

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL PRODUSELOR ALIMENTARE

Indicații metodice privind controalele microbiologice



Chișinău
2017

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

**FACULTATEA TEHNOLOGIA ALIMENTELOR
DEPARTAMENTUL TEHNOLOGIA PRODUSELOR
ALIMENTARE**

**CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL
PRODUSELOR ALIMENTARE**

*Indicații metodice privind
controalele microbiologice*

**Chișinău
Editura „Tehnica-UTM”
2017**

CZU 663/664.09(076.5)

C 69

Indicațiile metodice la disciplina *Microbiologia produselor alimentare* sunt destinate studenților de la specialitățile Facultății Tehnologia Alimentelor

Materialul este prezentat în conformitate cu programul de învățământ universitar. Sunt prezentate metode de prelevare a probelor din diverse materii prime; caracteristica mediilor de cultură; metode de testare microbiologică a laptelui și produselor derivate, a cărnii și produselor din carne, a produselor de panificație etc. în conformitate cu SM, ISO, EN; modul de prelucrare a rezultatelor testărilor, precum și caracteristica microorganismelor de alterare a produselor alimentare.

Acest material poate servi drept suport bibliografic pentru studenți, masteranzi și doctoranzi.

Autori: dr., conf. univ. Luiza SANDULACHI
dr., conf. univ. Silvia RUBȚOV
dr., conf. univ. Lilia POPESCU
inginer Valentina COSTIȘ
inginer, doctorand Irina GURMEZA

Redactor responsabil: dr., conf. univ. Luiza SANDULACHI
Recenzent: dr., conf. univ. Aurelia CHIRSANOVA
dr., conf. univ. Valentina CALMĂȘ

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII

Controlul microbiologic al produselor alimentare: Indicații metodice privind controalele microbiologice / Luiza Sandulachi, Silvia Rubțov, Lilia Popescu [et al.]; Univ. Tehn. a Moldovei, Fac. Tehnologia Alimentelor, Dep. Tehnologia Produselor Alimentare. – Chișinău: Tehnica-UTM, 2017. – 128 p.

Bibliogr.: p. 117-120 (57 tit.). – 50 ex.

ISBN 978-9975-45-472-8.

663/664.09(076.5)

C 69

Redactor: E. Gheorghîșteanu

Bun de tipar 15.02.17

Hârtie ofset .Tipar RISO

Coli de tipar 8,0

Formatul hârtiei 60 x 84 1/16

Tirajul 50. ex.

Comanda nr. 11

ISBN 978-9975-45-472-8.

© UTM, 2017

INTRODUCERE

Cerințele mereu în creștere ale consumatorilor privind calitatea și perioada de valabilitate a alimentelor și băuturilor trebuie permanent satisfăcute de către producători [26]. O importanță deosebită pentru consumator are siguranța microbiologică a produselor alimentare, a căror securitate este o sarcină de bază a controlului microbiologic la întreprinderi. Controlul microbiologic se efectuează atât asupra procesului de producție, cât și asupra calității producției finite, precum și asupra stării sanitare a încăperilor de producție, asupra utilajelor, inventarului mic și asupra igienei personale a lucrătorilor [27].

Indicațiile metodice includ metode de prelevare și analiză microbiologică a produselor alimentare. Sunt vizate diverse metode de testare microbiologică a materiilor prime și a produselor din carne, lapte, patiserie, cofetărie, băuturi, conserve etc. [8-33].

Microorganismele pot fi analizate prin diferite metode. Pentru detectarea microorganismelor sunt utilizate de obicei metode de cultură și examinare microscopică, iar pentru diferențierea lor - metode biochimice și serologice. Pentru detectarea microorganismelor în culturi sunt necesare medii nutritive lichide și solide, în sau pe care microorganismele sunt concentrate prin creștere. O determinare cantitativă este posibilă numai cu medii nutritive solide, deoarece coloniile dezvoltate pe suprafața acestora pot fi evaluate și numărate individual. Pentru analize microbiologice pot fi utilizate următoarele medii de cultură:

- **medii de cultură aprobate de FDA**, publicate în Manualul Analitic Bacteriologic [30];
- **seturi de cartonașe impregnate cu mediu nutritiv - CMN**, care optimizează masiv metoda filtrului membrană;
- **cartonașe absorbante de umezit cu mediu nutritiv lichid;**
- **medii nutritive cu agar sau gelatină ca agent solidificator;**

- **petrifilme pentru diferite testări microbiologice;**
- **medii de cultură utilizate în metoda directă de testare.**

Această lucrare vizează caracteristica mediilor de cultură, modul de utilizare, condițiile de testare, incubare și analiza rezultatelor obținute. Sunt caracterizate succint cele mai des întâlnite microorganisme, antrenate în riscul microbiologic al produselor alimentare. Sunt date referințe la metode standarde naționale și internaționale de determinare a NTG, *E. coli*, bacterii coliforme, *Salmonella spp*, *Proteus spp*, *Colstridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium spp*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula etc*.

Metodele de testare microbiologică precum și mediile de cultură utilizate în aceste testări sunt prezentate în conformitate cu Manualul Analitic Bacteriologic (BAM) elaborat de FDA [30]. În acest manual, disponibil on-line, se fac referințe la metodele oficiale de analiză a AOAC International; Metode standard pentru examinarea produselor lactate, Proceduri pentru examinarea microbiologică, recomandate de Foods Association American Public Health; Metode standard pentru Analiza apei a Agenției pentru Protecția Mediului. FDA lucrează în strânsă colaborare cu AOAC International, APHA, EPA, Federația Internațională a Producătorilor de Lapte (IDF/FIL), prin intermediul participării la Codex Alimentarius, Organizația Internațională de Standardizare (ISO).

Scopul prezentului volum de indicații este a pune la dispoziția studenților, masteranzilor și doctoranzilor o suită de tehnici utile în diagnosticarea și managementul ulterior al riscului microbiologic al produselor alimentare. Controalele microbiologice vizate pentru produsele alimentare: Lapte și produse lactate, Carne și produsele din carne, Produse de morărit și panificație, Conserve din carne și conserve vegetale, precum și Controlul microbiologic al zahărului sunt în conformitate cu SM, ISO, EN, SR, GOST în vigoare.

CUPRINS

INTRODUCERE	3
1. GENERALITĂȚI	5
1.1.Enumerarea și identificarea microorganismelor realizată într-un laborator acreditat	5
1.2.Medii nutritive utilizate în controalele microbiologice oficiale ale produselor alimentare.....	6
1.3. Descrierea și rezultatele tipice de evaluare a creșterii microorganismelor	14
2 ETAPE ALE ANALIZEI MICROBIOLOGICE	25
2.1. Sisteme de analiză a probelor.....	25
2.2. Interpretarea rezultatelor în analiza microbiologică.....	25
3. METODE DE ANALIZĂ A PRINCIPALELOR GRUPE DE MICROORGANISME	26
3.1. Determinarea microorganismelor-indicatori sanitari.....	26
3.2. Determinarea microorganismelor patogene, agenți ai toxiiinfecțiilor alimentare și intoxicațiilor prin alimente contaminate	44
3.3. Evidența mucegaiurilor producătoare de aflatoxine.....	54
3.4. Determinarea bacteriilor, agenți de alterare a produselor alimentare	56
3.5. Determinarea drojdiilor în alimente.....	62
3.6. Determinarea mucegaiurilor în alimente.....	66
4. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL LAPTELUI ȘI PRODUSELOR DERIVATE	72
4.1 Controlul microbiologic al laptelui crud	72
4.2 Aprecierea calității microbiologice a laptelui.....	74
4.3.Criteriile microbiologice de siguranță alimentară și igienă a prelucrării laptelui și a produselor lactate.....	79
4.4. Numărarea selectivă a bacteriilor lactice	84

5. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL CĂRNII ȘI PREPARATELOR DIN CARNE	86
5.1 Controlul microbiologic al cărnii crude și refrigerate.....	86
5.2. Controlul microbiologic al cărnii tocate	91
5.3. Controlul microbiologic al cărnii de pește	92
5.4 Controlul microbiologic al mezelurilor	93
6. CONTROLUL MIROBIOLOGIC AL CONSERVELOR	99
6.1. Controlul microbiologic al conservelor din carne.....	99
6.2. Controlul microbiologic al conservelor vegetale.....	101
7. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL VINULUI.....	104
8. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL MATERIILOR PRIME ȘI AUXILIARE DIN INDUSTRIA DE MORĂRIȚ ȘI PANIFICAȚIE	106
8.1 Controlul microbiologic al cerealelor	106
8.2 Controlul microbiologic al făinurilor.....	107
8.3. Controlul microbiologic al drojdiei comprimate.....	109
8.4. Controlul microbiologic la maielelor la fabricarea pâinii	111
9. CONTROLUL MICROBIOLOGIC AL ZAHĂRULUI....	112
9.1. Determinarea numărului de bacterii aerobe mezofile.	112
9.2. Determinarea numărului de drojdii și mucegaiuri.....	113
9.3.Determinarea bacteriilor sporulate	113
9.4. Determinarea bacteriilor din genul <i>Leuconostoc</i>	115
9.5. Determinarea drojdiilor osmotolerante	116
9.6. Norme microbiologice de apreciere a zahărului	116
BIBLIOGRAFIE	117
ANEXE	121

BIBLIOGRAFIE

1. Aida Vasile, Microbiologia specială, Galați 2009, 86 p.
2. Bahrim G., Evaluarea calității microbiologice a alimentelor prin utilizarea petrifilmelor. Buletinul AGIR nr. 3/2003 <http://www.agir.ro/buletine/40.pdf>
3. Dan V., Oancea I., ș.a. Controlul microbiologic al produselor alimentare, Galați, 1991, 111p.
4. Rubțov S., Sandulachi L., Chilat A. Controlul microbiologic în industria alimentară, Chișinău 2004, 67p.
5. Sandulachi L., Popescu L., Bulgaru V. Microbiologia generală, Note de curs. Partea II, Chișinău, Editura Tehnica-UTM, 2015.
6. Sandulachi L., Bulgaru V. Microbiologia generală, Note de curs. Partea III, Chișinău, Editura Tehnica-UTM, 2016.
7. Simona Ivana MICROBIOLOGIA ALIMENTELOR Volumul I <http://bibliotecafm vb.ro/doc-site/ma1bib.pdf>
8. SM SR EN ISO 707:2012 Lapte și produse lactate. Ghid pentru eșantionare.
9. SM EN ISO 4833-1:2014 Microbiologia lanțului alimentar. Metoda orizontală pentru enumerarea microorganismelor. Partea 1: Tehnica de numărare a coloniilor la 30°C prin metoda turnării în plăci.
10. SM EN ISO 4833-2:2014 Microbiologia lanțului alimentar. Metoda orizontală pentru enumerarea microorganismelor. Partea 2: Tehnica de numărare a coloniilor la 30°C prin metoda însămânțării la suprafața plăcii.
11. SM EN ISO 6579:2013 Microbiologia produselor alimentare și furajelor. Metoda orizontală pentru detectarea bacteriilor de genul Salmonella spp.
12. SM CEN ISO/TS 6579-2:2013 Microbiologia produselor alimentare și furajelor. Metoda orizontală pentru detectarea, numărarea și tipizarea serologică a bacteriilor de genul Salmonella. Partea 2: Metoda de numărare miniaturizată a numărului cel mai probabil.
13. SM SR EN ISO 6887-1:2011 Microbiologia produselor alimentare și furajelor. Pregătirea probei pentru analiză, a suspensiei inițiale și a diluțiilor decimale pentru examenul microbiologic. Partea 1: Reguli generale pentru pregătirea suspensiei inițiale și a diluțiilor decimale.

14. SM SR EN ISO 6887-5:2014 Microbiologia produselor alimentare și furajelor. Pregătirea probelor, a suspensiei inițiale și a diluțiilor decimale pentru examenul microbiologic. Partea 5: Reguli specifice pentru pregătirea laptelui și a produselor lactate.
15. SM EN ISO 22160:2015 Lapte și băuturi pe bază de lapte. Determinarea activității fosfatazei alcaline. Metoda (EPAS) cu sistem de fotoactivare enzimatică.
16. HG nr. 435 din 28.05.2010 Reguli specifice de igienă a produselor alimentare de origine animală.
17. Reglementarea tehnică „Lapte și produse lactate”, Hotărârea Guvernului Nr. 611, din 05.07.2010.
18. Prelevarea probelor și pregătirea lor pentru analiza microbiologică, conform SM SR EN ISO 6887-1, SM SR EN ISO 6887-5:2014.
19. Determinarea numărului de bacterii mezofile aerobe și facultativ anaerobe, conform SM EN ISO 4833-1, SM EN ISO 4833-26.14.
20. Determinarea conținutului de microorganisme patogene, inclusiv Salmonella, conform SM EN ISO 6579 sau SM CEN ISO/TS 6579-2. 6.1518.
21. Determinarea numărului de celule somatice, conform SM SR EN ISO 13366-2 sau SM SR EN ISO 18330.
22. Determinarea pasteurizării (proba fosfatazei), conform SM EN ISO 22160 sau GOST 3623.
23. Hotărârea Guvernului nr. 208 din 20.03.2013 cu privire la aprobarea metodelor de prelevare a probelor pentru determinarea nivelului de micotoxine în produsele alimentare (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 64-68, art. nr. 262 din 29.03.2013).
24. Norma sanitar-veterinară privind prelevarea probelor oficiale de la animalele vii și din produsele de origine animală, aprobată prin Hotărârea Guvernului nr. 782 din 01.09.2010 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 160-162, art. nr. 871 din 07.09.2010).
25. Reguli privind criteriile microbiologice pentru produse alimentare, aprobate prin Hotărârea Guvernului nr. 221 din 16.03.2009 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 59-61, art. nr. 272 din 24.03.2009).
26. Reguli generale de igienă a produselor alimentare, aprobate prin Hotărârea Guvernului nr. 412 din 25.05.2010 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 83-84, art. nr. 484 din 28.05.2010).
27. Norma sanitar-veterinară privind stabilirea unor metode de analiză și testare a laptelui materie primă și aceluși tratat termic, aprobată prin ordinul

- Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare nr.159 din 07.07.2006 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 025,art. nr. 114 din 23.02.2007).
28. Controlul microbiologic al alimentelor, băuturilor și produselor farmaceutice http://www.sartorom.ro/sites/default/files/produse/documente/control_microbiologic_ro.pdf.
 29. Instrucțiuni privind modul și periodicitatea controlului asupra conținutului de impurități microbiologice și chimice în carne, păsări, ouă și produse de prelucrare a acestora http://www.ansvsa.ro/documente/admin/INSTRUCTIUNI%20CONTROL%20microbiologic%20si%20chimic_31725ro.pdf
 30. Manual analitic bacteriologic (BAM). FDA. Food & Drug. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>
 31. American Public Health Association. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 2nd ed. APHA, Washington, DC.
 32. American Public Health Association. 1993. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16th ed. APHA, Washington, DC.
 33. Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC, Arlington, VA.
 34. International Dairy Federation. 1987. Milk and Milk Products: Enumeration of Microorganisms—Colony Count at 3°C. Provisional IDF Standard 100A. IDF, Brussels, Belgium.
 35. Prelevarea probelor și pregătirea lor pentru analiza microbiologică, conform SM SR EN ISO 6887-1, SM SR EN ISO 6887-5:2014.
 36. Implementarea standardului HACCP în firmele de curățenie. Module1. Hygiene and Microbiology http://hygiene-for-cleaners.eu/media/ModulesRO/Module-1-RO-Final.pdf?wb_session_id=cb0136638fc737456ed29eb15146ddb
 37. Microbial physiology. Microbial metabolism microbio.ucoz.com/Prelegeri/Lecture_3.ppt https://www.google.com/search?q=4.%09Microbial+physiology.Microbial+metabolism+microbio.uc_oz.com%2FPrelegeri%2F%2FLecture_3.ppt+&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b
 38. PPT Drawing Toolkit-Microbiology <http://motifolio.com/microbiology.html>
 39. <http://www.geniebio.ac-aixmarseille.fr/zimages/spip.php?article162>
 40. <http://www.scribub.com/biologie/FIZIOLOGIEBACTERIANA11983.ph>
 41. *E. coli*, <http://emedicine.medscape.com/article/217485-workup>
 42. Réseau STI- Biotechnologies <http://www.geniebio.ac-aixmarseille.fr/zimages/spip.php?article162>

43. *Staphylococcus aureus* <http://www.medioscultivo.com/baird-parker-agar-base-polvo-2/>
44. https://www.google.com/search?q=Salmonella,&client=firefox-b&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjWhpXA4fTRAhUI7xQKHr-vDq8Q_AUICSgC&biw=990&bih=635
45. *Clostridium perfringers*, <http://www.eolabs.com/tsc-agar-pp1950.html>
46. <http://www.infektionsnetz.at/BakterienClostridiumBotulinum.phtml>
47. Factori care influențează producerea micotoxinelor.
<http://www.scrigroup.com/afaceri/agricultura/Factori-care-influenteaza-prod61753.php>
48. Controlul microbiologic al laptelui, produselor lactate acide și a brânzeturilor
<http://www.foodpack.ro/produse/controlul-microbiologic-al-laptelui--produselor-lactate--acide-si--a-branzeturilor/>
49. Analize pentru industria carni <http://laboratorsupremia.ro/carne.html>
50. Analize pentru industria laptelui <http://laboratorsupremia.ro/lapte.html>
51. Analize pentru industria panificației
<http://laboratorsupremia.ro/panificatie.html>
52. <http://documents.tips/documents/laborator-microbiologie-speciala2012-2013.html>
53. Regulamentul (CE) nr.2073/2005 din 2005 privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare, publicat în Official Jurnal of the European Union. Realizat la Brussels, la 15 Noiembrie 2005.
54. Regulamentul (CE) nr.853/2004 al Parlamentului European și al consiliului din 29 aprilie 2004 de stabilire a unor norme specifice de igienă care se aplică alimentelor de origine animală.
55. Regulamentul (CE) nr.852/2004 al Parlamentului European și al consiliului din 29 aprilie 2004 privind igiena produselor alimentare.
56. Food poisoning: new detection method for bacterial toxin, 01.04.2015, Research news <https://www.tum.de/en/about-tum/news/press-releases/short/article/32318/>
57. https://www.google.com/search?q=Cultur%C4%83+de+Candida+albicans,+mediu+Sabouraud&client=firefox-b&biw=990&bih=635&tbm=isch&imgil=LKUmewhjzxfMqM%253A%253B0XipCEnai3S73M%253Bhttp%25253A%25252F%25252Ffatlas.microumftgm.ro%25252Fbacteriologie%25252Fbactgen%25252Fcc.php&source=iu&pf=m&fir=LKUmewhjzxfMqM%253A%252C0XipCEnai3S73M%252C_&usg=__2SmJOacwX-eJavaGYqsmSL-MwVw%3D&ved