetic și obținerea oțetului din vin.

- <http://education-portal.com/academy/lesson/yeast-fermentation-using-fermentation-to-make-alcohol.html>



TRENDS in Genetics

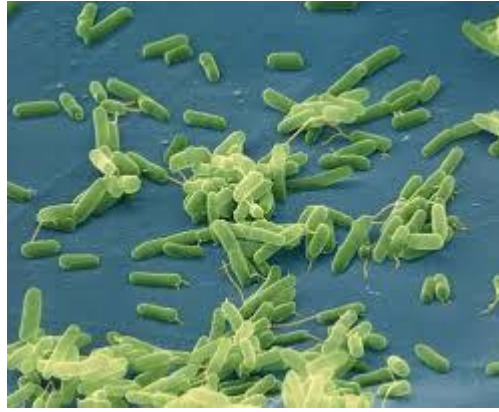
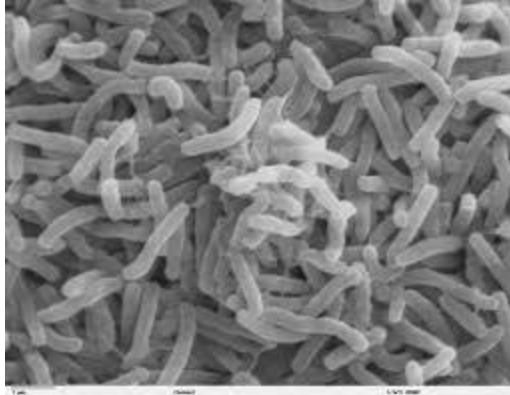


Pentru a studia microorganismele este necesara cunoasterea urmatoarelor tehnici:  
sterilizare  
inoculare  
observare cu ajutorul microscopului

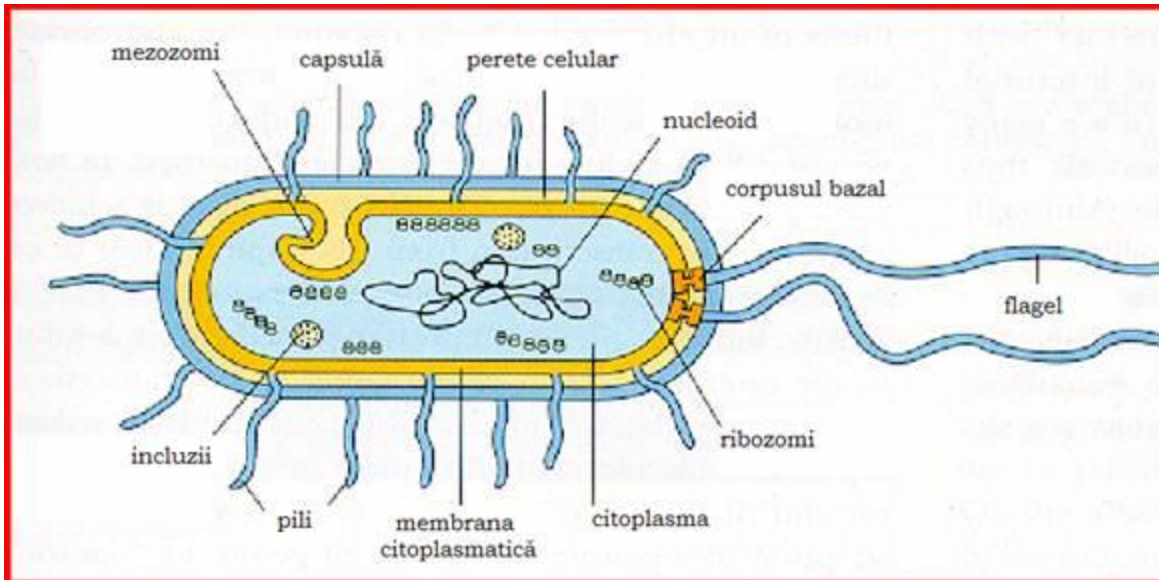
# Intrebari?



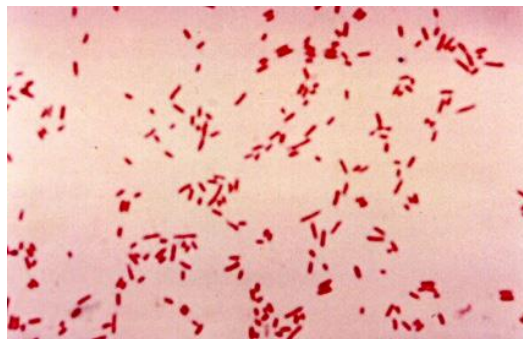
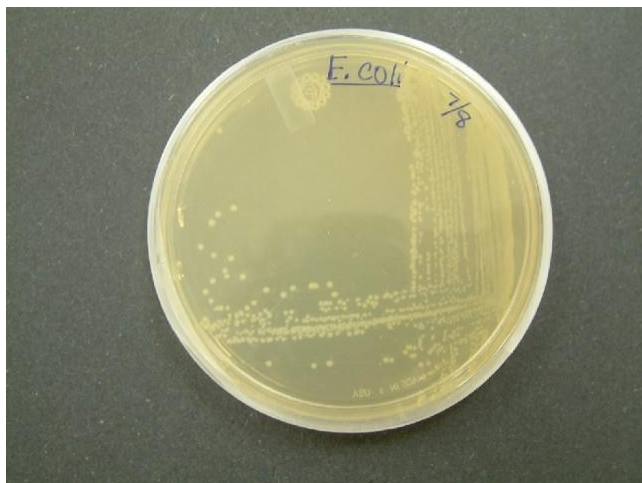
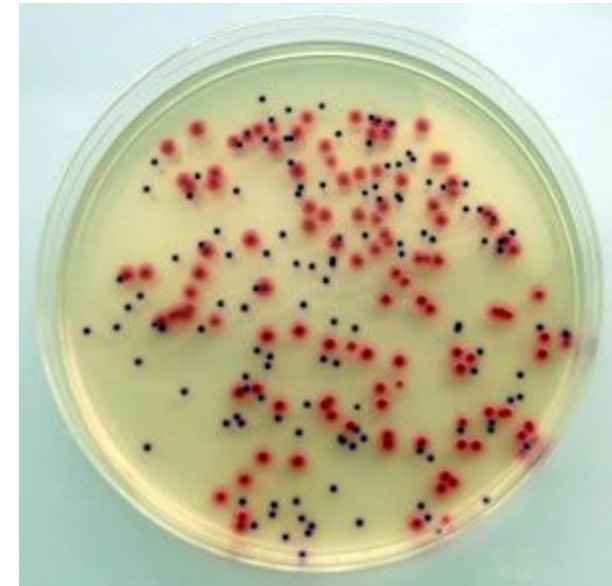
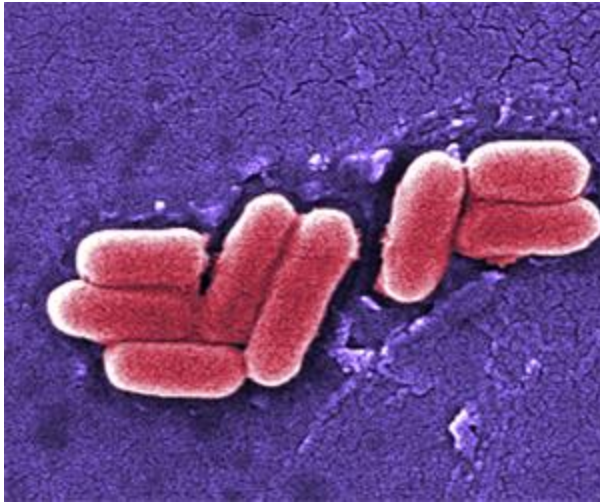




# BACTERIILE

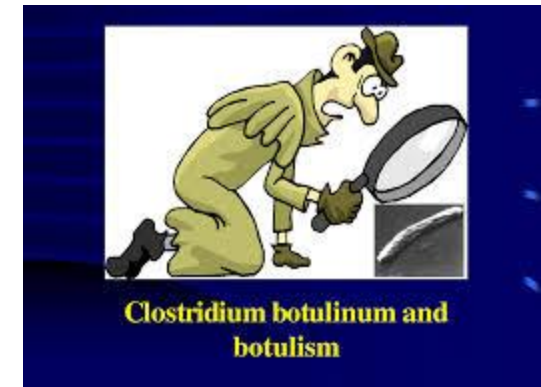
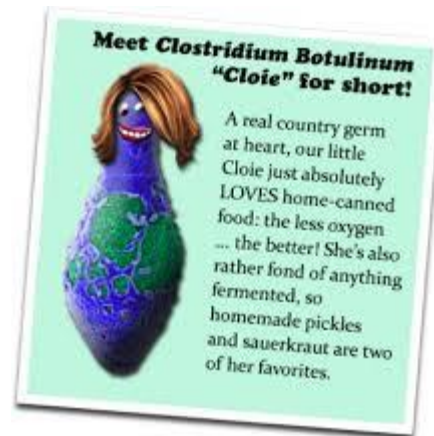
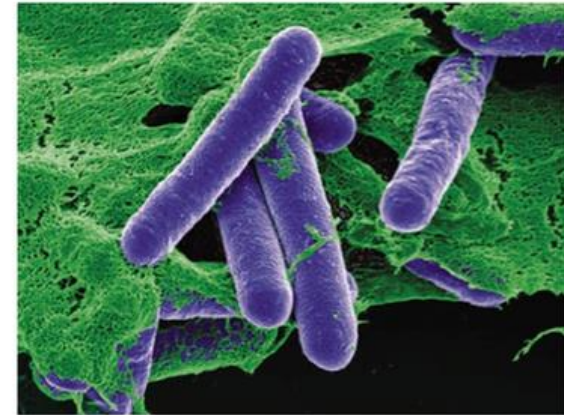
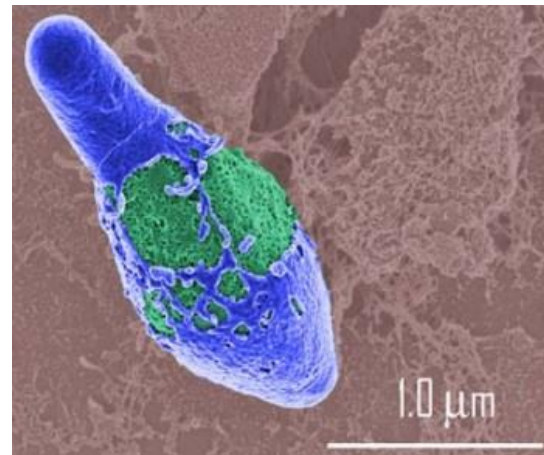


# Escherichia coli

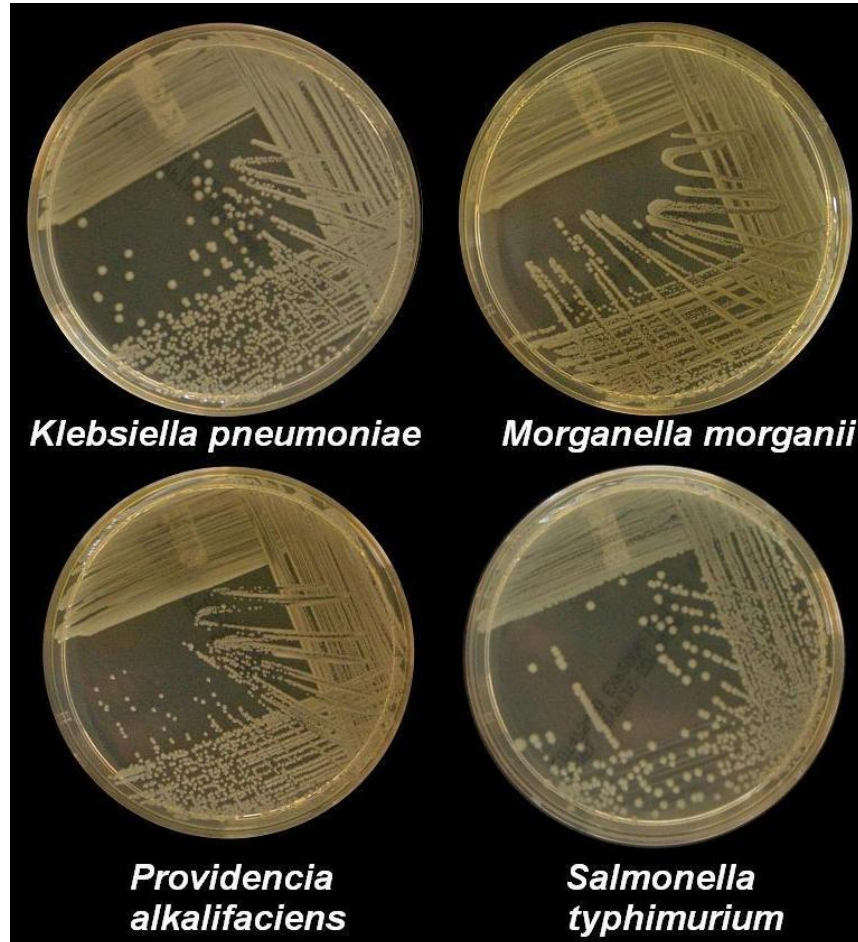




# Clostridium botulinum



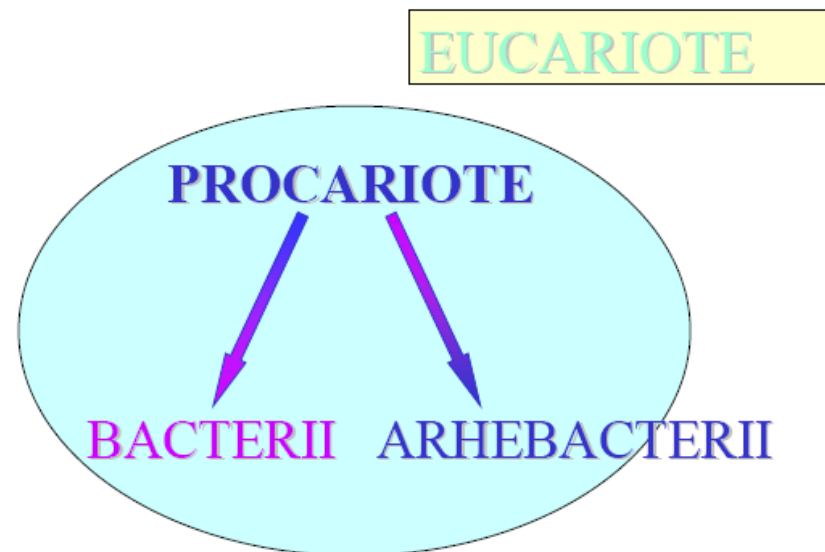
# Bacterii pe medii agarizate





# Bacteriile

- **Bacteriile** - microorganisme monocelulare de tip procariot care posedă un singur cromozom dispersat în citoplasmă și care se reproduc asexuat prin sciziune binară (divizare în două părți identice). Bacteriile reprezintă prima formă de viață apărută pe Terra.



# Bacteriile

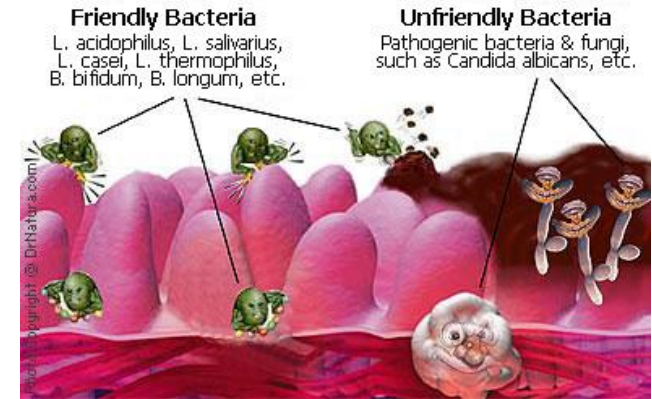


Răspândire:

- **SOL** - rol în mineralizarea compușilor organici cu formarea unor săruri (azotați, sulfați, fosfați) folosite în nutriția autotrofă a plantelor. Actinomicetele conferă pământului culoarea închisă.
- **APĂ** - 10 bacterii/cm<sup>3</sup> în apa de izvor și 10<sup>12</sup> bacterii/cm<sup>3</sup> în apa de spălare a cerealelor.
- **AER** - rămân suspendate timp îndelungat, se fixează pe particulele de praf. Dintre ele o parte mor datorită radiațiilor ultraviolete.



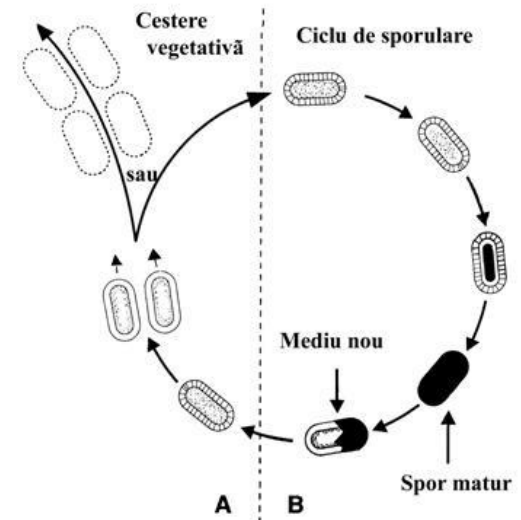
# Bacteriile



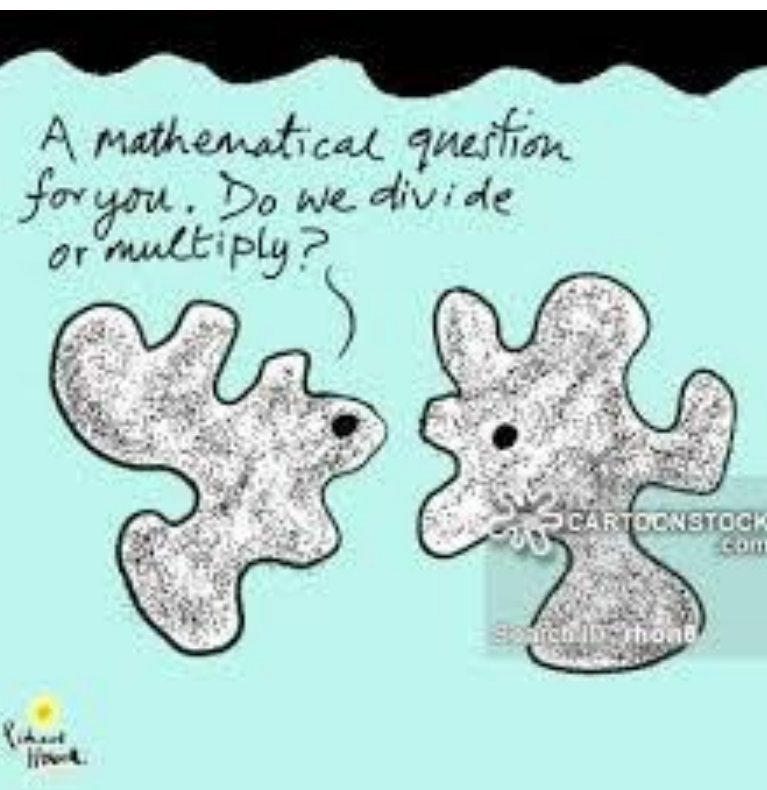
- **REGNUL VEGETAL** - fac parte din microflora epifită a plantelor, din microflora rizosferă a plantelor - zona rădăcinii foarte bogată în substanțe nutritive.
- **REGNUL ANIMAL** - rol în degradarea bolului alimentar, stimulează sistemul imunitar al organismului. Unele bacterii sunt parazite și se cunosc peste 300 de boli datorate acestora: tuberculoza, bruceloza, antraxul, tetanosul sunt câteva dintre acestea.



# Bacteriile



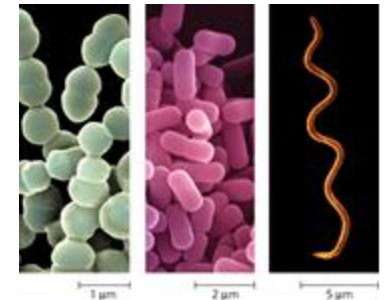
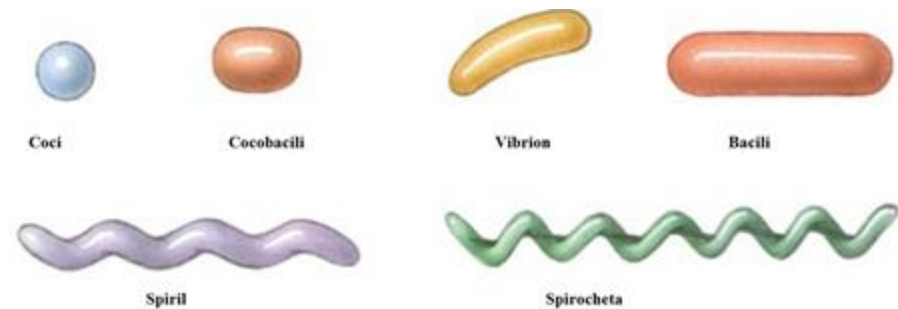
- Bacteriile se dezvoltă pe întreg domeniul de pH, dar optimă este valoarea  $\text{pH} = 7$ .
- În alimente, bacteriile se prezintă sub două forme:
  - *forma vegetativă* - foarte activă în stadiul de creștere și reproducere;
  - *forma sporulată* - caracterizată de o stare latentă în care metabolismul este redus; se conservă toate proprietățile bacteriilor până când apar condiții favorabile germinării sporilor și apariției formei vegetative.



# Caracteristici morfologice

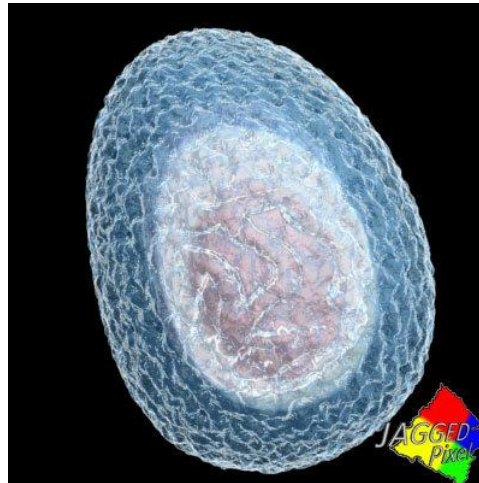
Forma este un criteriu foarte important de clasificare și identificare a bacteriilor, aceasta variind în funcție de vârstă, factorii ereditari specifici și mediul de cultură. Principalele forme de observație a bacteriilor sunt:

- sferică;
- cilindrică;
- curbată;
- spiralată;
- iar prin scindare pot rezulta forme derivate.



# Caracteristici morfologice

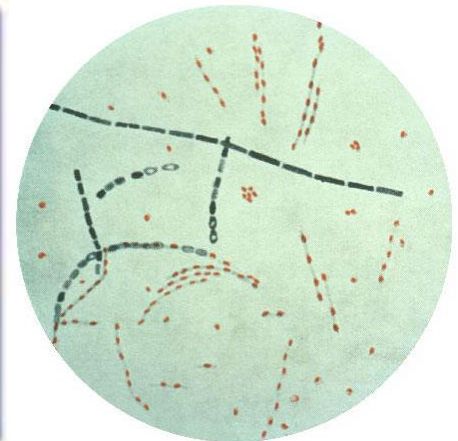
- **Forma sferică**, specifică cocilor, în cadrul căreia se pot deosebi și mai multe varietăți: sferică (micrococi), ovoidală (enterococi), lanceolată (pneumococi), reniformă (gonococi).





# Caracteristici morfologice

- **Forma cilindrică** specifică bacililor și bacteriilor nesporulate, ce pot avea capete drepte (ex. *Bacillus anthracis*), rotunjite (ex. *Escherichia coli*) sau ascuțite (ex. *Fusibacterium fusiforme*).



# Caracteristici morfologice

- **Formă spiralat-elicoidală**, cu aspect de virgulă (vibro-virgo), în forma literei S, sau de resort, cu spire neregulate sau regulate, se întâlnește mai ales la bacteriile patogene:



# Caracteristici morfologice

- **Forme filamentoase** care ajunge la zeci de microni lungime, fără prezența unor diviziuni transversale.



# Caracteristici morfologice

Există de asemenea pe lângă aceste forme principale de observație și forme specifice și anume:

- pedunculare;
- filamentoase neramificate;
- filamentoase pseudoramificate;
- filamentoase ramificate.

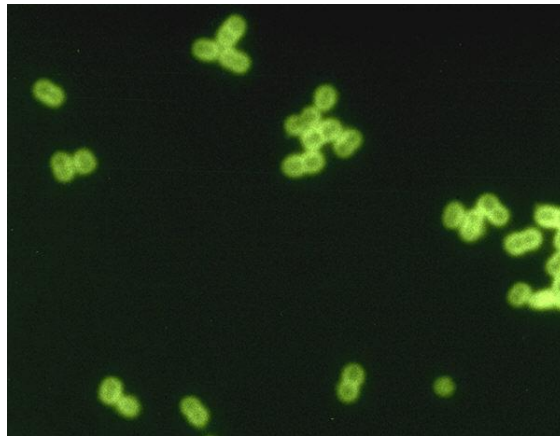
# Dimensiunile bacteriilor

Privite în ansamblul lor, putem observa o foarte largă varietate dimensională, dimensiuni care variază între câteva zecimi de micron și până la 10-15 microni (0.01 - 0.015 mm). După dimensiunea lor, bacteriile se împart în:

- mici - sub 1  $\mu$  - *Streptococcus*, *Stafilococcus*;
- mijlocii - între 1  $\mu$  și 3  $\mu$  - *Salmonelle*, -coli *Bacillus*;
- mari - peste 3  $\mu$  – *Clostrydium*.

# Gruparea bacteriană

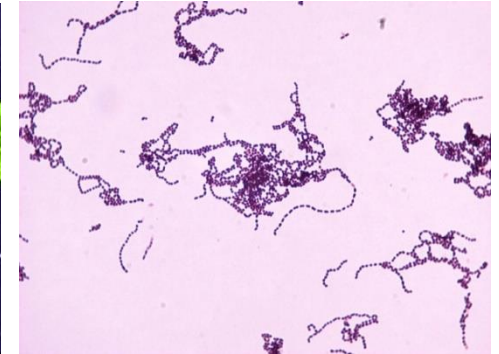
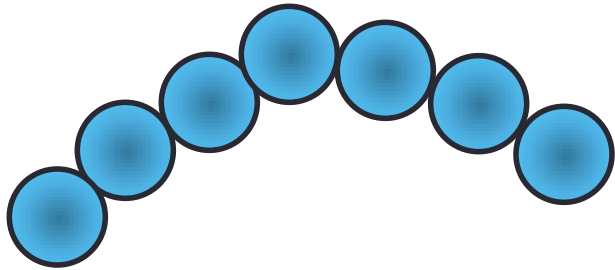
- *Diplococcus*



gruparea diplo- este întâlnită atât la coci cât și la bacili, în care grupa este formată din două elemente (ex. *Diplococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*);

# Gruparea bacteriană

- ***Streptococcus***

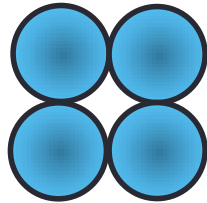


grupare strepto- este o formațiune rezultată din gruparea în lanț a cocilor și bacililor (ex. *Streptococcus lactis*, *Streptococcus temaris*, *Streptococcus citravorus*, *Streptococcus paracetivorus*, *Streptococcus pzogenes* – patogen, *Streptococcus agalactiae*);

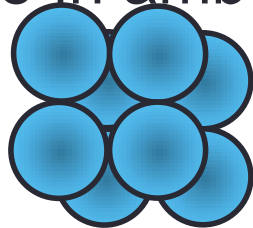


# Gruparea bacteriană

- scindare în plan orizontal: **Tetrade** (genul *Pediococcus*)



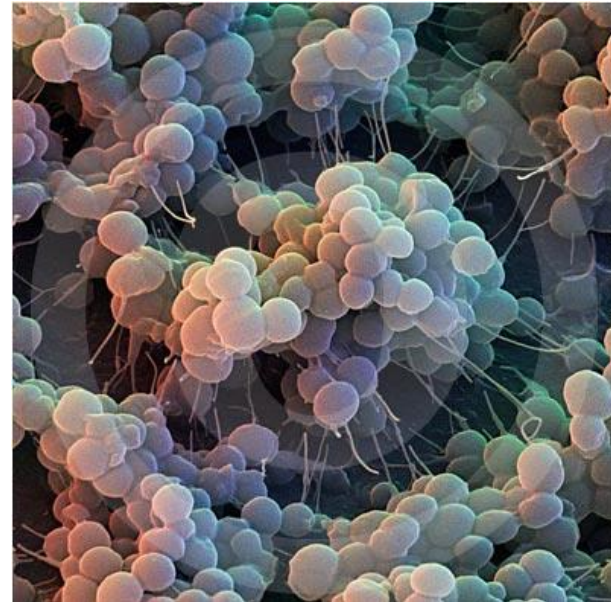
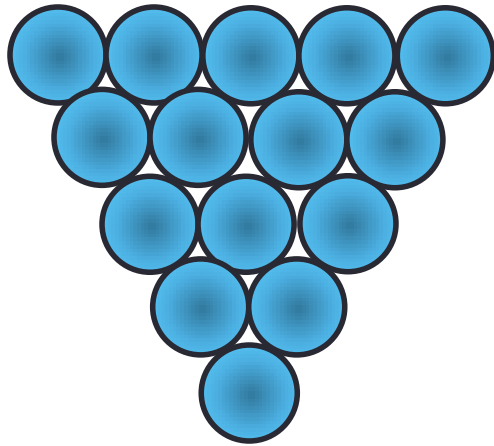
- scindare în ambele planuri: **Sarcina**



grupările tetrada- și sarcina caracteristice cocilor, sunt constituite din 4, respectiv 8 bacterii, cu înmulțire într-un singur plan, dar două direcții la tetrade și în două planuri distincte la gruparea sarcina(ex. tetrada - *Gafkia tetragena*; ex. - *Sarcina lutea*, *Sarcina flava*);

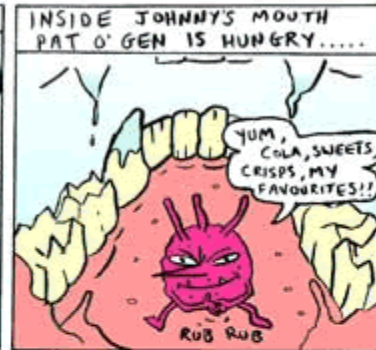
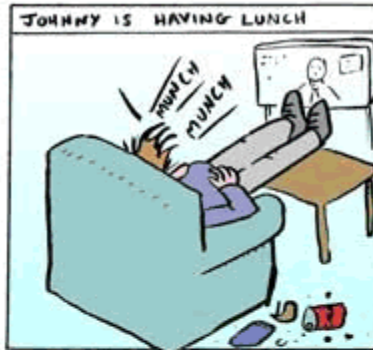
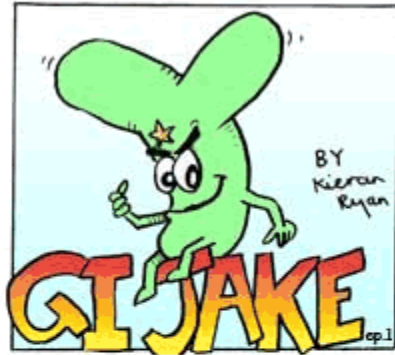
# Gruparea bacteriană

- ***Stafilococi***



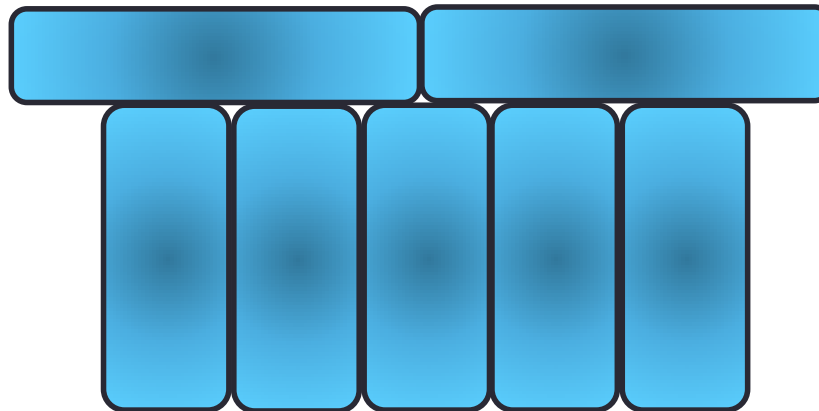
gruparea stafilo- este caracteristică cocilor, în care bacteriile sunt grămezi neregulate sub forma unui ciorchine de strugure (ex. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus citrinus*)

Episode 1 of 8



# Gruparea bacteriană

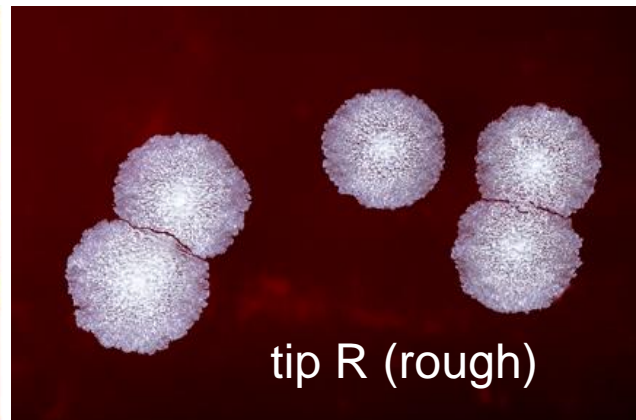
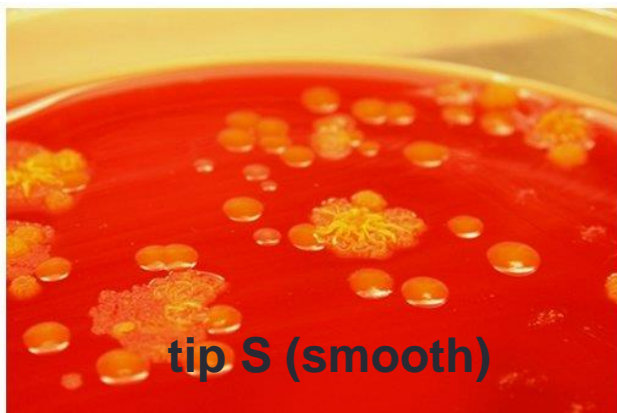
- **Gruparea în palisadă proprie bacililor**, în care aceștia sunt dispuși în paralel (formă cilindrică)



# Caractere coloniale

## În mediu solid

- **Profilul coloniei** dezvoltate pe un mediu nutritiv solidificat poate fi lenticular, triunghiular.
- **Perimetrul coloniei** este fie circular, circular franjurat, sau rizoidal.
- **Tipul Coloniei** - de tip S (smooth) - neted, lucios; de tip R (rough) - aspru, granulat, de tip M (mucoid).



# Caractere coloniale

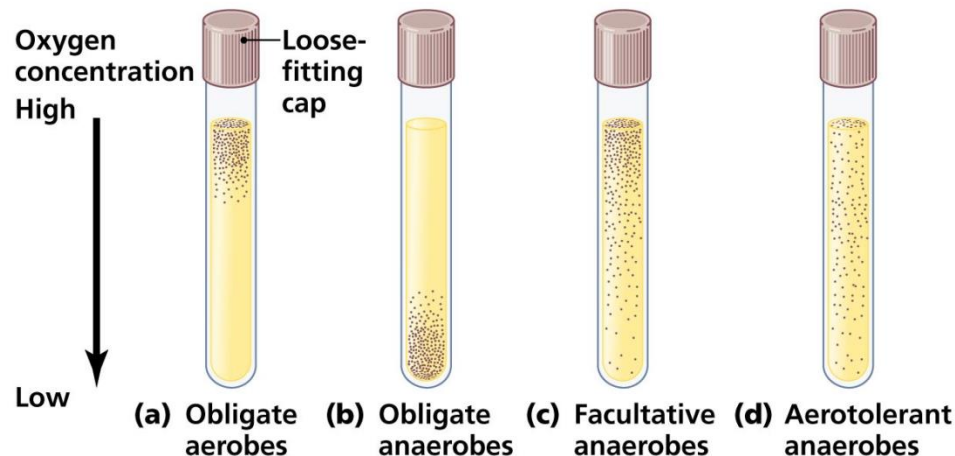
## În mediu lichid

- **Bacteriile aerobe** formează voal fin, cutat, ascendent pe pereții vasului, care poate avea aspect gelatinos (bacterii acetice).
- **Bacteriile anaerobe** (bacteriile lactice) produc tulburarea persistentă a mediului.
- coloniile sunt pigmentate și pot avea nuanțe bej, crem, brun, roz spre roșu sau chiar albastru, galben-auriu.

# Clasificarea bacteriilor

Funcție de nevoia de oxigen se clasifica în:

- **aerobe** (bacteriile acetice, de putrefacție) - se dezvoltă la suprafața solului, a alimentelor;
- **facultativ aerobe** - alterează lichide ca vinul, berea, laptele;
- **anaerobe** - degradează în profunzime solul și alimente cum ar fi conservele;



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

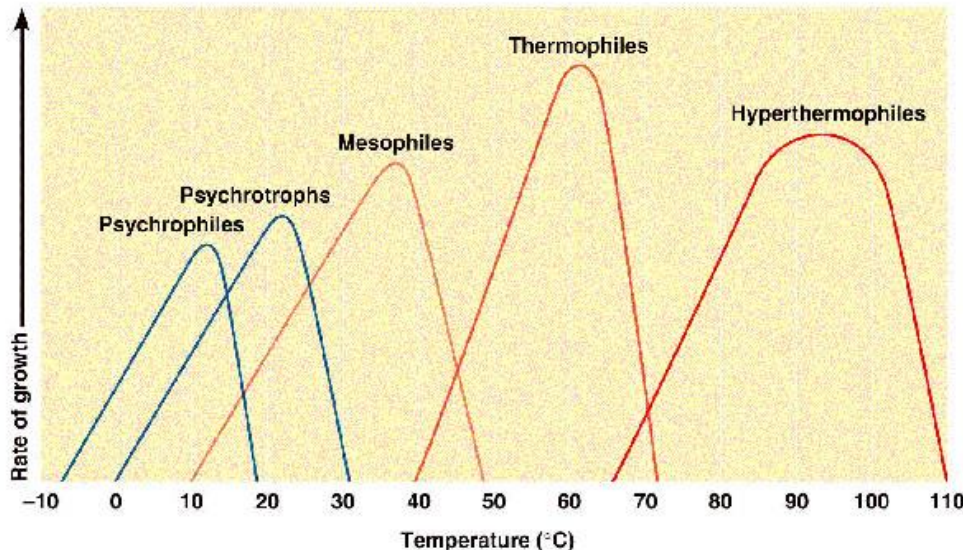




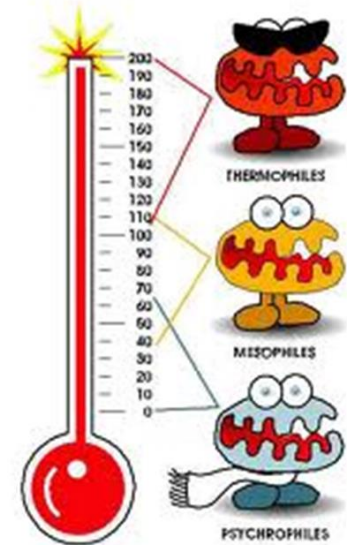
# Clasificarea bacteriilor

Funcție de temperatura de dezvoltare bacteriile se clasifică în:

- **mezofile** (domeniul de temperatură 20 - 40°C) - marea majoritate;
- **termofile** - se găsesc în apele termale;
- **psihrofile** - se găsesc în produsele conservate prin congelare.



Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

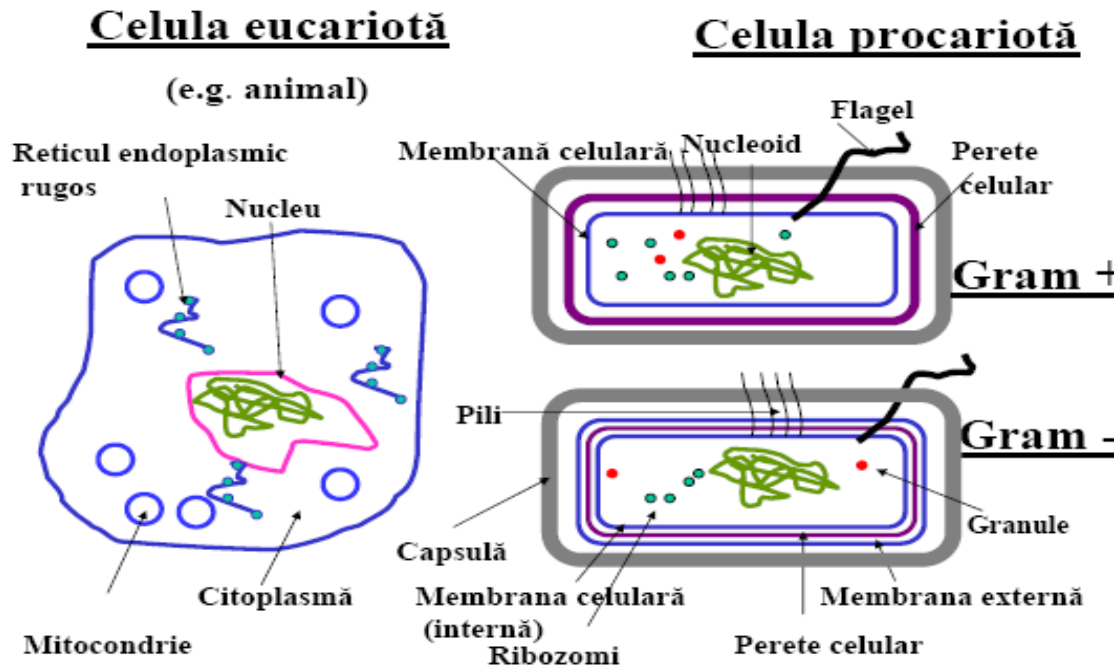


# Proprietățile fizice ale eubacteriilor

- *Densitatea sau greutatea specifică* a celulei bacteriene vii, în stare umedă, variază între 1,07-1,30
- *Suprafața celulei bacteriene* se poate calcula încadrând bacteria într-o formă geometrică regulată. Ea este mult diferită de la specie la specie. De exemplu, celula de *E. coli* are o suprafață celulară de  $35,340 \times 10^{-9} \text{ cm}^2$ , pe când la *Saprospira grandis* ea este de  $12.576 \times 10^{-9} \text{ cm}^2$ .
- *Volumul celulei bacteriene* poate fi apreciat cu ajutorul formulelor de calcul aplicate corpurilor geometrice regulate (în special sfere sau cilindrii), în care se încadrează cele mai multe bacterii (între  $0,1-20 \mu\text{m}^3$ ).

# Structura internă

- Celula bacteriană este o celulă de tip procariot caracterizată prin absența organelor intracelulare delimitate de membrană, cu acidul nucleic dispersat în citoplasmă în lipsa unui nucleu propriu-zis.

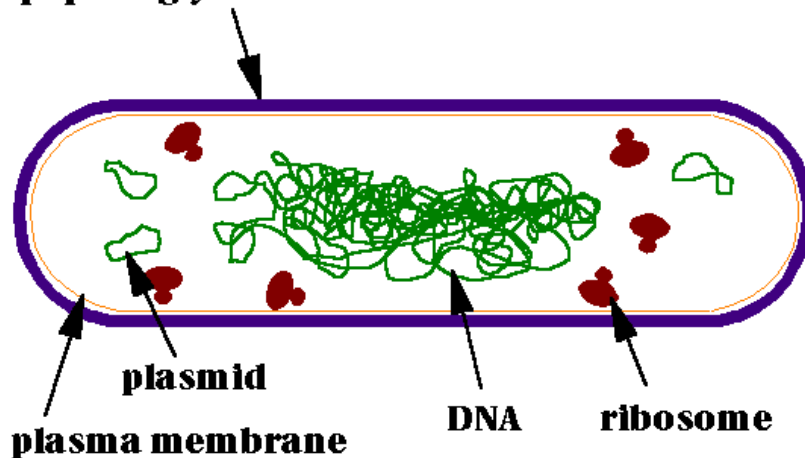


# STRUCTURA

## 1. Structuri obligatorii:

- Nucleoid,
- Citoplasma,
- Membrană citoplasmatică,
- Perete celular

**peptidoglycan cell wall**



## 2. Structuri facultative

- \* neesențiale pentru multiplicare
- \* conferă proprietăți de patogenitatea
- Capsulă, Glicocalix;
- Pili comuni, pili de sex,
- Flageli (Cili),
- Spori

# Structura internă

**Peretele celular** are o structură complexă, asigură forma și rezistența mecanică celulei și are rol funcțional în procesul de sciziune. Este alcătuit structuri specifice a cărui compoziție determină ca grupe mari de bacterii să se comporte diferit la colorare. Din acest punct de vedere, bacteriile se clasifică în:

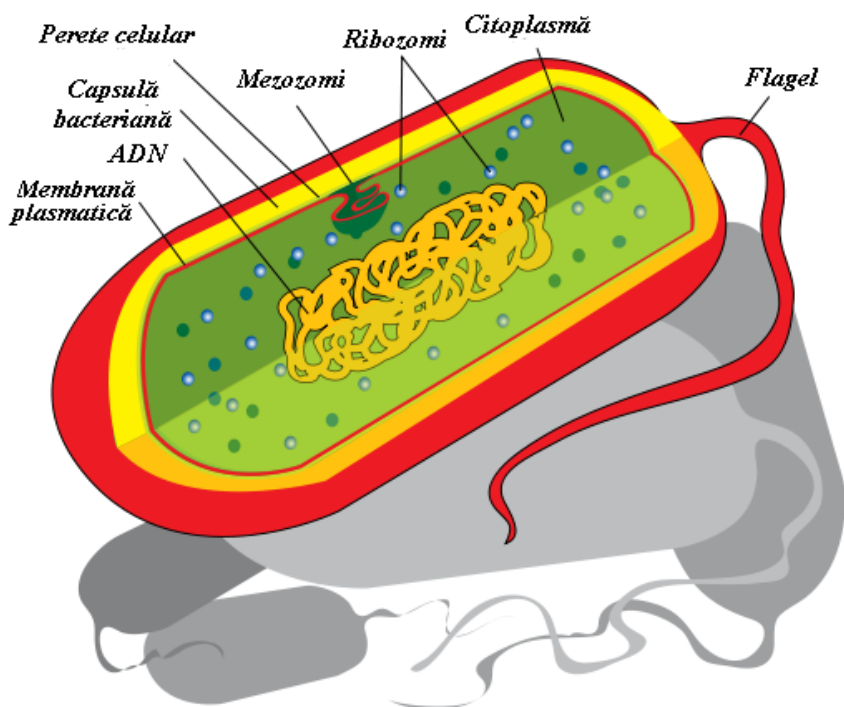
- **bacterii Gram pozitive;**
- **bacterii Gram negative ;**
- **bacterii AAR.**

# Structura internă

- **bacterii Gram pozitive** - grosimea stratului specific este 0,02 - 0,06  $\mu\text{m}$ ; acestea rețin mai bine colorantul primar;
- **bacterii Gram negative** - grosimea stratului specific este de 0,01  $\mu\text{m}$ ; colorantul primar nu este reținut, se dizolvă ușor în solvenți, iar pentru studiul microscopic este necesară o colorare secundară;
- **bacterii AAR** (acidoalcoolorezistente) – (bacilul tuberculozei) cu un strat specific ce le conferă rezistență mărită la acțiunea acizilor și alcoolilor.

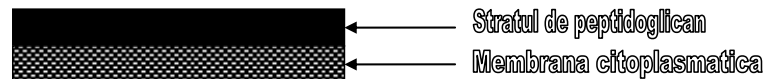


# Perete celular

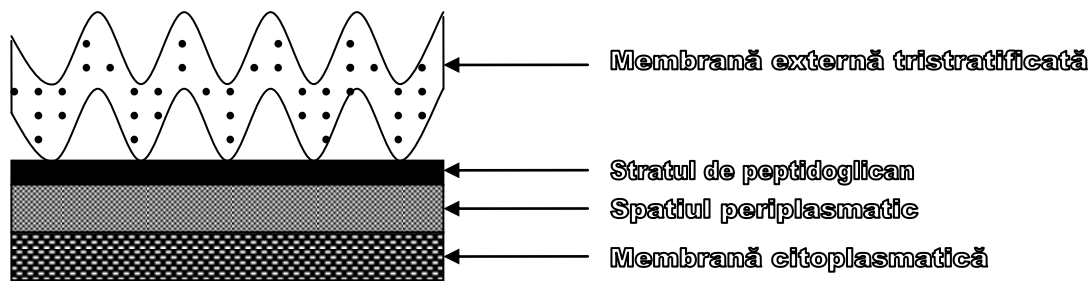
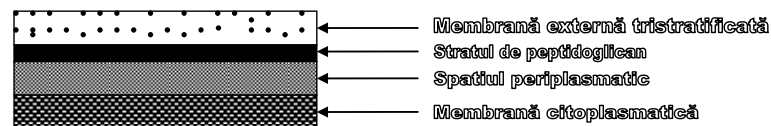


Grosimea peretelui celular la bacterii variază între 15-50 nm (150-350 Å), el reprezentând 20-35% din greutatea uscată a celulei.

## Gram pozitive

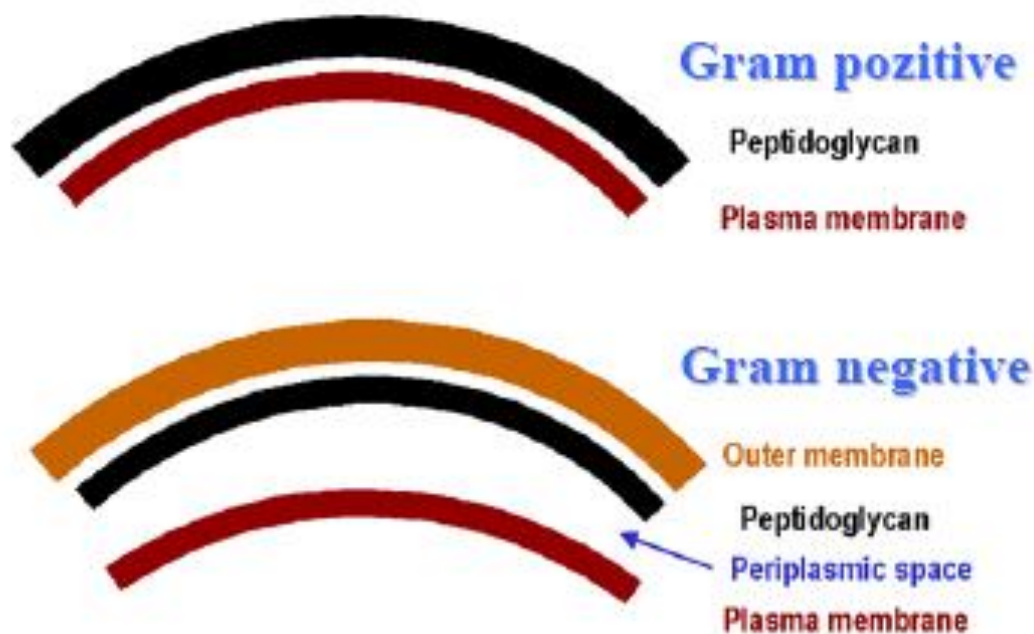


## Gram negative



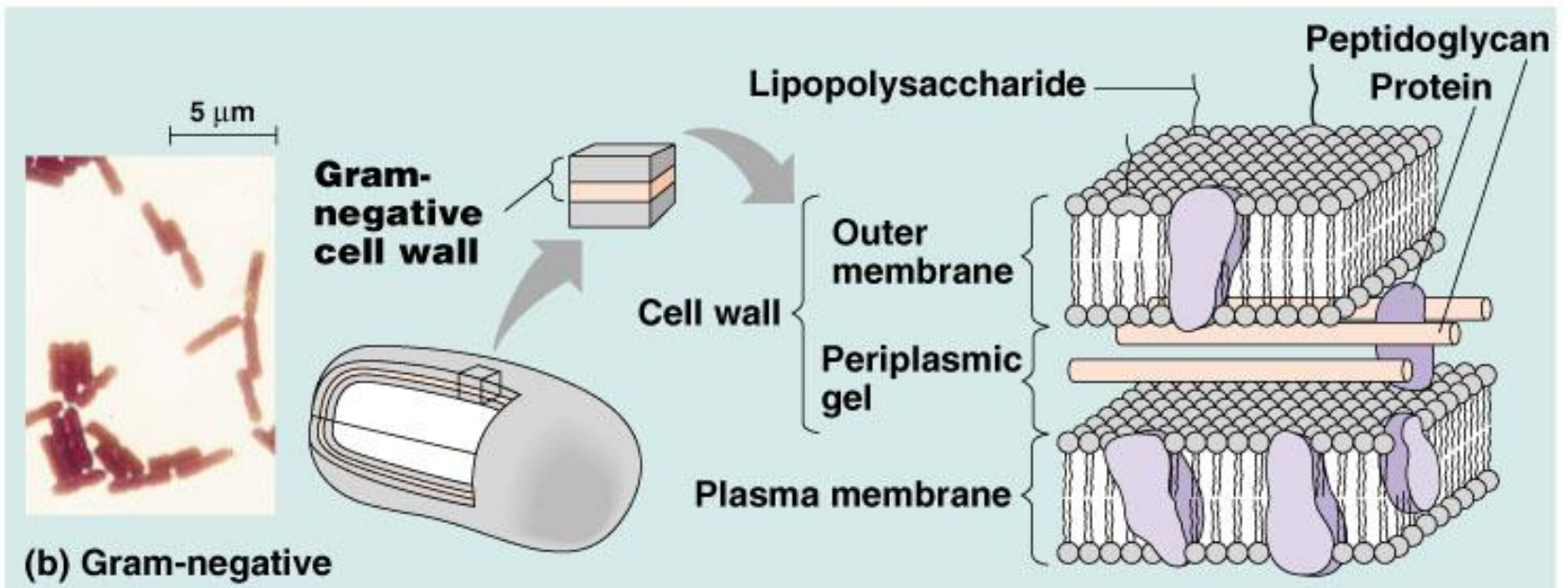
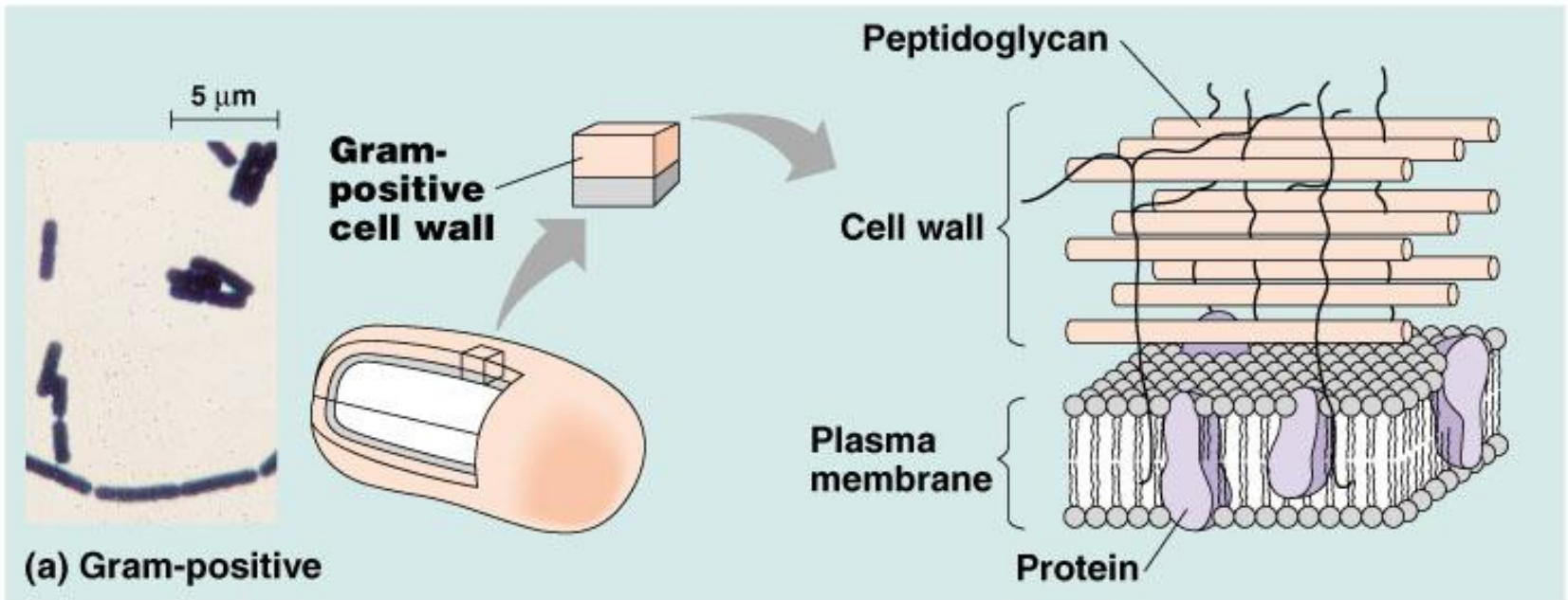
# Structura internă

- La interiorul peretelui celular se găsește **membrana citoplasmatică** - la bacteriile G (+) strâns asociată cu peretele celular, iar la bacteriile G (-) distanțată prin spațiul periplasmic.



La toate bacteriile Gram-pozitive peretele celular este relativ omogen, deși frecvent pot fi deosebite mai multe straturi, foarte rar bine definite.

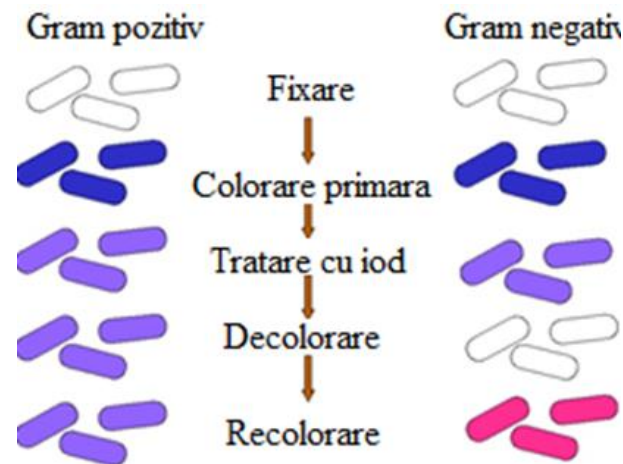
Deși mai subțire ca la bacteriile Gram-pozitive este totuși distinct stratificat, datorită prezenței spre exterior a membranei tristratificate formată din lipopolizaharide și lipoproteine. Pe de altă parte, stratul de peptidoglican este mai subțire ( $0,01 \mu\text{m}$ ) și nu reprezintă decât 10% din greutatea uscată a peretelui celular.



# Colorarea diferențiată prin metoda Gram

-are la bază o tehnică în mai multe etape:

- În prima etapă, celulele sunt colorate cu colorantul bazic cristal-violet (**Violet de gențiana**), utilizat drept colorant primar.
- Cea de a doua etapă cuprinde tratamentul cu o soluție de  $I_2 / KI$ , cu rol de mordant, care mărește interacția dintre colorant și componentele celulei.
- A treia etapă este reprezentată de spălarea cu alcool-acetonă, unde se diferențiază cele două tipuri de bacterii; cele Gram pozitive rețin cristalul violet, în timp ce bacteriile Gram - negative pierd colorantul primar și devin incolore.
- În final, acestea din urmă sunt colorate cu un alt colorant, secundar, cum este **safranina** sau fuxina.



# Componentii moleculari ai peretelui celular la bacterii

Datorită indicelui de refracție mic, peretele celular este invizibil ori foarte greu vizibil la celula vie examinată la microscopul fonic. Evidențierea lui este posibilă însă, prin aplicarea tehnicilor de colorare selectivă sau prin examinarea la microscopul electronic.

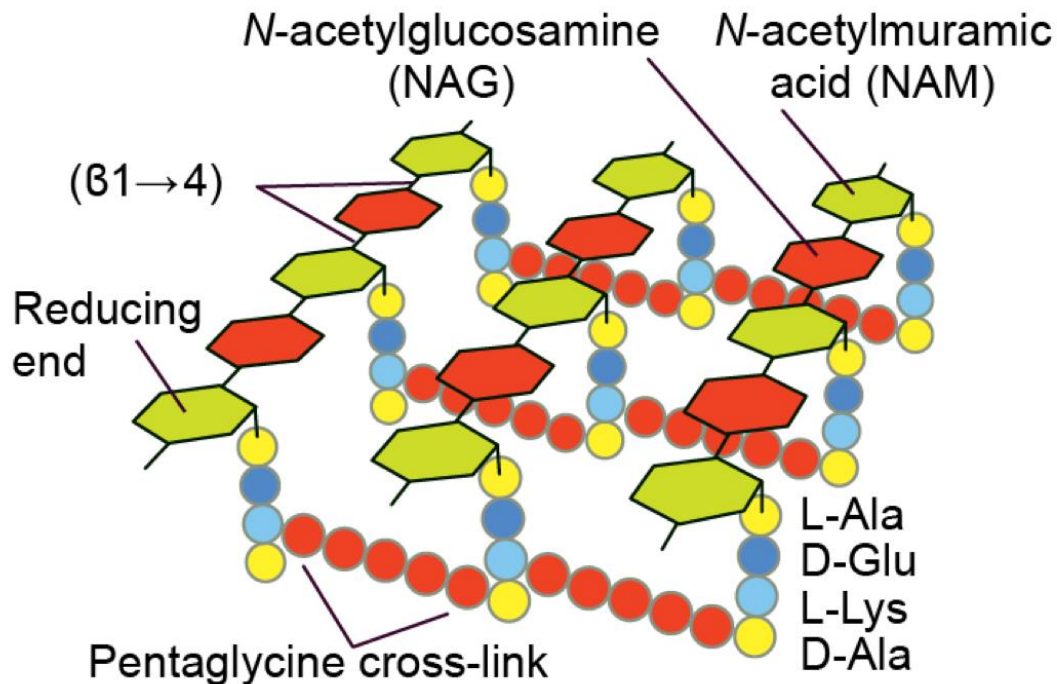
La celulele tinere, la care citoplasma este omogenă, compactă și abundentă, peretele celular aderă strâns la conținutul celular subiacent. La celulele bătrâne, sau în curs de liză, peretele celular devine evident, fiind îndepărtat de citoplasmă.

Bacterii Gram-pozitive	Bacterii Gram-negative
Peptidoglican-multistrat (grosime = 0,02-0,06 $\mu\text{m}$ )	Peptidoglican-monostat (grosime = 0,01 $\mu\text{m}$ )
Proteine	Lipoproteine
Acizi teicoici	Lipopolizaharide
Acizi teichauronici	Fosfolipide
Polizaharide	Polizaharide



# Peptidoglican

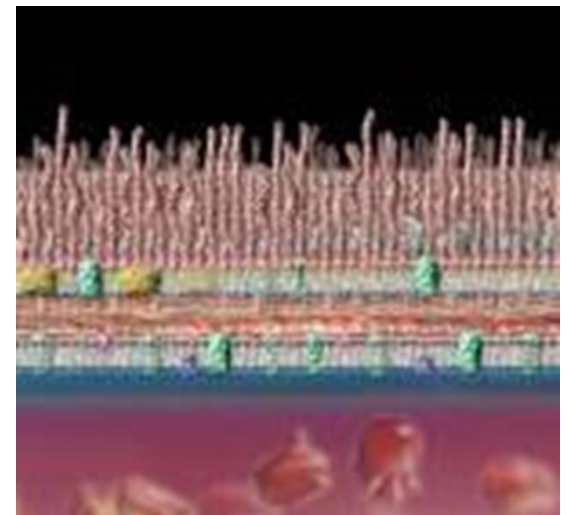
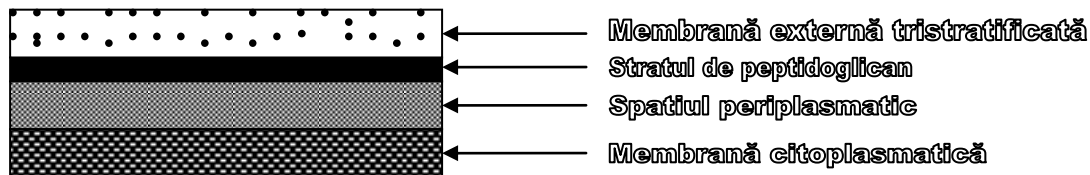
- este un heteropolimer format din două componente moleculare: o componentă moleculară glicanică și o componentă moleculară peptidică.
- *Componenta moleculară glicanică*, este foarte uniformă și are structura unor lanțuri lineare formate din resturi alternative a doua substanțe specifice peretelui celular. Aceste două substanțe nu sunt altceva decât două N-acetilhexozamine diferite: N – acetilglucosamina și acidul N – acetilmuramic, legate între ele prin legături  $\beta$ -1,4. Gruparea carboxil (-COOH) al resturilor de acid N-acetilmuramic formează punctele de legătură ale lanțurilor peptidice.
- *Componenta moleculară peptidică*, conține ca unitate de constituție un tetrapeptid cu următoarea structură: L-alanil- $\gamma$ -D-glutamil-L-R3-D-alanina. Restul L- R3 poate fi un aminoacid neutru, cum ar fi L-alanina sau L-homoserina, un aminoacid dicarboxilic, cum ar fi acidul L-glutamic sau un aminoacid diaminat, cum ar fi L-lizina sau L-ornitina.





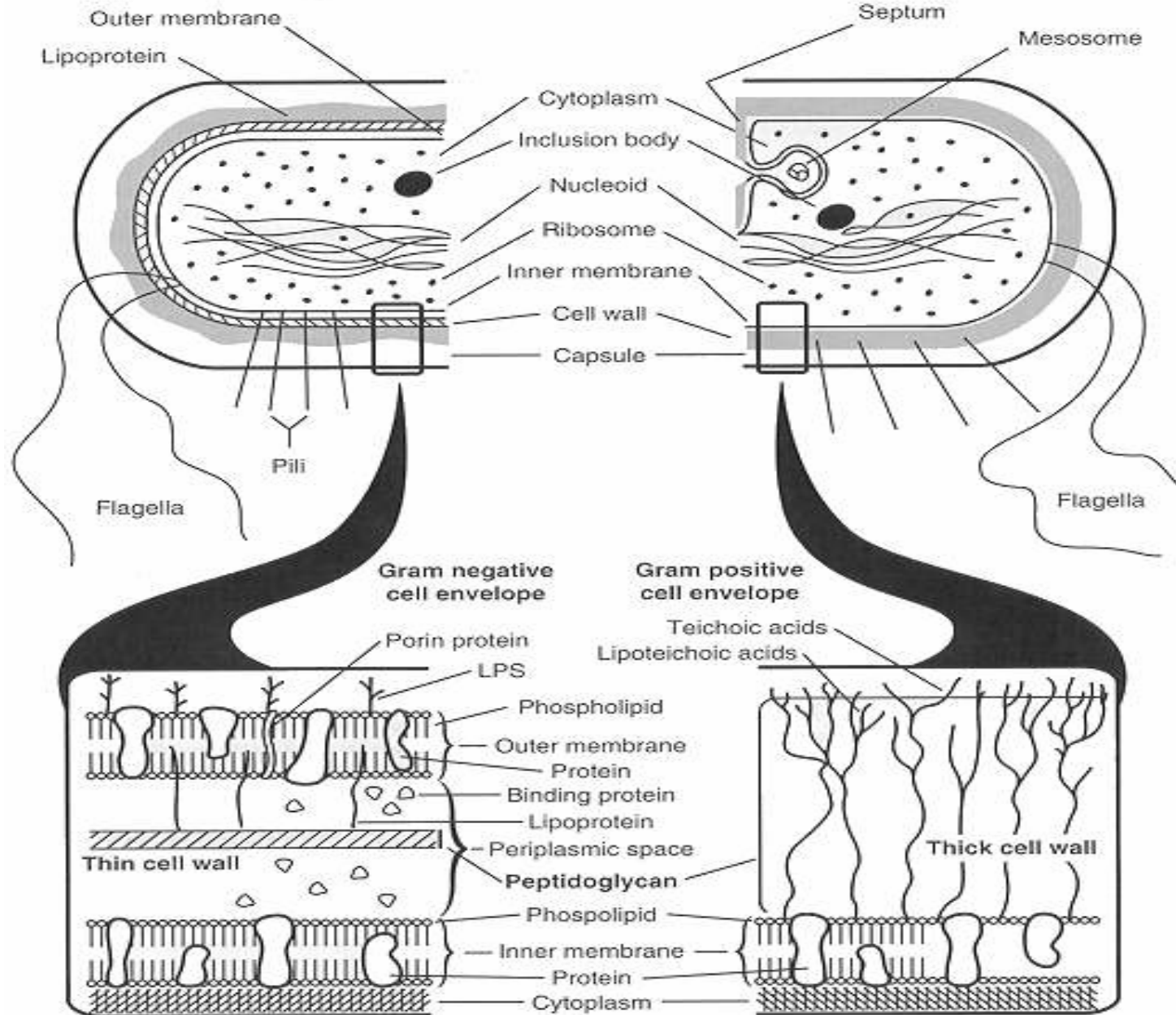
# Spatiul periplasmic

- Între membrana externă și membrana citoplasmatică.
- În spațiul periplasmic își au sediul unele enzime cum ar fi fosfataza alcalină, acidhexozofosfataza, fosfodiesteraza ciclică și numeroase enzime hidrolitice. Pe langa enzime, spațiul periplasmic mai conține o serie de proteine neenzimaticе, așa numitele “proteine de legatură”, care au rolul de a lega specific diferitele substanțe cum ar fi zaharuri, aminoacizi, ioni anorganici, etc., ajunse la nivelul său, urmand apoi să le transporte pîna la nivelul proteinelor de transport din membrana plasmatică.
- Spațiul periplasmic, prin echipamentul enzymatic pe care îl posedă, îndeplinește și importante funcții în pregătirea chimică și biochimică a substanțelor care difuzează prin membrana sa externă și urmează să fie transportate prin membrana plasmatică, în citoplasmă.



## Gram Negative

## Gram Positive



# FUNȚIILE PERETELUI CELULAR

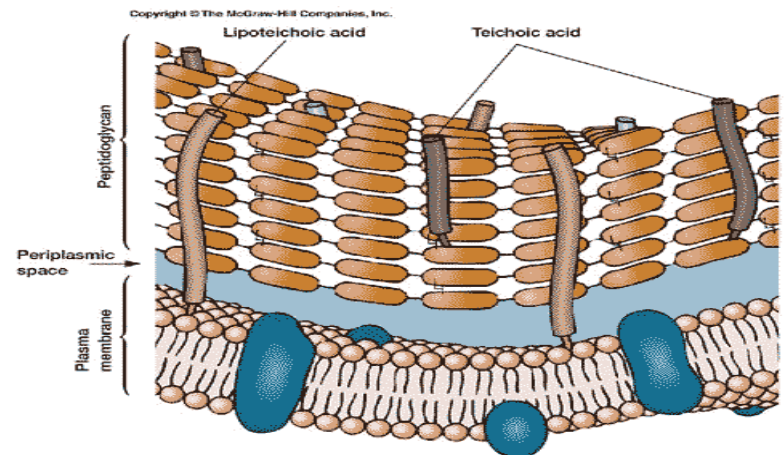
1. Menține **forma**
2. Permite delimitarea bacteriilor în 2 **grupe Gram**.
3. Este responsabil de **acido – alcoolo rezistență**,
4. Asigura **creșterea și diviziunea bacteriilor**
5. Intervine în **nutriția bacteriană**
6. Intervine în **metabolismul bacterian**,
  - sită moleculară
  - transportor de ioni
  - import și export de proteine
7. Este o **barieră selectivă** și are **rol protector**.

# MEMBRANA CITOPLASMATICA

- strat subțire (10 -20 nm)
- sub peretele celular => greu de evidențiat.

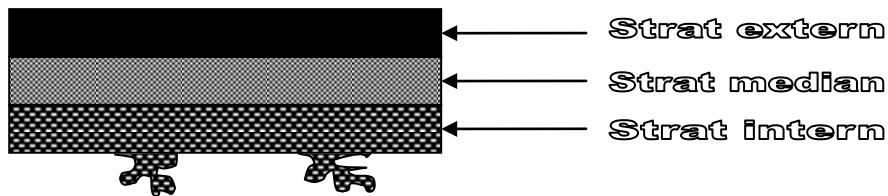
## Structura membranei citoplasmaticice

- Din punct de vedere molecular, membrana plasmatică prezintă o structură tipică membranelor biologice. Ea este formată din: lipide, reprezentate prin fosfolipide, proteine și glucide



# MEMBRANA CITOPLASMATICA

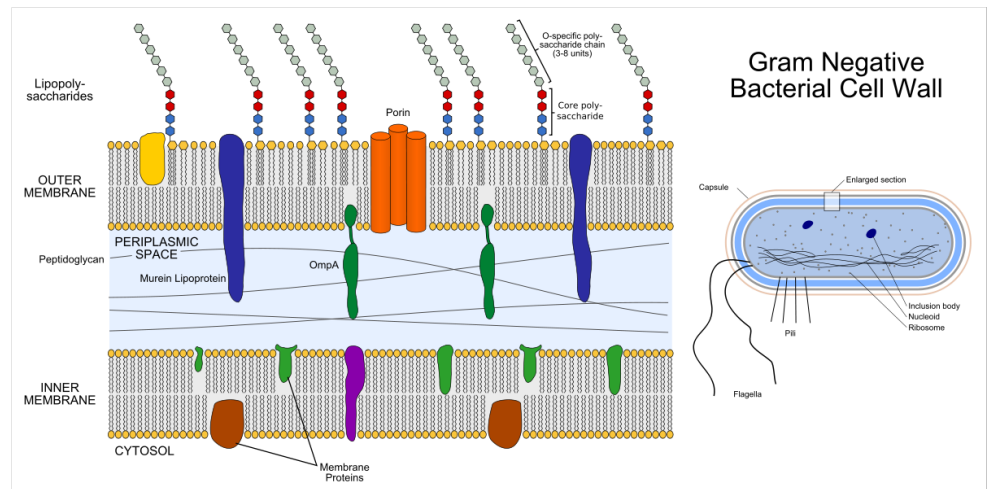
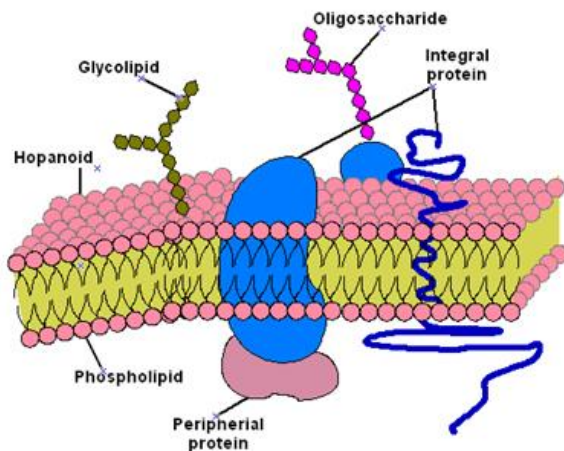
- este componentul structural a celulei ce aderă intim cu peretele celular datorita diferenței de presiune osmotică dintre mediul extern și mediul intern celular. Ea poate fi evidențiată la microscopul optic prin tehnici de colorare selective.
- are o grosime de 50-55Å. Din punct de vedere ultrastructural ea este formată din trei straturi de grosimi aproximativ egale



Stratul extern al membranei plasmatică, în cazul bacteriilor **Gram-negative**, este separată de peretele celular prin spațiul periplasmatic. În cazul bacteriilor **Gram-pozitive** foia externă a membranei plasmatică aderă, în general, de stratul de peptidoglican a peretelui celular. Stratul intern al membranei plasmatică se află în contact, spre partea internă, cu citoplasma. Între stratul intern și stratul extern se afla un strat intermediar mai puțin opac, mai gros și mai puțin dens la fluxul de electroni, cunoscut sub numele de stratul median.

# MEMBRANA CITOPLASMATICA

- Din punct de vedere molecular, membrana plasmatică prezintă o structură tipică membranelor biologice. Ea este formată din: lipide, reprezentate prin fosfolipide, proteine și glucide.
- Componentii moleculari ai membranei plasmatică sunt astfel structurați încât să-i permită acestora să-și poată îndeplini rolul său de membrană selectivă. Fosfolipidele din structura membranei, formează un “film” în care plutesc proteine globulare în timp ce glucidele interacționează fie cu fosfolipidele, fie cu proteinele.
- *Fosfolipidele membranare* prezintă o structură moleculară specifică. Ele au o extremitate polară hidrofilă alcătuită dintr-un radical fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) și două lanțuri de acizi grași dispuși divergent, aceștea se leagă de radicalul fosfat printr-o moleculă de glicerol. Lanțurile de acizi grași reprezintă extremitatea hidrofobă a fosfolipidului.



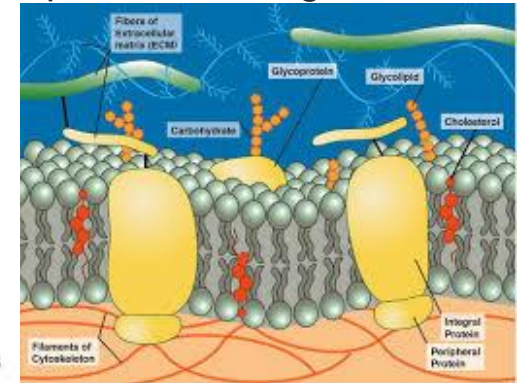
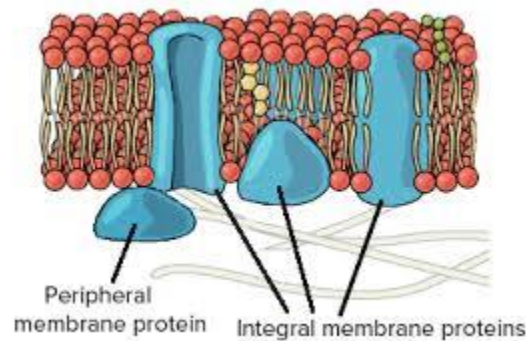
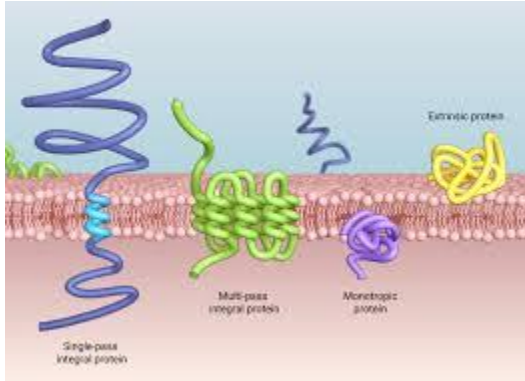


# MEMBRANA CITOPLASMATICA

- *Proteinele membranare* reprezintă componenta moleculară a membranei așezate atât de o parte cât și de cealaltă a dublului strat fosfolipidic, dar și în interiorul lui. În raport cu poziția lor în structura membranei plasmatică, proteinele pot fi de două tipuri:

- a) proteine integrate și
- b) proteine de suprafață.

- proteinele integrate, în general sunt insolubile în apă și nu pot fi îndepărtate fără ruperea dublului strat fosfolipidic, ele pot fi integrate parțial (când molecula de proteină ocupă numai o porțiune din grosimea stratului fosfolipidic) sau total (când molecula de proteină se întinde pe întreaga grosime a stratului fosfolipidic).
- proteinele de suprafață sunt acele proteine din structura membranei plasmatică ce nu se inseră în dublul strat fosfolipidic. Ele sunt dispuse fie pe fața externă, caz în care sunt proteine hidrosolubile, fie pe fața internă, caz în care sunt legate de proteinele integrate.



- *Glucidele* reprezintă componentul molecular cel mai slab reprezentat în structura membranei. Ele sunt reprezentate la nivel membranar de unele polizaharide ce stabilesc legături intermoleculare cu proteinele, formând complexe moleculare glicoproteice sau de lipidele membranare formând complexe moleculare glicolipidice.

# FUNCȚIILE MEMBRANEI CITOPLASMATICE

## 1. Permeabilitate selectivă și transport de substanțe:

- transport pasiv = difuzia simplă, substanțe cu GM mică
- transportul activ
  - contra gradient de concentrație,
  - cu consum de energie

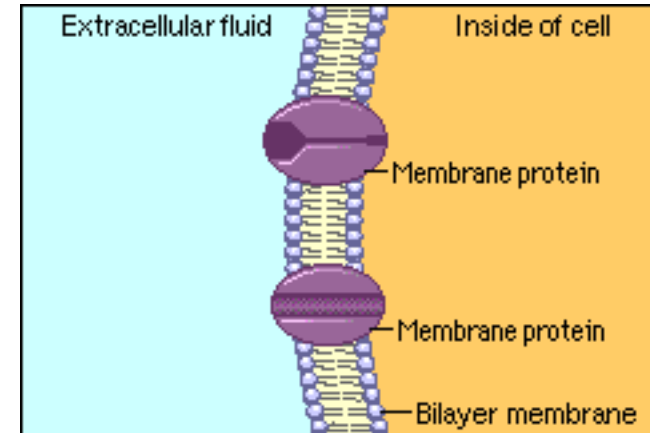
## 2. Funcție bioenergetică:

sediul transportului de electroni, a fosforilării oxidative (Oxizomii).

## 3. Funcție biosintetică: precursori PC

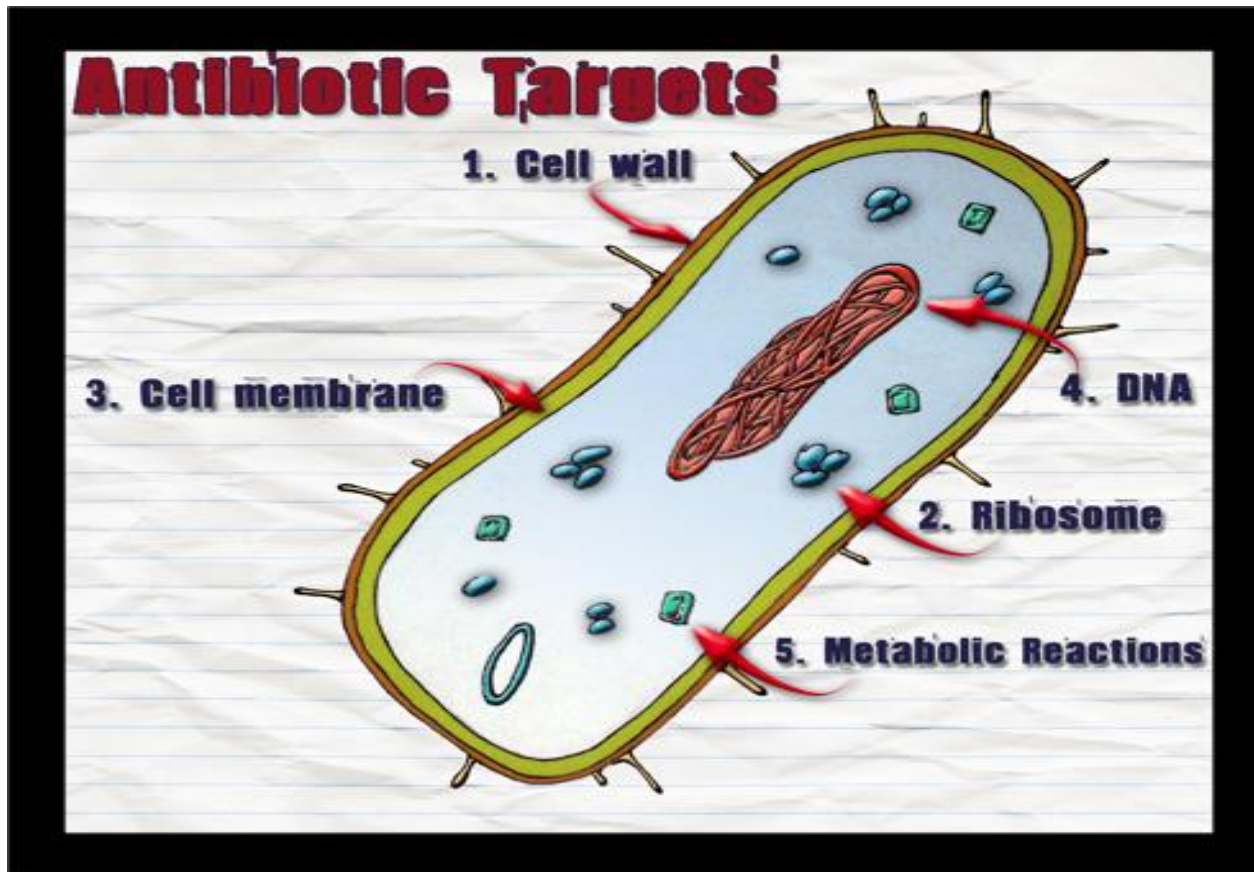
## 4. Sediul enzimelor hidrolazice

hidrolizează polimeri organici: proteine, zaharuri, lipide în nutrienți, care pot pătrunde în bacterie.



# FUNCȚIILE MEMBRANEI CITOPLASMATICE

5.Ținta de acțiune pentru detergenți și antibiotice (bactericid.)

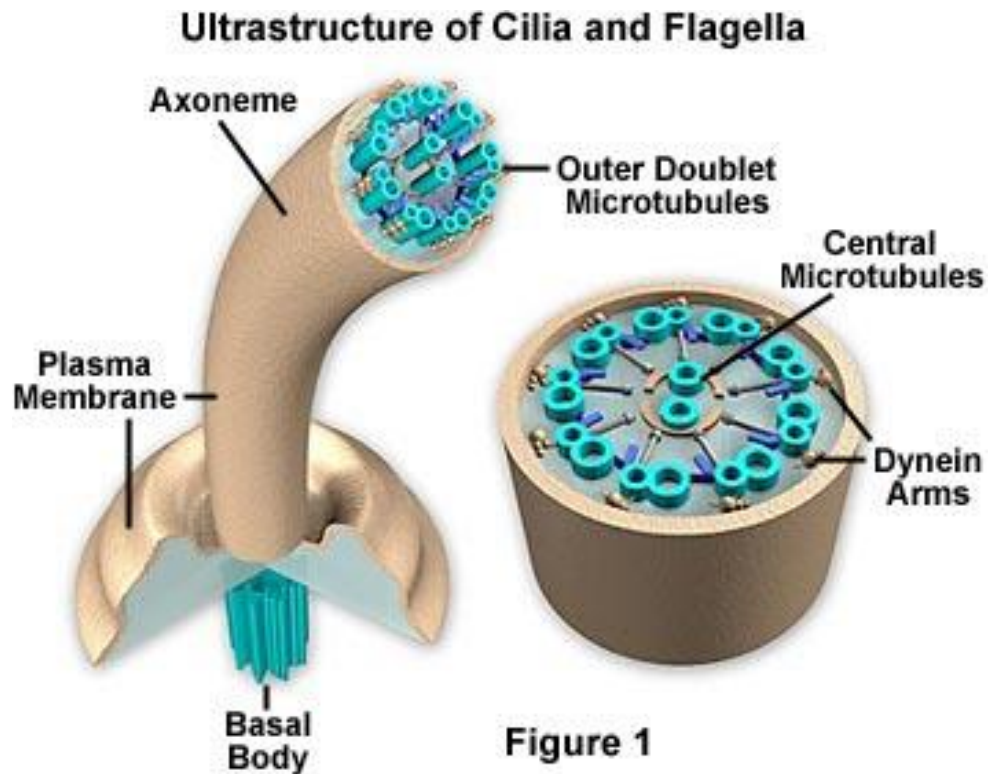


# FUNȚIILE MEMBRANEI CITOPLASMATICE

## 6. Replicarea ADN cromozomial, plasmidic:

- prin mezozomii septali

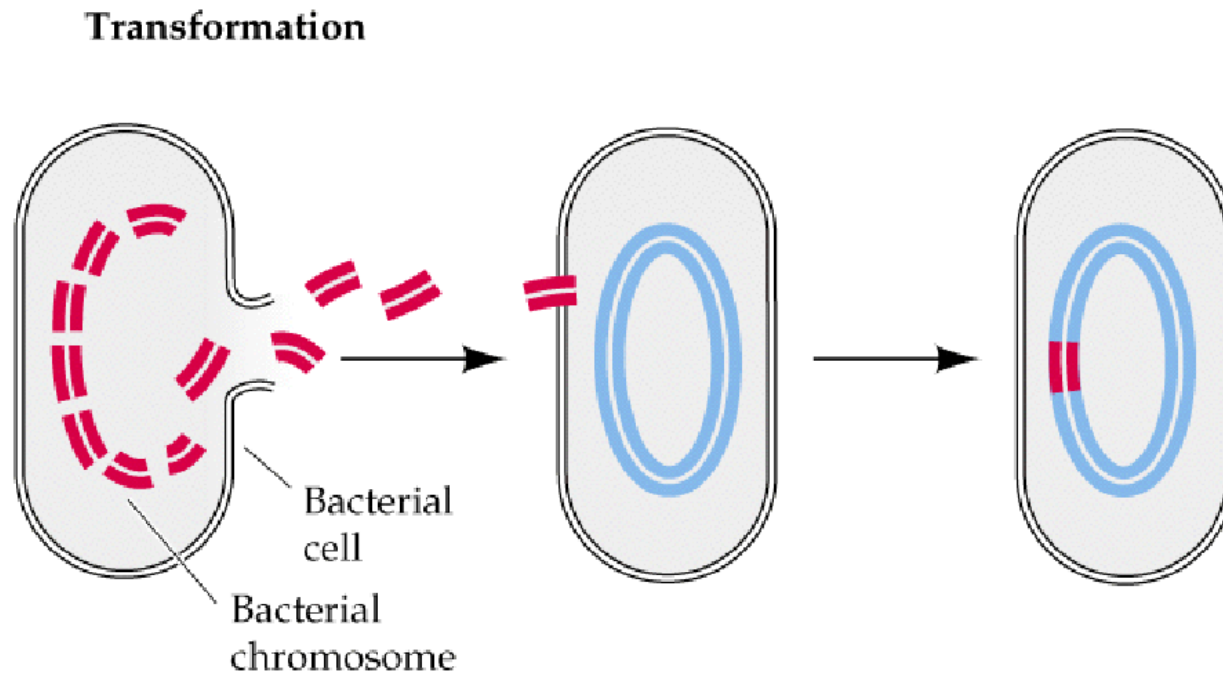
## 7. Sediul motorului ciliar



# FUNȚIILE MEMBRANEI CITOPLASMATICE

## 8. Import de macromolecule

- **ex.** fragment de ADN, de la bacterii donatoare = transformare

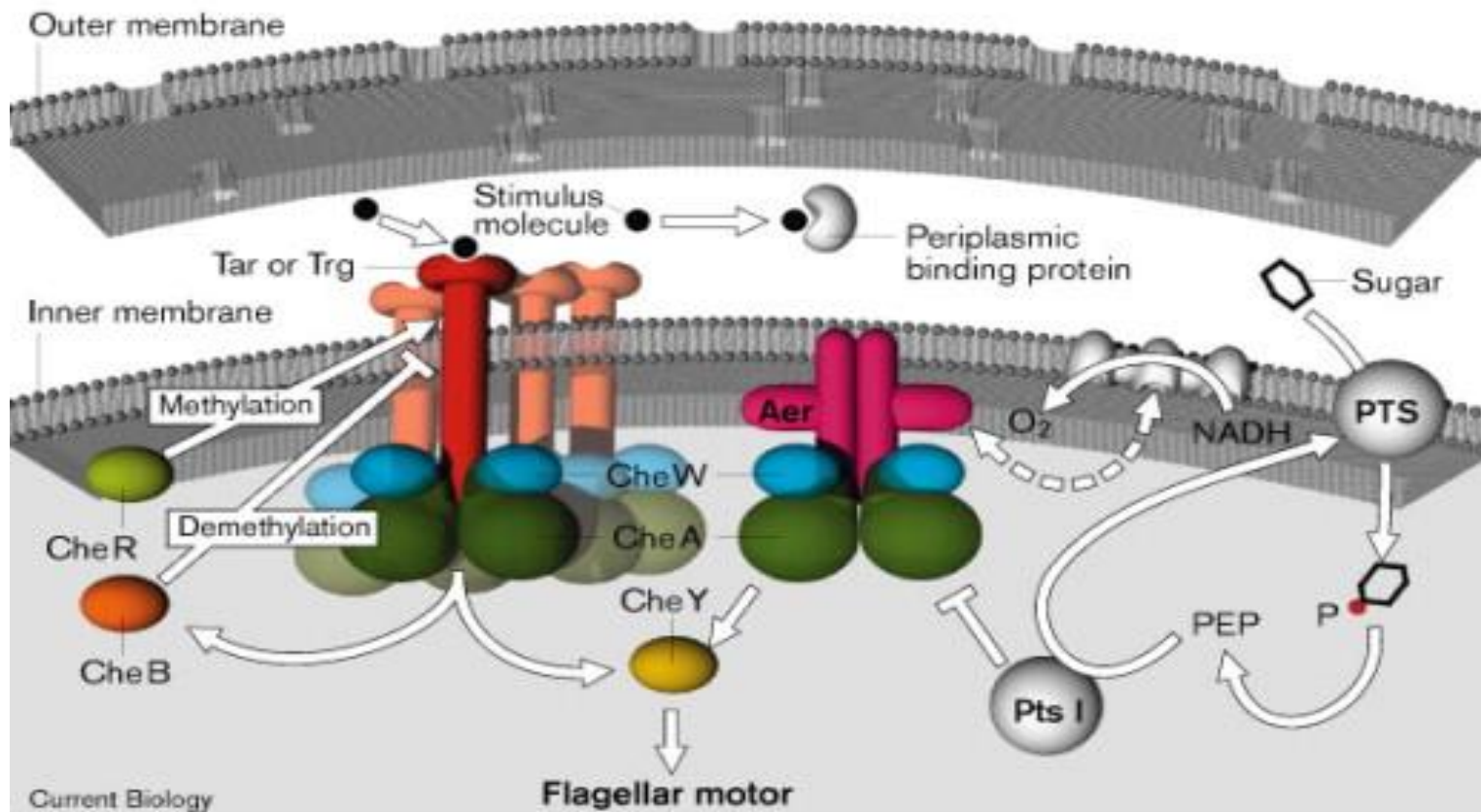




# FUNȚIILE MEMBRANEI CITOPLASMATICE

## 9. Sediul receptorilor chemotactici:

- deplasarea spre substanțele nutritive





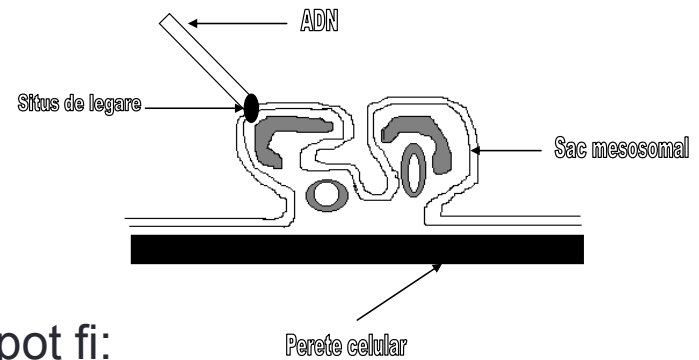
# MEMBRANA CITOPLASMATICĂ

Prelungiri în citoplasmă:

Mesosomii reprezintă un sistem membranos intracelular format prin invaginarea membranei plasmaticice de care sunt legații intim

• Rol:

- diviziunea bacteriilor;
- replicare ADN-ului;
- formarea endosporilor



După modul de formare și morfologie mesosomii pot fi:

- 1) lamelari, când se formează prin plierea și invaginarea membranei plasmaticice. Ei pot avea forme variabile: lamele mari sau lamele mici și medii;
- 2) veziculari sau saciformi, când se formează prin invaginarea membranei plasmaticice și plierea ei. Au forme de vezicule aproape saciforme;
- 3) tubulari, când se formează prin simpla invaginare a membranei plasmaticice spre citoplasma. Au formă de tubuli sau deget de mână.

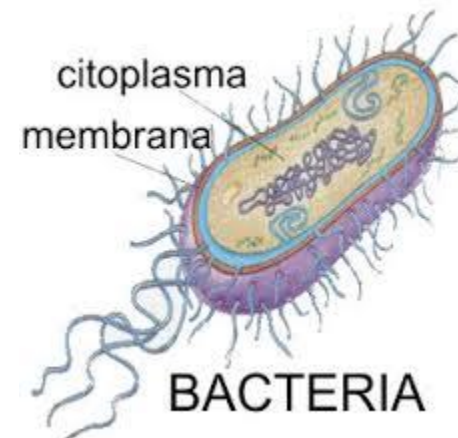
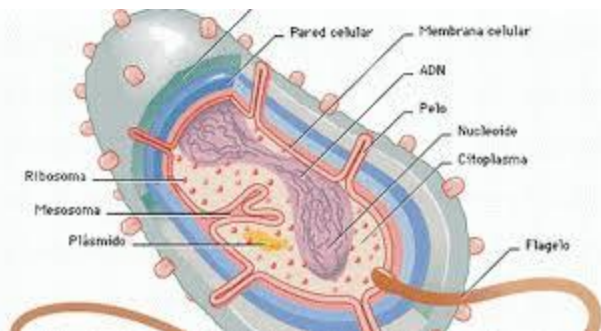
Mesosomii au caracteristicile structurale ale membranei plasmaticice din care derivă. Sunt însă mai numeroși și mai bine structurați la bacteriile Gram-pozitive, pe când la bacteriile Gram-negative sunt greu de observat, fiind, în general, rudimentari, slab dezvoltați ca mărime și mai puțini ca număr.

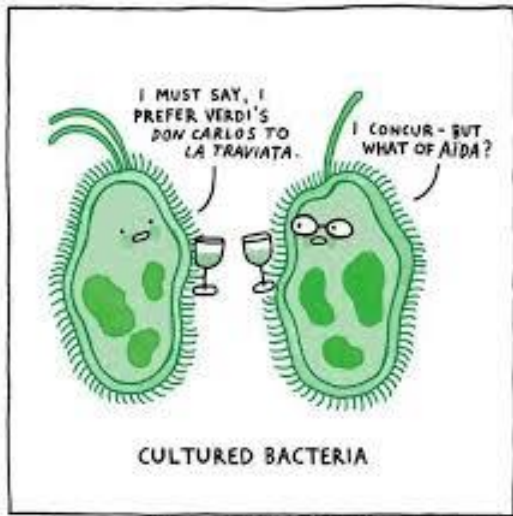
# CITOPLASMA BACTERIILOR

- necompartimentată,
- fără organite celulare delimitate de membrane

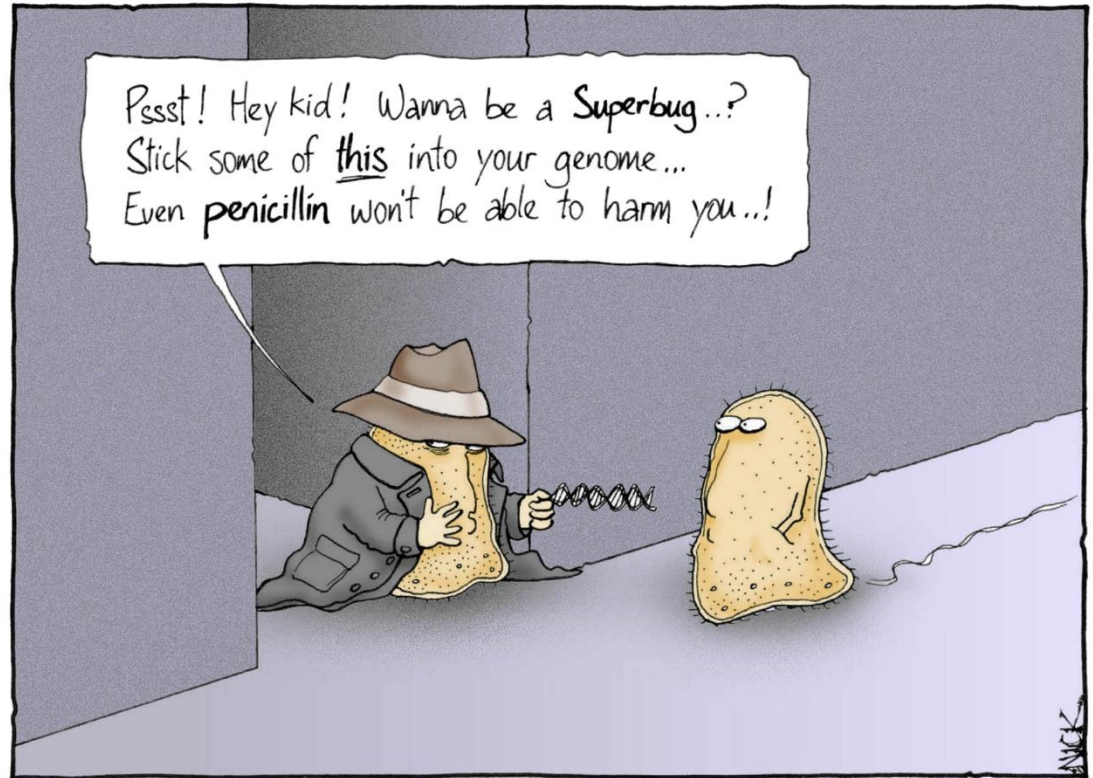
Citoplasma bacteriană este considerată, în general, un sistem coloidal complex format din proteine, glucide, lipide, apă și substanțe minerale.

Aspectul ei este variabil în funcție de vârsta culturii și de condițiile de mediu. La celulele tinere și în condiții optime de mediu, citoplasma aderă de învelișurile celulare și se prezintă ca o masă densă, omogenă și intens colorabilă. La celulele bătrâne, citoplasma se retractă centriped, îndepărtându-se de învelișurile celulare, căpătând o structură granulară cu vacuole din ce în ce mai evidente la microscopul optic. Ea își pierde afinitățile tinctoriale.





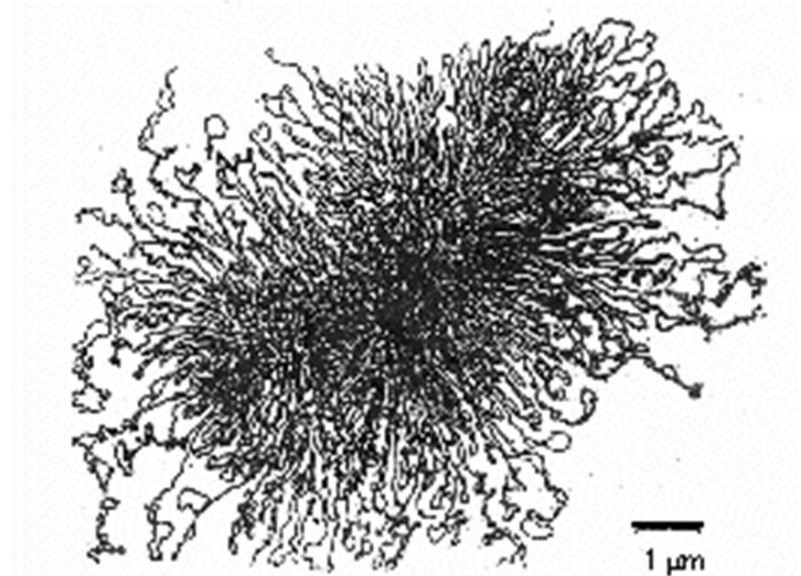
© FOUR EYES BY GEMMA CORRELL 2013



It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.

# NUCLEOID

- nu are
  - nucleoli,
  - membrana nucleară.

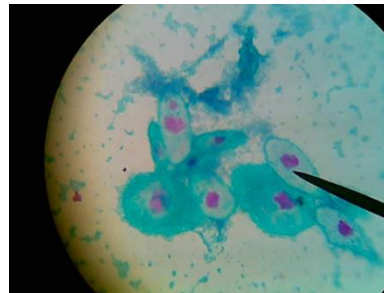


- Se evidențiază:

- prin colorații speciale:

- colorația Feulgen,
- acridin orange;

- microscopia electronică (aspect fibrilar).



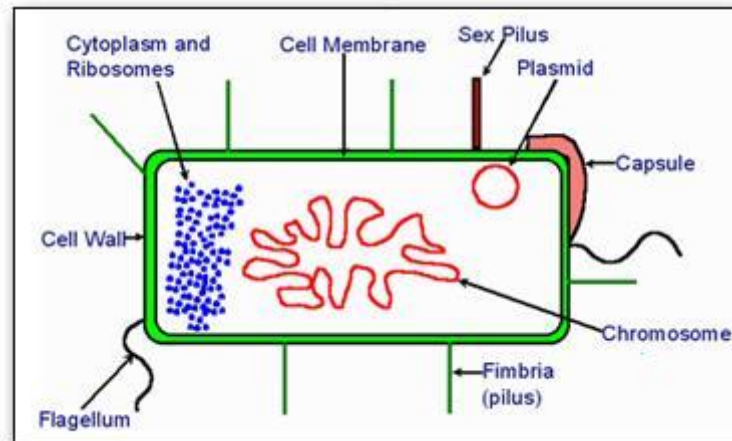
# Material genetic extracromozomial

- Celula bacteriană fiind o celulă procariotă nu posedă un nucleu veritabil cu membrană proprie, nucleol și un număr determinat de cromozomi.
- Nucleoidul bacterian este o formă primitivă de organizare a materialului genetic. El este inclavat direct în citoplasmă, în mod obișnuit în partea centrală a celulei.
- Evidențierea sa la microscopul fonic nu se poate face prin colorare selectivă decât după îndepărtarea ARN.
- Forma nucleoidului bacterian este diferită. Ea poate fi sferică sau ovală, sub formă de haltere sau bastonașe izolate dispuse în V, Y sau sub forma unor filamente axiale.



# Nucleoid

- Nucleoidul bacterian reprezintă 5-16 % din volumul celulei uscate.
- La cele mai multe bacterii nucleoidul este reprezentat de o moleculă gigantă de ADN de formă filamentoasă, circulară cu extremitățile reunite, fapt pentru care el poate fi considerat un cromosom gigant. Lungimea filamentului este de 1400  $\mu\text{m}$ , iar diametrul său este de 2,5 nm; dimensiune ce corespunde unei molecule de ADN dublu catenară.
- Structura primitivă a nucleoidului bacterian, precum și lipsa membranei proprii, permite un contact direct între molecula de ADN, ARN și ribosomii din citoplasmă și în consecință un transfer rapid al informației genetice.



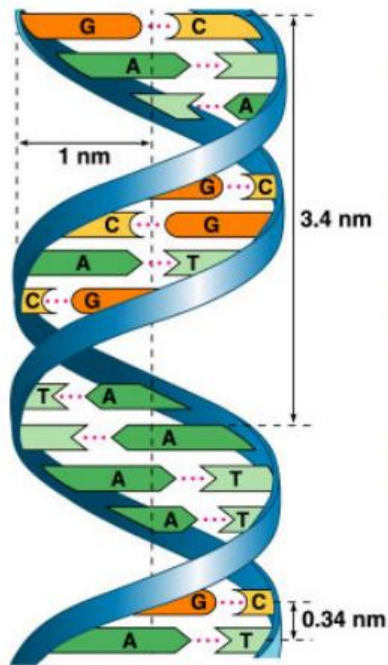


# Nucleoid

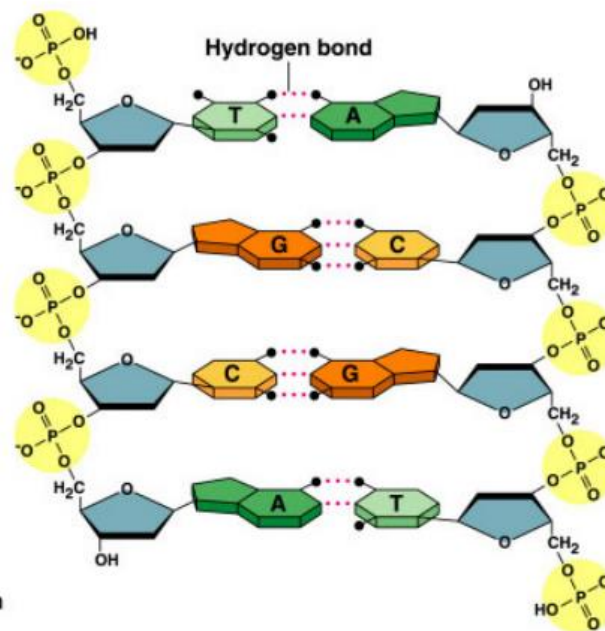
- În condiții normale de cultivare, în faza staționară, celula bacteriană prezintă un singur cromozom, reprezentat de molecula de ADN. În faza de multiplicare activă, în celulă se pot distinge mai mulți cromosomi (2-4) care sunt, însă, genetic identici, deoarece provin din replicarea cromozomului unic. Din acest punct de vedere bacteriile pot fi considerate organisme esențialmente haploide (cu  $n$  cromosomi). Nici chiar atunci când celula primește un aport de material nuclear exogen, prin procese de transfer genetic, diploidia nu este decât parțială și tranzitorie.
- La bacterii nu se întâlnesc procese specifice de multiplicare a materialului nuclear. Aici cromozomul se replică în două molecule egale identice din punct de vedere genetic, care apoi se separă una de alta.
- Replicarea ADN-ului bacterian se poate realiza în trei moduri:
  - conservativ, când catenele parentale sunt conservate în totalitate la descendenți;
  - dispersiv, când lanțurile de ADN ale descendenților conțin fragmente nou sintetizate;
  - semiconservativi, când lanțurile de ADN provin de la molecule diferite de AND (o catena din molecula mama și o catena nou sintetizată).

# ADN

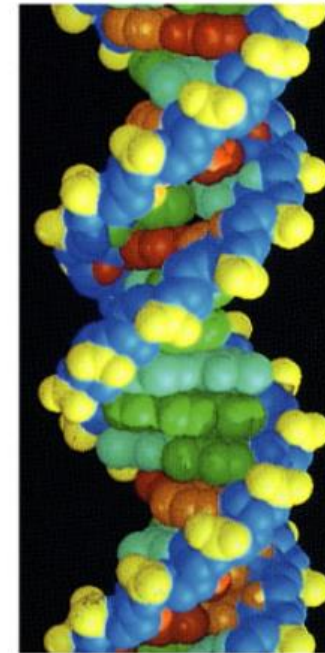
## Dublul helix



(a) Key features of DNA structure



(b) Partial chemical structure

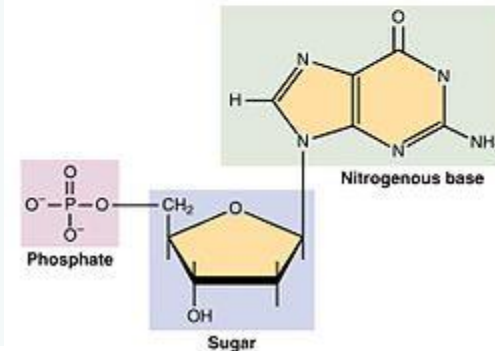
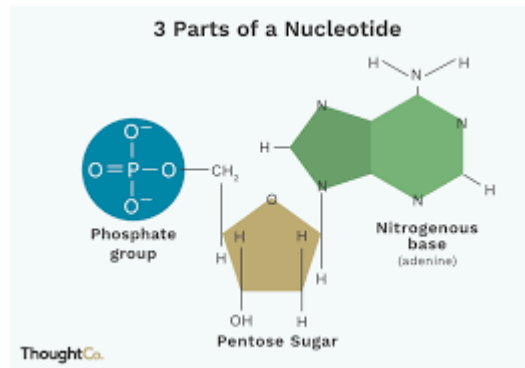
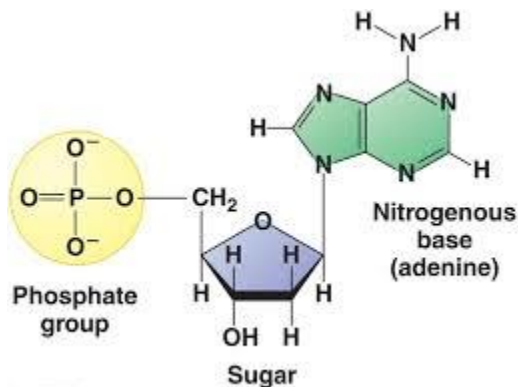
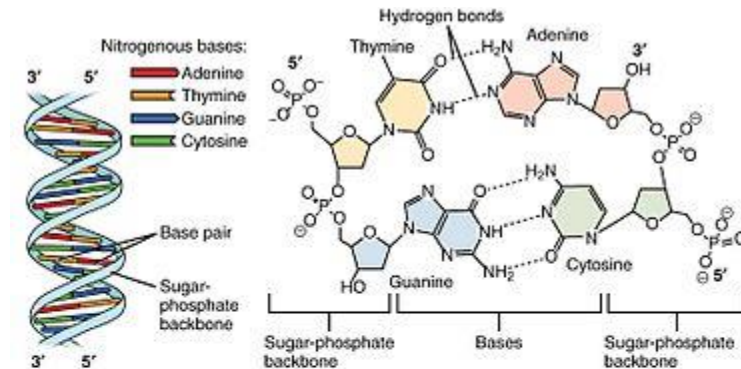
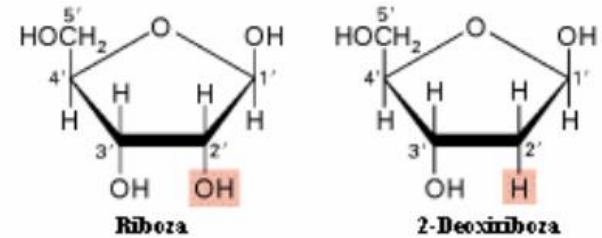


(c) Space-filling model

# Nucleotidele – subunități ale ADN și ARN

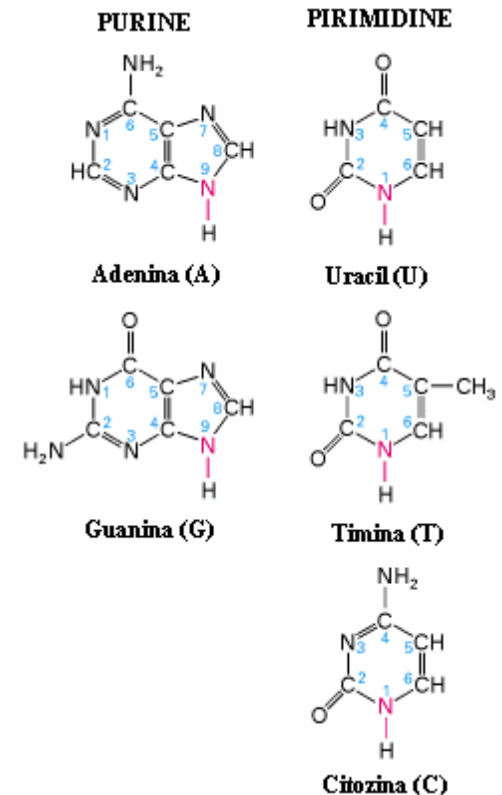
Constituie din:

- zaharid format din cinci atomi de carbon: riboza sau dezoxiriboza;
- radical fosfat;
- compus ciclic ce conține azot (bază azotată):
  - pirimidinic: Citozina (C), Timina (T) și Uracilul (U);
  - purinic: Guanina (G) și Adenina (A);



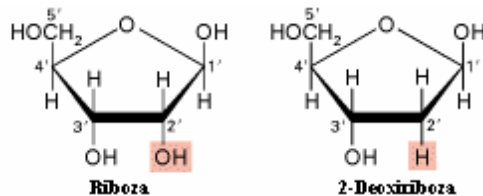
# Bazele azotate

- Sunt denumite astfel deoarece se pot combina cu  $H^+$  în soluții acide;
- Fiecare nucleotid este denumit în funcție de baza azotată unică pe care o conține.

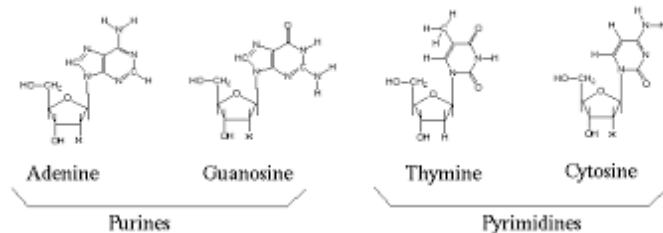


# ADN și ARN

- Există două tipuri de acizi nucleici care diferă prin tipul de pentoză care formează lanțul polimeric:
  - acidul ribonucleic (conține riboza), sau ARN, și conține bazele azotate A, U, G și C;
  - acidul dezoxiribonucleic (conține dezoxiriboza), sau ADN, și conține bazele A, T, G și C;



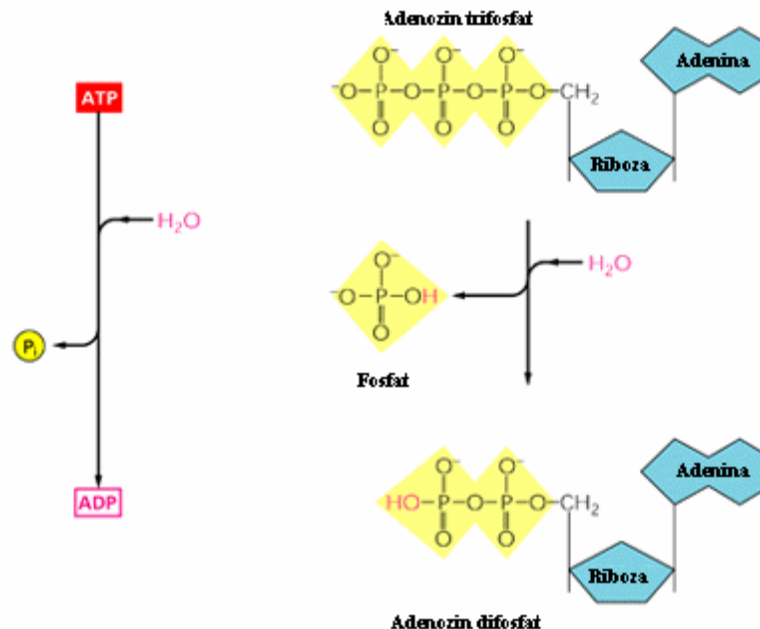
The Nucleotides of DNA



- secvența bazelor din ADN și ARN reprezintă informația genetică a celulelor vii;
- ereditatea și evoluția sunt determinate de capacitatea bazelor din diferite molecule de acizi nucleici de a se recunoaște între ele prin interacțiuni necovalente (numite împerecheri de baze) – G cu C și A cu T (în ADN) sau cu U (în ARN).

# Proprietățile nucleotidelor

- stochează informația biologică;
- molecule de semnalizare între celule (ex: AMP ciclic);
- pot îndeplini funcția de purtători de energie chimică.  
Exemplu: esterul trifosforic al adeninei, ATP, participă la transferul energiei în sute de reacții celulare.

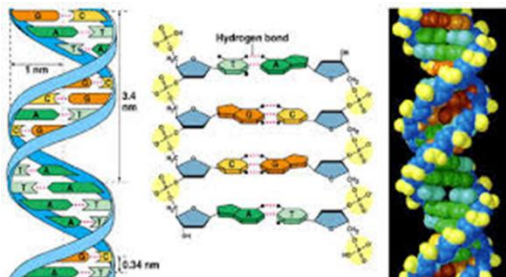
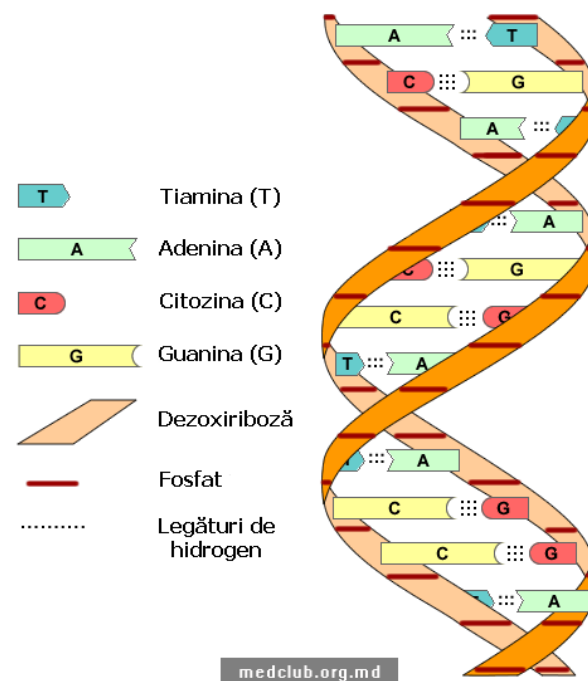




# ADN

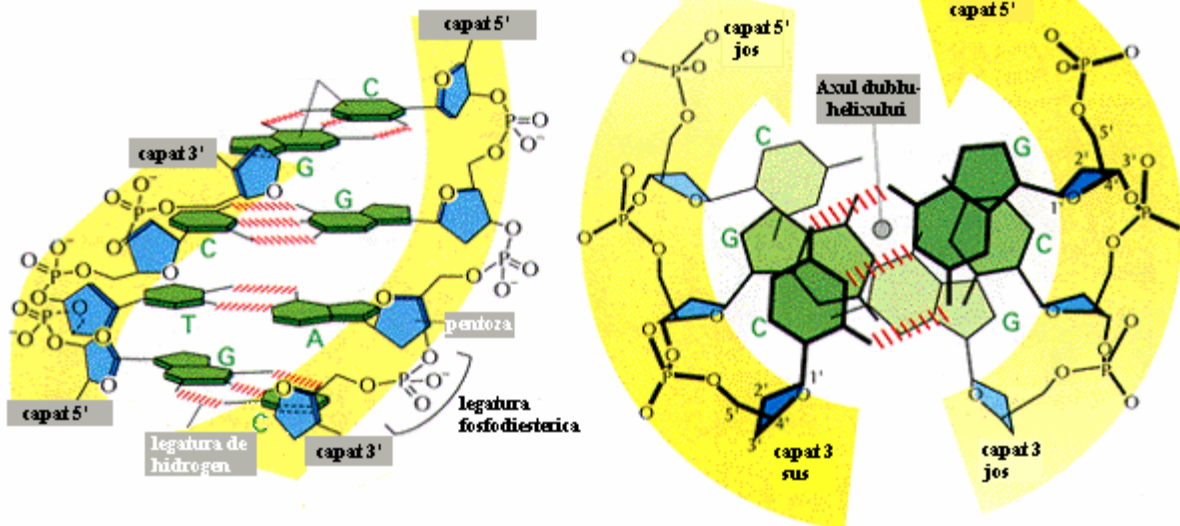


- Împerecherea de baze complementare în moleculele de ADN:
- Un lanț de ADN este un polimer lung, neramificat, format doar din patru tipuri de subunități. Acestea sunt dezoxiribonucleotidele ce conțin bazele: adenina (A), citozina (C), guanina (G) și timina (T);
- $[G] = [C]$  și  $[A] = [T]$  ;
- Nucleotidele sunt legate între ele prin legături fosfodiesterice covalente stabilite între carbonul 5' al unei dezoxiriboze, cu carbonul 3' al celei următoare.



# ADN

- Bazele unei molecule de ADN sunt dispuse *în interiorul* dublului helix al moleculei



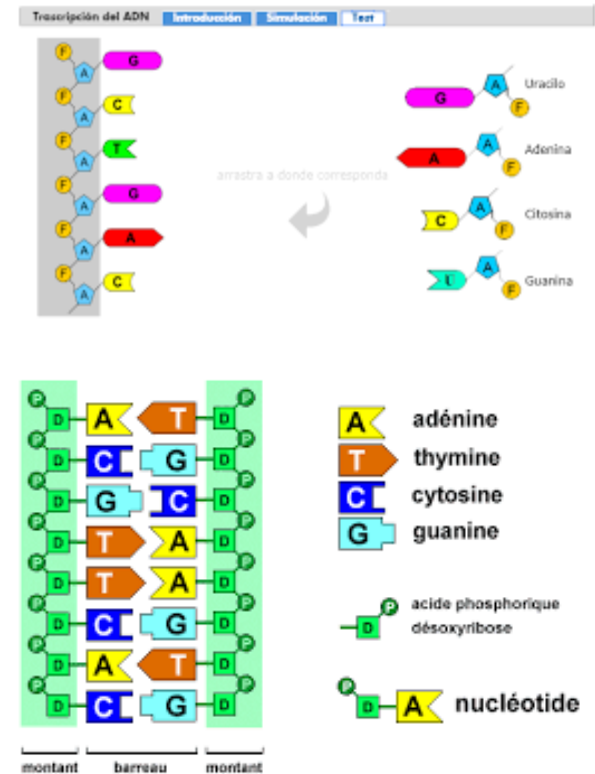
Dublul helix de ADN. (A) Un segment scurt al helixului, văzut lateral. Sunt prezentate patru perechi de baze. (B). Aspectul helixului, privit dinspre un capăt. De notat că cele două catene se desfășoară în direcții opuse, iar bazele din fiecare pereche sunt legate prin două sau trei legături de hidrogen.

# ADN

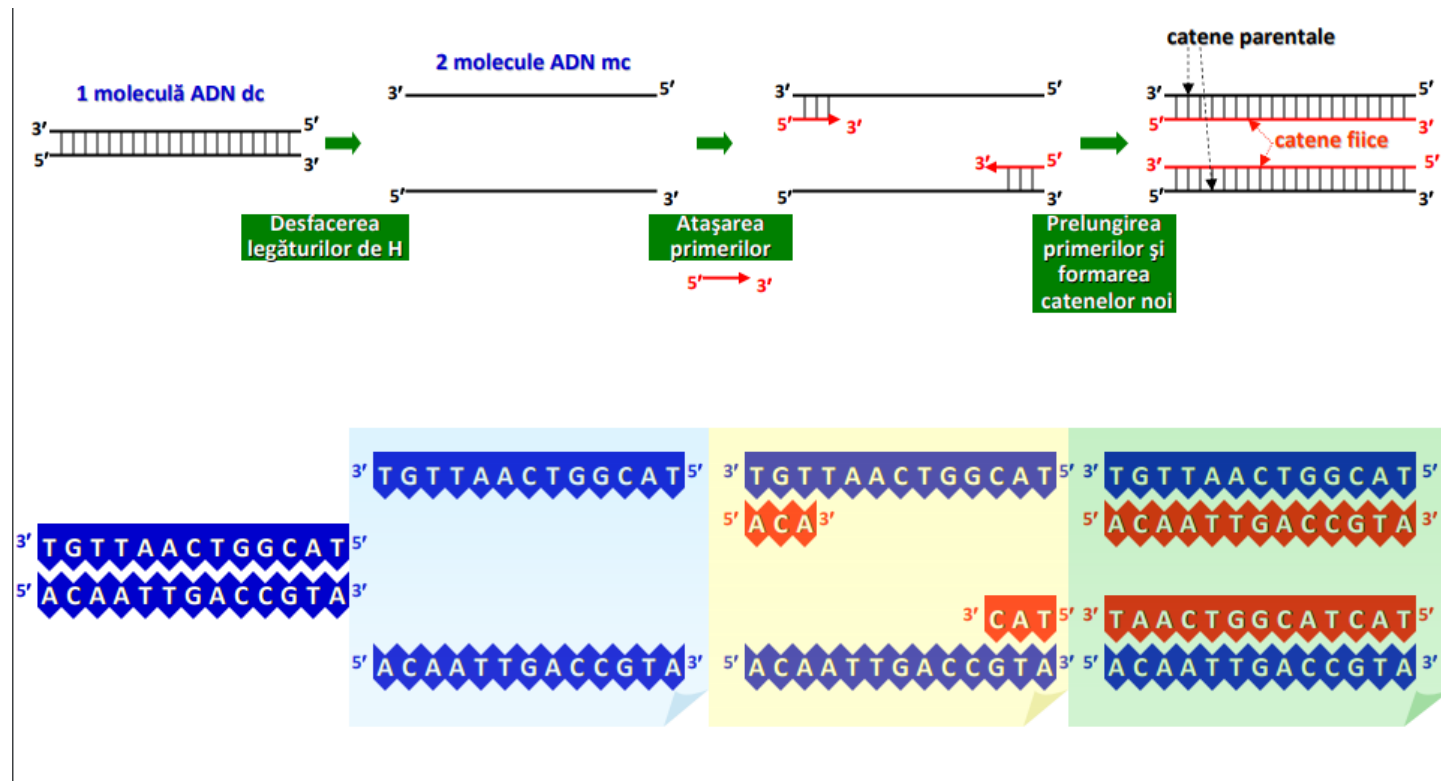
- Structura ADN stă la baza explicării eredității

- gena este purtătoarea informației biologice într-o formă care poate fi precis copiată și transmisă de la o celulă la toate descendentele ei;
- ADN poartă informația în secvența sa liniară de nucleotide;
- Fiecare nucleotid – A, C, T sau G – poate fi considerat ca o literă a unui alfabet și care este utilizat pentru scrierea liniară a mesajelor biologice;

```
CCCTGTGGAGCCACACCCTAGGGTTGGCCA
ATCTACTCCCAGGAGCAGGGAGGGCAGGAG
CCAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGGCAGAG
CCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACAC
AACTGTGTTCACTAGCAACTCAAACAGACA
CCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGT
CTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGA
ACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGG
GCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGT
TTAAGGAGACCAATAGAAACTGGGCATGTG
GAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTTCTGATA
GGCACTGACTCTCTCGCCTATTGGTCTAT
TTTCCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTAC
CCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCTTT
GGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATG
GGCAACCCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAG
AAAGTGCTCGGTGCCCTTTAGTGATGGCCTG
GCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTT
GCCACACTGAGTGAGCTGCACGTGACAAAG
CTGCACGTGGATCCTGAGAACTTCAGGGTG
AGTCTATGGGACCCTTGATGTTTTCTTTCC
CCTTCTTTTCTATGGTTAAGTTCATGTCAT
AGGAAGGGGAGAAGTAAACAGGGTACAGTTT
AGAATGGGAAACAGACGAATGATTGCATCA
GTGTGGAAAGTCTCAGGATCGTTTTAGTTTC
TTTTATTGCTGTTCAACAATTGTTTTTCT
TTTTGTTAATTCTTGCTTTCTTTTTTTTTT
CTTCTCCGCAATTTTTACTATTATACTTAA
TGCCTTAACATTGTGTATAACAAAAGGAAA
TATCTCTGAGATACATTAAGTAACTTAAAA
AAAACTTTACACAGTCTGCCTAGTACATT
ACTATTTGGAATATAAGTGTGCTTATTTGC
```

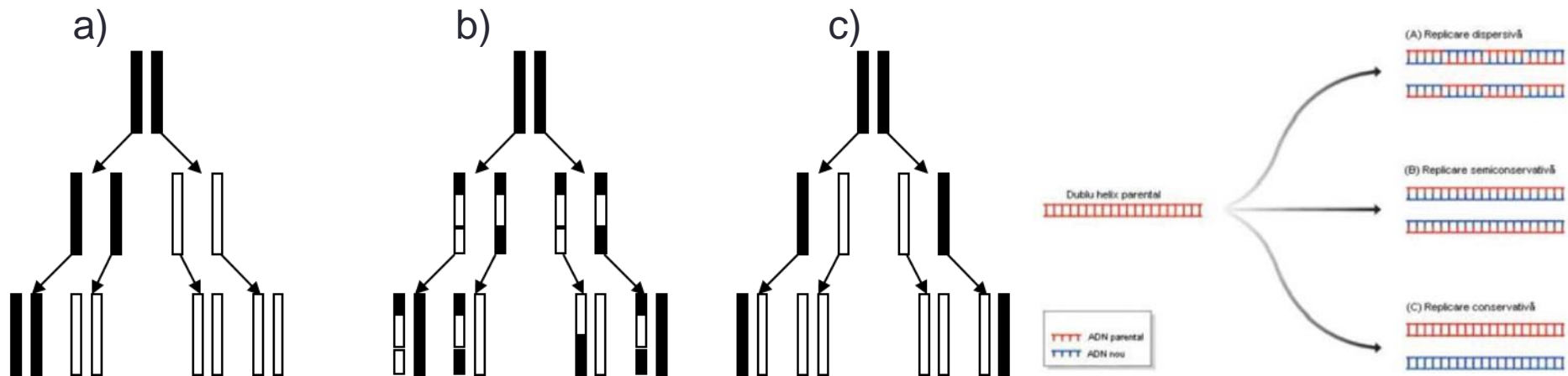


# Replicare ADN



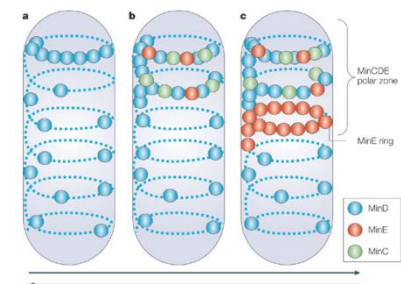
# Replicarea ADN-ului bacterian

Cromozomul bacterian poartă în structura sa informația genetică necesară desfășurării normale a proceselor energetice, biosintetice, creșterii și dezvoltării, precum și activității de reglare a celulei. El este acela care determină arhitectura, ereditatea și capacitatea de evoluție a celulei bacteriene.



Replicarea cromozomului bacterian

- a) replicare conservativă;
- b) replicare dispersivă;
- c) replicare semiconservativă.



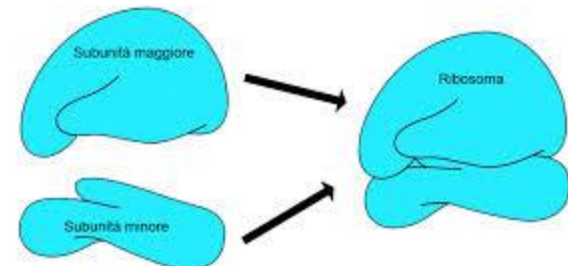
# CITOPLASMA BACTERIILOR

## 1. Ribozomi: mii, - sediul sintezei proteice

Ribozomii sunt particule nucleoproteice intracitoplasmatiche de formă aproximativ sferică cu un diametru de circa 20 nm.

Citoplasma celulelor tinere în faza activă de multiplicare, pe medii bogate, conține un număr foarte mare de ribozomi. Numărul lor la procariote este de 15000-100000.

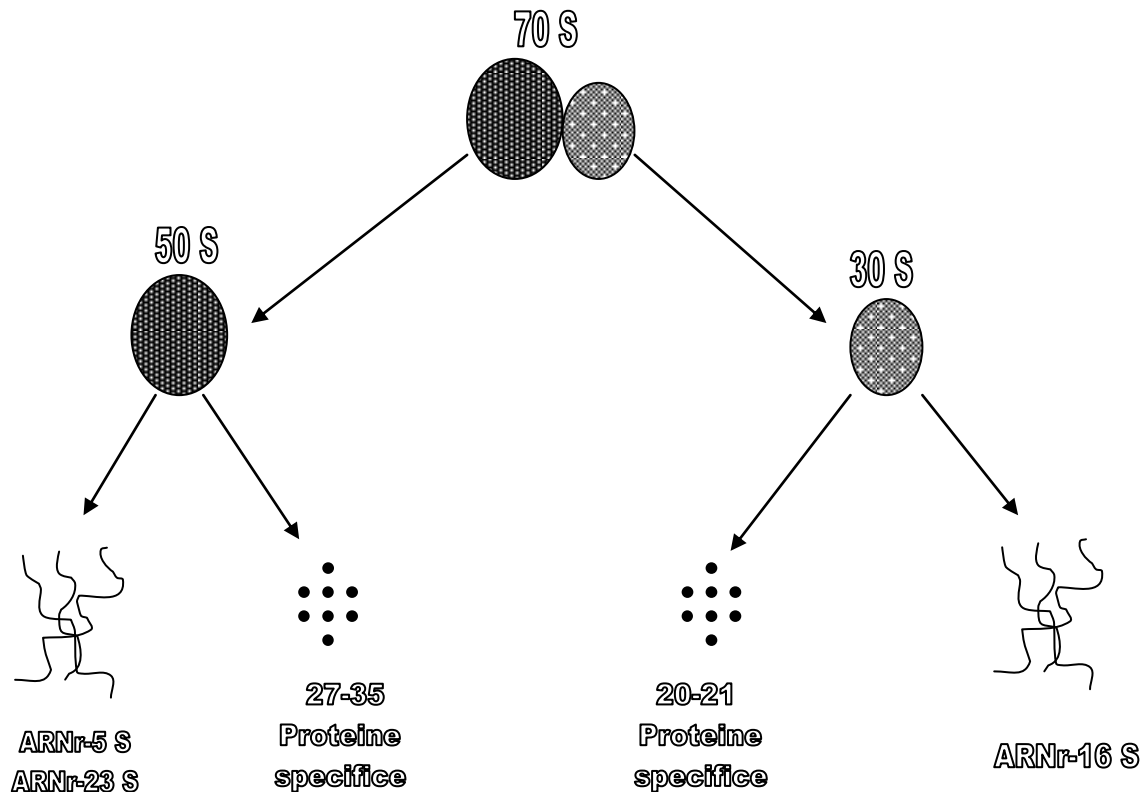
Din punct de vedere chimic ei conțin în compoziția lor proteine și ARN. Proteinele reprezintă aproximativ 40 %, iar ARN-ul 60 %. ARN-ul ce intră în compoziția ribosomilor este cunoscut sub numele de ARN ribozomal (ARNr). În funcție de rata sau constanta de sedimentare la centrifugare, ARN-ul este de 3 feluri: ARNr -16 S; ARNr-23 S și ARNr-5 S.





# Ribozomi

Ribozomii au rata sau constanta de sedimentare (S) de 70 S, dar în faza creșterii active prezintă tendința de a disocia în două componente cu rate de sedimentare diferite. În urma disocierii ribozomilor rezultă două subunități, subunitatea mică cu rata de segmentare 30 S și subunitatea mare cu rata de segmentare 50 S. Cele două subunități deși au o compoziție chimică relativ asemănătoare ele se deosebesc prin tipul și cantitatea de molecule ce intră în compoziția lor. Astfel, subunitatea 30 S are în compoziția sa **ARNr-16 S** și 20-21 molecule de proteine specifice diferite, în timp ce subunitatea 50 S are în compoziția sa **ARNr-23 S** și **ARNr-5 S** și 27-35 molecule proteine specifice diferite.



# Ribozomi

- Ribozomii sunt componentii principali ai sistemului de traducere a informației genetice, reprezentând adevărate „uzine” de producere a proteinelor celulare. La nivelul lor se desfășoară un ansamblu de reacții care formează *ciclul ribosomal*, prin care se inițiază lanțul proteic. La nivelul ciclului, ribozomii interacționează cu ARNm pentru a secvenționa și lega aminoacizii în molecula proteică.
- Ciclul ribozomal se poate desfășura însă numai atunci când cele două subunități sunt asociate și combinate cu ARNm, dar și cu ARNt și unele proteine.
- Pe parcursul procesului de biosinteza ribozomii individuali au tendința de a se grupa în șiruri lineare, interacționând cu ARNm:



- Ribozomii astfel grupați se deplasează de-a lungul moleculei de ARNm permițând lanțului proteic să crească progresiv în lungime, odată cu deplasarea ribozomilor spre extremitatea terminală.

# Incluziuni citoplasmatice

Incluziunile sunt formațiuni inerte care apar în citoplasmă la sfârșitul perioadei de creștere a celulei. Prezența sau absența lor variază în funcție de condițiile de mediu.

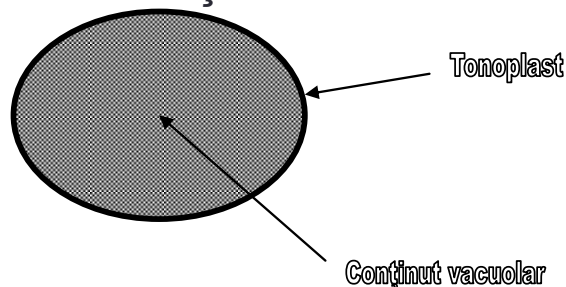
După natura substanțelor chimice ce intră în alcătuirea lor, incluziunile pot fi:

- incluziuni cu polimeri organici, cum ar fi incluziunile de glicogen, volutină, amidon, poli- $\beta$ -hidroxibutirat;
- incluziuni de polimeri anorganici, cum ar fi incluziunile de polimetafosfat;
- incluziuni anorganice simple, cum ar fi granulele de carbonat de calciu și sulf coloidal.

Indiferent de natura lor chimică, incluziunile plasmatiche au rolul în celulă de substanțe de rezervă. Rezervele de substanțe acumulate la nivelul lor vin să contrabalanseze pentru o perioadă de timp eventualele dezechilibre metabolice apărute la nivel celular.

# Vacuolele

- Vacuolele sunt formațiuni citoplasmatică care apar în număr variabil în special în perioada de creștere activă a celulei microbiene. Ele, comparativ cu citoplasma, sunt mai puțin refringente și mai puțin dense.
- Din punct de vedere structural ele sunt delimitate la exterior de un înveliș lipoproteic unistratificat cunoscut sub numele de tonoplast; spațiu interior a vacuolei fiind cunoscut sub numele de conținut vacuolar, care este reprezentat prin apă și diferite substanțe dizolvate în el:



*Formarea vacuolelor.* Se presupune (Knaysi, 1951) că vacuolele se formează ca rezultat al pătrunderii în celulă a unei cantități de apă în exces, care apoi se separă în picături și în care se dizolvă produșii de metabolism celular hidrosolubili, în timp ce lipidele și proteinele acumulate în jurul acestora vor forma tonoplastul definitivând structura ei.

Vacuolele în celulă îndeplinesc roluri de reglare a presiunii osmotice și de depozitare a unor substanțe de rezervă în special în perioada premergătoare formării incluziunilor plasmatică.

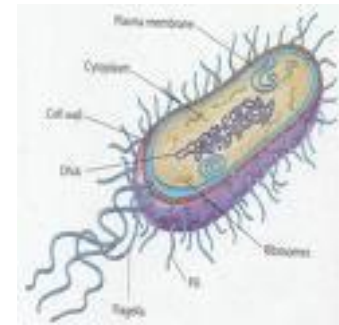
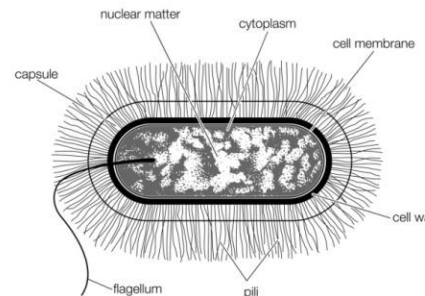
# Cromatoforii

- Cromatoforii sunt formațiuni citoplasmatice întâlnite la bacteriile fotosintetizante purpurii. Ei sunt formațiuni celulare sferice avînd aspectul de vezicule sau lame înconjurate de membrane ce delimitează în interiorul lor bacterioclorofilă, pigmenți carotinoizi, proteine, polizaharide, fosfolipide, citocromi și o cantitate relativ mare de fier neheminic, acidosolubil
- Numărul cromatoforilor în celulă este în general în raport invers proporțional cu intensitatea luminii și direct proporțional cu cantitate de bacterioclorofilă.



# Structuri extraparietale

- Pe lângă structura celulară propriu – zisă, la bacterii se formează și structuri externe, extraparietale.
- **Glicocalix** - un strat protector care mărește rezistența bacteriilor și se întâlnește la bacteriile G (+).
- **Capsula** - un strat protector de dimensiune variabilă care protejează celula de deshidratare și-i mărește rezistența la factorii chimici.
- **Cilii** sau **flagelii** sunt formațiuni filamentoase ce constituie organul de locomoție al bacteriilor mobile – acționează ca o elice.





# FORMATIUNI FACULTATIVE

- Conferă bacteriilor proprietăți importante în natură
  - aderența,
  - rezistență la fagocitoză ( unele fiind factori de patogenitate.)

## CAPSULA

- strat **amorf** de înveliș
- 3 structuri :
- **Capsula microscopică** :poate înconjura 1-2 bacterii.
  - Ex. Pneumococi, Meningococi, Hemofili, Bacilul cărbunos, Klebsiella, Clostridium perfringers.
- **Microcapsulă**: antigenul K / antigen Vi la Salmonella.
  - se evidențiază doar în microscopie electronică
  - poate înconjura doar parțial peretele celular.
- **Stratul mucos** produs doar în condiții naturale =>patogene

# Capsula se evidențiază

## 1. În frotiuri prin:

- colorații negative,
  - nu colorează capsula,
  - vizibilă ca un halou alb în jurul bacteriilor:
    - colorația Gram (prod. patologic),
    - Burri (culturi pure)
- colorații pozitive: colorația Muir

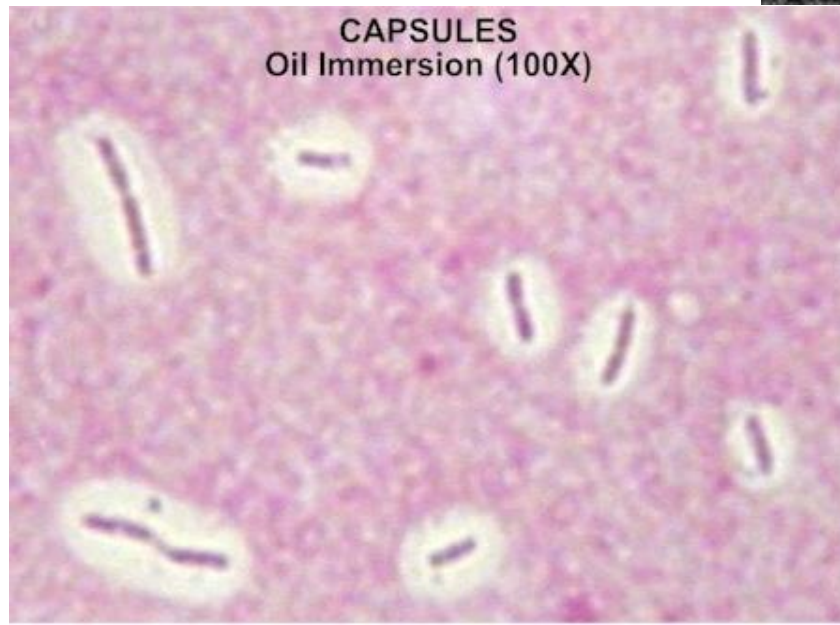
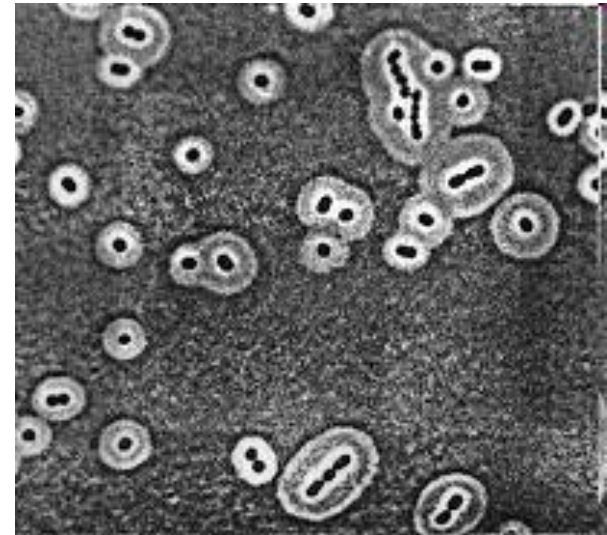
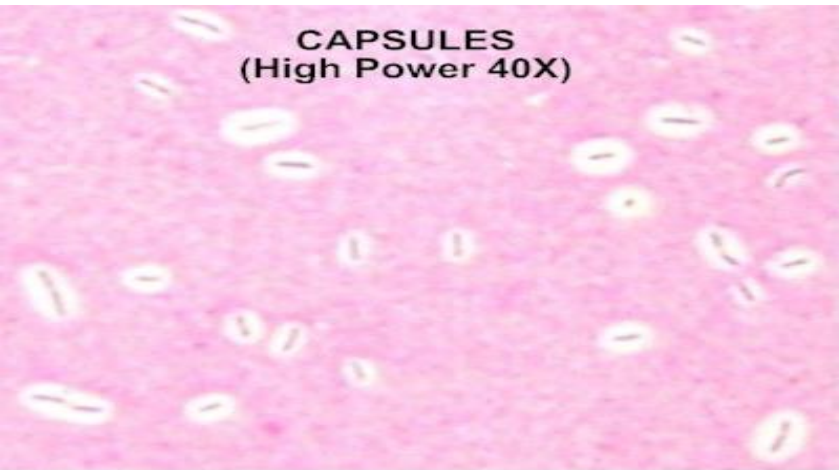
## 2. Prin reacții antigen - anticorp:

- reacția de precipitare și reacția de umflare a capsulei

## 3. După aspectul coloniilor pe medii de cultură:

- ✱ foarte mucoase

# CAPSULA



# Compoziție chimică

- polizaharidică,
  - majoritatea bacteriilor capsulate (*Pneumococ*, *Meningococ*, *Hemofili*).
- polipeptidică:
  - polimer al acidului D - Glutamic, la *Bacillus anthracis*.
- proteică
  - *Yersinia pestis*,
- polimer de acid hialuronic la *Streptococ  $\beta$  - hemolitic*.

## Rol

- **1. antigen bacterian.**
- **2. factor de patogenitate bacterian:**
  - se opune fagocitării bacteriilor.

# GLICOCALIXUL

- strat de suprafață sintetizat de bacterii în mediul lor natural.
- structurat,
- **fibre polizaharidice lungi (dextran sau levan)**
- se poate evidenția doar în microscopie electronică

## Rol

- **1. adezina polizaharidică**
- **2. factor de colonizare**
  - Ex. **Mutanul** (*Streptococcus mutans*) - aderă de smalțul dentar cu formarea **cariei dentare**. Bacteriile produc metaboliți acizi, care atacă smalțul dentar.

# PILII COMUNI (FIMBRII)

- Pleacă din membrana citoplasmică, străbat PC
- **formațiuni filamentoase, tubulare scurte**
- **număr mare** (aproximativ 100 - 200 pili).
- **natură proteică** (pileină ).
- **determinism cromozomial**
  - mai rar determinism plasmidic.
- **întâlniți la bacteriile Gram negative**



# PILII

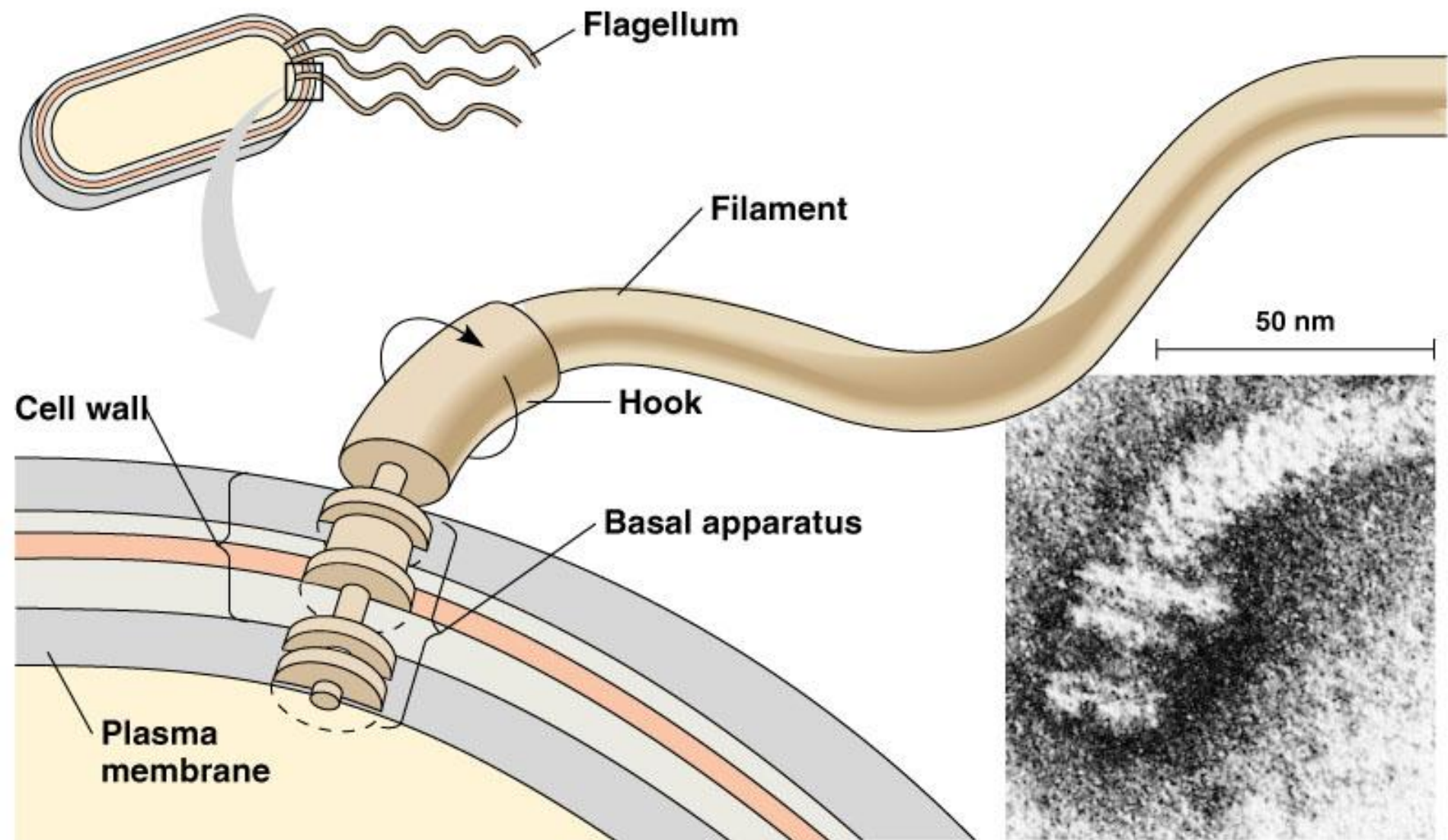
- **Rol**
- **1. adezinele proteice ale bacteriilor:**
  - **aderarea nespecifică** pe suprafețe inerte,
  - **aderarea specifică** pe mucoase, epiteliu, endotelii, hematii, fagocite.
- **2. factor de patogenitate**
  - Gonococii, *E. coli*- (**ETEC**),
- **3. antigene**
  - posibilitatea **modificarea structurii antigenice**

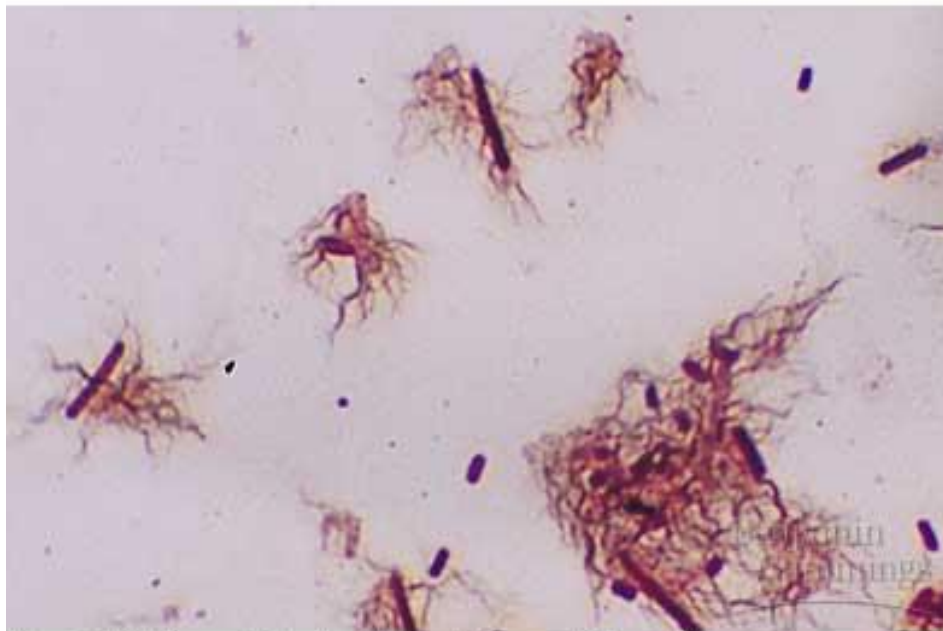
# PILII DE SEX

- formațiuni tubulare lungi
- număr mic (1-4 )
- prezenți la **bacteriile G negative**
- au **determinism extracromozomial** (plasmidic)
- Rol: conjugarea bacteriană

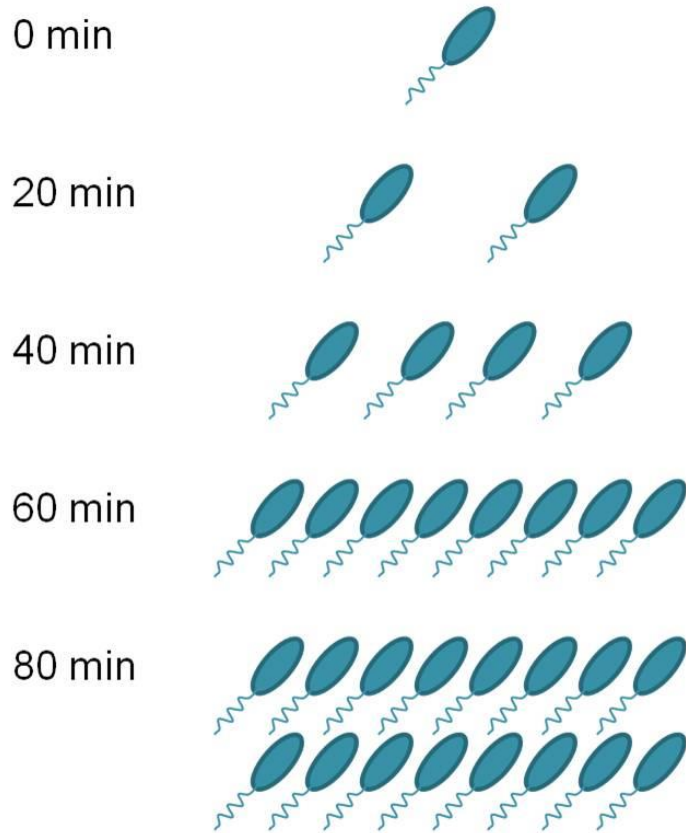
# FLAGELI (CILI)

- **formațiuni tubulare lungi**
  - aprox. 20  $\mu\text{m}$  lungime/20 nm lățime.
- **organite de locomoție ale bacteriilor**
- Structură proteică = flagelină
- Ultrastructura la ME:
  - corpuscul bazal ș
  - cilindru proteic (filament axial).
- **Evidențierea cililor :**
  - în preparate microscopice:
    - colorații speciale
    - indirect în preparate native (mobilitatea bacteriană) .
  - pe medii de cultură, prin însămânțarea bacteriilor prin înțepare:
    - bacteriile imobile se dezvoltă doar pe traiectul de înțepare,
    - cele mobile se dezvoltă în tot mediul.

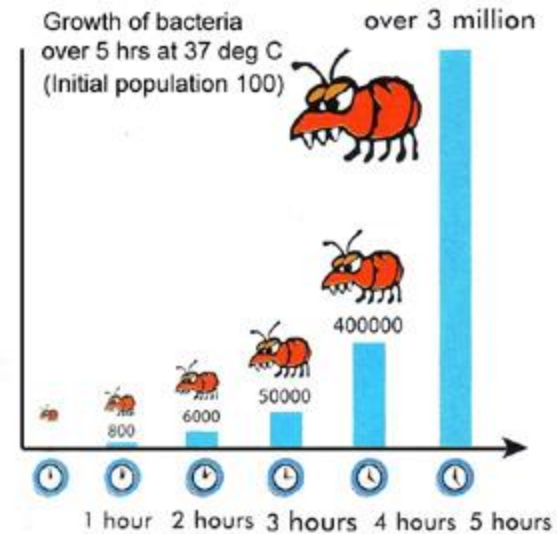




# Creșterea și reproducerea



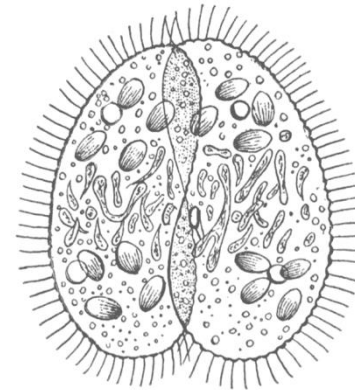
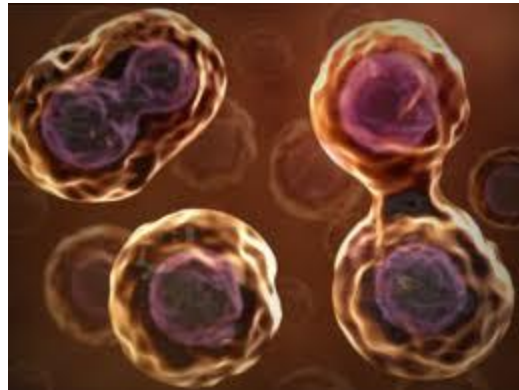
10 hours growth => 1 Billion cells!



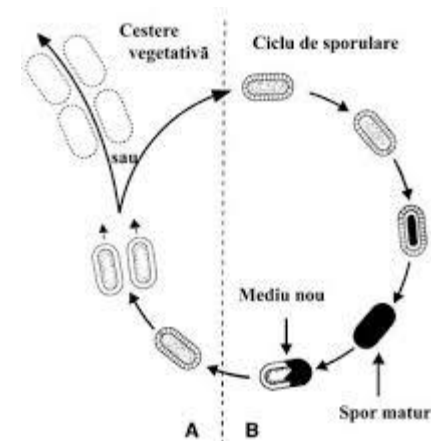


# Creșterea și reproducerea

- În condiții favorabile procesul de reproducere caracteristic tuturor bacteriilor - **sciziune binară**

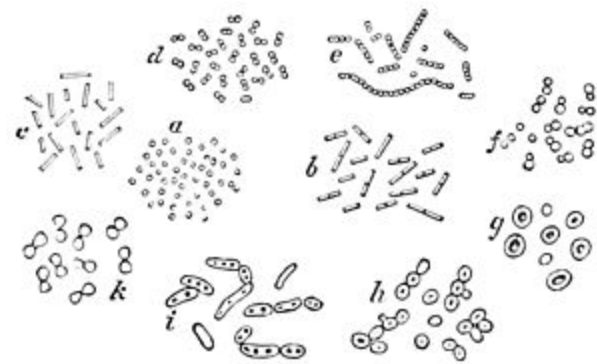


- În condiții nefavorabile, celulele generează formațiuni intracelulare denumite **endospori**.



# Creșterea și reproducerea

- Celulele bacteriene cresc datorită noilor constituenți celulari rezultați din procesele de biosinteză. Această creștere se oprește la un anumit moment dat când începe diviziunea celulară. La bacterii au fost identificate mai multe modalități de multiplicare:
  - prin diviziune;
  - prin înmugurire;
  - prin fragmentare;
  - prin corpi elementari.



# Creșterea și reproducerea



- **Multiplicarea prin diviziune**

Se realizează prin divizarea celulei mamă în două celule fiice, cel mai adesea absolut identice. Viteza de multiplicare bacteriană este foarte mare, datorată metabolismului bacterian foarte intens, astfel la fiecare 20 de minute apare o nouă generație.

- **Multiplicarea prin înmugurire**

Este caracterizată prin formarea pe corpul celulei mamă a unei protuberanțe din care ulterior se va dezvolta o singură celulă fiică.

- **Multiplicarea prin fragmentare**

Se întâlnește la bacteriile cu dezvoltare hifală, în care alungirea se face prin adăugarea de material nou numai la extremitați și la locul de origine a ramificațiilor (*Actinomyces*).

- **Multiplicarea prin corpi elementari**

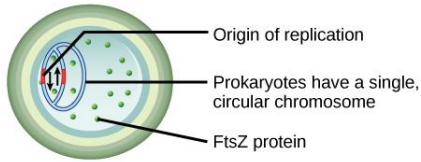
Corpii elementari sunt mici structuri corpusculare care cresc și se multiplică prin diviziune.

# Diviziunea binară

## Binary Fission in Prokaryotes

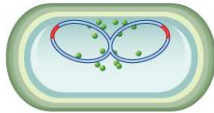
1 Replication of the circular prokaryotic chromosome begins at the origin of replication and continues in both directions at once.

1



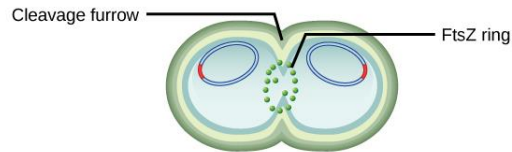
2 The cell begins to elongate. FtsZ proteins migrate toward the midpoint of the cell.

2



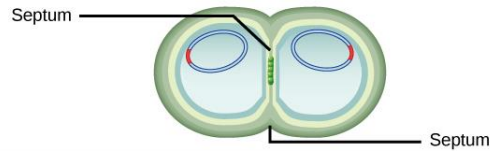
3 The duplicated chromosomes separate and continue to move away from each other toward opposite ends of the cell. FtsZ proteins form a ring around the periphery of the midpoint between the chromosomes.

3



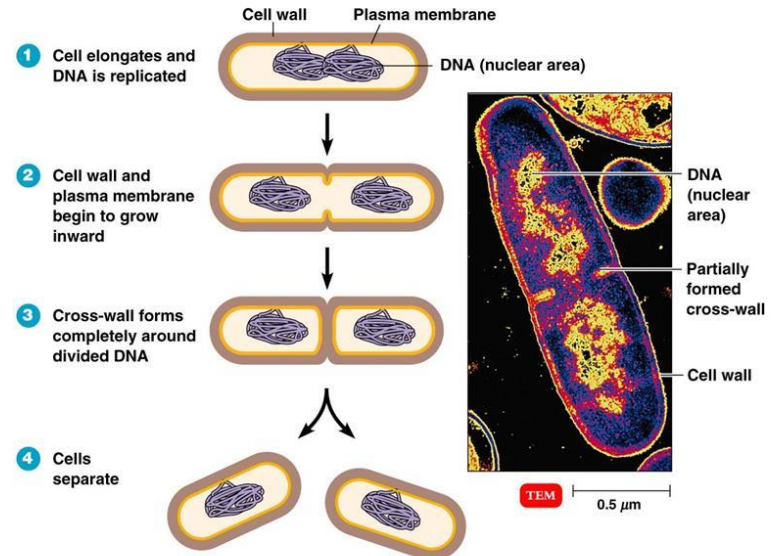
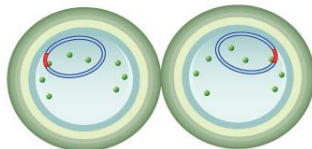
4 The FtsZ ring directs the formation of a septum that divides the cell. Plasma membrane and cell wall materials accumulate.

4



5 After the septum is complete, the cell pinches in two, forming two daughter cells. FtsZ is dispersed throughout the cytoplasm of the new cells.

5

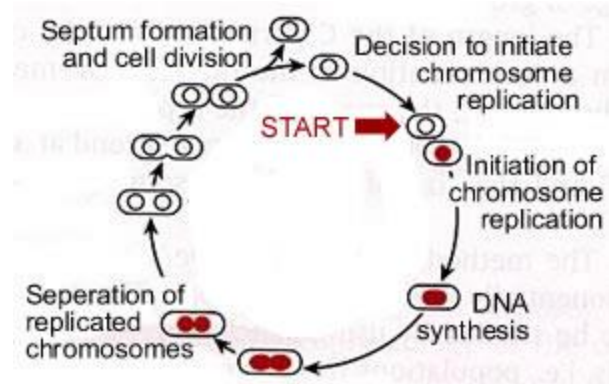


(a) A diagram of the sequence of cell division.

(b) A thin section of a cell of *Bacillus licheniformis* starting to divide.

Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figure 6.11 - Overview

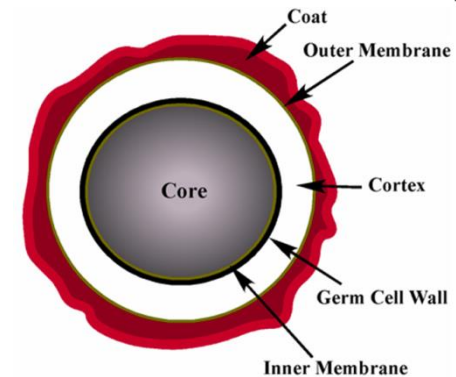


# Reproducerea și sporularea

- În condiții nefavorabile, celulele generează formațiuni intracelulare denumite **endospori**. Dintr-o celulă vegetativă se formează un singur endospor care păstrează toate caracterele genetice ale bacteriei și, în condiții favorabile, prin germinare, va forma o celulă vegetativă. Din acest punct de vedere, bacteriile se clasifică în:
  - **bacterii asporogene** - nu produc spori (bacteriile lactice, acetice);
  - **bacterii sporogene** (bacterii din genul *Bacillus*, *Clostridium*).

# SPORII

- **Sporularea:**
  - inițial **endospori** ulterior - spori liberi = **exospori**
- **Germinare**
  - Revenire la forma vegetativă când întâlnesc condiții favorabile
- **Evidențierea sporilor**
  - colorații negative: Gram (formațiuni ovalare, necolorate, în interiorul bacteriilor).
  - colorații pozitive: verde – malachit și safranină
- **Ultrastructura sporilor** din interior spre exterior:
  - Protoplastul sporal
  - Peretele sporal
  - Cortexul
  - Învelișurile sporale și exosporium
- **Rol:**
  1. **identificarea bacteriilor.**
  2. alegerea **metodelor de sterilizare** și dezinfecție capabile să distrugă sporii

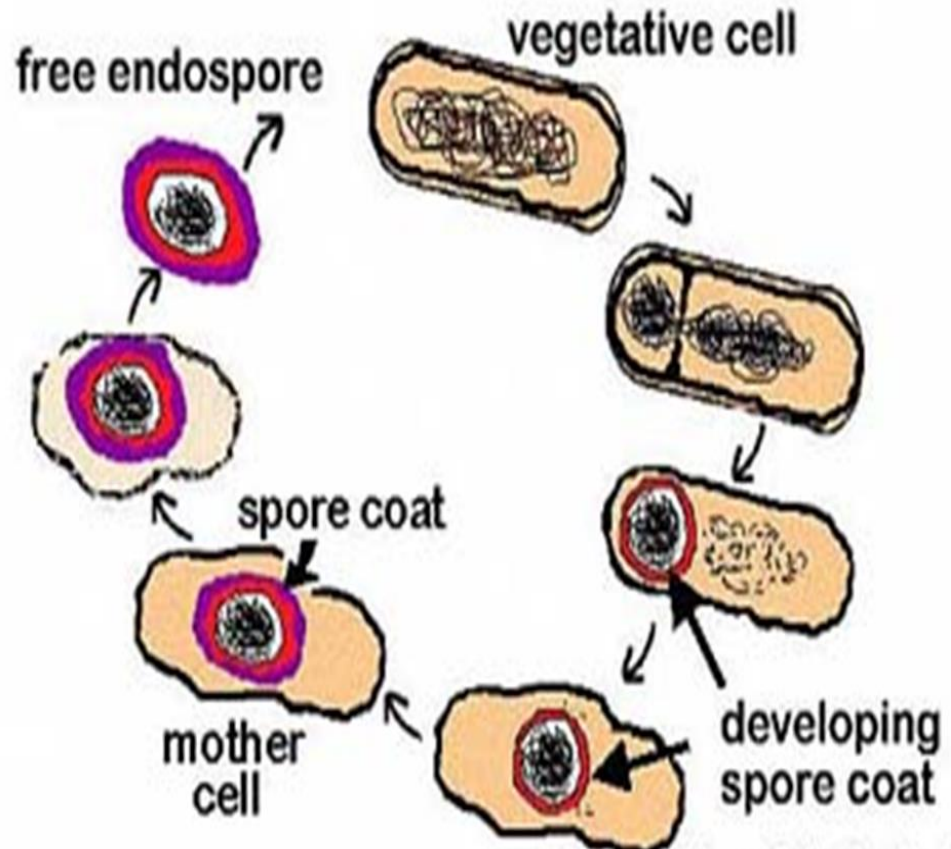




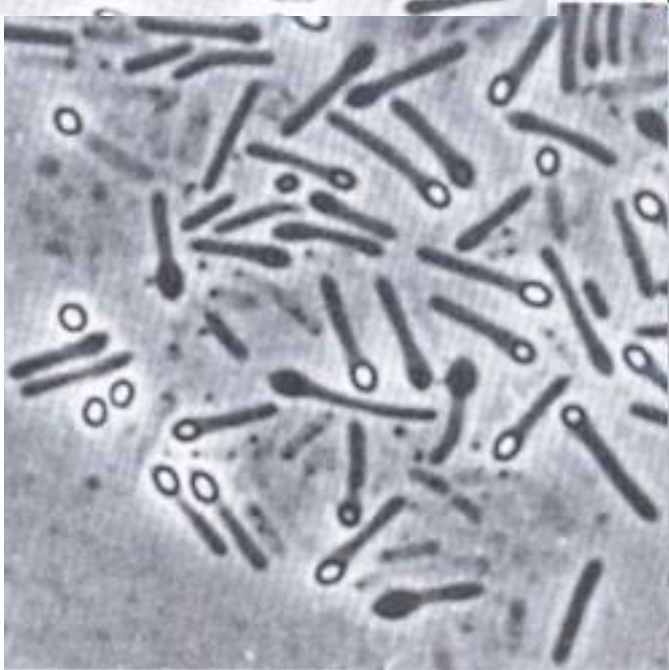
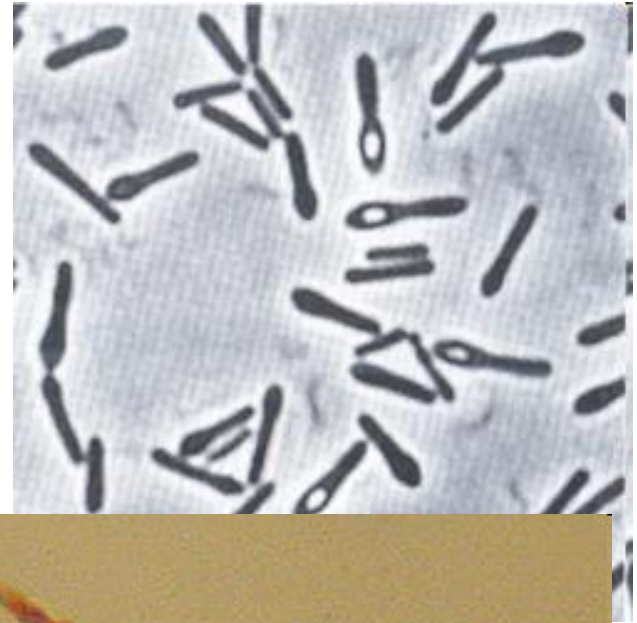
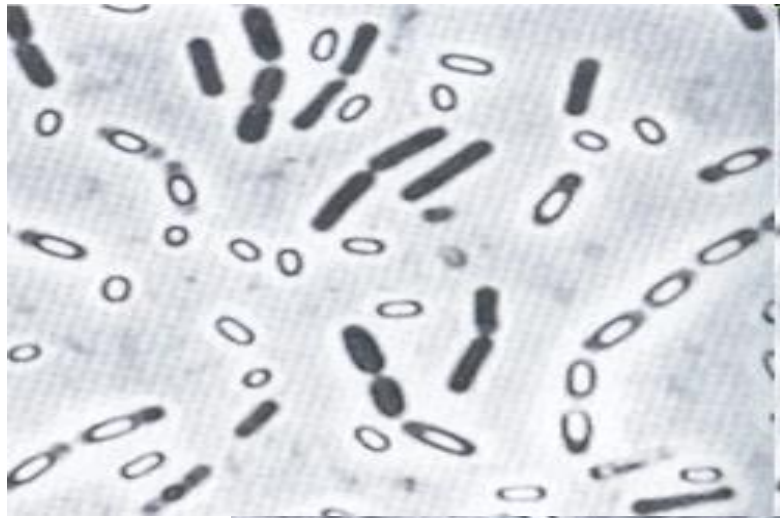
# Reproducerea și sporularea

## Etapele sporulării:

- pliarea membranei protoplasmatică cu formarea protoplastului;
- separarea protoplastului;
- protejarea protoplastului prin pliarea membranei protoplasmatică a celulei mamă;
- maturizarea endosporului.



# SPORI



# Reproducerea și sporularea

Caractere specifice endosporilor:

- termorezistență - formele vegetative sunt inactivate la 80°C - 10 min., iar endosporii rezistă chiar câteva ore la fierbere;
- rezistență la uscăciune, în timp (pot rezista și 320 ani);
- germinarea are loc în etape: absorbția de apă și umflare, activarea enzimelor, formarea de tuburi germinative, eliberarea celulei vegetative.

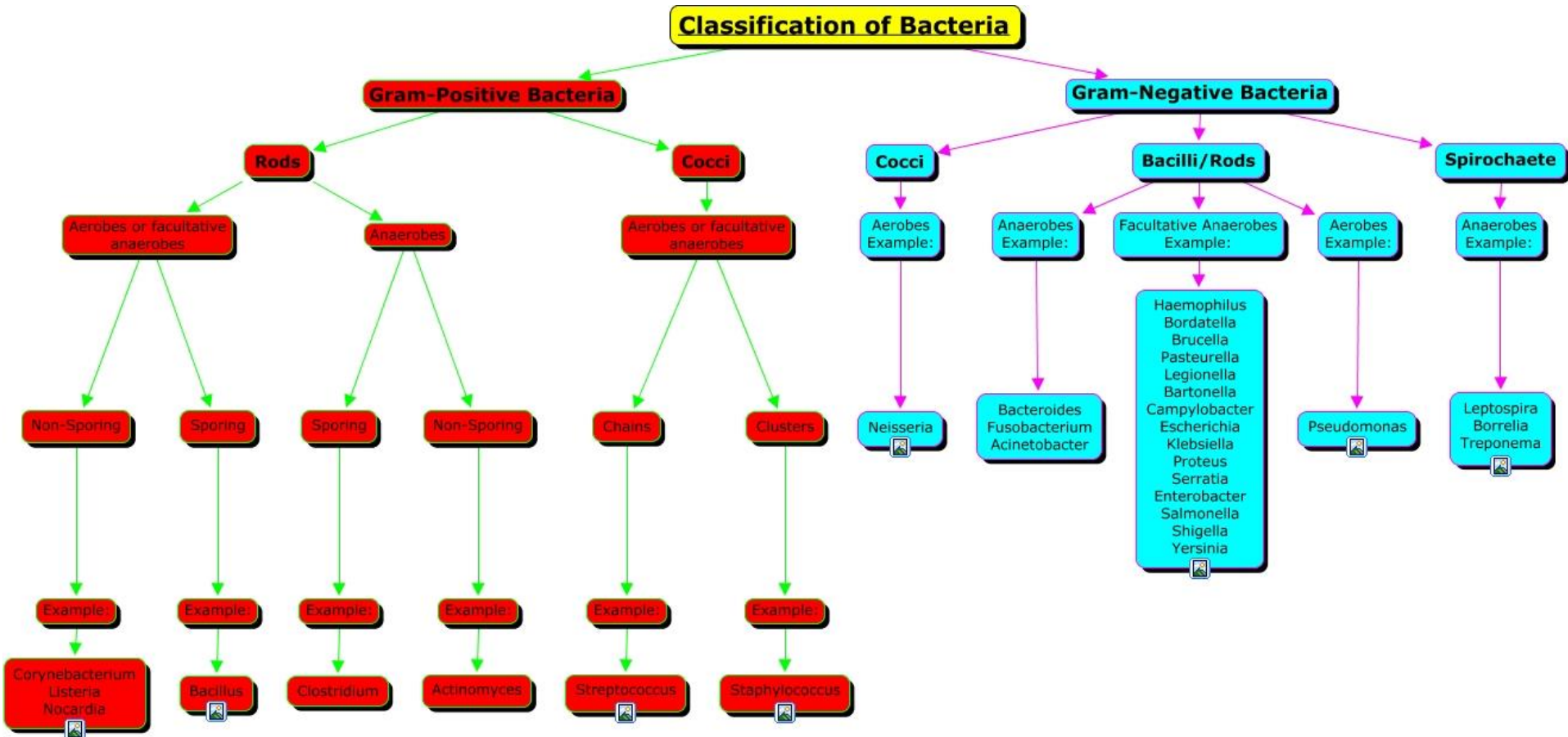
# Criteria de clasificare

- regnul **PROCARIOTAE** – două diviziuni:
  - **SCOTOBACTERIA** – bacterii care folosesc pentru creștere și multiplicare energia rezultată din reacții chimice:
    - clasa **BACTERIA**;
    - clasa **ACTINOMYCES**;
    - clasa **MOLICUTES**;
  - **PHOTOBACTERIA** – bacterii ce conțin pigmenți celulari similari clorofilei și care pot folosi energia luminoasă în procese de biosinteză celulară

# criterii de clasificare

- Pentru identificarea unei specii sunt uneori necesare 40 până la 100 de teste
- Criteriu de bază – **afinitatea tinctorială**; familia ca unitate taxonomică conține același tip de bacterii: **Gram pozitive** sau **Gram negative**
- Criterii fiziologice: teste de asimilare sau fermentare a glucidelor, relația față de oxigen, temperatură, pH, rezistență la inhibitori ș.a.
- Clasificarea de bază – Bergey (1952) – bacteriile sunt grupate în 10 ordine și 47 familii – clasificare reluată în 1984 după criterii morfologice – în 33 secțiuni

# Criteria de clasificare





# criterii de clasificare

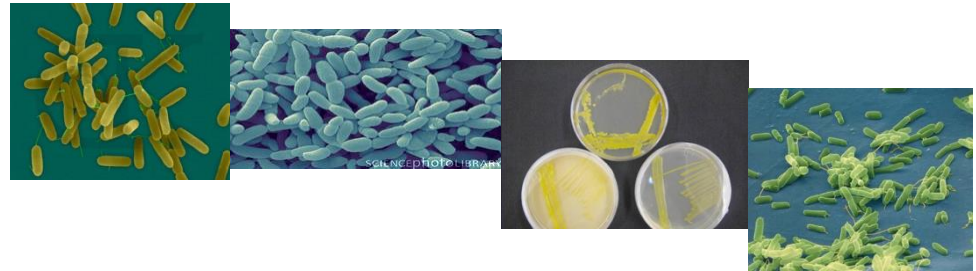
- **Ordinul PSEUDOMONADALES**  – bacterii  **Gram negative**  cu habitat în sol și ape, aerobe, nesporulate
- **Ordinul EUBACTERIALES**  – bacterii propriu-zise, foarte răspândite, agenții patogeni ai bolilor infecțioase ale omului și ale animalelor (febra tifoidă, dizenteria, holera, difteria, infecțiile stafilococice, streptococice, pneumococice, meningitele etc.).
- **Ordinul ACTINOMYCETALES**  – bacterii filamentoase,  **Gram pozitive** , saprofite sau facultativ patogene, folosite industrial pentru obținerea de substanțe biologice active
- **Ordinul RICKETSIALES**  – cuprinde bacterii obligat parazite ale insectelor, transmisibile prin înțepături la animale și om.

# Criteria de clasificare

- **Ordinul PSEUDOMONADALES:**

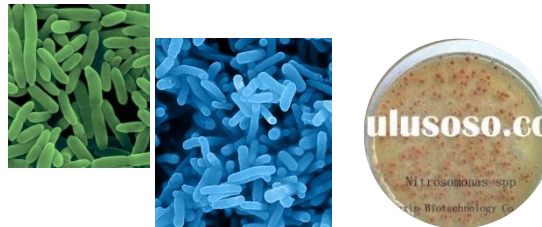
- Familia **Pseudomonadaceae**

- *g. Pseudomonas*
- *g. Acetobacter*
- *g. Xanthomonas*
- *g. Zymomonas*



- Familia **Nitrobacteriaceae,**

- *g. Nitrobacter*
- *g. Nitrosomonas*



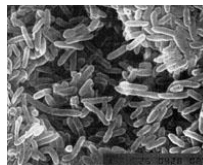
- Familia **Spirillaceae**

- *g. Cellulomonas*



- Familia **Thiobacteriaceae**

- *g. Thiobacillus*

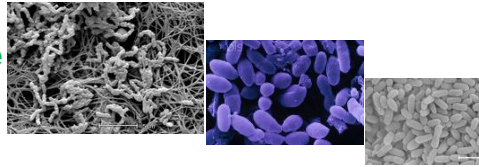


# Criteria de clasificare

- **Ordinul EUBACTERIALES**

- Familia **Achromobacteriaceae**

- *g. Achromobacter*;
- *g. Alcaligenes*;
- *g. Flavobacterium*;



- Familia **Azotobacteraceae**: *Azotobacter chroococcum*;



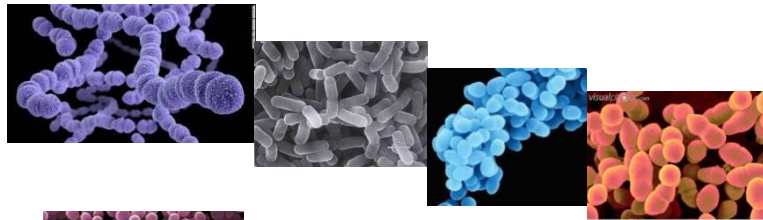
- Familia **Enterobacteriaceae**

- *g. Escherichia*
- *g. Enterobacter*;
- *g. Proteus*;
- *g. Shigella*;



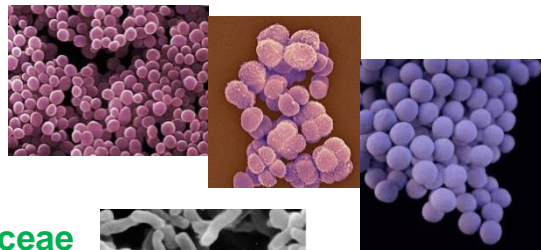
- Familia **Lactobacillaceae**.

- *g. Streptococcus*;
- *g. Lactobacillus*;
- *g. Pediococcus*;
- *g. Leuconostoc*;



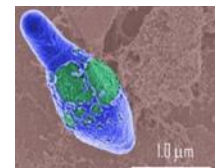
- Familia **Micrococcaceae**

- *g. Micrococcus*;
- *g. Sarcina*;
- *g. Staphylococcus*;



Familia/ORDIN **Bacillaceae**:

- g. Bacillus*;
- g. Clostridium*.



- Familia **Propionibacteriaceae**

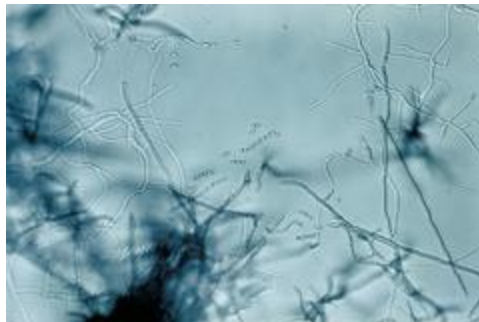
- *g. Propionibacterium*;



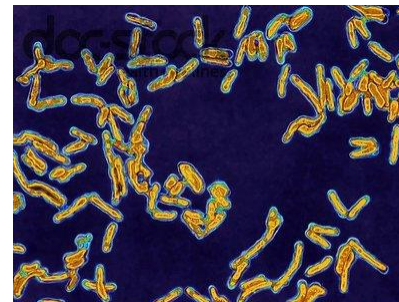
# Criteria de clasificare

- **Ordinul ACTINOMYCETALES**

- Familia **Mycobacteriaceae**;
- Familia **Actinomycetaceae**.
- Familia **Streptomycetaceae**
  - *g. Streptomyces*



- Familia **Corynebacteriaceae**



# Criterii de clasificare – Clasa Bacteria

- **Ordinul PSEUDOMONADALES** – bacterii Gram negative cu habitat în sol și ape, aerobe, nesporulate

Familia **Pseudomonadaceae** – genuri:

- ***Pseudomonas*** – bastonașe tipice, răspândite pe produse vegetale, carne, pui; dau alterarea produselor refrigerate;
- ***Acetobacter*** – bacterii acetice, produc oxidarea alcoolului etilic – la fabricarea acidului acetic de fermentație;
- ***Xanthomonas*** – dau alterări ale legumelor, produc un polimer – xanthanul;
- ***Zymomonas*** – bacterii care pot produce fermentarea glucidelor cu formarea de alcool; sunt folosite la obținerea alcoolului carburant din materii celulozice.

# criterii de clasificare

**Familia Nitrobacteriaceae**, cu genurile ***Nitrobacter*** și ***Nitrosomonas*** care produc oxidarea compușilor cu azot rezultați din putrefacție, cu transformarea azotului amoniacal în azotiți și azotați, formă asimilabilă de către plante;

**Familia Thiobacteriaceae** – produc oxidarea compușilor cu sulf. Bacterii din genul ***Thiobacillus*** – agenți ai coroziunii biologice;

**Familia Spirillaceae** – produc degradarea celulozei în condiții aerobe. Bacterii ale genului ***Cellulomonas*** – prelucrarea deșeurilor de hârtie pentru obținerea de proteină bacteriană folosită în scop furajer.



# criterii de clasificare

**Familia Bacillaceae** – bacterii sub formă de bastonașe, Gram pozitive, producătoare de endospori:

- **g. *Bacillus*** – 25 specii – bacterii de putrefacție aerobe, anaerobe; unele specii selecționate se folosesc pentru obținerea de enzime: amilaze, proteaze, glucanaze;
- **g. *Clostridium*** – 93 specii – bacterii de putrefacție anaerobe, producătoare de toxine, bacterii butirice, bacterii producătoare de solvenți;

# Criterii de clasificare

- **Ordinul EUBACTERIALES** – bacterii propriu-zise, foarte răspândite ce cuprind bacterii în formă de coccus, bacterium și forme derivate prin sciziune.

**Familia Achromobacteriaceae** – bacterii nesporulate Gram negative, produc putrefacția

- ***g. Achromobacter*** – produc prin degradarea proteinelor amine biogene toxice, sunt bacterii aerobe, produc alterarea produselor refrigerate;
- ***g. Alcaligenes*** – sunt întâlnite în lapte, carne, pui, pește și materii fecale;
- ***g. Flavobacterium*** – se prezintă sub formă de bastonașe, produc un pigment galben-roșu și alterarea produselor la refrigerare;

# Criterii de clasificare

**Familia Azotobacteriaceae** – bacterii care folosesc azotul atmosferic în nutriție, au rol în circuitul natural al azotului și pentru obținerea de îngrășăminte biologice – ***Azotobacter chroococcum***;

**Familia Enterobacteriaceae** – bacterii Gram negative, nesporulate, aerobe/facultativ anaerobe, patogene/facultativ, cu habitatul în tractul digestiv.

- ***g. Escherichia*** – bacterii de putrefacție, facultativ patogene (agenți ai gastroenteritelor) se pot înmulți în produse alimentare, pot produce toxine ***E.coli*** – indicator sanitar pentru verificarea condițiilor de igienă la fabricarea produselor alimentare
- ***g. Enterobacter*** – face parte din microflora intestinală;
- ***g. Proteus*** – bacterii de putrefacție, mobile, aerobe, produc alterarea cărnii, a ouălor păstrate la temperatura camerei;
- ***g. Shigella*** – bacterii enteropatogene (agentul dizenteriei);

# criterii de clasificare

**Familia Lactobacillaceae** – bacterii lactice Gram pozitive, nesporulate, facultativ anaerobe, sub formă de bacili (bastonașe subțiri sau sub forme derivate de la coccus).

- **g. Streptococcus** – cuprinde bacterii sub formă de streptococi. O parte din speciile genului au trecut în **g. Lactococcus**, folosite drept culturi starter în industria laptelui;
- **g. Lactobacillus** – bacterii lactice acidotolerante, folosite în industria laptelui și pentru conservarea prin murare a produselor vegetale;
- **g. Pediococcus** – bacterii lactice sub formă de tetrade. Pot produce acrirea berii;
- **g. Leuconostoc** – bacterii lactice heterofermentative, agenți de alterare a sucurilor, siropurilor de zahăr. ș.a. Pot produce biosinteza dextranului;

# criterii de clasificare

**Familia Micrococcaceae** – bacterii Gram pozitive cu forma coccus sau forme derivate prin sciziune

- ***g. Micrococcus*** – bacterii aerobe/anaerobe, de putrefacție;
- ***g. Sarcina*** – bacterii aerobe de putrefacție;
- ***g. Staphylococcus*** – bacterii facultativ patogene; produc enterotoxine și sunt agenți ai intoxicațiilor alimentare;

**Familia Propionibacteriaceae** – bacterii nesporulate Gram pozitive, produc fermentația propionică

- ***g. Propionibacterium*** – bacterii folosite la fabricarea brânzeturilor cu pastă tare și desen pentru obținerea vitaminei B<sub>12</sub>;

# Criterii de clasificare

- **Ordinul ACTINOMYCETALES** – bacterii filamentoase, Gram pozitive, saprofite sau facultativ patogene, folosite industrial pentru obținerea de substanțe biologic active

**Familia Mycobacteriaceae** – bacterii patogene – *Mycobacterium tuberculosis* (agentul tuberculozei) și *Mycobacterium leprae*;

**Familia Actinomycetaceae** – bacterii patogene pentru animale și plante. Au rol în formarea humusului și la închiderea la culoarea solului.

**Familia Streptomycetaceae** – bacterii filamentoase

- **g. Streptomyces** – numeroase specii sunt folosite pentru obținerea de antibiotice (tetraciline, streptomicina, cloramfenicol etc.) sau pentru enzime (glucozizomeraze).



# criterii de clasificare

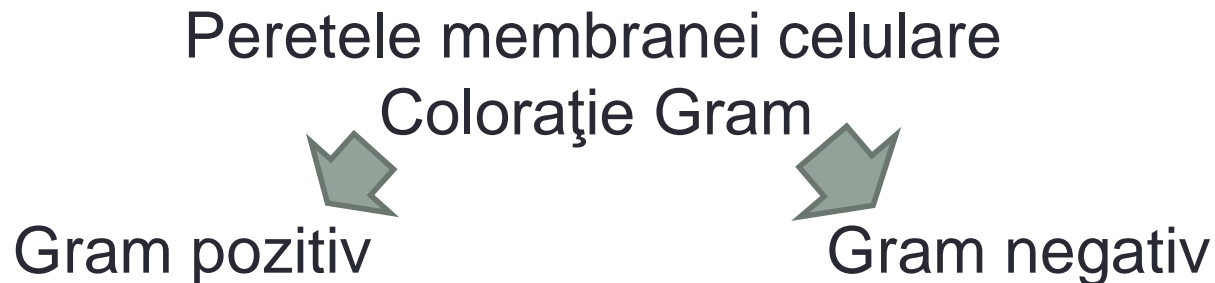
- **Ordinul RICKETSIALES** – cuprinde bacterii obligat parazite ale insectelor, transmisibile prin înțepături la animale și om.
  - **g. *Rickettsia*** – cu sp. ***R. prowazeki*** – agent al tifosului eczantematic;
  - **g. *Coxiella*** – bacterii patogene, produc febra Q hemoragică. ***C. bruneti*** se poate transmite prin lapte.

# Criterii de clasificare

Clasificările bacteriilor se realizează după anumite criterii de bază:

- caractere morfologice;
- afinitate tinctorială.

Pentru a determina afinitatea tinctorială se recurge la colorarea diferențiată propusă de Gram:



# Specii de bacterii cu importanță în industrie

- Rol imens în transformarea compușilor macromoleculari în compuși simpli, prin mineralizarea materiei organice nevii, contribuind astfel la realizarea naturală a circuitului unor elemente de importanță vitală: carbon, azot, sulf, fosfor, fier ș.a.
- Fără activitatea bacteriilor agenți ai putrefacției – “pământul s-ar transforma treptat într-un uriaș cimitir”.

# Specii de bacterii cu importanță în industrie

- Bacterii ce fac parte din microbiota laptelui:
  - Bacterii lactice: prezenta bacteriilor lactice este de neevitat; dintre acestea fac parte streptococii lactici din genul *Lactococcus* si reprezentantii genului *Lactobacillus*;
  - Bacteriile propionice; provin din surse externe, se dezvoltă lent în lapte si pot fi utilizate industrial la maturarea branzeturilor speciale;
- Bacterii utilizate în industria branzeturilor:
  - lactococii cu speciile: *Lactococcus Lactis*, *Lactococcus Cremoris*, *Lactococcus Lactis Diacetilactis* si *Streptococcus Salivares*.
  - lactobacili se folosesc speciile *Lactobacillus cassei* etc.
- Bacteriile acetice – fermentația alcoolului etilic – obținerea industrială a oțetului

# Specii de bacterii cu importanță în industrie

- enzime, proteine, aminoacizi, acid lactic, acid acetic, solvenți (acetonă, alcool izopropilic, alcool butilic);
- hormoni – insulina produsă de un mutant de *Escherichia coli*;
- îngrășăminte biologice – *Azotobacter*;
- insecticide biologice – *Bacillus thuringiensis*;
- antibiotice – *Streptomyces sp.*;
- vitamine – de ex. vitamina B<sub>12</sub> – *Propionibacterium shermani*.

# Specii de bacterii cu importanță în industrie

- În industria alimentară – bacterii agenți de alterare a produselor alimentare (acrirea berii, vinului, putrefacția cărnii ș.a.)
- **Bacterii patogene** – ingerare alimente contaminate – toxiinfecții alimentare



# LEVURILE

---

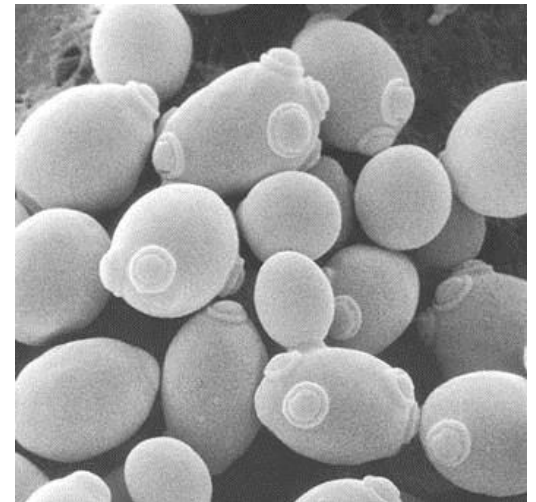
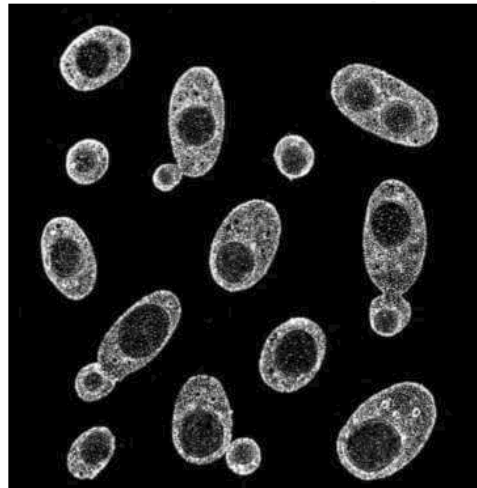
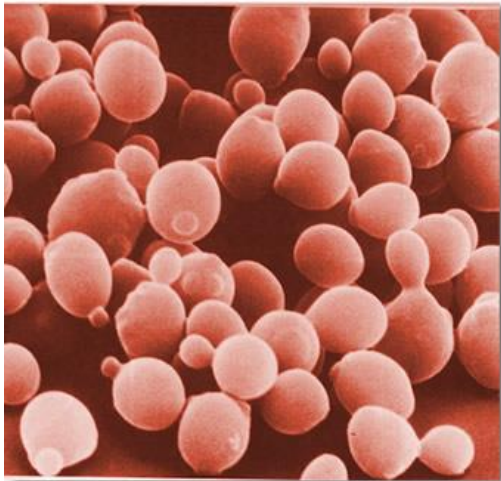
# Levurile

## Caracterizarea principalelor grupe de microorganisme cu importanță în industrie – Levuri (Drojdi)

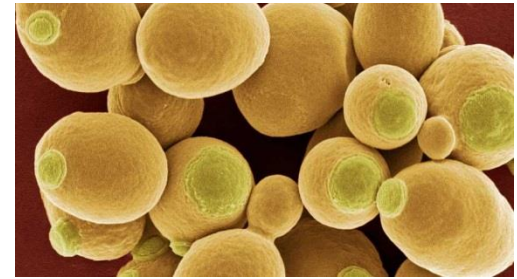
- Definiție. Rol. Răspândire;
- Caractere morfofiziologice generale;
- Structura celulei de drojdie. Reproducerea;
- Utilizarea drojdiilor în industrie.

# Levurile

**Levurile** – organite monocelulare de tip eucariot care se înmulțesc prin mitoză (înmugurire), sau prin meioză (sporulare) și au drept caracteristică principală calitatea de a produce fermentarea zaharurilor simple cu formare, în condiții anaerobe, de alcool etilic și dioxid de carbon.



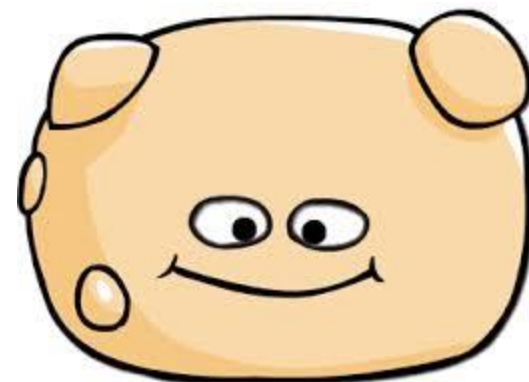
# Levurile



Rol:

- în industria alimentară la fabricarea vinului, a berii, a spirtului de fermentație, a pâinii și produselor derivate, a drojdiei comprimate;
- în **microbiologia industrială** la obținerea de proteine ce pot fi folosite în alimentația omului (de tip SCP – single cell protein);
- la obținerea de vitamine hidrosolubile: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, ergosterol;
- la obținerea de enzime: β-fructofuranozidaza și β-galactozidaza;
- prin inginerie genetică, din *Saccharomyces cerevisiae* → **interferon**

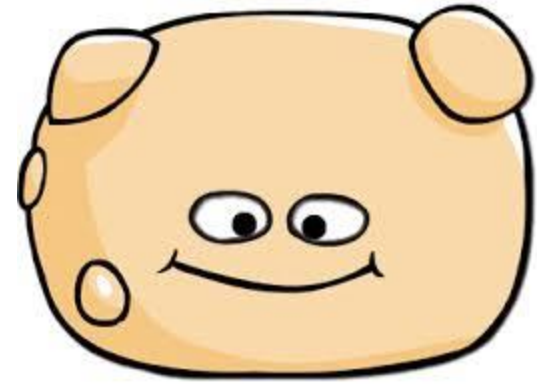
# Levurile



Răspândire – în habitate naturale:

- **SOL** - răspândite în stratul superficial unde ajung în mod natural de pe fructe, rădăcini de leguminoase → în solul grădinilor, al vițelor de vie;
- **APĂ** - până la 4000 m adâncime;
- **AER** - datorită curenților de aer.

# Levurile



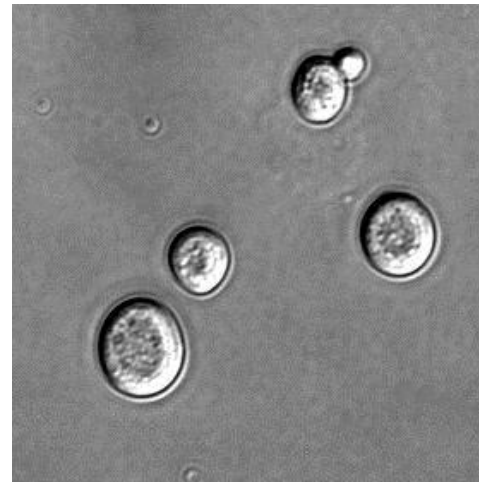
- Pe suprafața frunzelor și fructelor → alcătuiesc **microflora epifită** - răspândire datorată insectelor.
- rezistă în tractul digestiv al insectelor și iarna, iar primăvara, cu primul drum al acestora, sunt depuse pe suprafața vegetală.
- În organismul animal → **flora intestinală** (Candida).  
Specii patogene – *Candida albicans*.



# Caracteristici morfologice

Forma celulei de drojdie:

- ovală, rotundă, elipsoidală → *Saccharomyces*



- sferică → *Torulopsis sp.*

# Caracteristici morfologice

Forma celulei de drojdie:

- apiculată → *Klockera*



- cilindrică → *Rhodotorula*

# Cultivarea levurilor

- **în mediu lichid:**
  - pe must de malț → întâia turbureală → formare de spumă → în finalul fermentației, are loc depunerea celulelor de drojdie și limpezirea mediului.
  - pe must de malț (**drojdii oxidative**) → dezvoltă la suprafața mediului formând un voal cutat, gros, alb gălbui ⇒ **floarea vinului**
- pe **mediu solid** → înmulțirea unei singure celule ⇒ biomasă celulară

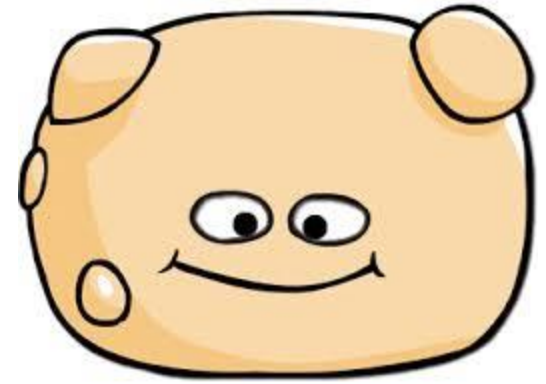
# Forma și aspectul coloniei

**Colonia** – biomasă de celule ce rezultă în urma cultivării pe mediu solid și a înmulțirii unei singure celule.

- depinde de specie și gen;
- profilul poate fi lenticular, triunghiular sau bombat cu gurgui central;
- perimetrul coloniei poate fi circular, neregulat și uneori triunghiular;
- aspectul coloniilor variază de la alb strălucitor la mat, cenușiu și există și colonii de drojdii colorate în roz, roz-portocaliu (*Rhodotorula*) datorită pigmentilor carotenoidici.



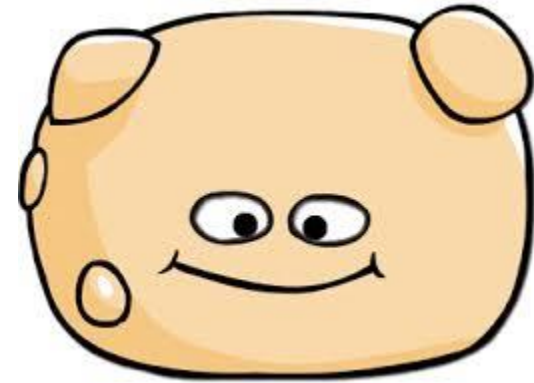
# Caracteristici fiziologice



Drojdiiile sunt **facultativ anaerobe**.

- În condiții de aerobioză zaharurile sunt asimilate până la dioxid de carbon și apă, obținându-se astfel o cantitate mare de energie necesară creșterii și înmulțirii rapide.
- domeniul de temperatură: **0-35°C**;
- temperatura optimă de înmulțire: **28-32°C**;
- temperatura de fermentare:
  - **30°C** pentru drojdii de fermentație superioară (pâine);
  - **6 -12°C** pentru drojdii de fermentația inferioară (bere);
- pH-ul optim: **4,5 – 6,5**.

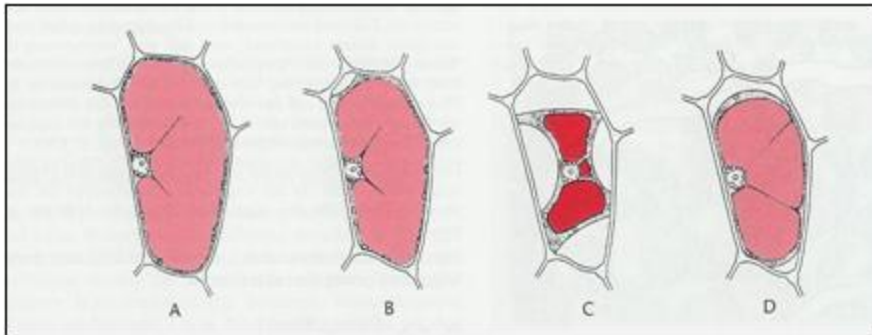
# Stări ale celulelor de drojdie



- **Metabioza:** stare activă în care drojdiile cresc și se înmulțesc prin înmugurire;
- **Anabioza:** stare în care celula își menține caracterele vitale dar nu se mai poate înmulți;
- **Autoliza:** are loc solubilizarea compușilor intracelulari sub acțiunea enzimelor proprii, stare ce conduce la moartea fiziologică a celulei.

# Stări ale celulelor de drojdie

- **Plasmoliza:** stare dependentă de presiunea osmotică a mediului **hipertonic**; celula pierde apă, membrana citoplasmatică se zbârcește, celula trece în stare de anabioză care dacă se menține conduce la moartea celulei (proprietatea este folosită la conservarea alimentelor în sirop de zahăr sau saramură).
- **Turgescența:** starea celulei imersate în mediu **hipotonic** (apă distilată) care, pentru a realiza izotonia, își mărește volumul și se produc fisuri la nivelul peretelui celular.



Reprezentarea schematica a gradului de aprovizionare cu apa a celulei vegetale:

A - celula turgescenta;

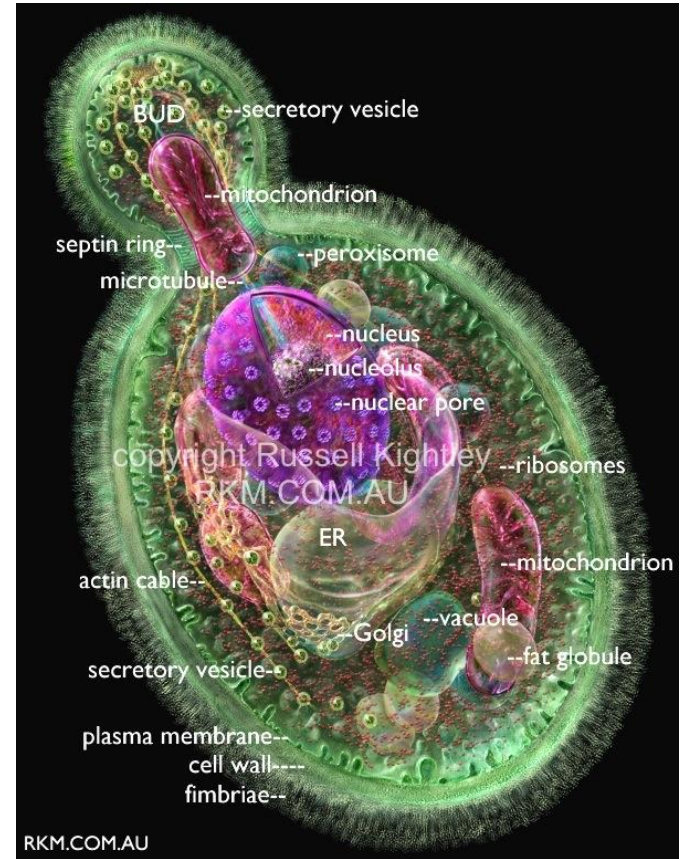
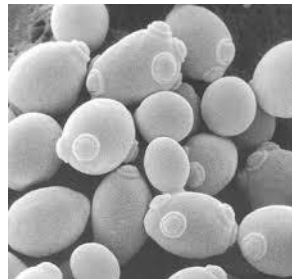
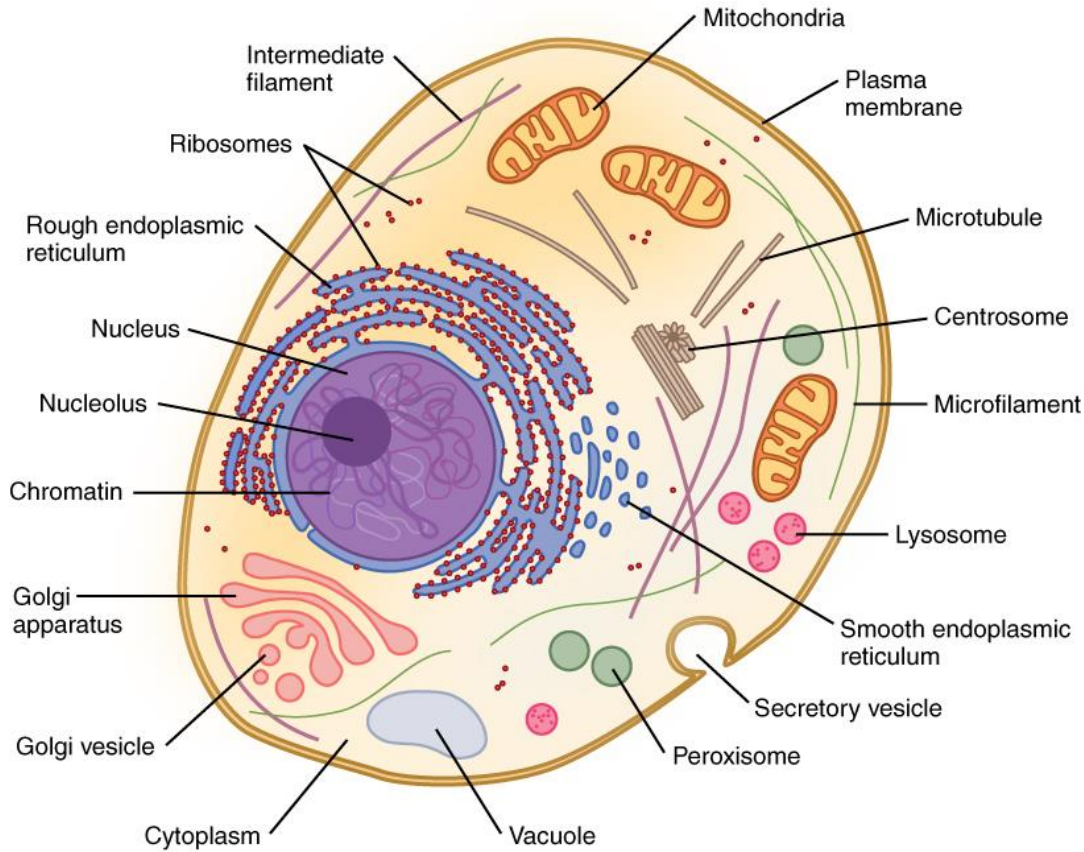
B - stadiul de plasmoliza incipienta;

C - stadiul de plasmoliza avansata (concava);

D - stadiul de deplasmoliza

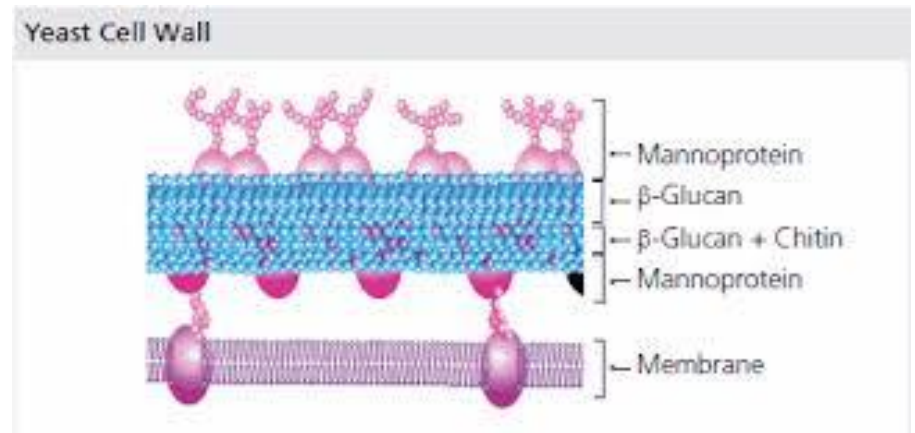
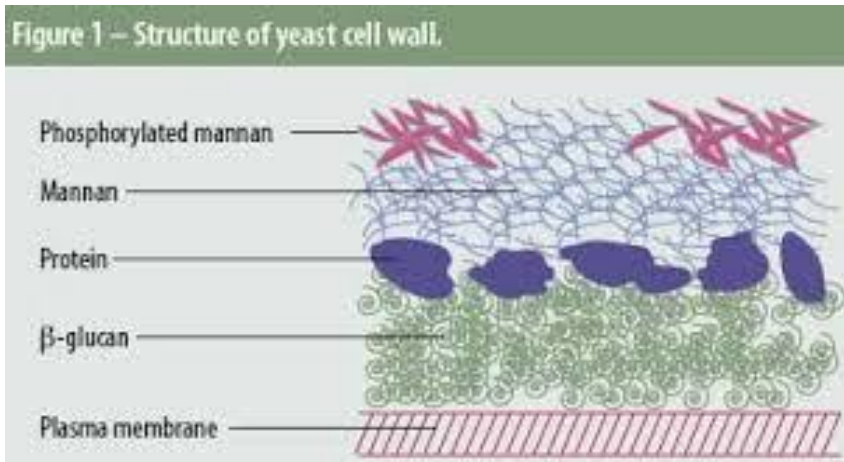


# Structura celulei de drojdie



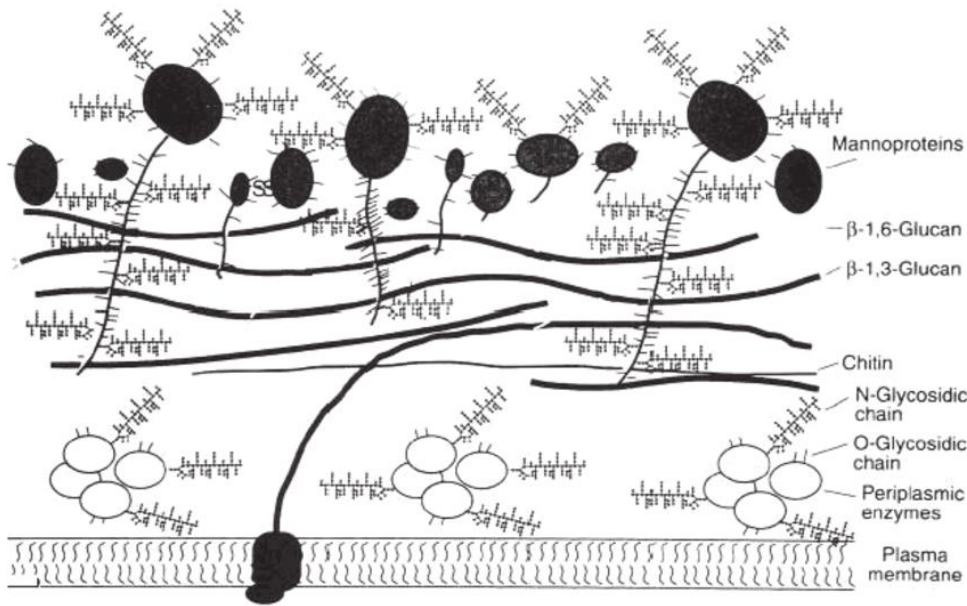
# Învelișurile celulare –

- **peretele celular**
  - **plasmalema**
- sunt structuri ce limitează celula și determină forma de bază a acesteia și intervin în toate procesele biologice fundamentale care se desfășoară la nivel celular.



# Peretele celular

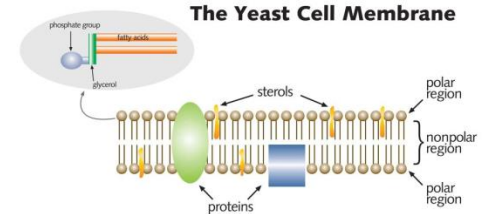
- Peretele celular are o grosime de aproximativ 250 nm și poate să reprezinte o pondere de 5-15 % din biomasa uscată de drojdie. Din punct de vedere structural, peretele celular are aspect laminar și este alcătuit din 2-3 straturi.
- Stratul extern are o suprafață rugoasă și în anumite zone prezintă așa-numite cicatrice mugurale, locul de desprindere a celulelor rezultate prin înmugurire. În componența stratului extern predomină mananul cuplat prin legături covalente și radicali fosfat din molecule de proteine, formând complexe macromoleculare.
- Stratul intern are o suprafață ornamentată cu riduri proeminente, formate din fibre constituite din molecule liniare de glucan, care formează complexe cu proteine și asigură rigiditatea sau elasticitatea peretelui celular.



La nivelul peretelui celular sunt localizate și enzime (invertaza, fosfataza, endoglucanaze, permeaze) implicate în biosinteza compușilor peretelui celular și în procesele de transfer al substanțelor. Peretele celular are rol esențial în asigurarea formei celulei și de protecție față de factorii mediului ambiant. În cooperare cu plasmalema participă la creșterea și reproducerea celulară, în biosinteză și catabolism. Prin îndepărtarea peretelui celular, prin metode enzimaticе, se obțin protoplaști folosiți în ingineria genetică pentru obținerea prin fuziune a hibridilor cu importanță practică. Prin amplasarea protoplaștilor pe mediu nutritiv, în timp de 8-12 ore, are loc regenerarea peretelui celular.

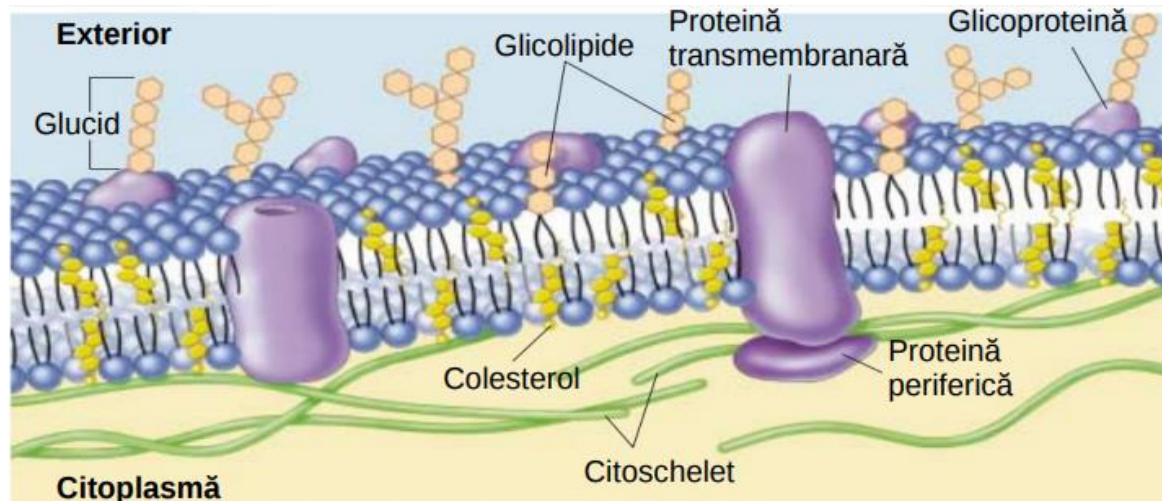


# Structura celulei de drojdie



## Membrană citoplasmatică

- protejată de peretele celular → asigură schimbul cu mediul exterior (este semipermeabilă);
- reprezintă un strat lamelar cu o grosime de circa 8-9 nm, care delimitează protoplastul la exterior. Plasmalema este o structură de natură lipoproteică în care lipidele (fosfolipide, steroli, acizi grași nesaturați) reprezintă 23-30%, iar proteinele (glicoproteine) 30-33% din masa nativă a membranei.
- Plasmalema este sediul complexelor multienzimatice cu rol în biosinteza poliglucidelor din peretele celular (glucansintetaze și chitinsintetaze), în glicoliză, fosforilare oxidativă (oxidoreductaze, citocromi, reductaze), în principalele căi metabolice ale celulei vii.
- Plasmalema este o structură dinamică în care se realizează importante funcții ale celulei vii. În primul rând este o barieră osmotică, cu permeabilitate selectivă ce reglează transferul de substanțe nutritive necesare în celulă pentru a fi metabolizate, precum și eliminarea de cataboliți, iar prin sistemele enzimatiche, active la acest nivel, intervine în reglarea procesului de creștere și înmulțire: declanșează și participă la procesul de înmugurire;



# Citoplasma

consistență gelatinoasă – menține forma celulei;

reprezintă o materie fundamentală a celulei vii în care sunt înglobate organitele subcelulare specifice. Citosolul este un sistem coloidal cu un conținut de 75-85 % apă, în care substanțele componente se află sub formă de sol sau gel, formând miclele coloidale. Dintre substanțele organice predomină proteinele cu rol structural sau catalitic, lipidele cu rol plastic și glucidele cu rol energetic. În compoziția chimică a citosolului intră și acizii nucleici, respectiv ARN (mesager, de transfer și ribozomal) cu rol în biosinteza proteinelor celulare, ARNk (denumit killer) implicat în sinteza de proteine cu acțiune toxică pentru alte celule sensibile și ADN-extracromozomial, component al plasmidelor citoplasmaticice.

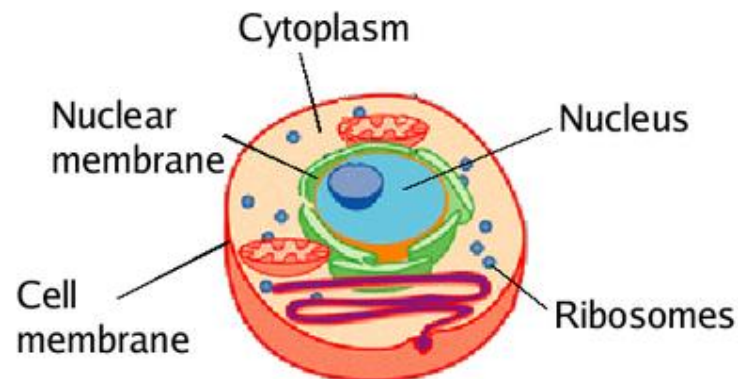
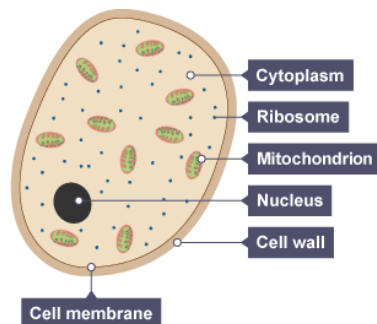
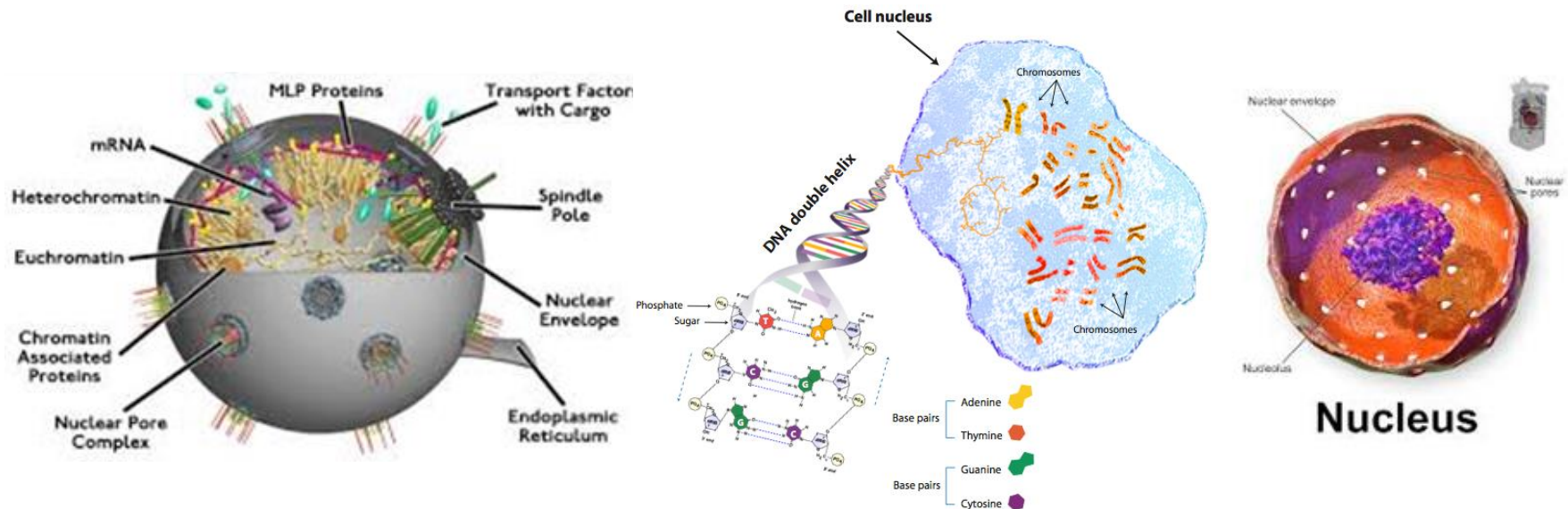


Table 1- Standard killer yeast strains used

Strains	Killer type
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KL88	K1
<i>Saccharomyces diastaticus</i> NCYC 713	K2
<i>Saccharomyces capensis</i> NCYC 761	K3
<i>Candida glabrata</i> NCYC 388	K4
<i>Debaryomyces vanriji</i> NCYC 577	K5
<i>Kluyveromyces marxianus</i> NCYC 587	K6
<i>Pichia membranaefaciens</i> NCYC 333	K7
<i>Hansenula anomala</i> NCYC 435	K8
<i>Hansenula mrakii</i> NCYC 500	K9
<i>Kluyveromyces drosophilorum</i> NCYC 575	K10
<i>Torulopsis glabrata</i> ATCC 15126	K11

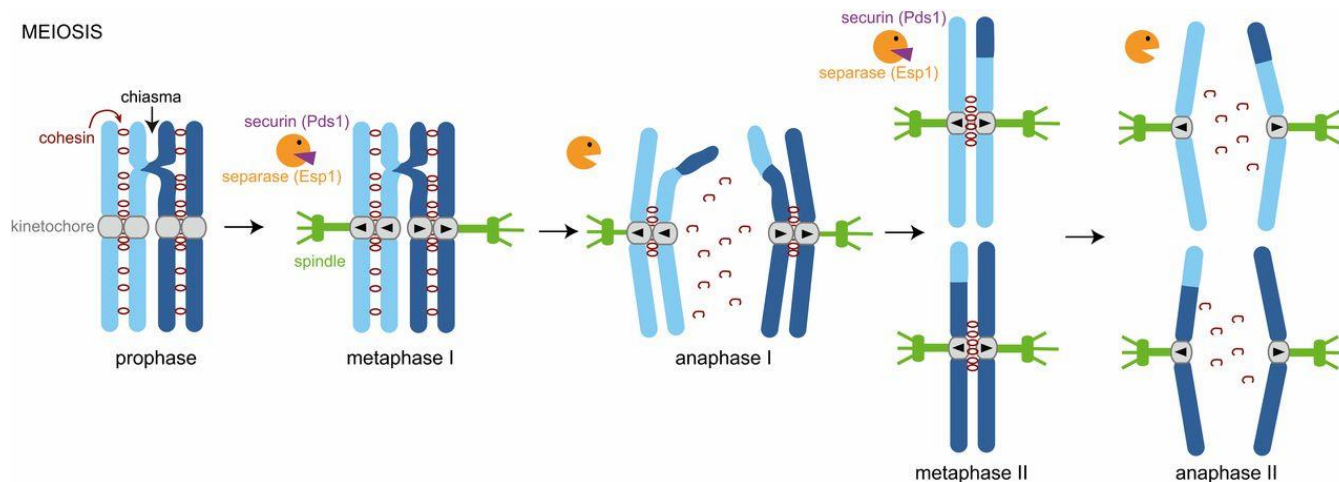
# Nucleul

- conține cromozomi (elemente care poartă informația genetică);
- reglează transmiterea caracterelor ereditare;
- responsabil de reacțiile esențiale care se produc în interiorul celulei.



# Nucleul

- **Nucleul** reprezintă spațiul genetic în care are loc stocarea, replicarea și transmiterea informației celulare și poate fi secvențializat în următoarele părți: **înveliș**, **nucleoplasmă**, **cromonemată**, **nucleol** și **fus intranuclear**. Are o formă sferică sau ovală, de obicei cu o poziție excentrică în citosol și prezintă o anvelopă nucleară în care s-au evidențiat pori care asigură legătura între nucleu și citosol.
- Învelișul nuclear conferă individualitate nucleului prin controlul riguros și medierea schimbărilor nucleocitoplasmatică. Nucleoplasma reprezintă mediul în care sunt înglobate cromonemata, nucleolul și fusul intranuclear. Nucleolul constă dintr-un miez denumit core, alcătuit din histone în formă de disc pe care sunt înfășurate segmente de ADN, formând aranjamente helicoidale sau solenoide.
- În nucleol sunt sintetizate proteine ribozomale și ARN ribozomal care apoi trec prin porii nucleari, în citosol.
- În timpul diviziunii celulare, ADN-ul nuclear se divide în 2 sau mai mulți cromozomi, în funcție de specie, de obicei între 8-18 (*Saccharomyces cerevisiae* are 17 cromozomi, g. *Hansenula* are 4).





# Structura celulei de drojdie

## Mitocondriile

- organele de bază sau structurile subcelulare în care se sintetizează substanțele care înmagazinează energia chimică a celulei - veritabilele centrale energetice ale celulei care funcționează în prezența oxigenului;
- organe puternic hidratate, apa reprezentând până la 70% din masa mitocondriei, ceea ce reflectă un potențial fiziologic particular. Substanța uscată este constituită în principal din proteine și lipide (peste 90%), acizi nucleici, nucleotide, ioni minerali. Proporția diferitelor componente variază considerabil în funcție de starea fiziologică a celulei și de influența unor factori de mediu
- rol în utilizarea zaharurilor pentru producere de energie, asigură astfel creșterea celulei;

## Ribozomii

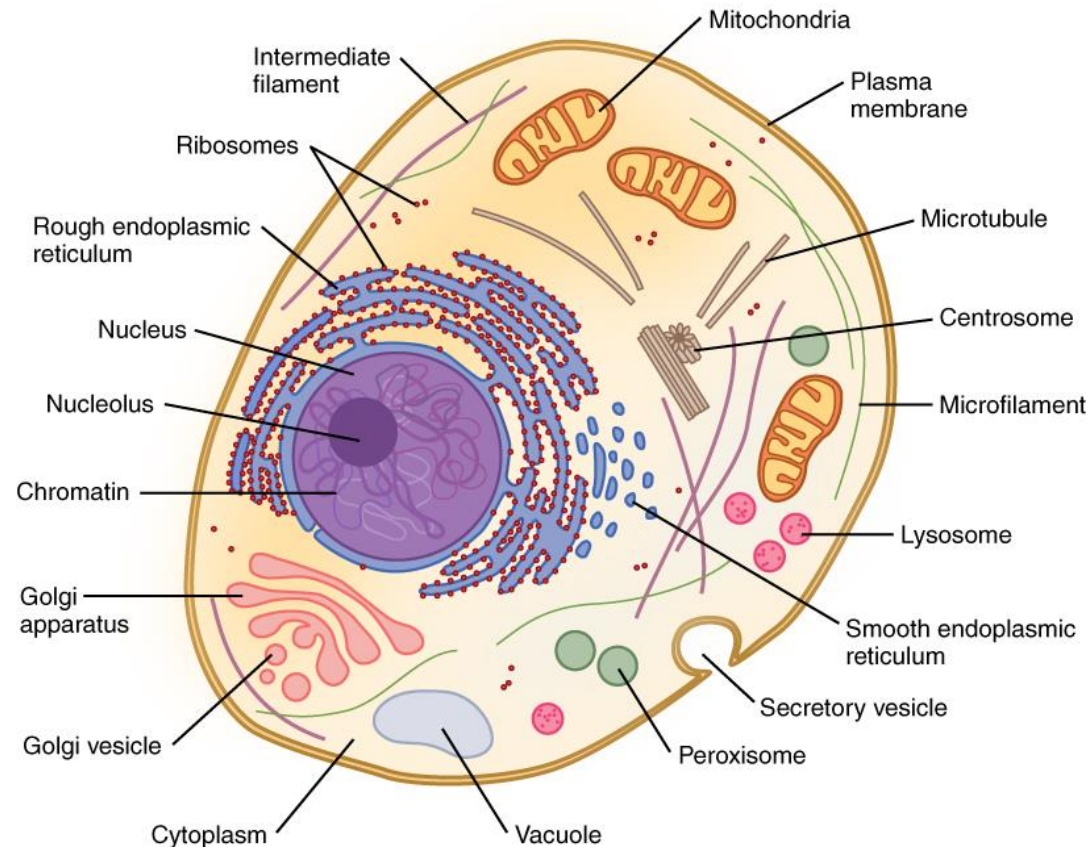
- organe celulare ce se găsesc în citoplasmă, care au în structură ARN – ribozomal și proteine
- sintetizează pe baza aminoacizilor proteinele;

## Vacuolele

- rol în înmagazinarea substanțelor de rezervă;

## Peroxisomii

- structuri sferice sau ovale înconjurate de o membrană simplă și cu o matrice fin granulată pe care sunt localizate oxidaze, cu rol în adaptarea celulei de drojdie la condiții aerobe



# Structura celulei de drojdie

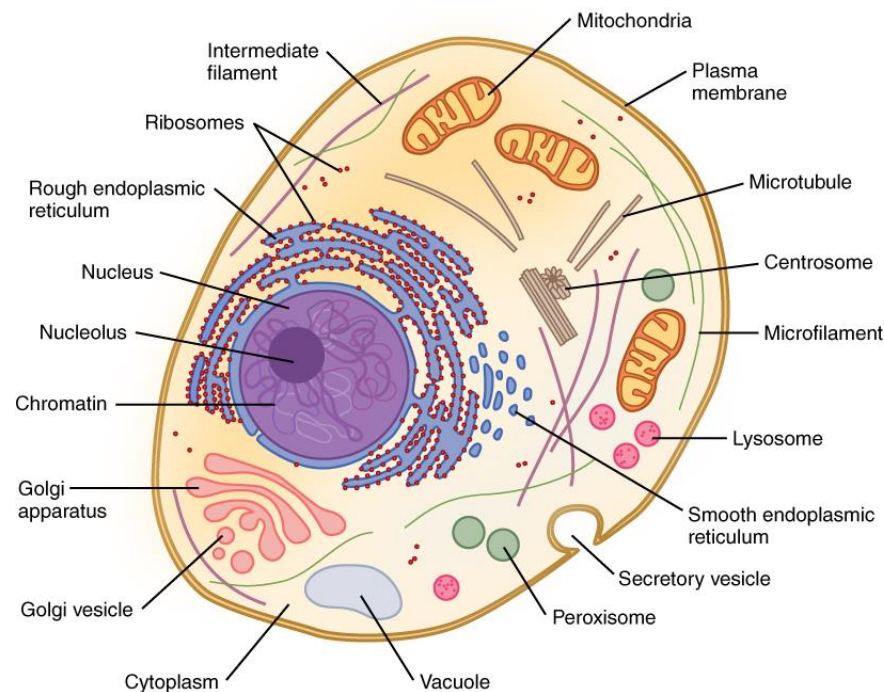
## Reticulul endoplasmatic

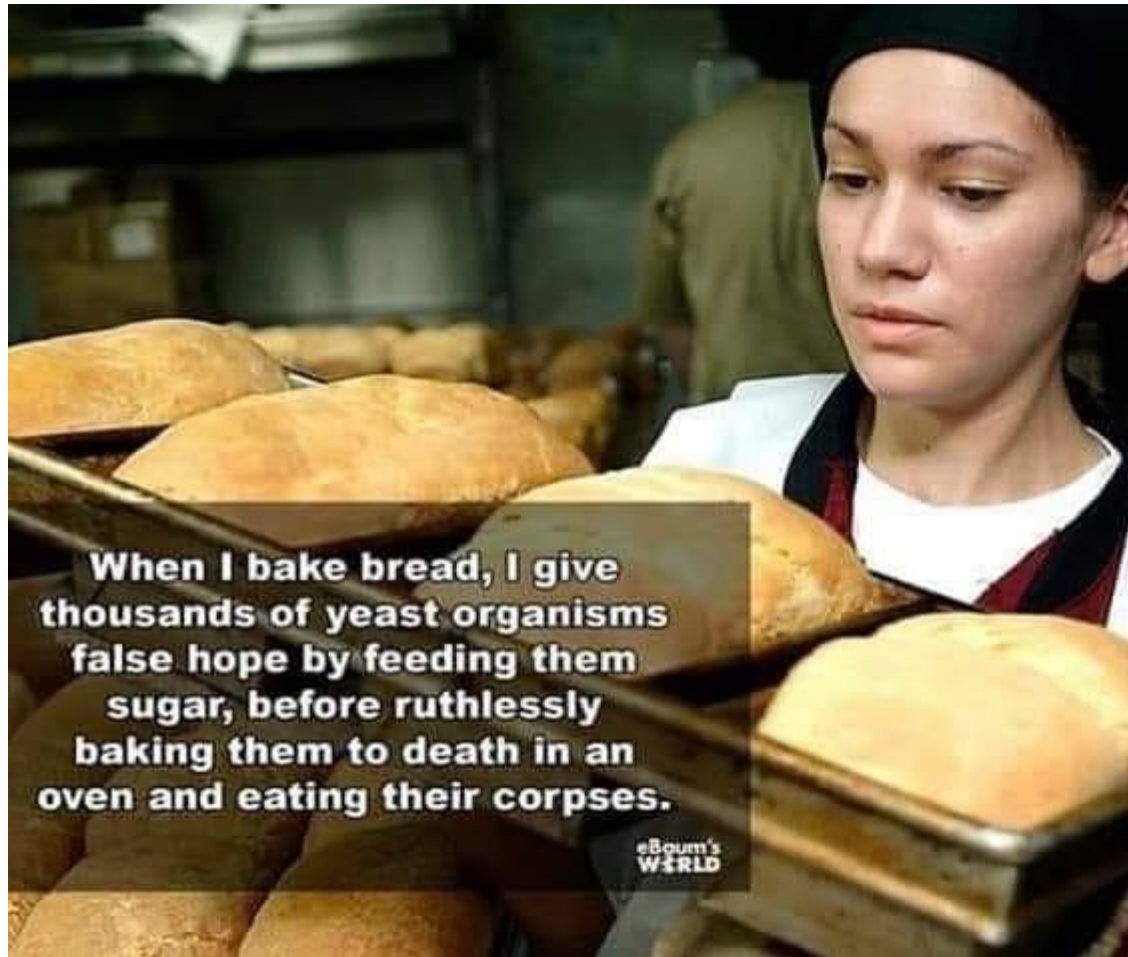
- face legătura între nucleu și vacuom și reprezintă o rețea de vezicule, caracterizate printr-o mare plasticitate morfologică.
- sediul unor complexe enzimatice (citocromoxidaza, enzime ale lanțului transportor de electroni)
- rol în:
  - transportul substanțelor nutritive;
  - declanșarea procesului de înmugurire,
  - biogeneza sferozomilor, vacuolelor, corpilor Golgi;
  - participă, de asemenea, la expansiunea învelișului nuclear și a plasmalemei în diferite etape de dezvoltare ale celulei.

## Aparatul Golgi

- un sistem de endomembrane, alcătuit din unități funcționale – corpi Golgi sau dictiozomi, care face legătura între reticulul endoplasmatic și plasmalemă, între reticulul endoplasmatic și alte organite celulare.
- este aparatul de sortare și dirijare a proteinelor și componentelor membranare spre locul de destinație;
- are rol în expansiunea peretelui celular;

**Lizozomii** sunt structuri veziculare bogate în enzime: proteaze, fosfataze, lipaze (peste 40 de tipuri de enzime), active la  $\text{pH} = 5$  cu rol în digestia unor compuși ai celulei vii, care nu mai funcționează eficient; în exteriorul lizozomului, în citosol, enzimele nu sunt active deoarece  $\text{pH}$ -ul este de 7,3. Enzimele lizozomale sunt în mod normal inactive, latența lor este dependentă de integritatea membranei lizozomale, care acționează ca o barieră ce se interpune între enzimă și substrat. Când sub acțiunea unor factori, de exemplu în starea de înfometare, în absența apei care să asigure transportul în exteriorul celulei a cataboliților formați,  $\text{pH}$ -ul în citosol scade, enzimele din lizozomi sunt activate și celula moare prin autoliză.





**When I bake bread, I give thousands of yeast organisms false hope by feeding them sugar, before ruthlessly baking them to death in an oven and eating their corpses.**

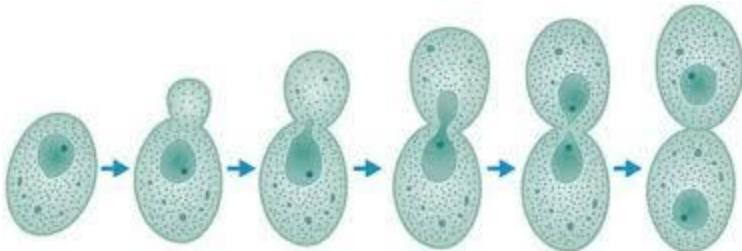
eBum's  
WORLD

# Reproducerea celulelor de drojdie

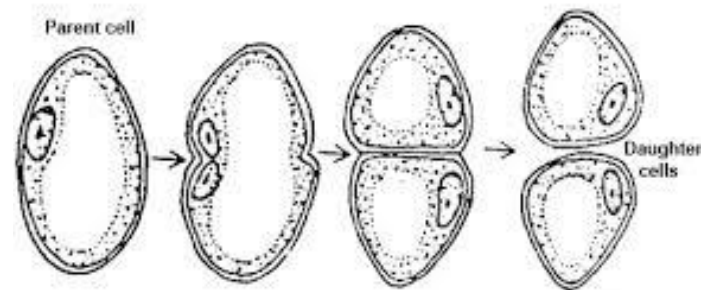
Reproducerea poate fi:

- asexuată (vegetativă) prin:
  - înmugurire;
  - diviziune directă;
- sexuată (în urma unor procese de copulare);

În general reproducerea drojdiilor → **reproducerea asexuată prin înmugurire.**



Copyright © 2013 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins



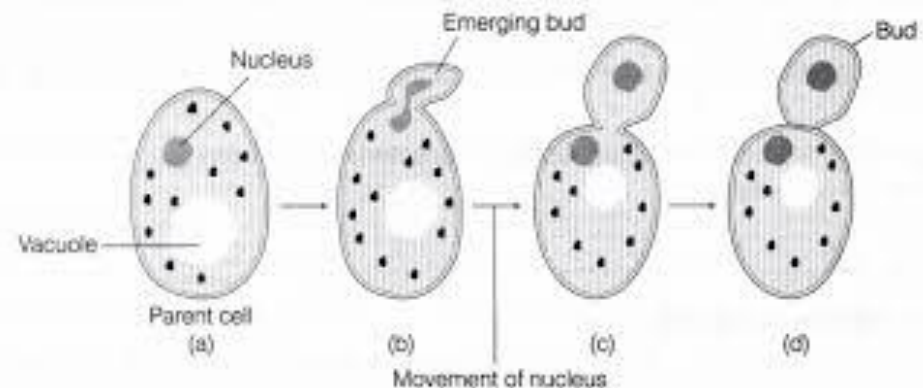
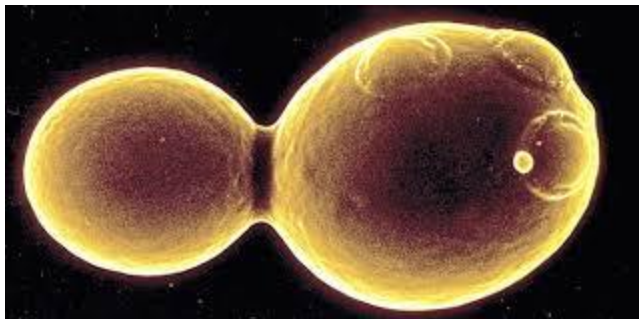
*Yeast - Asexual reproduction by fission*



# Înmugurirea

- este principala cale de multiplicare a celulelor vegetative de drojdii, când condițiile de creștere sunt optime.

Procesul de înmugurire se desfășoară în felul următor: reticulul endoplasmatic emite un semnal chimic care determină o evaginație locală a peretelui celular în care este antrenată masa protoplasmatică subiacentă. Proeminența formată crește pînă atinge aproape dimensiunea celulei mame, după care se produce diviziunea nucleului, iar între celule apare un perete despărțitor.



# Diviziunea directă

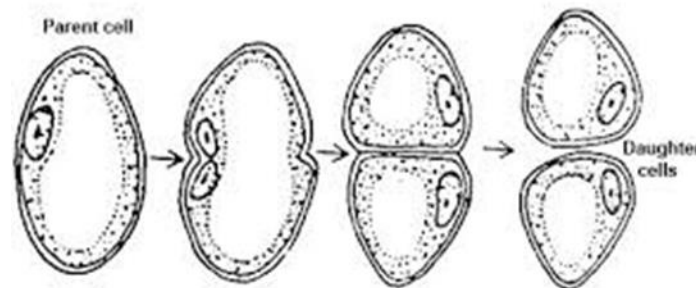
Această formă de multiplicare este caracteristică genului *Schizosaccharomyces*, fapt pentru care este cunoscută și sub numele de multiplicare prin sciziparitate.

Reproducerea drojdiilor are loc în două faze:

- **I Fază** – cu durată variată → replicare ADN
- **II Fază** – 20 min. → repartizarea celor doi ADN în “celulele fiice” nou formate.

Reproducerea debutează cu alungirea (L) “celulei mamă” fără creșterea acesteia în diametru – până se dublează în lungime (2L);

- În timpul acestei alungiri are loc duplicarea ADN-ului și sintetizarea unei cantități duble de proteine (dublarea masei citoplasmice);
- În acest moment începe faza II – formarea unei perete (septum) transversal și în 20 min. are loc diviziunea celor două “celule fiice”.

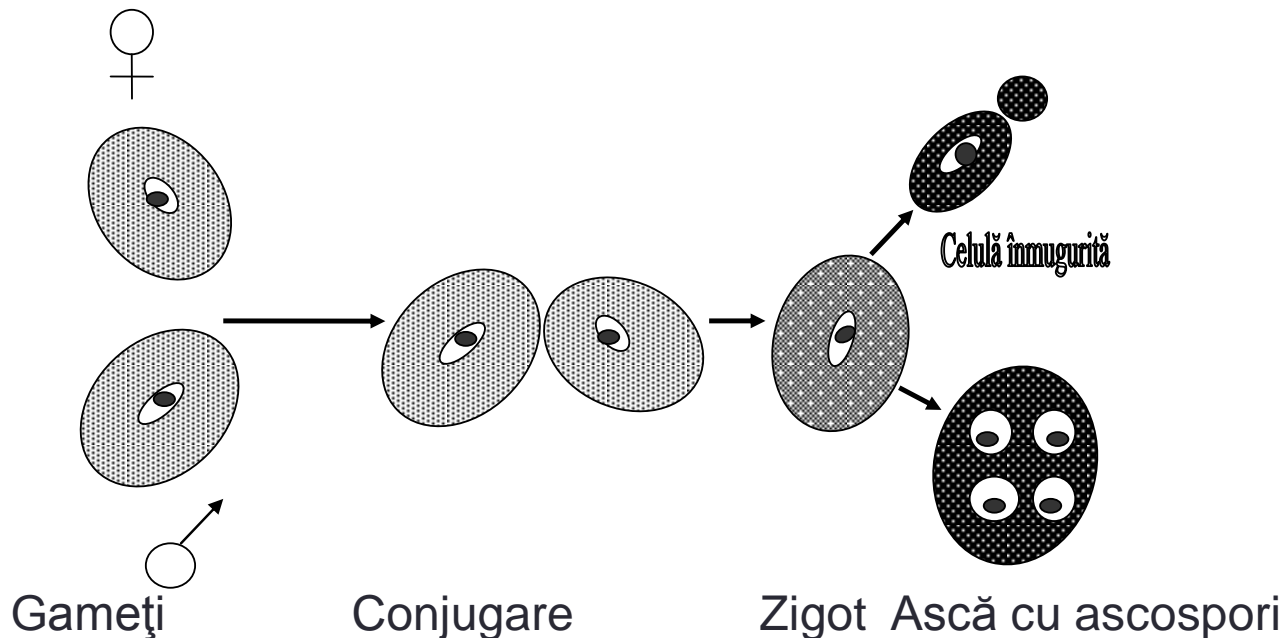


Yeast - Asexual reproduction by fission



# Reproducerea celulelor de drojdie

- **Reproducerea asexuată prin sporulare** conduce la formarea de *ascospori*. Într-un mediu caracterizat prin umiditate scăzută, prin *partenogeneză*, celula de drojdie se transformă în *ască*. Într-un mediu sărăcit în substanțe nutritive, prin *meioză*, se formează *ascospori*.
- **Reproducerea sexuată** are loc prin copulare – conjugarea unor celule ajunse la maturitate fiziologică numite *gameți*. Copularea poate fi: - izogamă (între celule de același tip) sau heterogamă.



# Metabolismul drojdiilor

Două procese energetice principale sunt cunoscute la drojdii:

- respirația;
- fermentația.

Pentru a crește drojdiile au nevoie:

- sursă de C;
- sursă de N – amoniu (în general);
- minerale și vitamine.

Toate drojdiile sunt capabile să degradeze GLUCOZĂ, FRUCTOZĂ și MANOZĂ printr-un metabolism oxidativ  $\Rightarrow$   $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$ .

# Metabolismul drojdiilor



## *Respirația*

- $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{energie utilizabilă (700Kcal)}$
- cale metabolică puternic energetică → permite multiplicarea celulei cu un randament ridicat;
- pe această cale metabolică, în afară de zaharurile simple poate utiliza mono-, di- sau trizaharide, precum și polizaharide (amidon).

# Metabolismul drojdiilor

## *Fermentația alcoolică*

- $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CO_2 + 2CH_3 - CH_2 - OH + \text{energie utilizabilă (20 Kcal)}$
- În afară de alcoolul etilic - principalul produs de reacție al acestei căi metabolice, se mai formează în cantități mici:
  - alcooli superiori;
  - aldehide;
  - acizi;
  - compuși aromatizanți – caracteristici băuturilor fermentate.

# Metabolismul drojdiilor

- Proces metabolic mai slab energetic decât metabolismul oxidativ;
- Randament în multiplicare celulară scăzut față de metabolismul oxidativ;
- Fermentația – în prezența sau în absența totală sau parțială a  $O_2$  → **anaerobioză**

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

## **Saccharomyces cerevisiae**

- drojdia de spirt, folosită și în panificație, este o drojdie de fermentație superioară, caracterizată de o temperatură de creștere și fermentație 28-30°C.
- forma oval rotundă, profilul coloniei este bombat circular, culoarea alb, bej spre gri.
- Prin fermentare în medii lichide formează lanțuri lungi de celule (15-20) – cauza formării unei spume abundente, stabile.



# Specii de drojdie cu importanță în industrie

- În industria spirtului, prin fermentarea zaharurilor conținute de plămezile zaharificate, produce până la 16-18° alcool.
- În panificație, drojdia din aluat fermentează maltoza cu formare de alcool etilic și  $\text{CO}_2$ , care este reținut de gluten și determină creșterea în volum și porozitatea caracteristică pâinii.

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

***Saccharomyces uvarum (carlsbengensis)*** – drojdie de bere;

- drojdie de fermentație inferioară;
- temperatură optimă de înmulțire 30°C;
- temperatură optimă fermentației alcoolice 6-12°C.

***Saccharomyces cerevisiae (ellipsoideus)*** – drojdie de vin;

- fermentarea zaharurilor din musturi de fructe (struguri);
- temperatura optimă de înmulțire 30°C;
- temperatura optimă de fermentație alcoolică 15°C;
- este sulfitorезistentă și alcoolorezistentă.

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

***Saccharomyces oviformis (bayanus)*** – drojdie de șampanie

- poate produce până la 18-20° alcool;
- este caracterizată de o mare rezistență la CO<sub>2</sub>.

***Kluyveromices fragilis* și *lactis*** se utilizează la valorificarea zerului deoarece pot fermenta lactoza.

Drojdiile din genul ***Torulopsis*** se întâlnesc pe suprafața fructelor, inițiază fermentarea mustului de struguri și sunt inhibate de concentrații în alcool mai mari de 4-6° alcool.

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

Drojdiile din genul *Kloeckera* au formă de lămâie, cu muguri la ambele capete, se dezvoltă pe strugurii bine copti, sunt inhibate de concentrații alcoolice mai mari de 6° alcool.

*Saccharomyces pasteurianus* – produce alterări ale berii cu tulburare și imprimare de gust neplăcut.

*Schizosaccharomyces* - efect negativ deoarece pot produce o scădere a acidității vinurilor; pot folosi ca sursă hidrocarbonată atât zaharuri cât și acizi (când se dezvoltă în must pot să consume acidul malic).

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

*Saccharomyces ludwigi* – are proprietăți slab fermentative, este sulfitorезistentă, poate produce defect la vinurile dulci – refermentarea vinurilor.

*Pichia membranifaciens* – formează voal cutat la suprafața lichidelor fermentate și produce oxidarea zaharurilor și a alcoolului.

Drojdiile din genul *Hanseniaspora* au formă de lămâie, se găsesc în microflora mustului de struguri, pot produce și esteri cu gust amar deci prezența lor nu este dorită.

# Specii de drojdie cu importanță în industrie

- ***Candida mycoderma*** – produce “floarea vinului”, se dezvoltă pe vinuri slab alcoolice, în prezență de gol de aer și produce oxidarea alcoolului cu formare de apă și CO<sub>2</sub>, ceea ce face ca vinul să fie lipsit de gust, să devină instabil din punct de vedere biologic.
- ***Candida albicans*** – este drojdie patogenă care produce candidoze.
- Drojdiile din genul ***Debaryomyces*** sunt halotolerante, se întâlnesc ca agenți de alterare a preparatelor din carne, șuncă.





# FUNGI

A mushroom  
walks into a  
bar, and the  
bartender  
immediately  
kicks him out.  
The mushroom  
replies "C'mon,  
I'm a fungi!"

Livin3.com

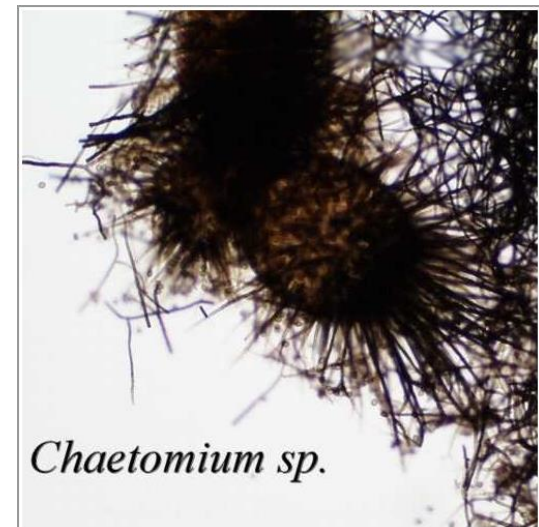


# Fungi

- Definiție. Rol. Răspândire
- Creștere. Reproducere
- Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

# Fungi

- **Fungi** - microorganismele a căror celule sunt de tip eucariot cu organ vegetal monocelular sau pluricelular – organ reproducător diferențiat. Fungii se reproduc prin spori obținuți pe cale sexuată sau asexuată.



# Fungi



- Fungii sunt agenți de putrezire cu rol esențial în natură deoarece realizează descompunerea și degradarea materiilor organice de natură vegetală până la compuși simpli.
- Activitatea mucegaiurilor este foarte complexă, datorită capacității de a produce o gamă largă de **enzime**:
- **amilaze** sintetizate în scopul degradării amidonului;
- **proteaze** sintetizate în scopul degradării proteinelor;
- **celulaze** – degradează celuloza;
- **lipaze** – degradează lipidele.

# Fungi

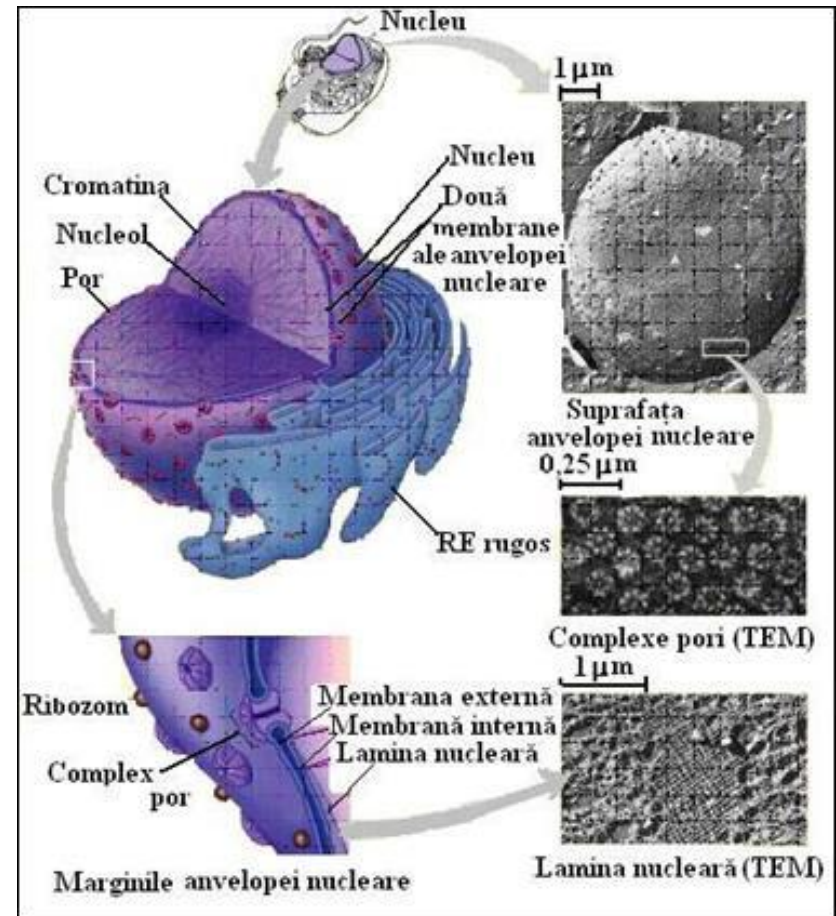


- Fungii ajung frecvent și pe suprafața alimentelor conducând la alterări importante. Prin defectul de **mucegăire** au loc modificări ale calităților senzoriale – aspect, culoare, miros, gust. Un anumit grup de mucegaiuri dezvoltate pe produse alimentare produc **micotoxine** care pot conduce la îmbolnăviri ale ficatului, rinichiului, sau la cancer, în urma ingerării de alimente mucegăite.
- Din alt punct de vedere, se poate spune că mucegaiurile sunt capabile să paraziteze plante și animale.



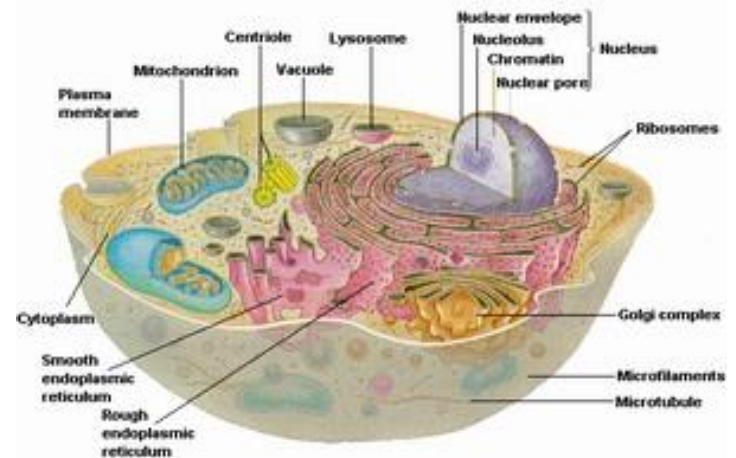
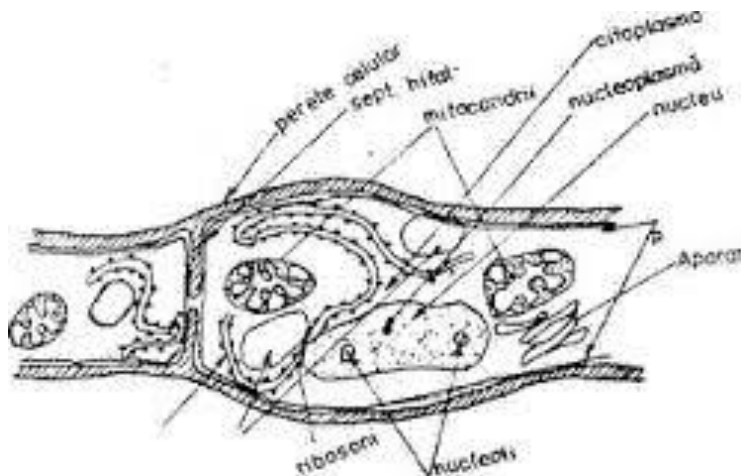
# Organizare celulara

- Nucleul - a fost pus în evidență prima dată de către De Bary (1866).
- Nucleul fungilor este mic având dimensiuni cuprinse între 0,75 - 20  $\mu\text{m}$ .
- Forma nucleului este sferică sau ovală.
- Nucleul este înconjurat de o membrană dublă cu numeroși pori, caracteristică organismelor eucariote.
- În interior se află nucleoplasma și unul sau mai mulți nucleoli. Substanța caracteristică nucleului este cromatina, alcătuită din acidul dezoxiribonucleic, acidul ribonucleic și proteine.
- Numărul cromozomilor variază în funcție de specie, fiind în general mic, de exemplu *Penicillium notatum* are cinci, *Neurospora crassa* are șapte, iar *Aspergillus nidulans* are opt cromosomi.



# Organizare celulara

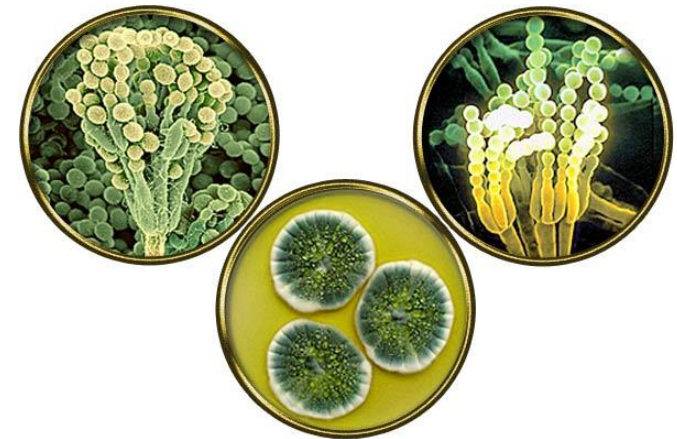
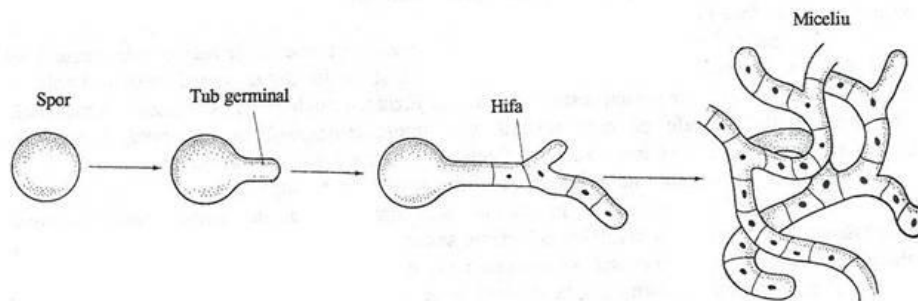
- Reticulul endoplasmatic - din celulele fungice este constituit din două membrane unitare separate printr-un lumen. RE poate avea formă tubulară sau lamelară și este mai evident în celulele tinere.
- Ribozomii sunt distribuiți în mod neuniform în citoplasmă sau sunt atașați de RE.
- Mitocondriile sunt asemănătoare cu cele de la alte organisme, îndeplinind aceleași funcții.
- Complexul Golgi este și el prezent în celulele fungice. Vacuolele sunt prezente în număr mare în celulele mature, fiind prevăzute cu o membrană simplă.
- Citoplasma prezintă la exterior o membrană fină lipoproteică - plasmalema, urmată de hialoplasmă (la periferia celulei), iar în interior este prezentă granuloplasma. Continuitatea citoplasmei este asigurată de plasmodesme între celule și anastomoze între hife. În componența citoplasmei intră: glucide (glicogen), proteine, lipide, acid ribonucleic, acizi organici, enzime, fosfați de fitosterine. Citoplasma celulelor fungice este omogenă și refringentă.





# STRUCTURA MICELIULUI

- Aparatul vegetativ al fungilor este numit **miceliu**. Miceliul este divers constituit în funcție de gradul de evoluție al fungilor.
- La ciupercile superioare, miceliul este alcătuit din **hife septate transversal**, care formează un miceliu pluricelular.
- Celulele pot fi uninucleate, binucleate sau plurinucleate.
- La foarte multe ciuperci hifele sunt incolore, dar odată cu diferențierea sporilor miceliul se colorează. La unele specii de fungi, miceliul care formează corpii sporiferi se colorează în roșu, galben, albastru, ca urmare a faptului că celulele sintetizează o serie de pigmenți care colorează peretele.



# Clasificare Funghi

- **Fungii patogeni** – mucegaiuri care cresc și care se înmulțesc în organismele vii.

Exemple: *Aspergillus fumigatus* – produce aspergilom pulmonar.



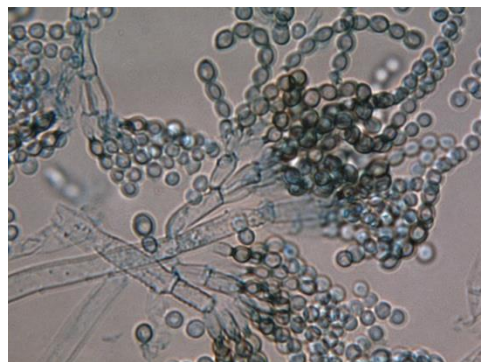
# Clasificare fungi

- **Fungi fitopatogeni** – mucegaiuri care cresc și care se înmulțesc pe plante și conduc la boli ale plantelor: rugina, tăciunele, mătura, fuzarioza. În cazul cerealelor, mucegaiurile conduc la o reducere a cantității de substanță utilă și implicit, la scăderea valorii tehnologice.



# Clasificare Funghi

- **Funghi selecționati** – mucegaiuri folosite în industria alimentară la: fabricarea unor brânzeturi cu pastă mucegăită (Rochefort - *Penicillium roqueforti*, Camembert), fabricarea salamurilor crude de tip Sibiu, echipamentul enzimatic al mucegaiurilor contribuind la procesul de maturare, antibiotice - *Penicillium chrysogenum* sau *notatum*.



# CLASIFICARE

- Filum Chytridiomycota
- Filum Zygomycota
- Filum Ascomycota
- Filum Basidiomycota

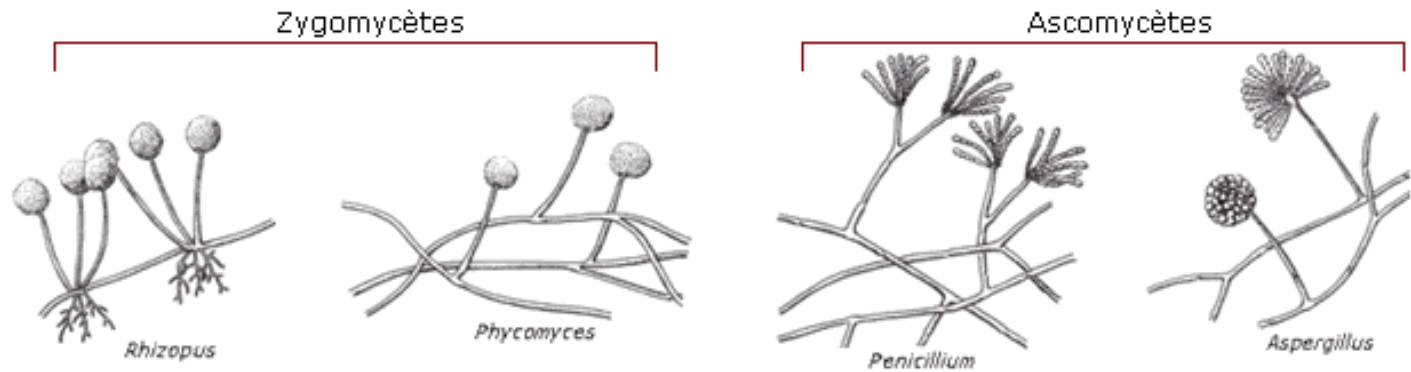
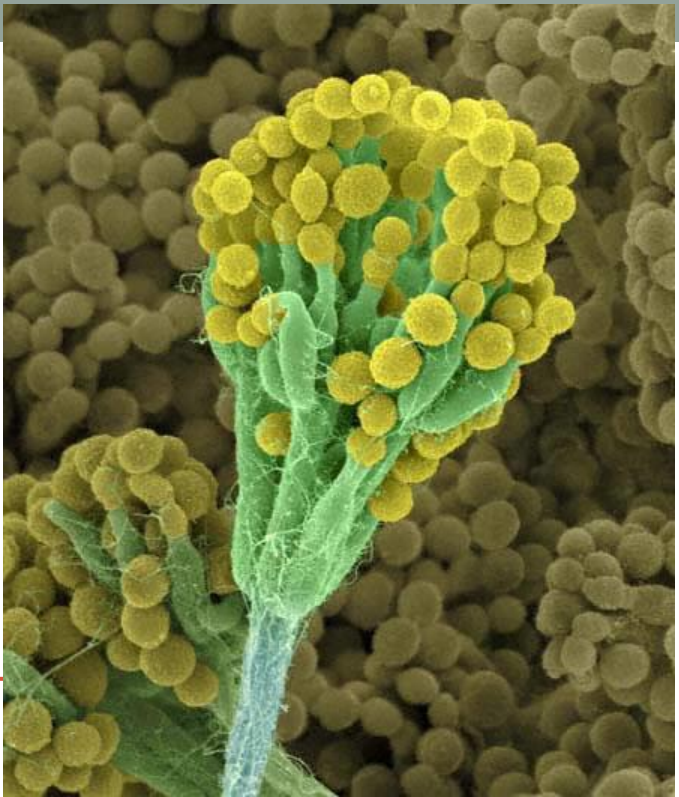
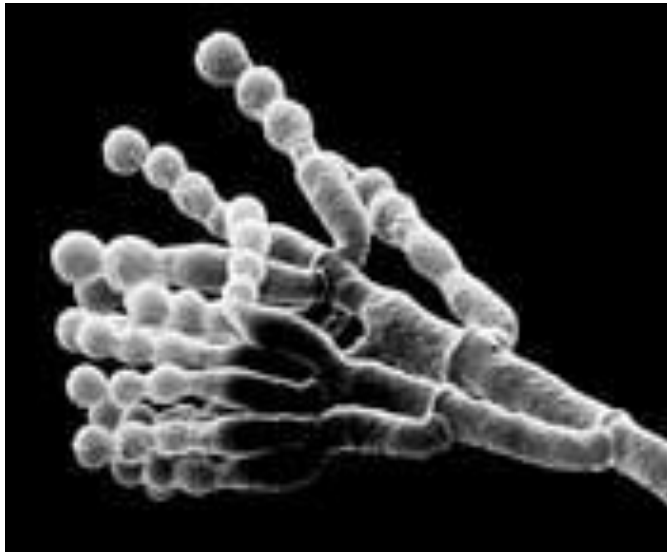


Figure 5 : Structure des moisissures



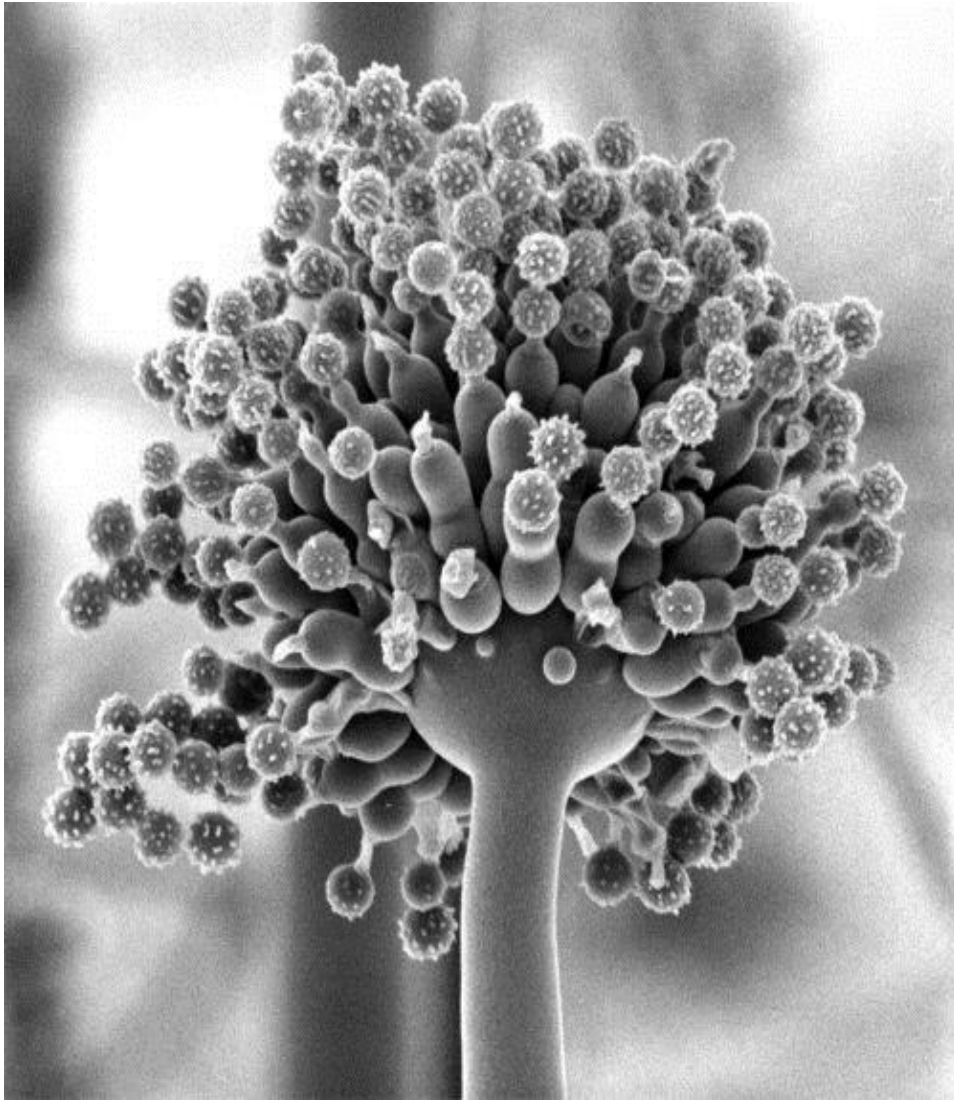


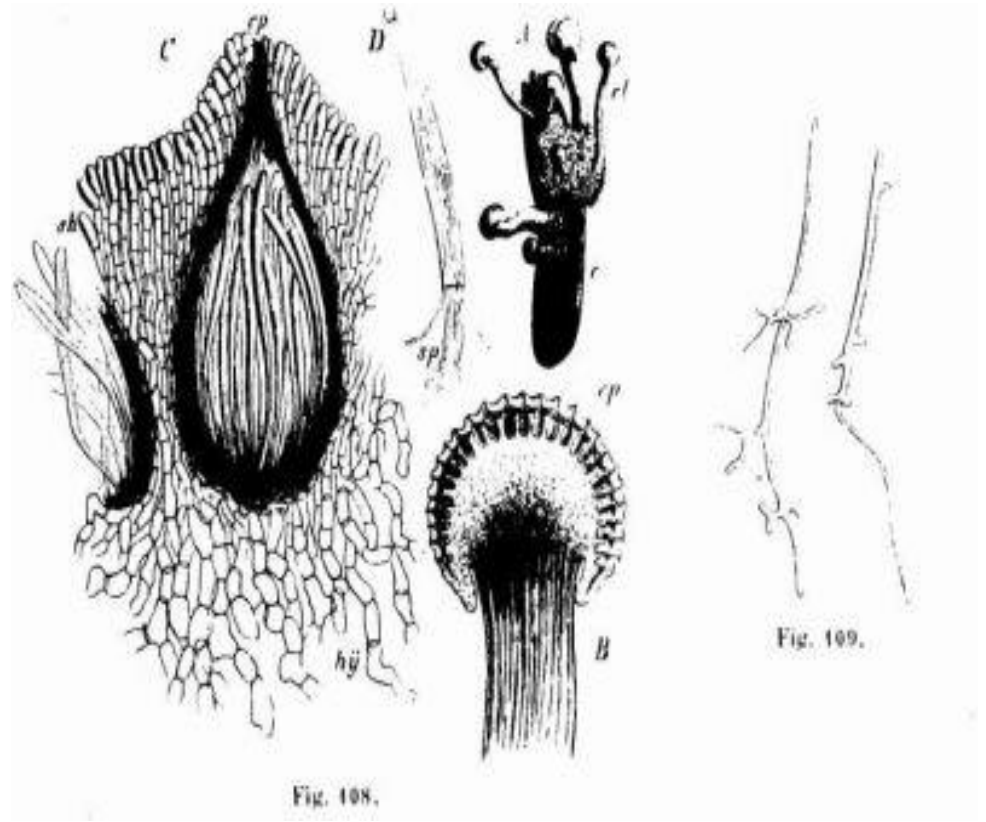
*PENICILLIUM NOTATUM*





# Aspergillus sp.





- *Claviceps purpurea* = cornul secarei

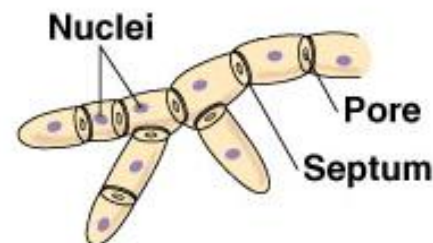
# Creșterea și reproducerea fungilor

- În momentul în care spori sau fragmente de mucegaiuri ajung pe un mediu nutritiv are loc o germinare și creșterea radială a tuburilor germinative care se mai numesc și **hife** – organe ale creșterii vegetative.

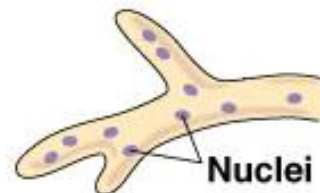


# Creșterea și reproducerea fungilor

- Totalitatea hifelor alcătuiesc un **miceliu** care poate fi: - **cenocitic** – formațiune în care citoplasma circulă liber, aseptat, format din hife ce nu prezintă pereți despărțitori – tip de miceliu caracteristic mucegaiurilor inferioare; miceliul **septat** – formațiune în care citoplasma circulă prin pori centrali – caracteristic mucegaiurilor superioare (la un anumit stadiu de dezvoltare celulele sunt separate între ele prin *septum* – por central sub formă de perete despărțitor).



(a) Septate hypha



(b) Coenocytic hypha



# Creșterea și reproducerea fungilor



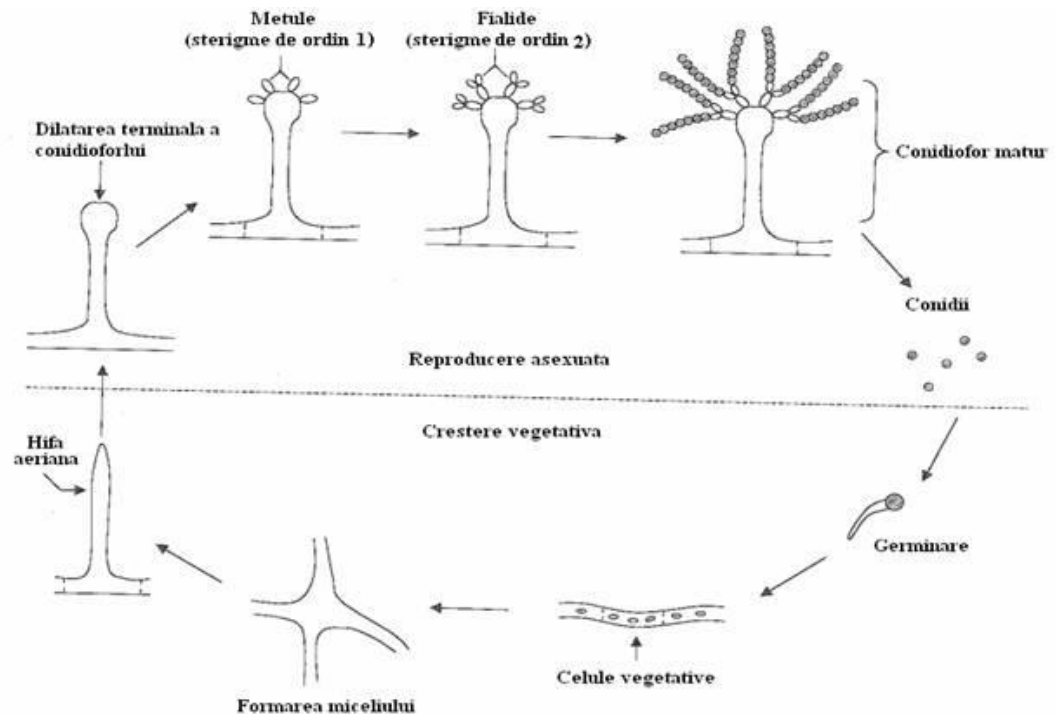
Hifele îndeplinesc mai multe funcții:

- funcția de absorbție de substanțe nutritive, de fixare a mucegaiului pe mediu nutritiv – hife care se numesc **rizoizi**.
- funcția de extindere care determină formarea de tuburi germinative ramificate – hife care se numesc **stoloni**.
- funcția de reproducere – hife generatoare de spori, se formează în centrul coloniei, perpendiculare pe hifa generatoare și au o creștere limitată.

# Creșterea și reproducerea fungilor

**Reproducerea mucegaiurilor** – este un proces fiziologic complex și în cazul mucegaiurilor cunoscute și studiate se poate realiza pe două căi:

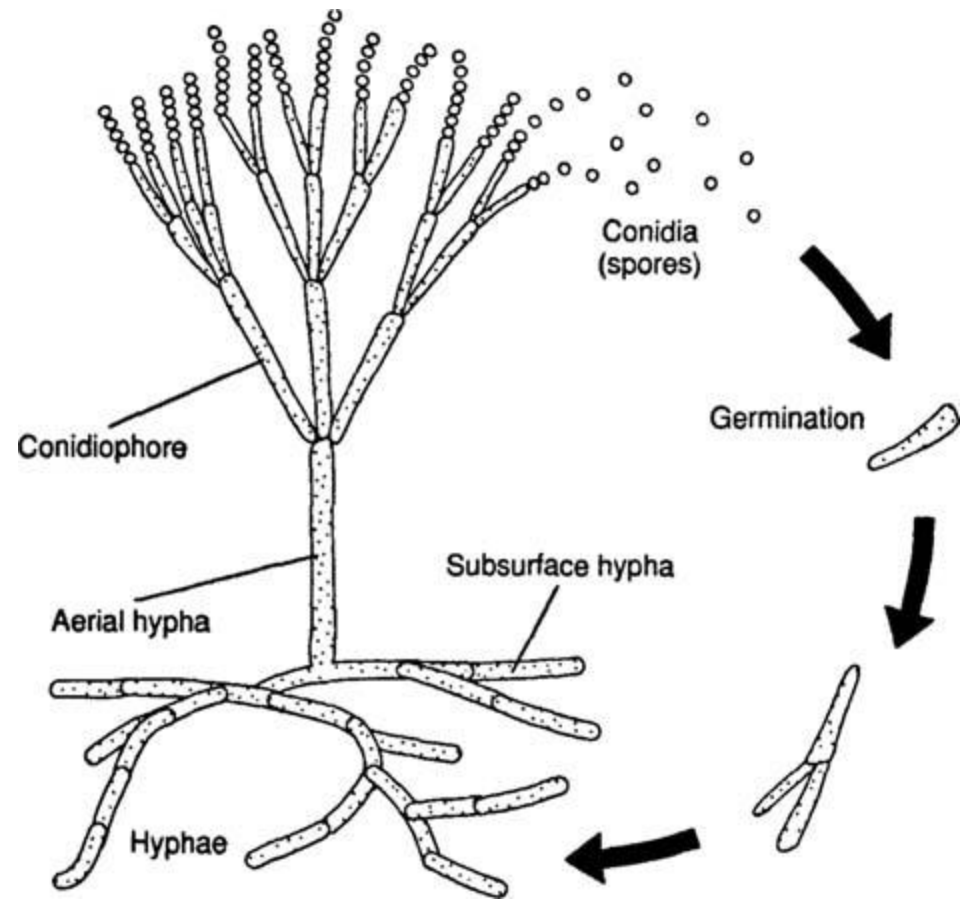
- **prin spori** – *pe cale asexuată* (prin sporangiospori sau conidiospori) sau *pe cale sexuată* prin spori perfecti (oospori, zigospori, ascospori sau bazidiospori).
- **vegetativă** – *pe cale sexuată*;





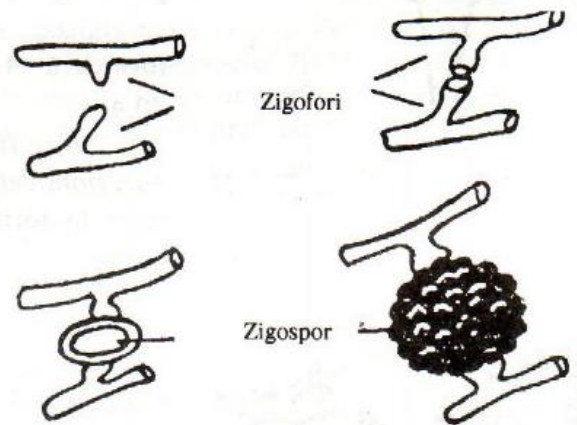
# Creșterea și reproducerea fungilor

- La fungii imperfecti înmulțirea sexuată nu a fost (încă) demonstrată, în ambele forme de înmulțire a fungilor sporularea joacă un rol important. Spre deosebire de endosporii bacterieni (cu funcție de rezistență numai), sporii fungici sunt forme de înmulțire, propagare și, numai unii dintre ei, de rezistență.



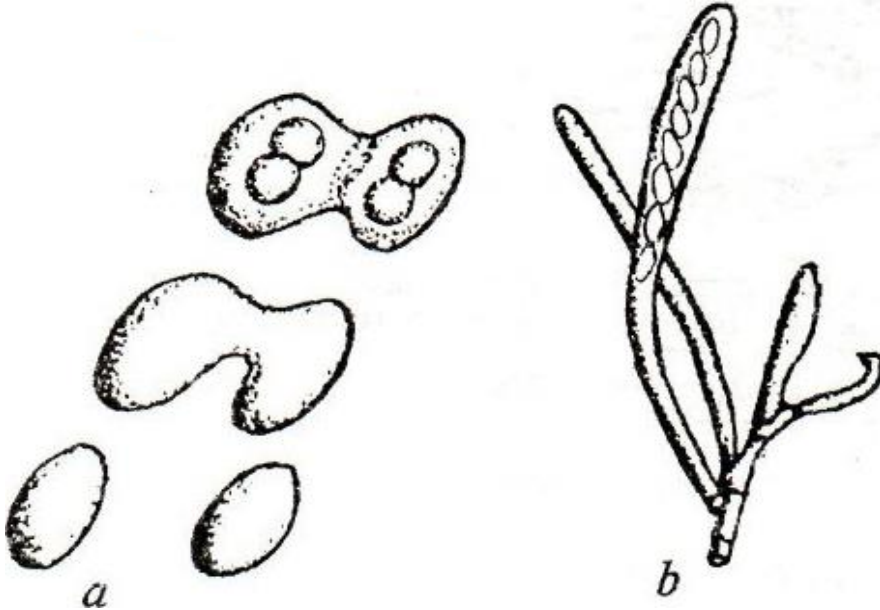
# Creșterea și reproducerea fungilor – sexuată

- Sporii sexuați se produc prin fuzionarea a două hife, urmată de meioză. Fungii cu interes medical produc trei tipuri de spori sexuați: zigospori, ascospori și bazidiospori.
- **Zigosporii** sunt produși de zigomicete: vârfulurile a două hife vecine fuzionează și formează spori mari cu perete gros.



# Creșterea și reproducerea fungilor – sexuată

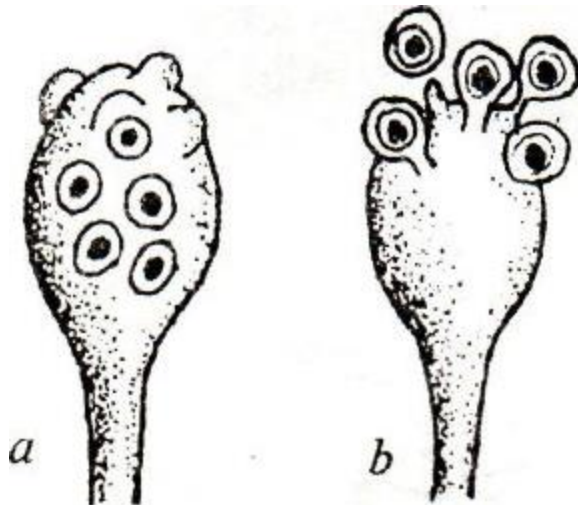
- **Ascosporii** sunt produși de ascomicete: fuziunea a două celule duce la formarea unui organ specializat, numit ască, în care se formează 4—8 ascospori.



Formarea ascosporilor: a – stadii succesive ale conjugării și formării ascosporilor la o levură; în final a apărut o ască cu 4 ascospori; b - ască matură cu 8 ascospori la un fung filamentos

# Creșterea și reproducerea fungilor – sexuată

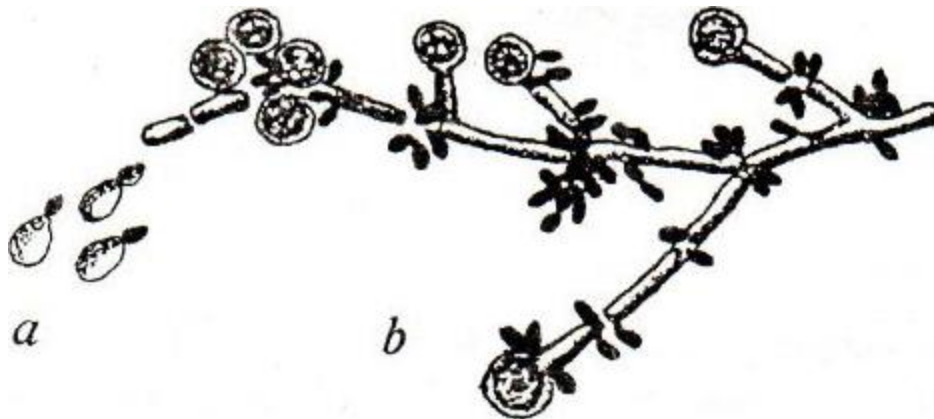
- **Bazidiosporii** sunt produși de bazidiomicete: fuziunea celulelor duce la formarea unui organ măciucat, numit bazidium, unde se formează 4 nuclee care migrează și înmuguresc pe suprafața organului pentru a forma tot atâția bazidiospori .



Formarea bazidiosporilor: a - bazidium imatur cu nuclee sporale în migrare; b - bazidiospori maturi înmuguriți pe suprafața unui bazidium

# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

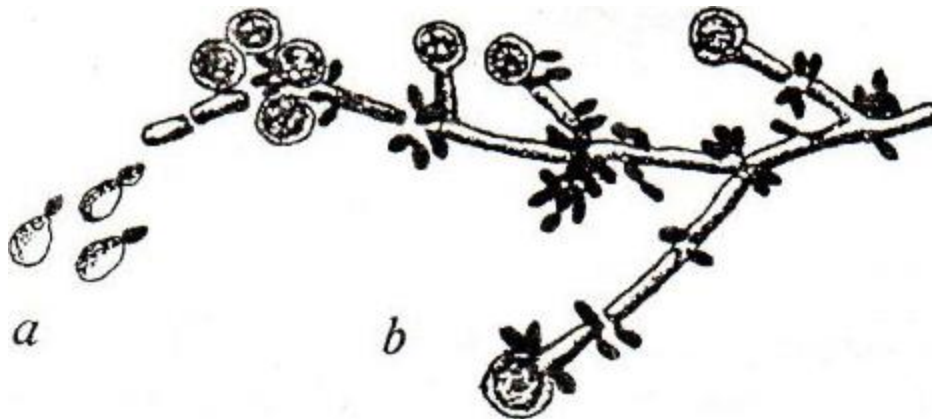
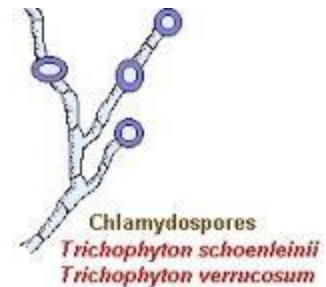
- Sporii asexuați apar direct din celule hifale sau în organe specializate de fructificare.
- **Blastosporii** apar prin înmugurirea unui pseudo-miceliu sau miceliu. Separați de celula parentală, se dezvoltă de sine stătător.



a - celule cu blastospori; b - pseudohife cu blastospori și chlamidospori

# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

- **Chlamidosporii** sunt spori rezistenți cu perete gros, formați prin creșterea și rotunjirea unor celule hifale. Chlamidosporii supraviețuiesc după ce restul miceliului moare și se dezintegrează.

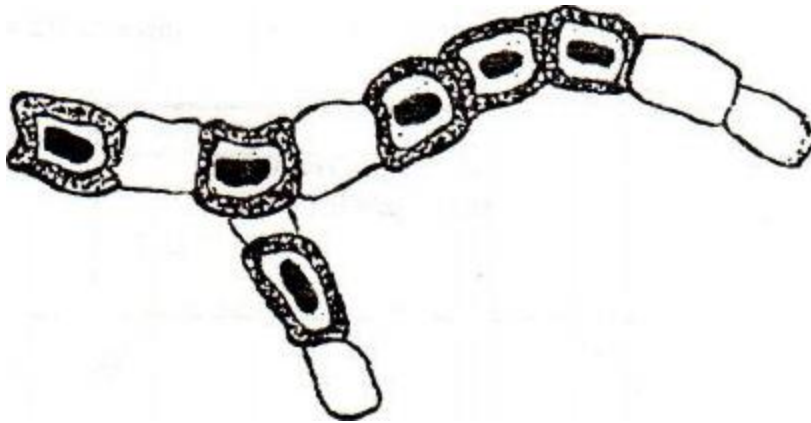


a - celule levurice cu blastospori; b - pseudohife cu blastospori și chlamidospori



# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

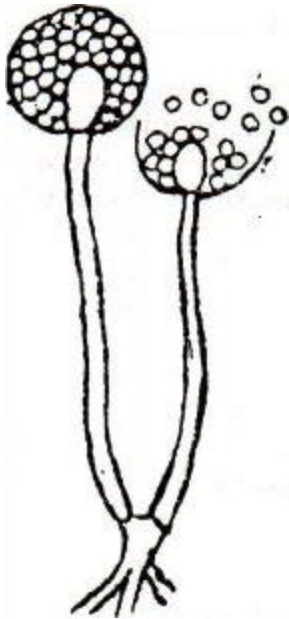
- **Artrosporii** sunt spori rezistenți cu perete gros și aspect cilindric sau în butoi, formați prin segmentarea și dezarticularea în celule separate a unui filament dintr-un miceliu septat.



Miceliu septat. Prin segmentarea hifelor apar artrospori cu perete gros, alternând cu celule goale

# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

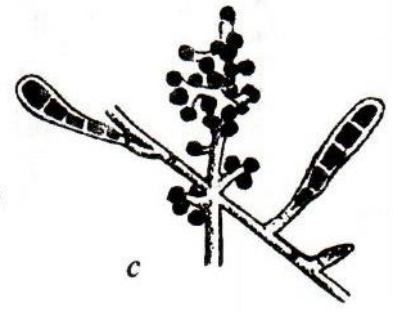
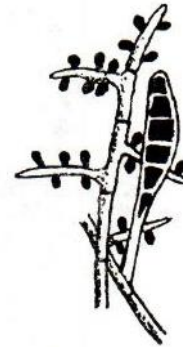
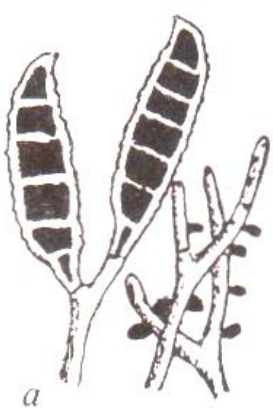
- **Sporangiosporii** se formează în interiorul unui sac, numit sporangiu, purtat în vârful unui filament septat, numit sporangiofor.



*Rhizopus*, un zigomicel. Se observă sporangioforul cu sporangiu și sporangiospori

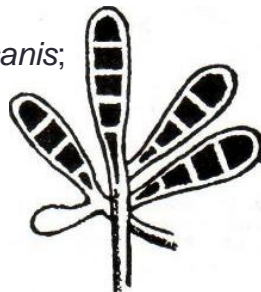
# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

- Conidiile sunt spori asexuați formați pe conidiofori. Unele sunt mici, microconidiile, unicelulare, rotunde, eliptice sau piriforme sau pedunculatate. Altele sunt mari, macroconidiile, obișnuit septate, măciucale sau piriforme.



*Trichophyton*, aspecte de hife și conidii: a - *T. tonsurans*; b - *T. rubrum*; c - *T. mentagrophytes*

*Microsporium*, micro- și macroconidii: a – *M. canis*; b - *M. gypseum*



*Epidermophyton floccosum*, macroconidii

# Creșterea și reproducerea fungilor – asexuată

- Sporii sexuați ai fungilor și, dintre sporii asexuați, chlamidosporii și artrosporii suni rezistenți la condiții adverse de mediu.



# Specii de fungi cu importanță în industrie

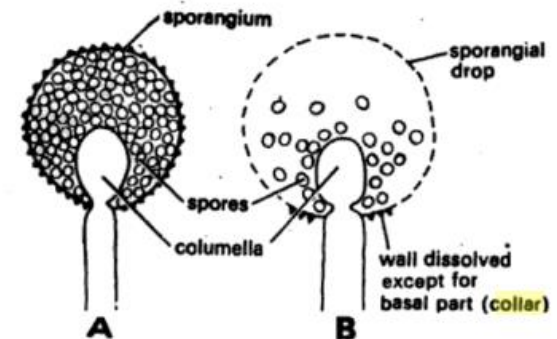


- Genul **Plasmopara** cuprinde mucegaiuri fitopatogene ce dau boli ce se numesc *plasmopara viticolă* și *plasmopara florii soarelui*.
- **Phytophthora infestans** – produce mana cartofilor.
- Genul **Peronospora** cuprinde mucegaiuri ce produc boli la plantele industriale.
- Genul **Phitium** conduce la putrezirea plantelor tinere.
- Genul **Saprolegnia** cuprinde specii care produc îmbolnăviri la pești.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- Un gen foarte bogat ce cuprinde peste 88 de specii este genul **Mucor**. Caracteristica generală a acestui gen este formarea *stilosporangelui* (sporange cu columelă) prin a cărei spargere se eliberează sporangiosporii și rămâne columela care prezintă la bază un *collar* - semn distinctiv pentru acest gen.
- **Mucor mucedo** - produce mucegăirea pâinii (alb).

Zygomycotina





# Specii de fungi cu importanță în industrie

- Mucegaiurile din genul **Rhizopus** se pot întâlni la toate produsele alimentare, formează colonii de culoare brună sau neagră. Caracteristica genului este formarea de sporangi în mănunchi (3-4); sporangele prezintă, după spargere columelă fără collar.
- **Rhizopus stolonifer** este un mucegai de infecție, poate produce toxine.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- Mucegaiurile genului **Aspergillus** au drept caracteristică un conidiofor care prezintă hife reproducătoare perpendiculare pe hifa vegetativă (celula picior);
- fialide
  - celule sub formă de sticlă;
  - rezultate într-un singur strat;
  - unele prezintă și fialide secundare generatoare de fialospori;

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- **Aspergillus niger** - se prezintă sub formă de colonii brun spre negru cu dezvoltare radială limiată, prezintă un conidiofor cu două rânduri de fialide pe întreaga suprafață a veziculei.
- are numeroase întrebuințări: obținerea acidului citric, obținerea de enzime.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- *Aspergillius orizae* - formează colonii radiale de culoare bej spre oranj, prezintă un conidiofor cu un rând de fialide repartizate pe suprafața veziculei care generează fialospori sferici cu suprafață netedă.
- se folosește la obținerea de enzime, la zaharificarea plămezilor amidonoase în vederea obținerii unor produse de fermentație alcoolică. SAKE - băutură alcoolică obținută cu ajutorul acestei specii.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- **Aspergillus glaucus** - se prezintă sub formă de colonii de culoare verde-gălbui, cu un conidiofor ce prezintă un rând de fialide fixate numai la partea superioară. Formează toxine, uleiuri volatile cu miros neplăcut, este întâlnit frecvent pe pâine, cereale, fructe.
- **Aspergillus flavus** - formează colonii de culoare verde-gălbui, prezintă un rând de fialide generatoare de fialospori sub formă ovală. Toxinele formate de acest mucegai sunt cancerigene și se numesc *aflatoxine*.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- Genul **Penicillium** este un gen foarte bogat în specii.
- Diferențierile dintre specii sunt date de simetria sau asimetria metulelor față de axul conidioforilor. Fialidele pot fi uniseriate sau biseriate cu dimensiuni diferite. Există diferențe între dimensiunile fialosporilor și aspectul lor și diferențieri date de pigmentație.
- **Penicillium nalgiovensis** - mucegai selecționat, cultivat pe suprafața salamului de Sibiu.
- **Penicillium camemberti**, **roqueforti** sunt mucegaiuri cultivate pe anumite tipuri de brânzeturi.



# Specii de fungi cu importanță în industrie

Mucegăirea banală este provocată de :

- **Penicillium glaucum** (de culoare verde);
- **Penicillium expansum** (produce patulina, o micotoxină cu efect cancerigen);
- **Penicillium difitatum** (se dezvoltă pe fructele citrice).
- **Penicillium chrysogenum** (cunoscut și ca **Penicillium notatum**), folosit la producerea de penicilină.
- **Penicillium bilaiae** inoculant agricol.
- **Penicillium marneffe** care prezintă un pericol de infecții sistemice la pacienții cu SIDA.

# Specii de fungi cu importanță în industrie

- ***Botrytis cinerea*** - mucegaiul cenușiu al strugurilor, prezintă un conidiofor ramificat, se reproduce asexuat, prin botrioblastospori de formă ovoidală.
- **Efect negativ:** datorită enzimelor pectolitice sintetizate produce mucegăirea vulgară la struguri, fructe de pădure, căpșuni, semințe de floarea soarelui, ceapă, varză.
- **Efect pozitiv:** în anumite condiții climaterice determină *mucegăirea nobilă* sau *botritizarea* boabelor de struguri - are ca rezultat o stafidire, o creștere a conținutului de glucoză și acid gluconic.

# Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

- Stafidele sunt boabe de struguri botritizate. Vinul obținut din struguri botritizați este foarte aromat.
- Botritizarea se realizează mai ales în zone unde zilele însorite alternează cu zilele ploioase (Franța, Italia).
- Mucegaiurile din clasa **Basidiomycetes** - se reproduc sexuat prin basidiospori și, în general, produc boli la plantele de cultură.

# Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

- **Puccinia graminis** - produce *rugina cerealelor*, rezultă boabe mici, șiștave.
- **Ustilago tritici** - produce *tăciunele*, rezultă un spic aparent ars de foc, fără boabe.
- Genul **Tilletia** conține specii ce produc *mălura*. Boabele mălurate conțin clamidospori de culoare neagră care dau gust și miros de pește stricat.

# Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

- **Geotrichum candidum** - este răspândit pe produsele vegetale, apare ca agent de alterare a produselor lactate și a legumelor conservate prin murare. Se prezintă sub formă de colonii albe, cu margini dantelate, cu aspect făinos. Sintetizează enzime de tipul celulazei, lipazei, nu produce toxine și dezvoltarea sa pe furaje conduce la ridicarea conținutului în proteine.
- **Cladosporium cellaris** - produce mucegăirea pereților.

# Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

- **Alternaria tenuis** - este răspândit pe cereale, semințe oleaginoase, unele specii conduc la *alternarioze*.
- Genul **Fusarium** - se caracterizează prin colonii păsloase, de culoare alb roz, alb verde, se reproduce prin conidiospori (macroconidii sau microconidii) de formă ovală, incolore.
- Speciile acestui gen sunt fitopatogene deoarece produc *fusarioze* - boli ale plantelor, care pot duce la putrezirea plantelor tinere în urma unor ploii abundente; sunt producătoare de micotoxine foarte periculoase.



# Specii de mucegaiuri cu importanță în industrie

- **Tolypocladium inflatum** - folosit la obținerea de Ciclosporină medicament imunosupresor, folosite pentru a suprima respingerea de organe transplantate
- Medicamente pentru scăderea colesterolului (cum ar fi lovastatină, de la **Aspergillus terreus** ).
- **Monascus purpureus** cultivate pe orez, folosite la sinteza de monacolins folosite la inhibarea formării LDL-colesterolului.

# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

---

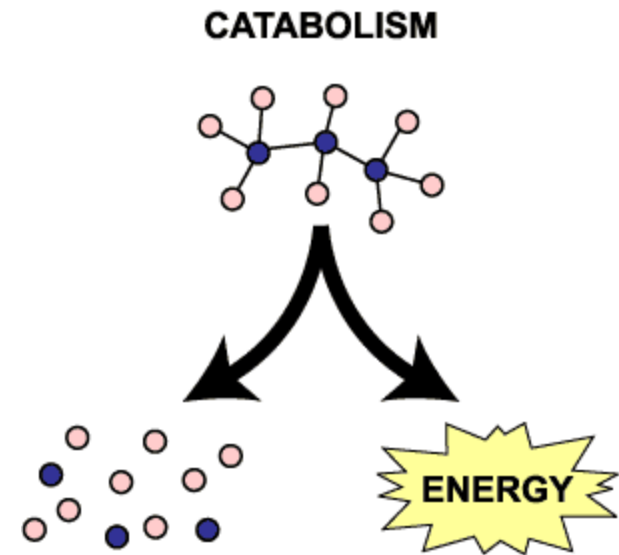
# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

- Nutriția este un proces fiziologic complex, prin care microorganismele își procură energia și toate elementele necesare creșterii, reproducerii și întreținerii funcțiilor vitale.
- Pentru asigurarea procesului de nutriție celula microbiană necesită diferiți nutrienți care trebuie să prezinte anumite dimensiuni care să le permită trecerea prin peretele celular și membrana citoplasmatică. Apoi sunt transformați în celulă și are loc formarea compușilor celulari.

# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

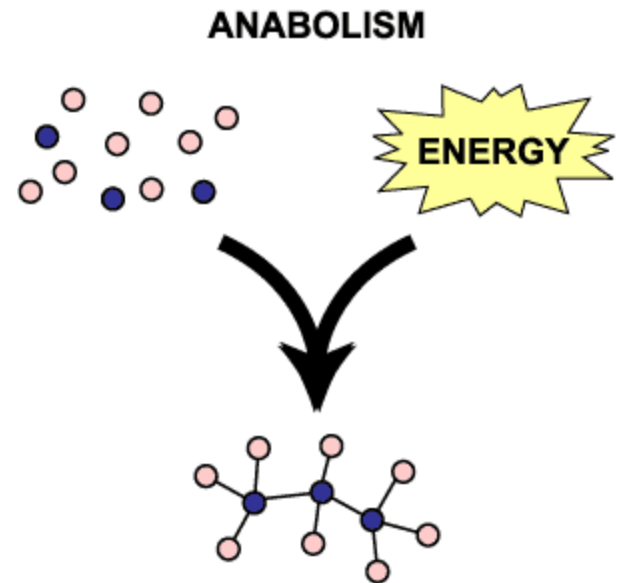
Procesul de nutriție se realizează în cadrul metabolismului celular care cuprinde două laturi esențiale:

- reacțiile de **catabolism** care constau în degradarea secvențială a compușilor macromoleculari prin acțiunea catalitică a enzimelor. Degradarea constă în formare de compuși cu molecule mici și se face secvențial pe căi biochimice, prin care se eliberează cuantificat energia potențială cuprinsă în produsul catabolizat. Aceste reacții au caracter **exergonic**.



# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

- reacțiile de **anabolism** se desfășoară concomitent cu reacțiile de catabolism și constau în reacții de biosinteză catalizate enzimatic prin care celula vie, folosind compuși cu molecule mici și o cantitate de energie, clădește compuși macromoleculari, care intră în structura celulei cu rol funcțional sau de rezervă. Totalitatea reacțiilor de anabolism contribuie la creșterea în dimensiune și la reproducerea celulelor și au caracter **endergonic**.



# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

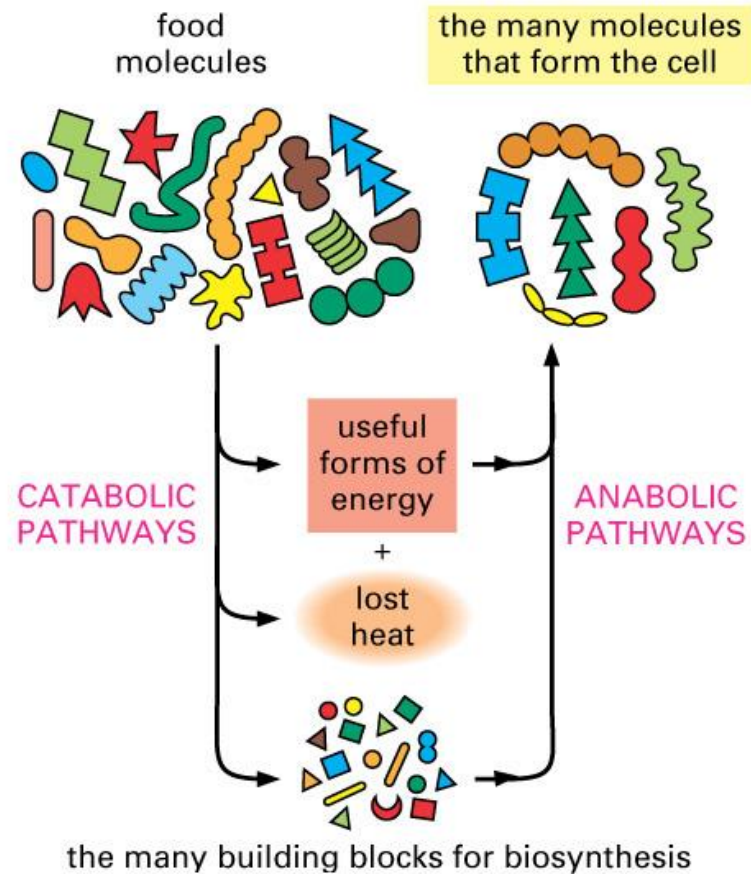
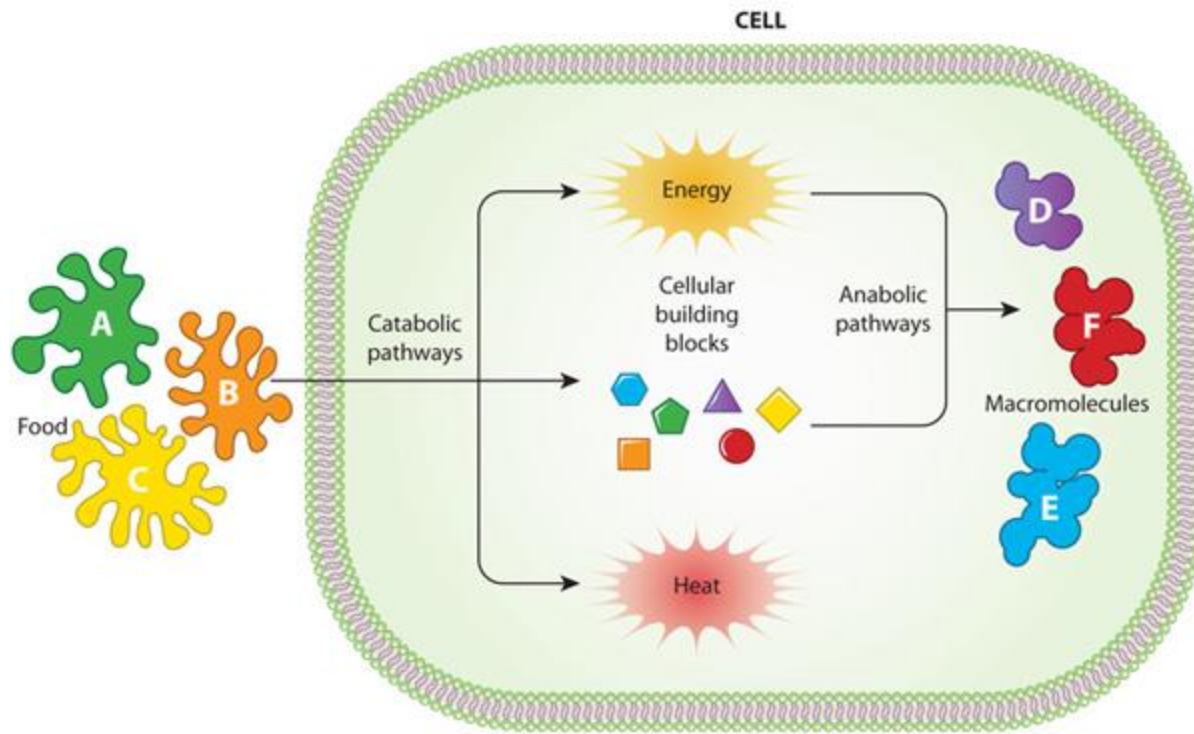


Figure 3-3 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

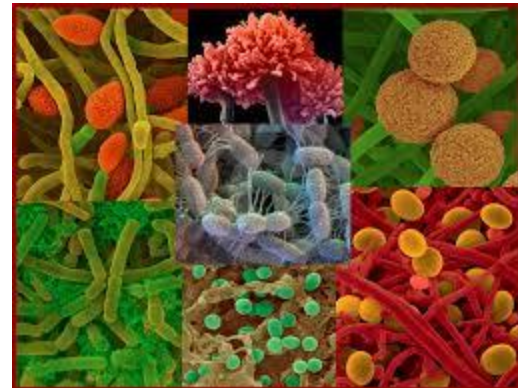
- În cazul **reacțiilor de catabolism**, **compușii macromoleculari sunt conținuți de substratul care constituie nutrient pentru celula vie**, iar în cel al **reacțiilor de anabolism compușii macromoleculari se regăsesc în componenții celulari esențiali pentru creștere, reproducere și întreținerea funcțiilor vitale**. Compușii cu molecule mici care nu mai sunt necesari se elimină sub forma produșilor de catabolism.





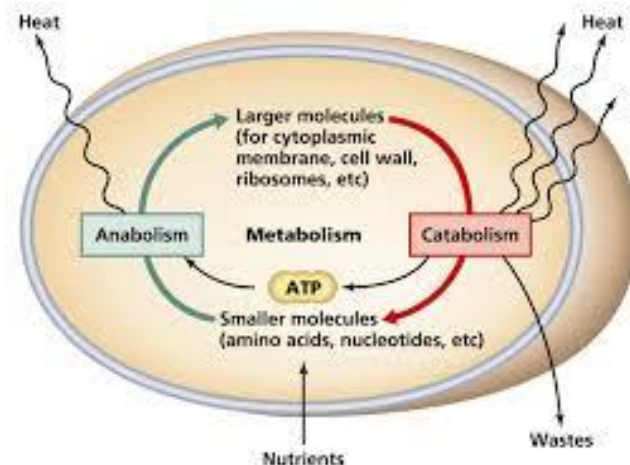
# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

- În procesul de nutriție se stabilește o interdependență între microorganisme și mediu. În această unitate dialectică mediul are rolul activ iar microorganismele se adaptează la condițiile de mediu acționând și transformând mediul. Această interrelație a permis ca, în timp, să se realizeze adaptări specifice ale microorganismelor la cele mai dificile condiții oferite de mediul ambiant.



# NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR

- Mediul acționează asupra microorganismelor prin asigurarea unui substrat nutritiv, temperatură, umiditate, pH, concentrație de oxigen favorabile, iar microorganismele acționează asupra mediului prin diferite transformări care au loc în procesul de nutriție. Astfel prin acțiunea de degradare pe care o exercită microorganismele asupra mediului, pot avea loc următoarele transformări: reducerea consistenței, tulburarea, formarea de voal, scăderea concentrației în extract, acidifierea, alcalinizarea.



# CONDIȚIILE DE DESFĂȘURARE A PROCESULUI DE NUTRIȚIE

- Prin **mediu de cultura** înțelegem orice mediu asupra căruia microorganismele pot să acționeze și care să asigure energia și toate componentele necesare la biosinteza componentelor celulare.
- Pentru a folosi aceste medii ca sursă de nutriție în celula microbiană, pe cale genetică și pe cale catabolică, se reglează metabolismul celulei care îi permite adaptarea la condițiile de mediu. În acest sens celula microbiană poate să sintetizeze enzime adaptive extracelulare care să producă hidroliza substanțelor nutritive și să asigure transportul în celulă al nutrienților și transformarea acestora.

# CONDIȚIILE DE DESFĂȘURARE A PROCESULUI DE NUTRIȚIE

Condițiile pentru desfășurarea procesului de nutriție sunt următoarele:

- În mediul nutritiv, celulele microbiene trebuie să beneficieze de condiții compatibile cu viața;
- mediul nutritiv trebuie să asigure următoarele componente: **apa, surse hidrocarbonate – principalele surse furnizoare de energie, surse azotate, surse minerale, factori de creștere (facultativ).**

Copyright 2003 by Randy Glasbergen.  
www.glasbergen.com



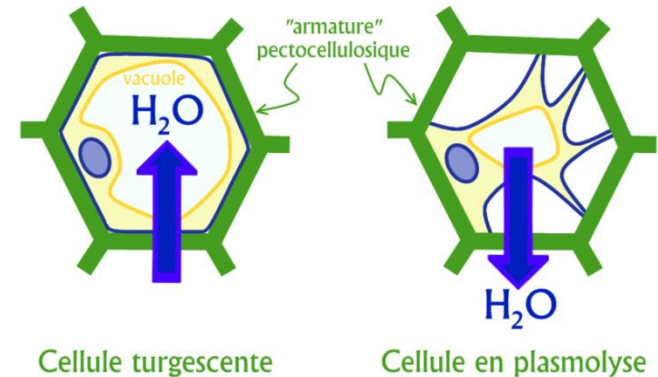
**“What fits your busy schedule better, exercising one hour a day or being dead 24 hours a day?”**

# CONDIȚIILE DE DESFĂȘURARE A PROCESULUI DE NUTRIȚIE

- În absența **apei** celula nu va putea să se hrănească, apa fiind cea care solubilizează compușii din mediu, asigură transportul și transformările în interiorul celulei.
- **totalitatea substanțelor nutritive solubile în apă** trebuie să se afle într-o concentrație apropiată celei existente în citoplasmă, deoarece dacă mediul nutritiv este hipertonic se produce plasmoliza celulelor. De aceea mediile de cultură destinate cultivării microorganismelor au o concentrație de 3 – 15 % substanțe nutritive solubilizate. Dacă concentrația este foarte mică se produce **turgescența** celulelor.

# CONDIȚIILE DE DESFĂȘURARE A PROCESULUI DE NUTRIȚIE

**Turgescența** reprezintă fenomenul de umflare a celulei eucariote vegetale, în urma acumulării lichidelor, în special în cadrul vacuolelor. Acest lucru creează o presiune interioară, numită presiune de turgescență



- mediul trebuie să fie caracterizat de un anumit **pH**, un anumit **potențial de oxido-reducere**, favorabile creșterii și multiplicării celulelor;
- **absența din mediu a unor substanțe toxice** sau să nu existe posibilitatea ca prin transformarea substanțelor nutritive din mediu să se formeze substanțe toxice.

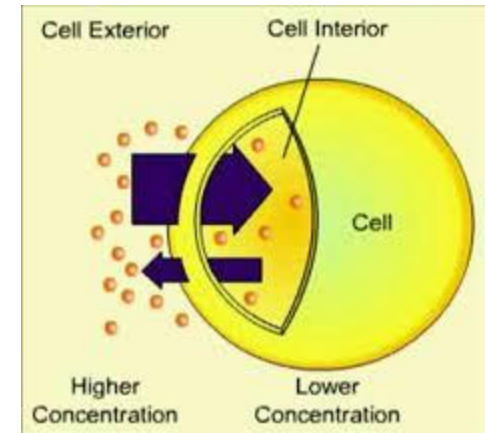
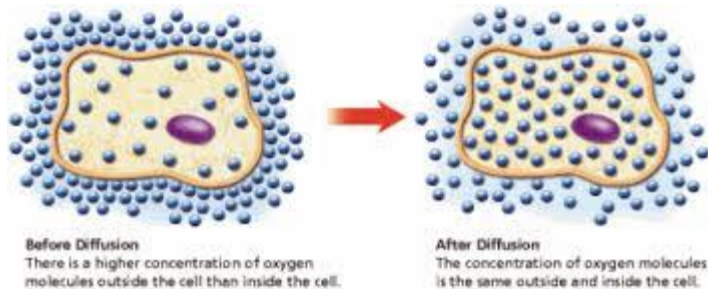


# MODALITĂȚI DE TRANSPORT AL NUTRIENȚILOR

Transferul nutrienților în interiorul celulei are loc prin diferite modalități:

- **Difuzia simplă** (pasivă) reprezintă cel mai frecvent mod posibil de transfer pentru moleculele cu dimensiuni mici (0,4 – 0,6 nm): moleculele de apă, ioni, gaze, glicerol.

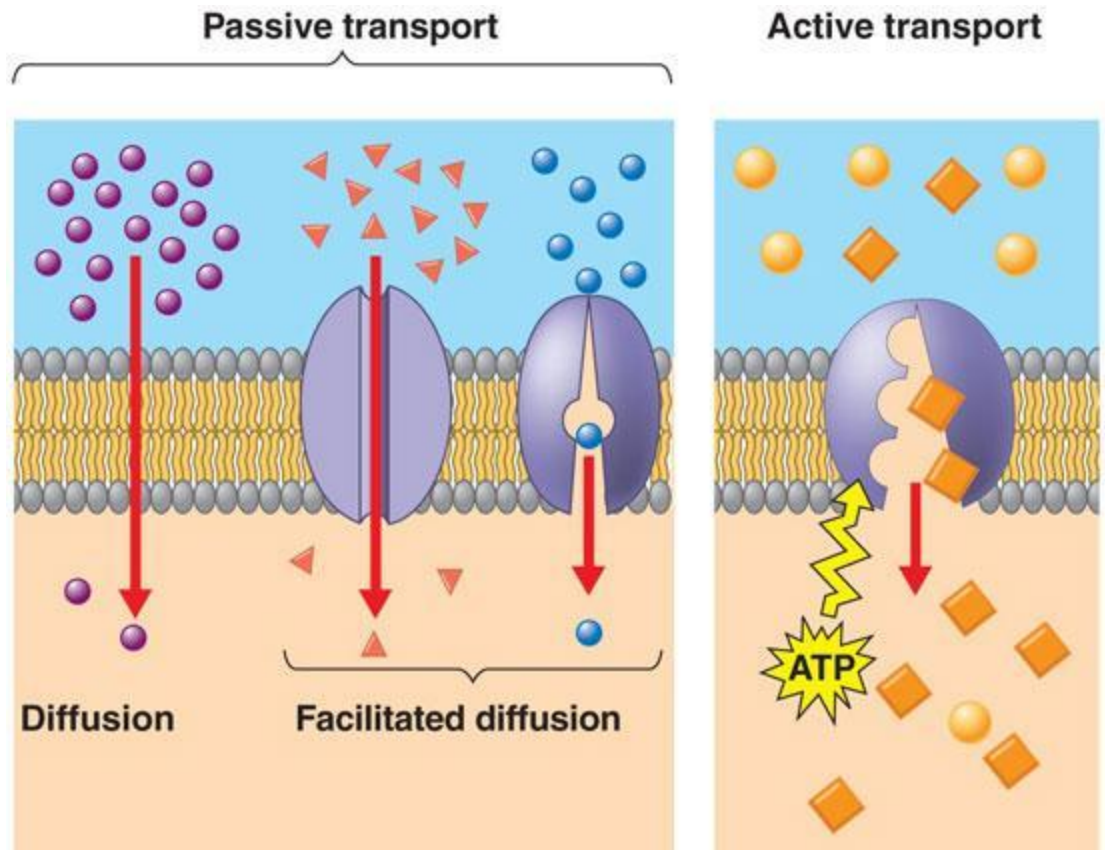
Difuzia are loc ca urmare a existenței unui gradient de concentrație între exteriorul și interiorul celulei și încetează când se produce izotonia.



# MODALITĂȚI DE TRANSPORT AL NUTRIENȚILOR

- **Difuzie facilitată** (cu proteine purtător) se realizează ca urmare a prezenței unor proteine receptor numite permeaze, localizate la nivelul plasmalemei sau în spațiul periplasmic.

Difuzia facilitată se poate realiza față de un gradient de concentrație, iar celula nu consumă energie pentru acest transfer. Permeaza recunoaște nutrientul necesar celulei, îl reține și prin procesul de translație, rotație îl aduce spre partea interioară a celulei. În final are loc disocierea nutrientului în interiorul celulei.



# MODALITĂȚI DE TRANSPORT AL NUTRIENȚILOR

- **Transportul activ** sau **cu membrană energizantă** se realizează când celula are nevoie de o cantitate mai mare de substanțe nutritive decât concentrația lor în mediul extern, deci pentru a lucra împotriva gradientului de concentrație se presupune un efort din partea celulei, efort care constă în consum de energie.
- Acest lucru se realizează datorită unei proteine transportor activată sau energizată ( $T^*$ ) care poate să lege molecula de nutrient (N) din exteriorul celulei, să o transfere prin membrană și să o elibereze în interior unde urmează să fie metabolizată.

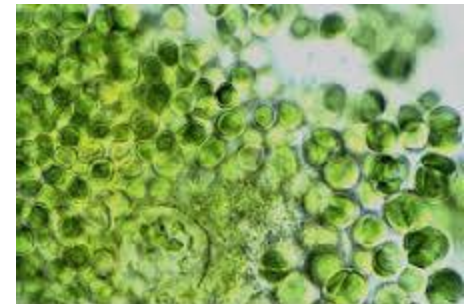
# TIPURI DE NUTRIȚIE

- **Nutriția hidrocarbonată** este nutriția de bază care asigură energia necesară proceselor de biosinteză, prin care microorganismele își procură carbonul, bioelement vital care intră în componența tuturor substanțelor organice.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

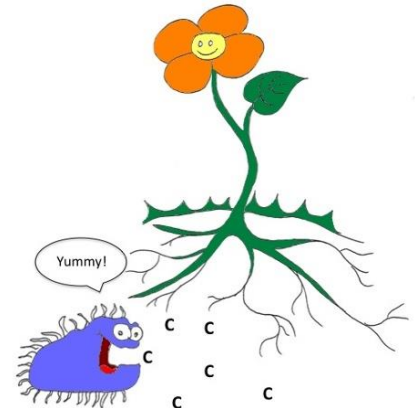
În funcție de modul de procurare al carbonului, microorganismele fac parte din următoarele clase:

- **microorganismele fotosintetizante** (posedă pigmenți care le permit utilizarea energiei solare), preiau carbonul din  $\text{CO}_2$  sau din  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , fac parte din microflora solului, a apei și au rol important în circuitul carbonului în natură.
- **microorganismele organotrofe** care folosesc materia organică ca sursă de carbon; multe dintre ele (dependente de materia organică) pot să preia carbonul și din săruri carbonatate (prin aceasta sunt și heterotrofe). S-au produs adaptări specifice astfel încât în grupa organotrofelor putem întâlni grupele:



# TIPURI DE NUTRIȚIE

- **Saproorganisme** (microorganisme saprofite), pot să folosească materie organică moartă și în acest grup întâlnim: bacteriile de putrefacție (produc degradarea materiei organice nevii de origine animală – carne, ouă, brânzeturi) și mucegaiurile (agenți de putrezire) care produc degradarea materiei organice nevii de origine vegetală;
- **Microorganisme comensale** - microorganismele care conviețuiesc cu diferite organisme vii de origine vegetală sau animală hrănindu-se cu produși rezultați din activitatea plantelor sau animalelor;



# TIPURI DE NUTRIȚIE

- **Microorganismele patogene** – microorganismele care se pot dezvolta pe materia organică vie și există subtipurile acestei clase: microorganismele patogene și facultativ patogene.



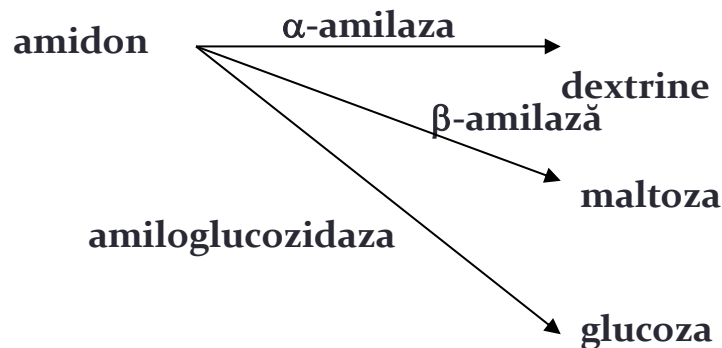
# TIPURI DE NUTRIȚIE

**Sursele de carbon** preferate de microorganismele cu importanță industrială sunt următoarele:

- **Hexozele** (glucoza, galactoza) sunt asimilate de toate microorganismele. Celulele de drojdie metabolizează hexozele sub formă de esteri fosforici, prin respirație celulară sunt transformate în  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$ , iar prin metabolizare parțială rezultă alcooli și acizi.
- **Dizaharidele** sunt metabolizate de microorganismele care elaborează enzime extracelulare capabile să le hidrolizeze în hexoze componente.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

- Ca surse hidrocarbonate microorganismele mai folosesc trizaharide (rafinoza) sau polioze.
- Poliozele sunt surse importante de carbon dar nu pot fi asimilate decât după o hidroliză în prealabil. Amidonul este hidrolizat sub acțiunea enzimelor aminolitice elaborate de bacterii, mucegaiuri și unele specii de drojdie.



# TIPURI DE NUTRIȚIE

- Celuloza reprezintă 40% din materialul vegetal al pământului și poate fi hidrolizată de endoglucanaze și exoglucanaze până la celodextrine, celobioză și glucoză.
- Microorganismele care produc celulaze sunt bacterii din genurile *Bacillus cellulomonas*, *B. cellvibrio* și marea majoritate a mucegaiurilor: *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

**Oxigenul** intră în structura substanțelor organice și anorganice ale celulei și este preluat din componentele mediului ( $H_2O$ ,  $CO_2$ , zaharuri, aminoacizi, acizi, etc). În afară de oxigenul legat în compușii mediului ambiant unele microorganisme necesită oxigen liber. Această necesitate a apărut în cursul evoluției.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

În funcție de necesarul de oxigen , microorganismele pot fi:

- **strict aerobe** – necesită oxigenul pe care îl iau din aer, deoarece ele își procură energia prin respirație iar oxigenul reprezintă acceptorul de hidrogen, cu formare de  $H_2O$ .

**Bacteriile** strict aerobe acționează în medii cu potențial redox optim  $rH = 18-28$  mV (bacteriile acetice din genurile *Pseudomonas*, *Bacillus subtilis*).

**Mucegaiurile** sunt microorganisme aerobe, se dezvoltă la suprafață, la interfața cu aerul.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

- **anaerobe** – ne se pot dezvolta în prezența oxigenului molecular. Aceste microorganisme sunt lipsite de catalază, astfel încât oxigenul din aer, prin reducere, formează apă oxigenată care se acumulează și devine toxică pentru celulă. Potențialul redox caracteristic mediilor de dezvoltare este  $rH = 0-12$  mV. Bacterii anaerobe sunt bacteriile genurilor: *Clostridium*, *Bacillus*.
- **facultativ anaerobe** – au grad de adaptabilitate mai mare, pot să crească cu sau fără oxigen. Potențialul redox caracteristic mediilor este  $rH = 12-18$  mV.

# TIPURI DE NUTRIȚIE

- **Factorii de creștere** sunt substanțe care, prezente în mediu în concentrații mici, stimulează creșterea și dezvoltarea microorganismelor.
- Factori de creștere pot fi aminoacizi necesari în concentrații de  $10^{-4}$  M. Există o mare variabilitate în necesarul de aminoacizi în număr maxim de 18; purine și pirimidine necesare în mediu în concentrație  $10^{-5}$  M și care intră în structura acizilor nucleici stimulând biosinteza compușilor celulari; vitamine, necesare în concentrație  $10^{-5}$  -  $10^{-6}$  M reprezentând cofactori (intră în structura unor enzime cu rol de coenzime).



# TIPURI DE NUTRIȚIE

- Microorganismele dependente de acești factori de creștere se numesc microorganismele auxotrofe (*Streptococcus* necesită ca factori de creștere acid folic, nicotină, vitamine; drojdiile necesită aminoacizi, vitamine, biotină).
- Microorganismele paratrofe nu depind de factori de creștere (mucegaiuri).

# FACTORI DE CONTROL AI CREȘTERII MICROORGANISMELOR

- Celula microbiană având o masă redusă este puternic influențată de condițiile mediului ambiant și reacționează foarte diferit la diferiți factori, fie prin adaptare sau în caz contrar, prin dispariție. Astfel creșterea microbiană este dependentă de numeroși factori fizico-chimici și biologici ceea ce a condus în cursul evoluției la adaptări specifice prin stabilirea de interrelații între microorganisme și mediu.



# Temperatura

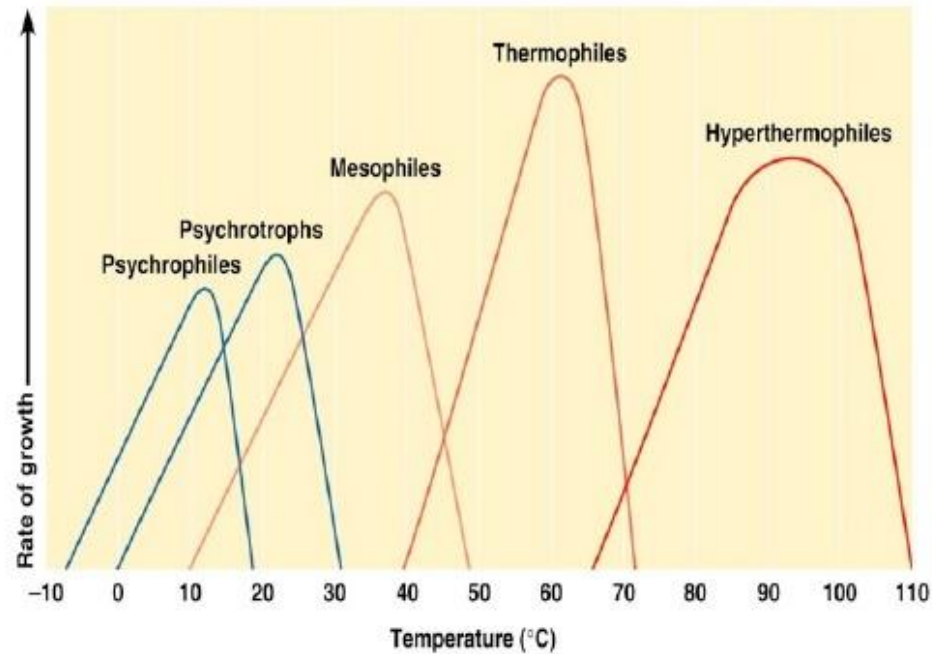
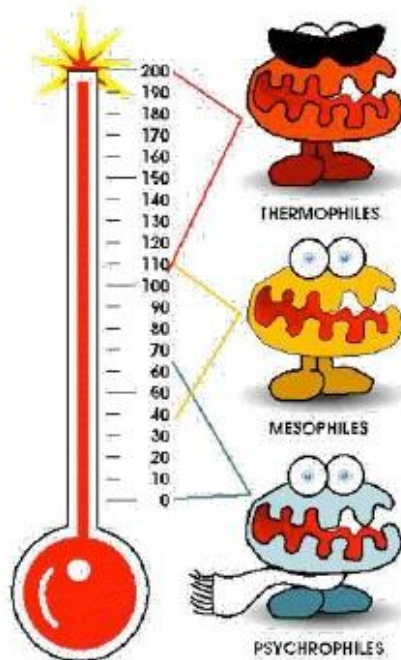
În funcție de temperaturile posibile ale mediului natural și ca rezultat al adaptării, diferitele specii de microorganisme prezintă următoarele temperaturi:

- **temperatura minimă** – temperatura la care mai poate avea loc creșterea, în schimb dacă temperatura scade sub valoarea minimă, creșterea este oprită;
- **temperatura optimă** – temperatura la care rata specifică de creștere este maximă;
- **temperatura maximă** - temperatura la care creșterea este încă posibilă dar prin depășirea acesteia efectul devine letal.



# Temperatura

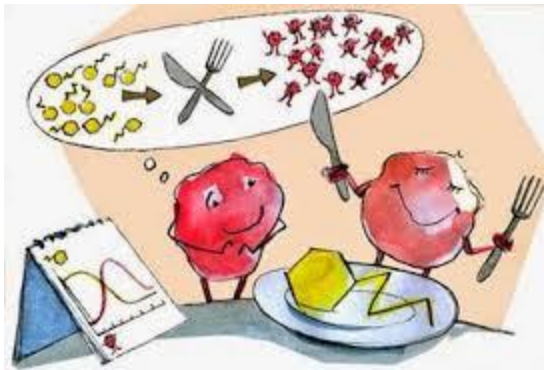
## REQUIREMENTS FOR MICROBIAL GROWTH: TEMPERATURE



**MINIMUM, OPTIMUM, MAXIMUM**

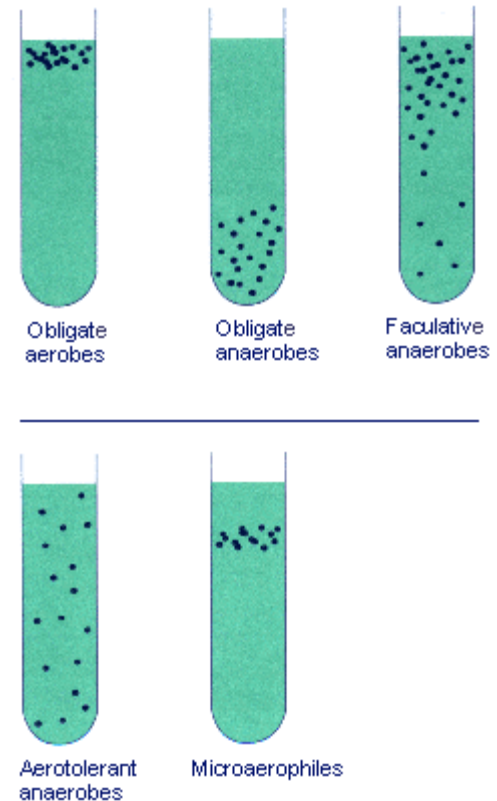
# Umiditatea

- Viața microbiană este posibilă numai când în mediul nutritiv există apă liberă care participă ca solvent, ca mediu de reacție pentru enzimele celulare și pentru transportul bidirecțional al produselor de metabolism.



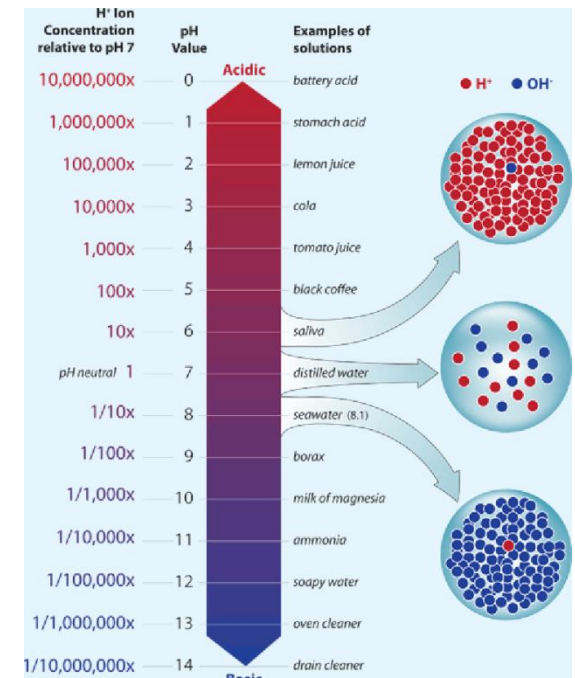
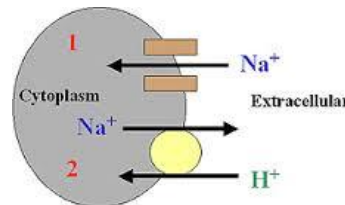
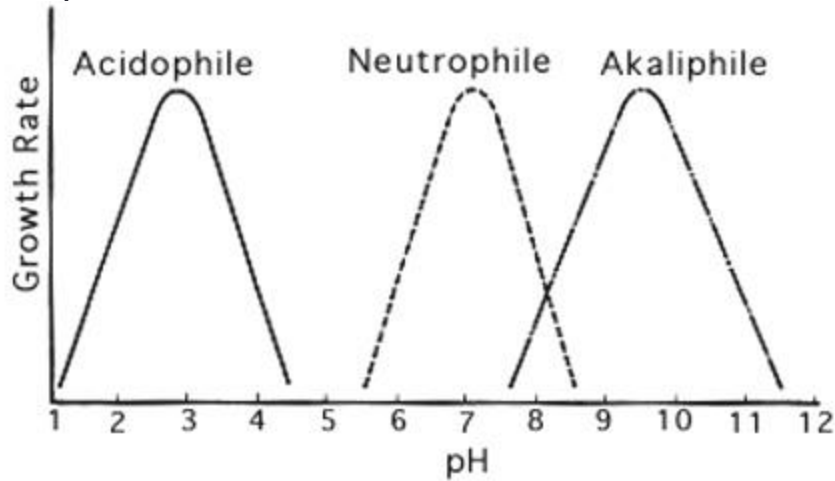
# Concentrația în oxigen

- Aerul atmosferic conține aproximativ 20% oxigen.
- Microorganismele necesită oxigen pentru biosinteza compușilor organici și pentru desfășurarea proceselor de oxidoreducere biologice.



# pH

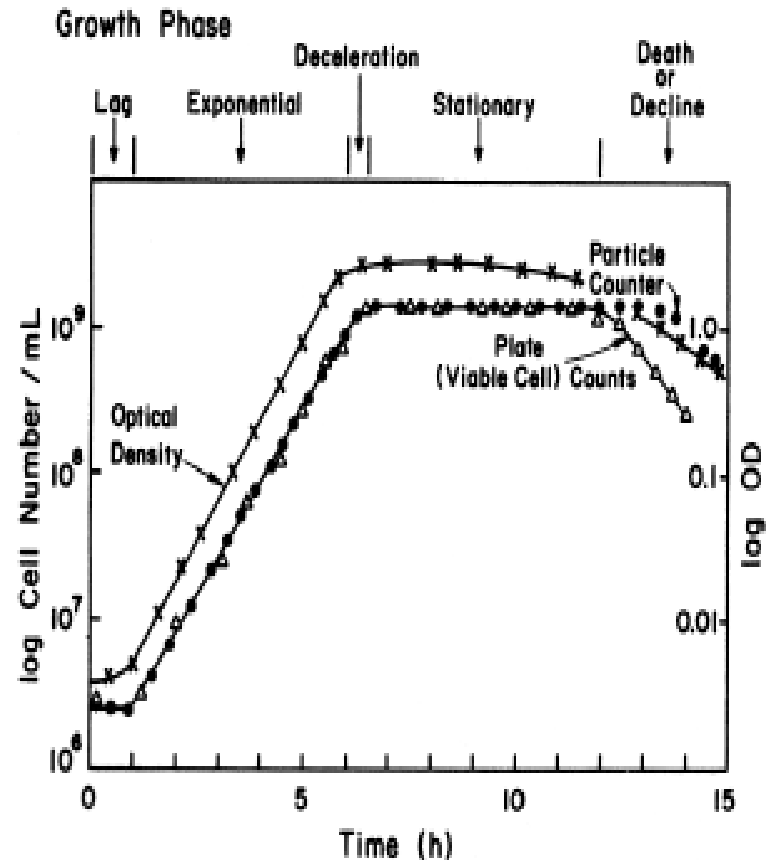
- Microorganismele se dezvoltă în limite largi de pH (între 1,5-11). În acest interval microorganismele acidotolerante – drojdii, mucegaiuri, bacterii lactice și acetice preferă pH 2,5-5,5 și se vor dezvolta în produse acide care pot suferi fermentația și mucegăirea. Bacteriile de putrefacție care preferă un pH = 7 nu se pot dezvolta în medii acide care sunt astfel protejate.
- Acțiunea pH-ului asupra creșterii se poate observa în mediu, deoarece disponibilitatea unor nutrienți este modificată de echilibrul ionic. Astfel la pH acid ionii de magneziu formează complexe insolubile, în timp ce la pH bazic sunt complexați ionii de calciu, zinc și ionii fieri, elemente cu rol de cofactori ai enzimelor microbiene. Valori extreme de pH influențează permeabilitatea membranelor celulare.





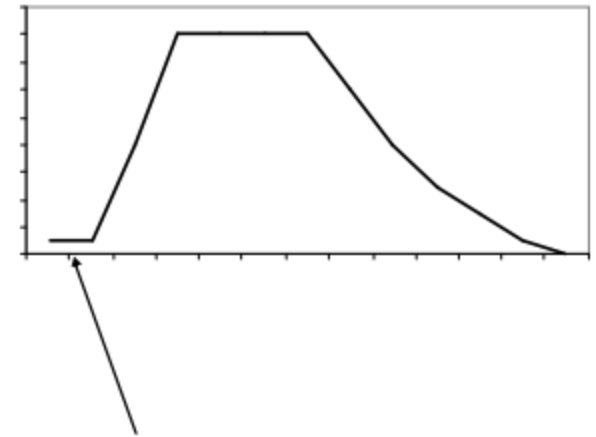
# Dinamica creșterii microbiene

- Multiplicarea populației microbiene
  - 4 faze caracteristice
    - Faza de latență (faza de lag)
    - Faza de creștere logaritmică (faza exponențială)
    - Faza staționară (faza de concentrație constantă)
    - Faza de declin



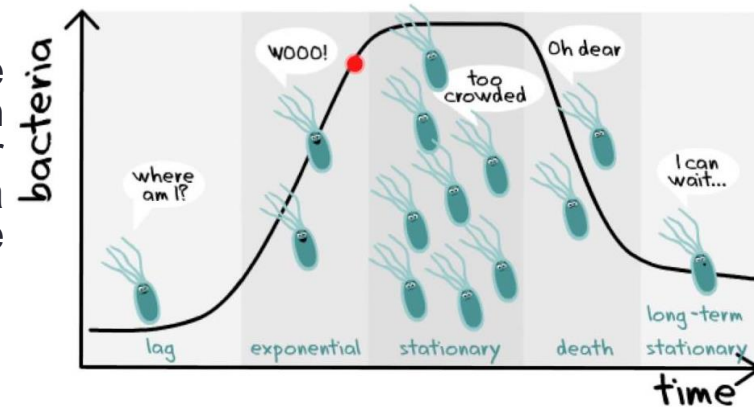
# Faza de latență

- Perioada de adaptare a bacteriilor la condițiile de mediu
- Numărul germeilor rămâne neschimbat sau scade
- În această fază are loc:
  - o adaptare a celulelor la condițiile de mediu,
  - biosinteza de ADN/ARN și
  - o activizare a sistemelor enzimatică și elaborarea de enzime induse.



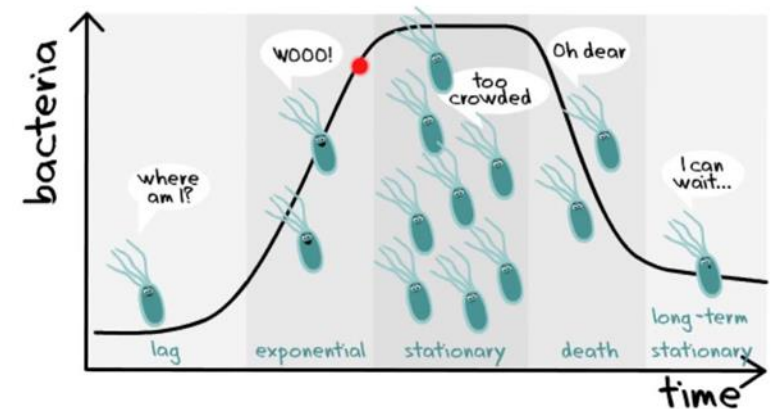
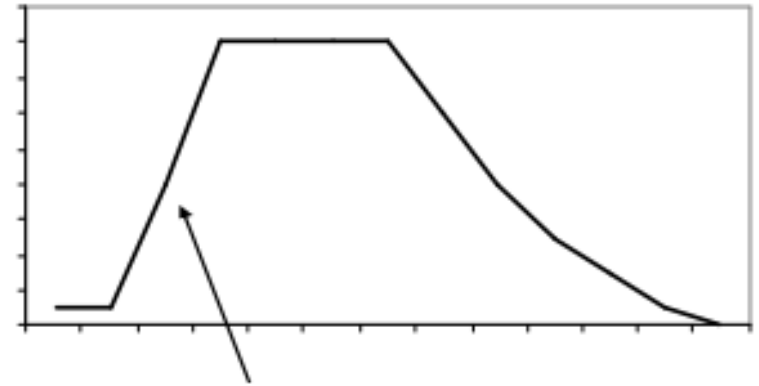
În cazul drojdiilor, această fază poate dura 1-2 ore, durată ce depinde de compoziția mediului și de capacitatea de reglare a metabolismului propriu.

Durata fazei de lag poate fi redusă la limite imperceptibile în cazurile în care se folosește un inoculum mare de cultură în fază logaritmică, iar transplantarea se face într-un mediu de cultură bogat, identic cu cel în care au fost cultivate bacteriile din inoculum.



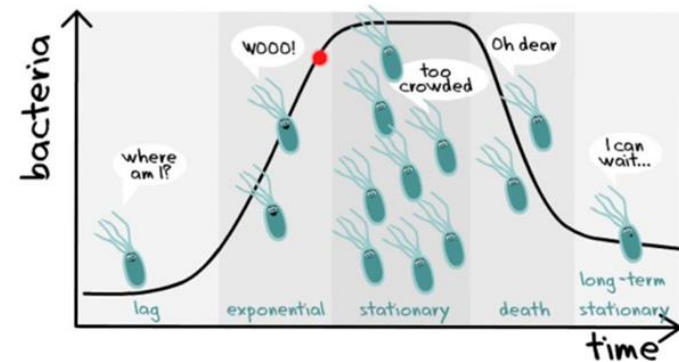
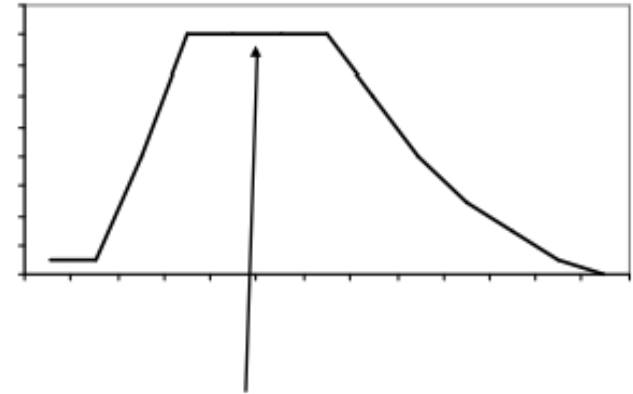
# Faza de creștere logaritmică

- Celulele încep să se dividă ritmic, are loc un intens proces de diviziune celulară iar numărul microorganismelor viabile în această fază este de peste 99%.
- Creșterea logaritmică se bazează pe un consum intens al elementelor nutritive din mediu.
- Celulele se divid constant prin diviziune binară, deci în progresie logaritmică, raportul dintre numărul bacteriilor și timp fiind liniar.



# Faza staționară

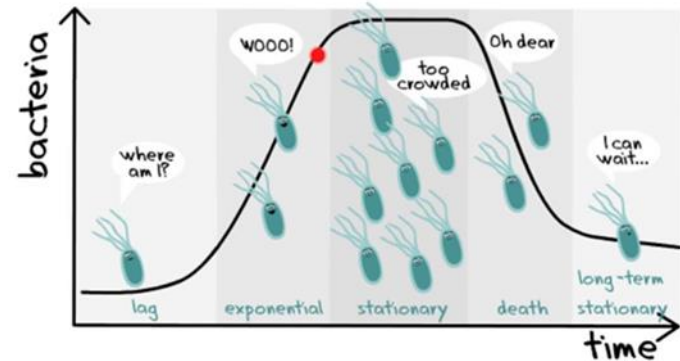
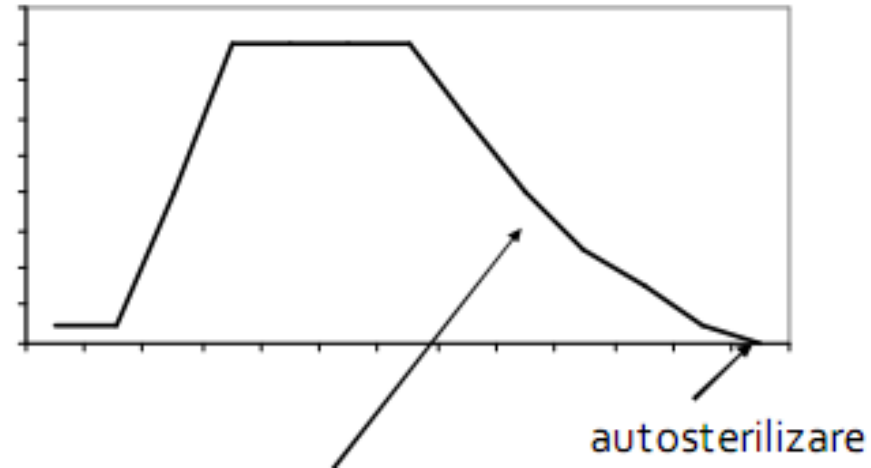
- Faza de încetinire a creșterii corespunde perioadei în care, ca urmare a epuizării treptate a nutrienților, reducerea concentrației în oxigen și acumularea de compuși de catabolism ce pot avea efect inhibitor asupra celulelor, creșterea ia toate valorile intermediare între creșterea cu o rată maximă și 0.
- Faza staționară de creștere, presupune stabilirea unui echilibru între numărul de celule care se formează prin reproducere și cel al celulelor care se autolizează. Cantitatea de biomasă poate rămâne constantă, deși se schimbă compoziția celulelor.
- Datorită lizei unor celule se eliberează noi substraturi care vor servi drept nutrienți pentru celulele viabile. Această fază poate fi prelungită atunci când urmărim păstrarea culturii pure, prin modificarea unor factori care scad viteza de metabolism celular;



# Faza de declin

- Faza de declin sau curba de distrugere și inactivare metabolică a celulelor, are loc ca urmare a următorilor factori:
  - lipsa surselor de nutriție și energie;
  - denaturarea componentelor celulare în prezența substanțelor acumulate (alcooli, acizi, ș.a.);
  - procentului de celule autolizate.

Consecința acestor acțiuni conduce, în final, la sterilizarea mediului și, deci, la moartea tuturor celulelor, respectiv la pierderea culturii.



# Produse majore obținute pe cale biotehnologică

Produse de fermentație	Tipul de organism utilizat	Producție anuală (în lume) kg/an
<b>Solvenți organici</b> Etanol (nu pentru băuturi) Acetonă/butanol	<i>Sacharomyces cerevisiae</i> <i>Clostridium acetobutylicum</i>	$2 \cdot 10^{10}$ $2 \cdot 10^6$
<b>Biomasă</b> Culturi starter și drojdii pentru industria alimentară și agricultură Proteine monocelulare	Bacterii lactice sau drojdii de panificație <i>Pseudomonas methylotrophus</i> sau <i>Candida utilis</i>	$5 \cdot 10^8$ $0.5-1 \cdot 10^8$
<b>Acizi organici</b> Acid citric Acid gluconic Acid lactic Acid itaconic	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Aspergillus itaconicus</i>	$2-3 \cdot 10^8$ $5 \cdot 10^7$ $2 \cdot 10^7$
<b>Antibiotice</b> Peniciline Cefalosporine Tetracicline Antibiotice macrolide Antibiotice polipeptide Antibiotice aminoglicoside Antibiotice aromatice	<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Cephalosporium acremonium</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i> <i>Streptomyces erythreus</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>Streptomyces griseus</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	$3-4 \cdot 10^7$ $1 \cdot 10^7$ $1 \cdot 10^7$ $2 \cdot 10^6$ $1 \cdot 10^6$
<b>Anticorpi monoclonali</b>	Celule de tip Hybridoma	<20

# Produse majore obținute pe cale biotehnologică

<b>Aminoacizi</b>		
Acid L-Glutamic	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	$3 \cdot 10^8$
L-Lysină	<i>Brevibacterium flavum</i>	$3 \cdot 10^7$
L-Fenilalanină	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	$2 \cdot 10^6$
L-Arginină	<i>Brevibacterium flavum</i>	$2 \cdot 10^6$
Alți aminoacizi	<i>Corynebacterium spp.</i>	$1 \cdot 10^6$
<b>Transformări microbiene</b>		
Steroizi	<i>Rhizopus arrhizus</i>	
D-Sorbitol la L-sorboză (în producția de vitamina C)	<i>Acetobacter suboxydans</i>	$4 \cdot 10^7$
<b>Polizaharide extracelulare</b>		
Xanthan	<i>Xanthomonas campestris</i>	$5 \cdot 10^6$
Dextran	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
<b>Nucleotide</b>		
5'-Guanosin monofosfat	<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	$1 \cdot 10^5$
<b>Enzime</b>		
Proteaze	<i>Bacillus spp.</i>	$6 \cdot 10^5$
$\alpha$ -Amilaze	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	$4 \cdot 10^5$
Glucoamilaze	<i>Aspergillus niger</i>	$4 \cdot 10^5$
Glucozizomerază	<i>Bacillus coagulans</i>	$1 \cdot 10^5$
Pectinaze	<i>Aspergillus niger</i>	$1 \cdot 10^4$
Renina	<i>Mucor miehei</i> sau drojdii recombinanta	$1 \cdot 10^4$
<b>Vitamine</b>		
B <sub>12</sub>	<i>Propionibacterium shermanii</i>	$1 \cdot 10^4$
Ribovlavina	<i>Eremothecium ashbyii</i>	
<b>Alcaloide Ergot</b>	<i>Claviceps paspali</i>	$5 \cdot 10^3$
<b>Pigmenti</b>		
$\beta$ -Carotene	<i>Blakeslea trispora</i>	60
<b>Vaccinuri împotriva:</b>		
-difteriei	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<50
-tetanosului	<i>Clostridium tetani</i>	
-pertussisului (tusea convulsivă)	<i>Bordetella pertussis</i>	
-virusului poliomielitei	Virusuri active atenuate cultivate <i>in vitro</i>	
-rubeolei, etc		



# Procese industriale

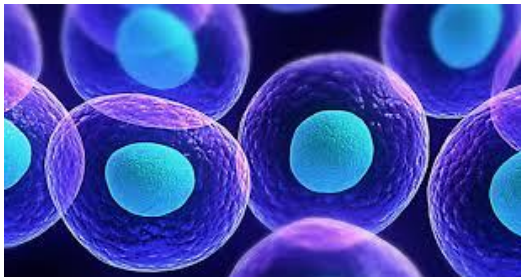


Microorganism	Produs
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Insecticide
<i>Candida utilis</i>	Proteine microbiene
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Acetona, butanol
<i>Corinebacterium glutamicum</i>	Lizina
<i>Escherichia coli</i>	Insulina, hormoni de crestere
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	laurt
<i>Penicilium chrisogenum</i>	Peniciline
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Vitamina B12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Paine, bere, vin, etanol, enzime (invertaza)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	laurt
<i>Streptomyces sp.</i>	Antibiotice
<i>Trichoderma reesii</i>	Celulaza (enzima)



# Dezvoltarea industriei biotehnologice; rolul cercetării fundamentale în biotehnologie

- Prima treaptă de dezvoltare a bioprocesului se referă la manipularea genetică a organismului gazdă; în acest caz, gena de interes este clonată într-o gazdă specifică (de ex. *Escherichia coli*) și se stabilesc o serie de parametri, cum ar fi fezabilitatea tulpinii recombinante și nivelul de expresie al produsului dorit. După clonare, caracteristicile de creștere și producție a celulelor trebuie măsurate în funcție de condițiile de cultivare, ceea ce necesită aplicarea tehnicilor de cultivare obișnuite în microbiologie în vederea stabilirii parametrilor optimi: compoziția mediului, pH, temperatură, concentrație de oxigen dizolvat astfel încât productivitatea în produsul urmărit să fie maximă.
- După cunoașterea condițiilor de cultivare în laborator se pornește procesul de ridicare la scară pilot și industrial.
  - Prima treaptă poate fi un bioreactor de 1, 2 sau 5 l echipat cu instrumente de măsură și control al temperaturii, pH, concentrație oxigen dizolvat, viteză de agitare.
  - Următoarea treaptă de ridicare la scară este aceea de bioreactor pilot. În această fază se implică specialistii instruiți în ingineria bioproceselor și în ridicarea la scară industrială a acestora. În prezent se construiesc vase de 100-1000 l după specificațiile prototipului de laborator.
- O parte importantă a unui proces biotehnologic o constituie faza de recuperare a produsului din mediul de producție și anume izolarea și purificarea acestuia până la produsul finit.



# ETAPELE UNUI PROCES BIOTEHNOLOGIC

- Elaborarea și industrializarea unei tehnologii de biosinteză presupune parcurgerea mai multor faze ce pornesc de la cercetările la nivel de laborator, urmate apoi de cele de la nivelul pilotului și, în final, la nivel industrial.



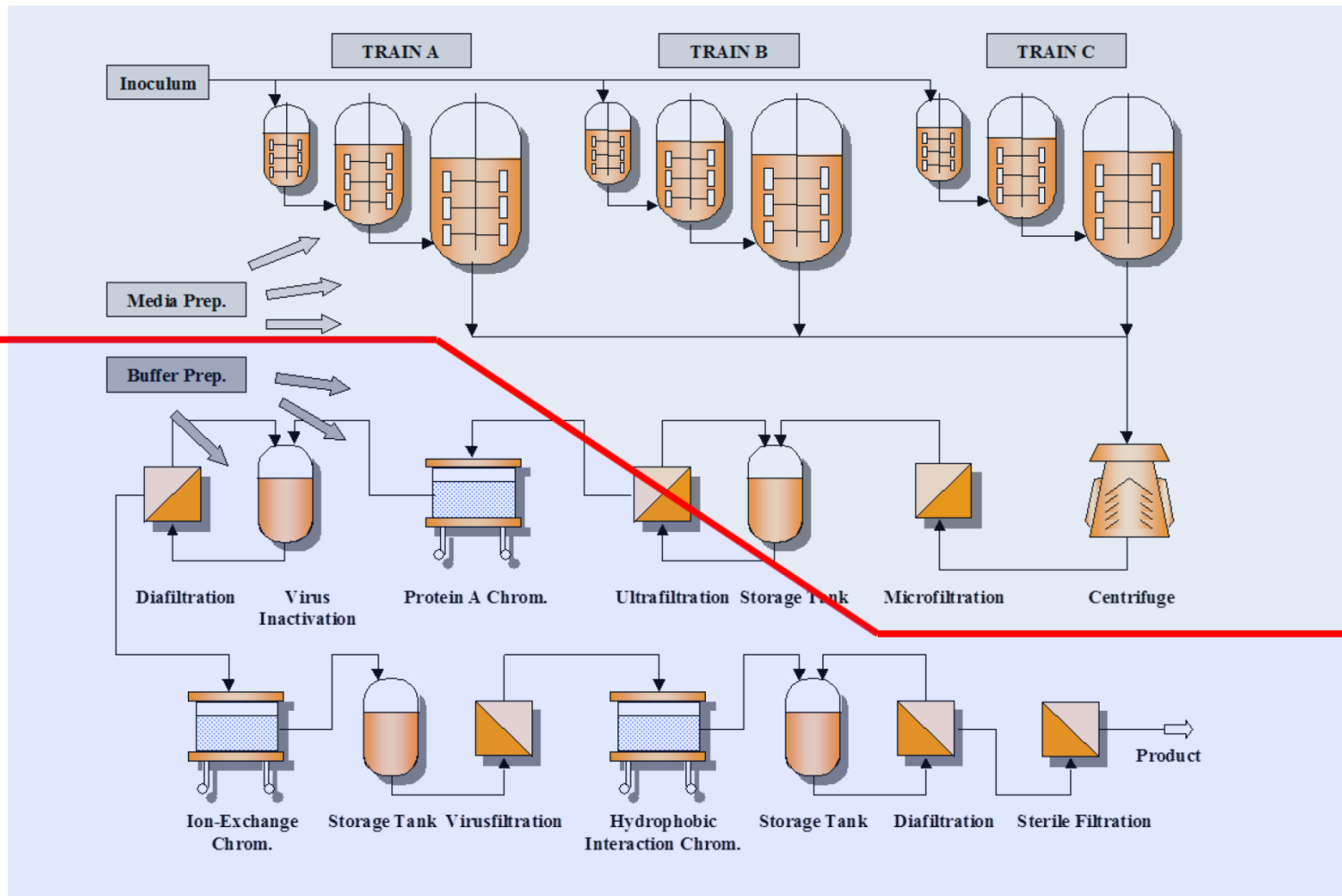
In elaborarea tehnologiilor de biosinteza se parcurg urmatoarele etape:

1. izolarea tulpinilor de microorganisme
2. selectia tulpinilor cu productivitate maxima
3. cultivarea microorganismelor pe un mediu adecvat
4. izolarea produsului de biosinteza
5. stabilirea spectrului de utilizare

# Etapele Unui proces biotehologic

USP

DSP



---

# **Formulararea mediilor de cultura**



# Mediu de cultura

- O solutie sau suspensie care contine **toate elementele necesare dezvoltarii microorganismelor si obtinerii produselor de biosinteza.**

## Criteriai utilizate in formulare

- Compozitia chimica a celulelor
- Structura produsului de biosinteza care se doreste a fi obtinut.

**Tipuri:** - naturale (organice)  
- semisintetice  
- sintetice



- Stabilirea necesarului compositional pentru mediu de cultura se face functie de
  - **compozitia elementara** a microorganismelor
  - necesarul energetic al acestora.

Criterii pentru alegerea mediului:

- **-necesitatile nutritive si energetice ale microorganismelor**
- -constanta calitatii produselor
- -disponibilitatea cantitativa
- **-accesibilitatea** materiei prime
- -stabilitate la transport si depozitare
- **-costul** materiei prime

# Mediu de cultura





# Sterilizarea



www.shutterstock.com · 63906733

# Definitie, metode

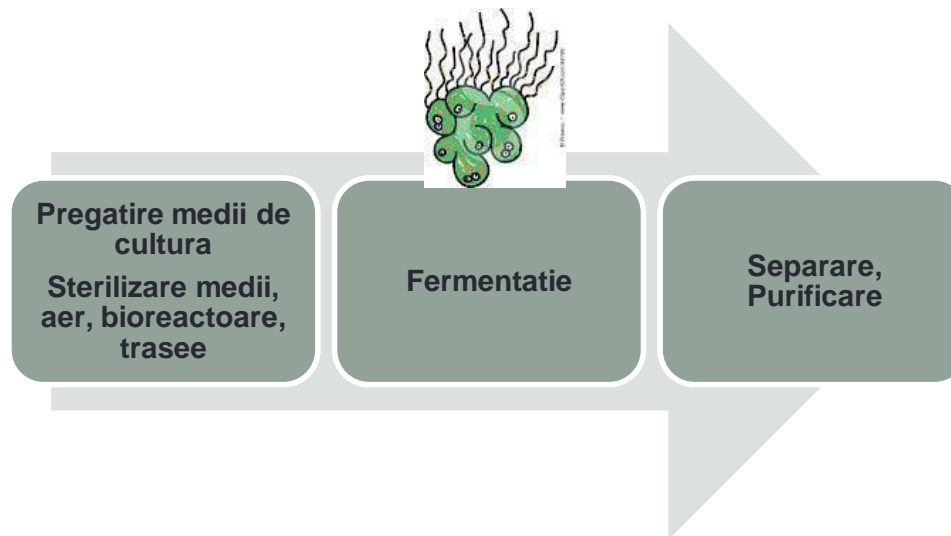


shutterstock · 72229711

Prin **sterilizare** se înțelege eliminarea **totală**: distrugerea sau îndepărtarea tuturor microorganismelor, atât în formă vegetativă, cât și sub formă de spori, din aer, medii, incinte (bioreactor, conducte) sau de pe obiecte (sticlărie, ustensile de laborator – ansa).

Operatia este **indispensabila in biotehnologie** pentru obtinerea unor culturi pure de microorganisme.

Se realizeaza inaintea etapei de fermentatie (aceasta din urma presupune adaugarea peste mediul de cultura a unei culturi pure – care contine numai un anumit tip de microorganism).

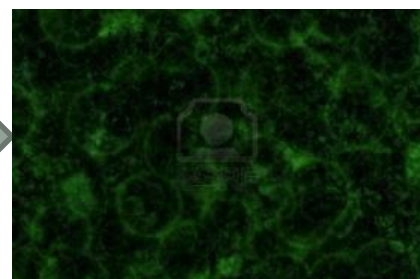
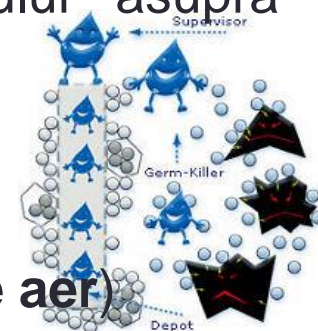


# Cele mai utilizate metode

**Procedeele termice sunt** cel mai des utilizate deoarece sunt eficiente si simplu de realizat, in special metoda termica umeda datorita actiunii coagulante, hidratante si hidrolizante ale aburului asupra substantelor celulare in special de natura proteica.

## Procedee termice - exemple:

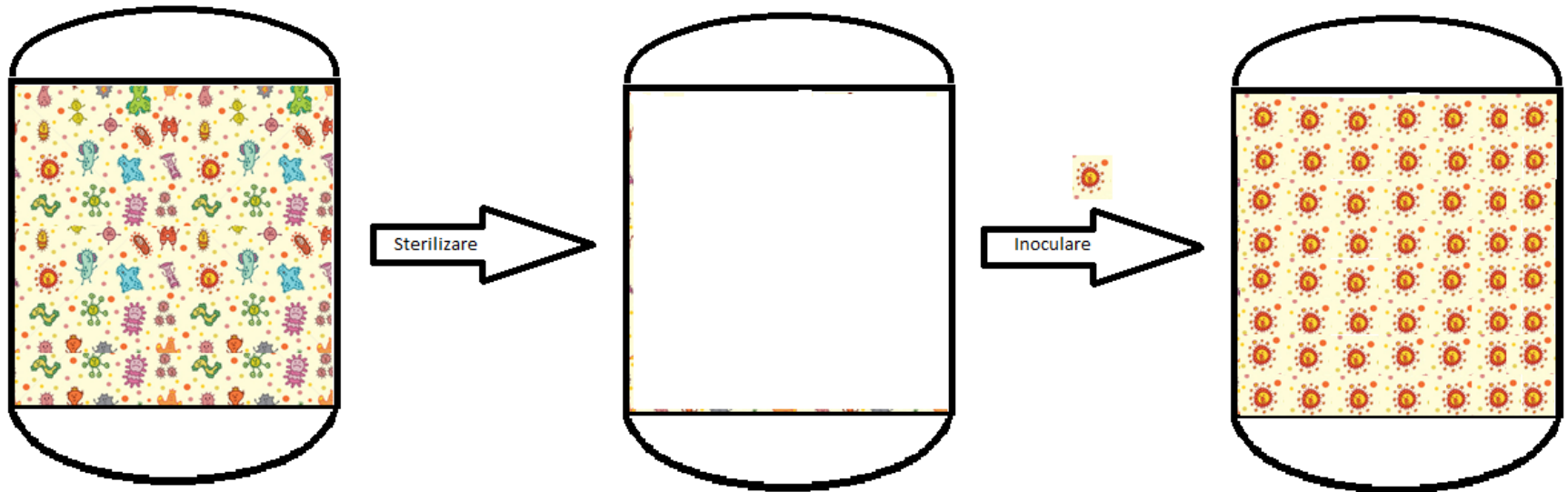
- incalzire in absenta umiditatii (160-200°C – **sterilizare aer**)
- incalzire cu abur (in prezenta umiditatii – 120-140°C – **sterilizare mediu de cultura, trasee de transport, echipamente, obiecte**)



# Sterilizare medii de cultura



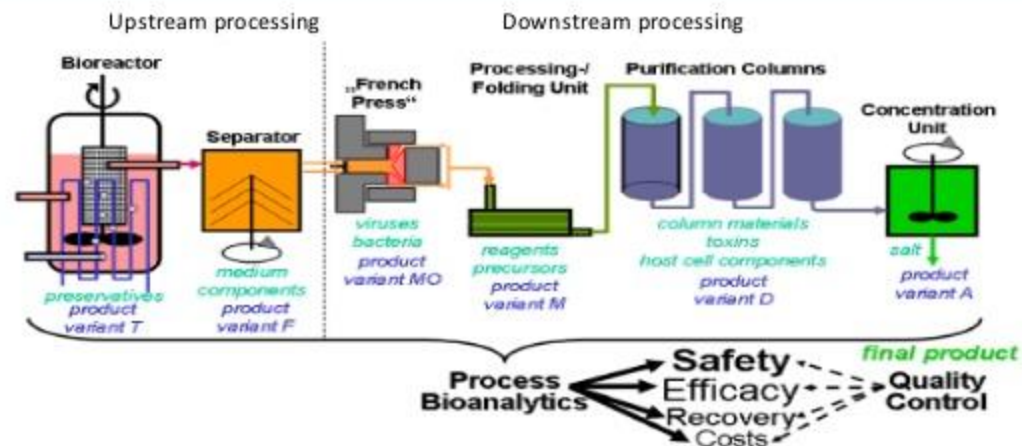
- Sterilizarea cu abur - la 120°C  
- la 140°C
  - se poate asigura un grad ridicat de sterilitate
  - se poate prelucra o cantitate mare de mediu de cultura



# Procesul de fermentatie

## BIOPROCESS

- A **bioprocess** is specific process that uses complete living cells or their components to obtain desired products.
- It can be separated into **upstream processes** and **downstream processes**



# Procese industriale

Un microorganism pentru a putea fi folosit într-un proces industrial trebuie să îndeplinească următoarele condiții:

- să crească rapid pe un substrat organic cât mai ieftin
- să formeze ușor o cultură abundentă
- să fie echipat cu sisteme enzimatică specifice procesului pentru care a fost izolat
- să producă transformări dorite în mod simplu și rapid, cu randamente mari și costuri energetice mici
- să poată fi conservat fără a-și schimba proprietățile biochimice și genetice
- produsele elaborate să fie ușor extractibile din lichidul de cultură sau celula microbiană

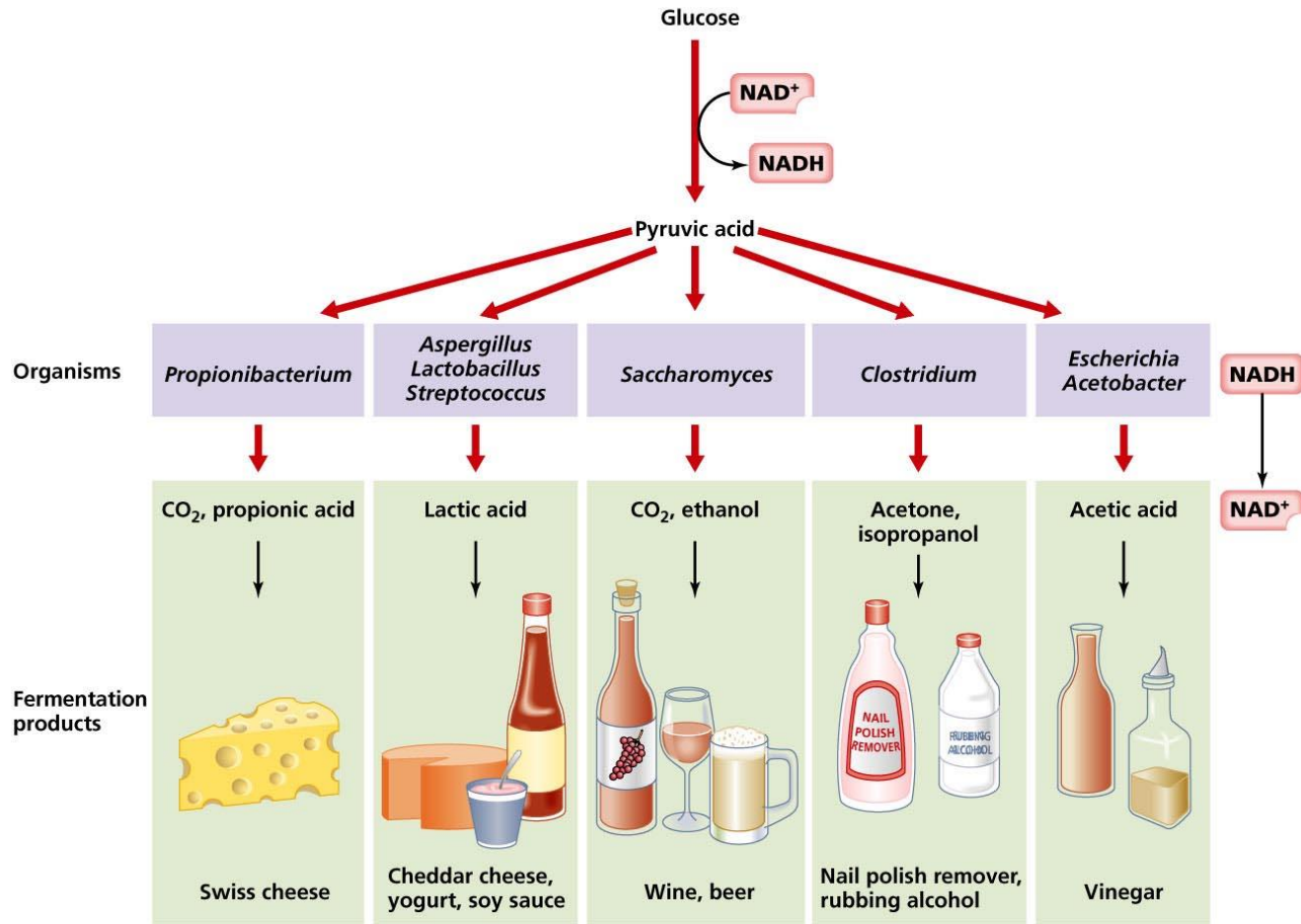


# TIPURI DE FERMENTATII

În funcție de produsul final major, avem diferite tipuri de fermentație:

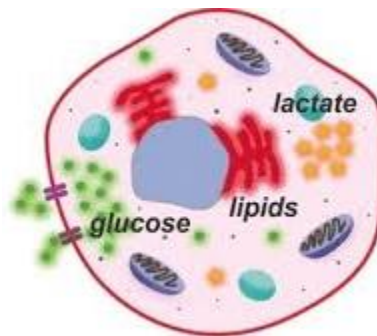
- lactică,
- alcoolică,
- acetică,
- propionică,
- butirică,
- succinică,
- aceto-butirică etc.





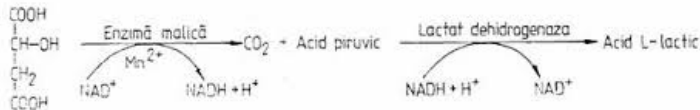
# Bioprocese industriale

- Cunoașterea particularităților microorganismelor permite dezvoltarea unor aplicații în diferite domenii ale agriculturii, industriei alimentare, industriei farmaceutice, indus.
- **Prođuși majori ai microbiologiei industriale**
  - **Metaboliții primari** sunt compuși legați de sinteza componentelor celulare ce se realizează pe parcursul fazei de creștere. Acest grup de metaboliți include **aminoacizii, nucleotidele** și anumiți produși finali de metabolism de tipul **etanolului și acizilor organici**. În plus, în timpul acestei fazei mai sunt sintetizate și diferite enzime, mai ales **exoenzime** care prezintă importanță practică deosebită.
  - **Metaboliții secundari** se acumulează în timpul fazei ce urmează etapei de creștere activă, numită idiofază. Compușii sintetizați în această fază nu au legătură directă cu materialele celulare esențiale și cu creșterea normală. De exemplu, majoritatea **antibioticelor** și a **micotoxinelor** sunt produse pe parcursul acestei faze.



## 2. Fermentații

- Fermentațiile sunt procese biochimice ce au loc la bacterii și fungi.
- **Fermentația lactică**, întâlnită la bacteriile lactice (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus lactis* etc.), are ca produs final formarea de acid D(–) sau L(+) lactic sub acțiunea unor D– sau L–lactat dehidrogenaze. Procesul este utilizat în industria alimentară a produselor lactate sau la prepararea murăturilor.



- **Fermentația acetică** (*Clostridium thermoaceticum*), are ca produs final formarea de acid acetic. Transformarea oxidativă a etanolului în acid acetic, produsă de microorganisme din genul *Acetobacter*, este utilizată pe scară industrială pentru fabricarea oțetului din vin.

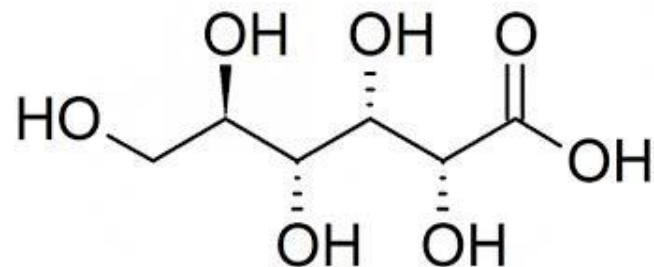


# Fermentatii

- **Fermentația alcoolică** este un proces anaerob prin care glucidele fermentescibile sunt metabolizate prin reacții de oxidoreducere, sub acțiunea echipamentului enzimatic al drojdiei, în produși principali (alcool etilic și  $\text{CO}_2$ ) și produși secundari (alcooli superiori, acizi, aldehide ș.a.).
- Agenții tipici ai fermentației sunt drojdiile genului *Saccharomyces* care, prin fermentarea glucidelor, pot să producă mai mult de 8° alcool etilic.
- Procesul de fermentație sub forma suț care se desfășoară acesta în sucul de fructe și de struguri se cunoaște încă din vechime. Însă transformările care au loc în timpul fermentației și cauzele și agenții care le provoacă erau în mare parte necunoscute până în secolul al XIX-lea, când Louis Pasteur (1822- 1895) a descoperit drojdia ca agent de fermentație.
- Procesul de fermentație alcoolică este principalul proces ce stă la baza fabricării:
  - Etanolului
  - Berii
  - Cidrului
  - Băuturilor spirtoase
  - Vinului
  - Pâinii



# Fermentatii



- **Fermentația gluconică**

- Fermentația gluconică este un proces oxidativ simplu prin care glucoza, în prezența oxigenului din aer și a sistemului enzimatic al microorganismelor selecționate, este transformată în acid gluconic ca produs principal.
- Agenții tipici ai fermentației gluconice sunt bacteriile din genurile *Gluconobacter (Acetomonas)* și *Moraxella* și mucegaiurile din genurile *Aspergillus (A. niger, A. phoenicis, A. Wentii)* și *Penicillium (P. chrysogenum, P. luteum)*.

Acidul gluconic se obține pe cale fermentativă prin metode submerse cu aerare, în bioreactoare în care procesul este accelerat și randamentul de conversie al glucozei la acid gluconic este de 80-90%, în timp de 18 ore, la 25-30° C și la pH=3. Prin adăugare de carbonat de calciu se formează gluconatul de calciu, din care, prin procedee chimice, se purifică acidul gluconic.

Principalele aplicații ale acidului gluconic sunt următoarele:

- folosirea gluconatilor de Ca, Fe, în terapeutică;
- obținerea prafului de copt;
- folosirea glucono-lactonei, produs intermediar al fermentației, în industria preparatelor de carne, cărora le conferă un gust acrișor, împiedicând, în același timp, activitatea bacteriilor de putrefacție și menținând culoarea roșie naturală a compoziției salamurilor (tip Tivoli);
- folosirea în amestec a acidului gluconic cu soda caustică pentru îndepărtarea rapidă a sărurilor insolubile de magneziu;
- folosirea acidului 2 ceto-gluconic la obținerea acidului D-araboascorbic, substanță cu efect antioxidant, care previne rănecizarea alimentelor cu conținut ridicat de lipide.



# Fermentatii



- **Fermentația citrică**
- Fermentația citrică este un proces oxidativ complex prin care substratul glucidic (zaharoza) este metabolizat la compuși intermediari de oxidare, cu acumulare în mediu a acidului citric ca produs principal.
- Agenți tipici ai fermentației citrice sunt tulpinile selecționate ale speciei **Aspergillus niger** care produc activ citrat sintetază.
  - Producerea industrială a acidului citric.
- Mediile cu melasă diluată, tratate cu ferocianură de potasiu, după sterilizare și răcire în tavă, se inoculează cu spori de *A. niger* (3-4 g spori/100 m<sup>2</sup> suprafață mediu) și fermentarea are loc la 30-35° C. La suprafață se dezvoltă o Dermă cutată prin creșterea aerobă a miceliului vegetativ și reproducător. Fermentația durează 6-8 zile, cu un randament de conversie a zaharozei în acid citric de 70-72%.

## Importanța fermentației citrice.

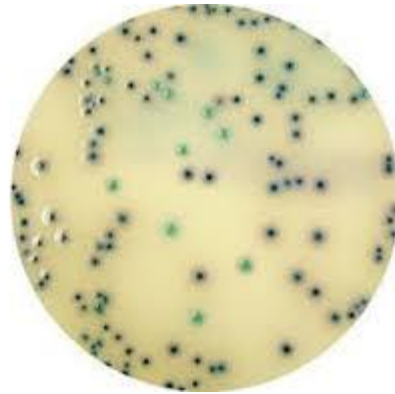
Acidul citric este principalul acid folosit în industria alimentară pentru fabricarea băuturilor răcoritoare și a produselor zaharoase, în calitate de stabilizant al culorii produselor păstrate în stare congelată și de anticoagulant al sângelui.

În industria farmaceutică intră în componența pulberilor efervescente.

Citratul de sodiu este recomandat în compoziția detergenților, ca înlocuitor al fosfaților.

Acidul citric sub formă cristalizată, prin încălzire la 170° C, se transformă în acid itaconic utilizat la fabricarea rășinilor schimbătoare de ioni.

# CONTROL MICROBIOLOGIC





# CONTROL MICROBIOLOGIC

Microorganismele sunt prezente peste tot  
– apă, aer, pe obiecte, pe mâini.

Pentru a determina calitatea unui produs (corespunzătoare sau nu) se fac anumite examene:

- a) examen organoleptic sau senzorial
- b) examen chimic – ce indică prezența sau absența unor produse chimice
- c) **examen microbiologic** care constă în determinarea numărului total de germeni sau prezența unor specii care sunt admise numai într-o anumită cantitate sau sunt interzise în alimente.

**REGULAMENTUL (CE) NR. 2073/2005 AL COMISIEI**  
**din 15 noiembrie 2005**  
**privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare**  
**(Text cu relevanță pentru SEE)**

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Regulamentul (CE) nr. 852/2004 al Parlamentului European și al Consiliului din 29 aprilie 2004 privind igiena produselor alimentare <sup>(1)</sup>, în special articolul 4 alineatul (4) și articolul 12,

întrucât:

- (1) Un nivel ridicat de protecție a sănătății publice este unul dintre obiectivele fundamentale ale legislației în domeniul alimentar, astfel cum se prevede în Regulamentul (CE) nr. 178/2002 al Parlamentului European și al Consiliului din 28 ianuarie 2002 de stabilire a principiilor și a cerințelor generale ale legislației în domeniul alimentelor, de instituire a Autorității Europene pentru Siguranța Alimentară și de stabilire a procedurilor în domeniul siguranței alimentelor <sup>(2)</sup>. Riscurile microbiologice legate de produsele alimentare reprezintă o sursă majoră a bolilor provocate de produse alimentare la om.
- (2) Produsele alimentare nu trebuie să conțină microorganisme sau toxine sau metaboliți ale acestora în cantități care prezintă un risc inacceptabil pentru sănătatea umană.
- (3) Regulamentul (CE) nr. 178/2002 stabilește cerințe generale privind siguranța alimentară, conform cărora nici un produs alimentar nu trebuie introdus pe piață în cazul în care este periculos. Operatorii din sectorul alimentar au obligația să retragă de pe piață produsele alimentare periculoase. Pentru a contribui la protecția sănătății publice și pentru a preveni interperțările diferite, se impune stabilirea unor criterii de siguranță armonizate privind caracterul acceptabil al produselor alimentare, în special în ceea ce privește prezența anumitor microorganisme patogene.
- (4) Criteriile microbiologice oferă, de asemenea, o orientare privind caracterul acceptabil al produselor alimentare și al proceselor de fabricație, manipulare și distribuție a acestora. Utilizarea criteriilor microbiologice ar trebui să facă parte integrantă din punerea în aplicare a procedurilor bazate pe principiile HACCP și a altor măsuri de control al igienei.

# CONTROL MICROBIOLOGIC

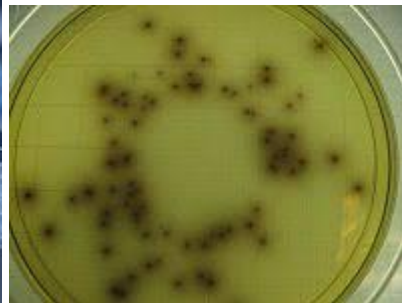


Microorganisme de interes in control microbiologic:

## -*L. monocytogenes*

Sunt bacili Gram pozitivi (cu forme cocoidale, cocobacilare), aerobi, facultativ anaerobi, cu capetele rotunjite, neramificați, care pot fi dispuși în lanțuri, mobili, nesporulați, necapsulați. Cresc pe medii de cultură obișnuite și medii îmbogățite cu ser, sânge, glucoză, la 20-37°C. Pe geloză-sânge coloniile de tip S au 1-2 mm, sunt translucide, iar culturile au miros caracteristic de lapte acidulat.

Listerioza este una dintre cele mai grave infecții de origine alimentară și cu frecvență relativ mare.



**If you have eaten high-risk\* food and think you have Listeriosis, see your doctor**

I'm not feeling well. I have...

- ✓ Diarrhoea
- ✓ Fever
- ✓ Body pain
- ✓ Headache

\* Contaminated poultry, venison and other sausages, cold meats, and unpasteurized dairy products.

World Health Organization

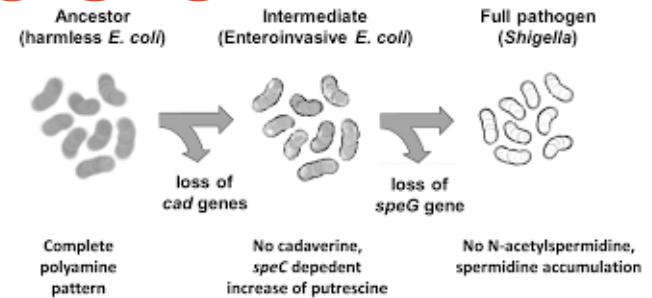
# CONTROL MICROBIOLOGIC

Microorganisme de interes in control microbiologic:

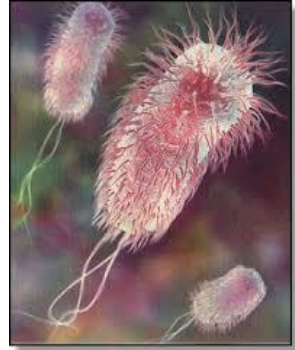
## *E. coli* și *Shigella*

Aceste bacterii sunt bacili Gram negativi, scurți, nesporulați, fermentează glucoza cu sau fără producere de gaz, sunt oxidazo-negativi, reduc nitrații la nitriți, sunt mobile prin flageli peritrichi sau imobile. Sunt prezente pe plante, sol, în intestinul uman sau animal, reprezentând componenta majoră a microbiotei umane intestinale. Cresc pe medii uzuale, formează colonii rotunde, convexe, netede. Pentru identificare se folosesc o serie de medii politrope:

- mediu TSI (Triple Sugar Iron) pe care se evidențiază fermentarea glucozei/lactozei/zaharozei, producerea de acizi din glucoză cu/fără gaz, producerea de H<sub>2</sub>S,
- mediul MIU ( Mobility Indole Urease) pe care se evidențiază mobilitatea, producerea de indol și urează,
- mediul MILF ( Mobility Indole Lysin-decarboxilase Phenylalanin-desaminase), pe care se evidențiază mobilitatea, producerea de indol, lizin-decarboxilaza, fenilalanindezaminaza.



# CONTROL MICROBIOLOGIC



## Specia *E. coli*

este indicatorul sanitar cel mai frecvent folosit pentru aprecierea contaminării fecale a alimentelor. Comitetul American National pentru Criteriile Microbiologice ale Alimentelor consideră că specia *E. coli* este un indicator igienico-sanitar principal pentru verificarea contaminării fecale a carcaselor animalelor de măcelarie și ale păsărilor din abatoare.

Numeroasele tulpini de *E. coli* producătoare de **toxiinfecții alimentare** au fost clasificate în patru grupe principale:

- Tulpini de *E. coli* **enteropatogene** care nu produc enterotoxine
- Tulpini de *E. coli* **enterotoxigene** care aderă la nivelul enterocitelor prin intermediul fimbriilor și produc enterotoxine termostabile și/sau termolabile
- Tulpini de *E. coli* **enteroinvazive** care posedă plasmide de virulență, patrund în celulele epiteliale intestinale unde se și multiplică
- Tulpini de *E. coli* **enterohemoragice** care produc cantități mari de toxine Shiga-like, distrug microvilozitățile intestinale ca urmare a aderenței bacteriilor la enterocite, posedă plasmide de virulență. Cel mai periculos Serotip uman este O157:H7



# Enterohemorrhagic bacteria Escherichia coli (EHEC)



Most Escherichia coli (E.coli) strains are harmless. But some, like enterohemorrhagic **E. coli (EHEC)**, are a hazard to human health and life.

**Incubation period: three to eight days**



E. coli (EHEC), once in the human stomach, begins producing toxins that cause serious illnesses

### Symptoms caused by E. coli (EHEC)

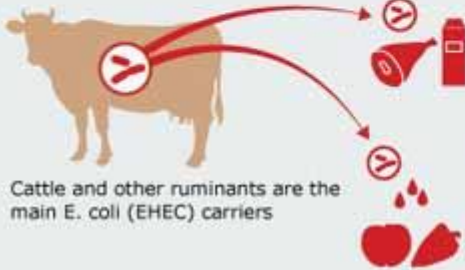
- Stomach muscle spasms
- Diarrhea (sometimes bloody diarrhea)
- Fever
- Vomiting

### Complications:

hemolytic uremic syndrome (HUS)

**Death rate: 3-5 %**

### INFECTION SOURCES



Uncooked meat and raw milk

*The bacteria die when food is exposed to heat (70°C and higher)*

**Fruit and vegetables** (droppings of sick animals find their way into water bodies that in turn feed the soil)

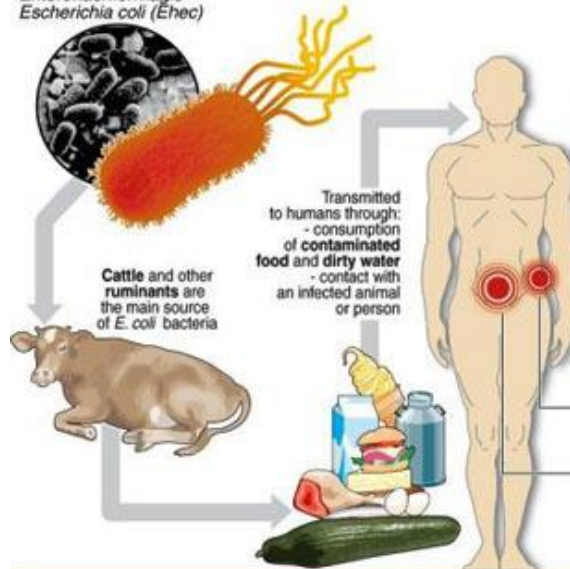
Image Source: <http://grapplersplanet.com/>

## The Dangers of E. coli



## E. coli - when contamination leads to infection

Enterohaemorrhagic Escherichia coli (Ehec)



Bacteria can spread from one person to another via faeces

How to avoid contamination:

- Wipe down work surfaces and kitchen utensils
- Keep hands clean, especially when touching raw meat or vegetables
- Avoid eating raw tomatoes, cucumbers and salads
- Make sure meat is well cooked
- Bring unpasturised milk to the boil

Infection can cause acute renal failure and neurological problems (seizures, strokes)

Diarrhoea and in some cases bloody diarrhoea



© www.medindia.net

# CONTROL MICROBIOLOGIC

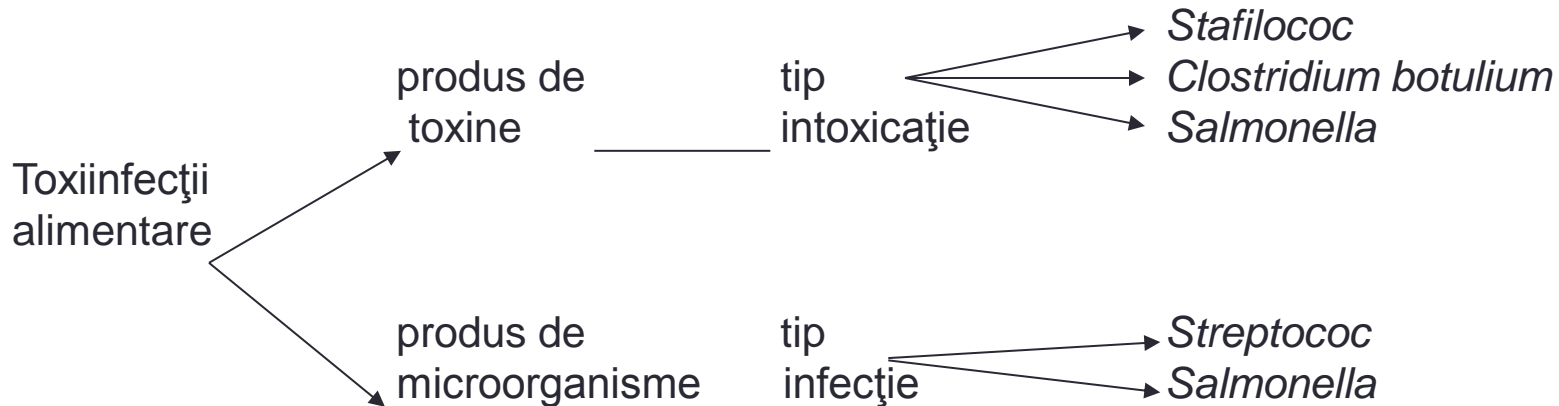
## ***Staphylococcus aureus***

Bacteriile din genul *Staphylococcus* sunt coci Gram pozitivi, grupați în grămezi, aerobi, se dezvoltă la 37°C. Coloniile sunt rotunde, de dimensiuni mici (1-2 mm), de tip S, pigmentate alb-galben. Stafilococii fermentează glucoza fără producere de gaz, fermentează manitolul, lactoza, zaharoza etc., cu producere de acizi. Sunt catalazo- pozitivi, caracter care îi diferențiază de streptococi. Sursele de contaminare pentru alimente sunt reprezentate de bolnavi cu infecții cutanate, furuncule, eczeme, leziuni supurative, infecții ale căilor respiratorii și digestive cu stafilococi sau “purtații sănătoși” de tulpini de *S. aureus*.

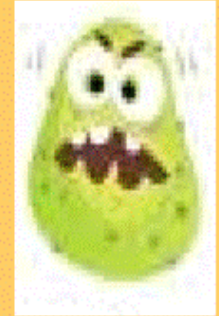
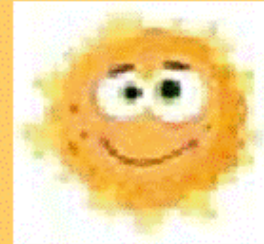
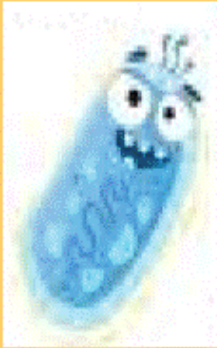


# Toxiinfecții alimentare. Controlul microbiologic al alimentelor.

Toxiinfecțiile alimentare sunt boli datorate unor microorganisme sau toxine care sunt introduse în organism odată cu alimentele. Sunt atât boli cât și intoxicații.







# ¡Hasta la vista, BABY!

