

Potențialul de utilizare a diversității microorganismelor din ecosistemele naturale în biotehnologii alimentare

În ecologie, oamenii de știință tind să privească toate procesele de la o scară foarte mare pentru a le putea observa efectele și mai ales felul în care acestea se desfășoară în mod complex și complet. Procesele ecologice au la bază interacțiunea biotopului cu biocenoza, aceste interacțiuni situându-se la nivel supraindividual. Ceea ce trebuie recunoscut este că o parte din caracteristicile biocenozei sunt caracteristicile indivizilor, luați separat sau în interacțiune cu alți indivizi, chiar și din specii diferite. Când ecologia coboară la nivelul unei populații, detaliile descoperite aici pot face lumină în legătură cu unele procese de nivelele ierarhice superioare. Strânsa legătură dintre procesele ecologice și cele etnologice, biologice și chiar chimice sau fizice, determină desigur caracteristicile biocenozei ce trebuie evaluată pentru analizarea unui proces ecologic. Astfel, într-un proiect pentru protecția mediului, ecologii vor avea întotdeauna nevoie de mulți alți oameni de știință și specialiști în varii domenii, printre care geologi, economiști, biologi, entomologi, etologi și chiar microbiologi.

Prin prezenta lucrare îmi propun să scot în evidență importanța cunoșterii biologiei și ecologiei microorganismelor și de a le puncta caracteristicile prin care acestea tind să devină din ce în ce mai importante pentru dezvoltarea viitoare a sistemelor socioeconomice în sensul protejării capitalului natural, prin faptul că intervin în domenii de o maxima importanță pentru activitatea umană, cel mai sus pe această scară situându-se industria alimentară.

Microbiologia este o știință relativ nouă, dar care s-a dezvoltat foarte mult în ultima perioadă, mai ales datorită avansului tehnologiei care a permis observarea mai în amănunt a micilor organisme. În acest mod s-a descoperit felul în care microorganismele interacționează între ele, dar mai ales, și foarte important din punct de vedere ecologic, felul în care interacționează cu organismele pluricelulare. Au fost descrise astfel 8 tipuri de relații interspecifice: neutralismul, competiția, mutualismul/simbioza, protocooperarea, comensalismul, amensalismul/antibioza, parazitismul, prădătorismul. Simbioza este relația în care ambele organisme au de câștigat de pe urma acestei legături, exemplul cel mai des întâlnit fiind cea dintre o algă (verde sau albastră-verde) și o ciupercă (ascomicetă sau mai rar o bazidiomicetă), convețuire permanentă în urma căreia rezultă lichenii. Algele albastre-verzi sunt microorganisme unicelulare sau coloniale, studiate de către microbiologi. Aceste tipuri de studii au scopul de a determina felul în care aceste microorganisme se pot dezvolta pe un anumit mediu, care este capacitatea lor de a sintetiza anumite proteine, enzime sau alte substanțe folosite în unele procese tehnologice alimentare sau farmaceutice.

Când studiul în laborator al microorganismelor a început să capete amploare, oamenii de știință au realizat că numărul speciilor de microorganisme ce se regăsesc în mediul natural este cu mult mai mare decât cel al speciilor care pot fi cultivate în laborator. La această concluzie au ajuns cercetătorii în domeniul ecologiei cu ajutorul microbiologiei moleculare, a cărei practici în ecologie o constituiau studiile cu privire la bacteriile cu rol de depoluator (Watanabe Kazuya, Baker W. Paul – *REVIEW Environmentally Relevant Microorganisms* – Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 89,

2000). Bineînțeles, cea mai importantă funcție ecologică atribuită microorganismelor o constituie cea de descopunător alături de alte organisme superioare. Interacțiunea dintre aceștia în același modul trofodinamic al unei într-o piramide trofice este descris de trei cercetători biologi.

Studiul realizat de către doi cercetători din Marea Britanie și unul din Portugalia, publicat în 1992, reflectă modul în care microorganismele și detritivorii depind una de cealaltă. Autorii și-au îndreptat atenția către două specii de detritivori: *Gammarus pulex* și *Asellus aquaticus*. În timp ce *Gammarus pulex* mărunțește interiorul frunzelor, *Asellus aquaticus* roade suprafața acestora, ceea ce indică strânsa legătură dintre detritivori și fungii filamentoși, cu a căror micelii pare a se hrăni acesta. Pe de altă parte legătura existentă între *Gammarus pulex* și fungi, ține de efectul pe care îl au microorganismele asupra frunzelor. Citând unele studii din acest domeniu, autorii amintesc că preferințele în materie de hrană, în cazul detritivorilor, țin de tipurile de frunze, de tipul de fungi ce colonizează frunzele și de timpul de incubare. Autorii subliniază lipsa datelor în ceea ce privește corelația dintre "preferințele alimentare" ale detritivorilor și acțiunea fungilor asupra frunzelor.

Studiul a constatat în analiza modalităților de hrănire a detritivorilor în ceea ce privește prezența fungilor filamentoși la suprafața frunzelor. Rezultatele studiului au sugerat existența următorilor factori în determinarea acțiunilor detritivorilor:

- a) Capacitățile diferite ale fungilor de a elimina diverse substanțe chimice
- b) Capacitatea fungilor de a sintetiza micronutrienți
- c) Producția de micotoxine
- d) Abilitatea detritivorilor de a utiliza ezimele fungilor

(M.A.S. Graca, L. Maltby, P. Calow – *Importance of fungi in the diet of Gammarus pulex and Asellus aquaticus I: feeding strategies*, 1992)

În afara acestui rol, de descompunător, de la baza piramidei trofice, microorganismele își regăsesc câte o funcție în fiecare componentă a unui sistem ecologic, fie că ajută la demararea unor procese, fie că le sporește eficacitatea sau din contră, împiedică elaborarea unor reacții naturale, necesare, microorganismele nu pot fi privite ca elemente dispensabile. Am putea spune că ele reprezintă piesele de detaliu, care pot face diferența între o stare sau alta a unui sistem ecologic.

Domeniul în care microbiologia ca știință influențează cel mai mult dezvoltarea socială este industria alimentară. Microorganismele joacă un rol foarte important la acest nivel, acestea fiind utilizate ca agenți alimentari înainte ca organismele microbiene să fie cunoscute ca atare, acum câteva mii de ani (pentru producerea vinului, a brânzeturilor, a pâinii sau, mai târziu, a berii). Acum, utilizarea organismelor microbiene în industria alimentară, și nu numai, a dus la dezvoltarea de tehnologii care să le descopere și să le amplifice potențialul. Scopul biotehnologiilor alimentare este de a descoperi noi surse de nutrienți, dar mai ales metode prin care aceste surse pot deveni disponibile circuitului energetic. În acest sens, microorganismele au un rol foarte important, majoritatea având capacitatea de a reintegra în circuitul unui ecosistem substanțele din care rezultă energia necesară menținerii acestuia. Biotehnologiile alimentare pot interveni în aceste tipuri de procese pentru a impulsiona metabolismul anumitor compuși cu formarea altora. Astfel, un studiu realizat de către un grup de cercetători din China, Tailanda și SUA, demonstrează felul în care, intervenția antropică asupra unui ecosistem acvatic a dus la îmbunătățirea producției de pește. Studiul a pornit de la imposibilitatea organismelor nerumegătoare de a prelua fosforul din acidul fitic. Peștii se află într-o astfel de situație, iar problema acumulării de fosfor în ecosistemele acvatice, a determinat încă de acum două decenii utilizarea fitazei de origine microbială. Fitaza reprezintă enzima care hidrolizează acidul fitic și separă astfel fosforul de acid – fosforul devine astfel disponibil pentru a fi utilizat de către organismele acvatice și reintră astfel în circuitul ecosistemului.

Primul microorganism care a fost utilizat pentru producerea fitazei în acest scop este fungul *Aspergillus niger* și a fost introdus pe piață în anul 1991. După jumătatea anilor '90 din ce în ce mai multe studii s-au îndreptat în direcția descoperirii influenței fitazei în dezvoltarea biomasei diferitelor specii pe pești (ex: păstrăv, somn, crap, somon). Fitaza era folosită în alimentația peștilor prin pulverizare peste granulele de mâncare sau prin pretratarea hranei.

Fitaza este într-adevăr larg răspândită în lumea întregă, fiind existentă în majoritatea organismelor animale, vegetale sau microbiene. Ultimele două au o rată de sintetizare a enzimei mult mai mare decât cea a organismelor animale. Eficiența prelevării fitazei din plante este cu 60% mai scăzută decât în cazul microorganismelor și datorită ușurinței de prelucrare în laborator, organismele microbiene au fost preferate pentru astfel de proceduri biotehnologice. Astfel au fost utilizați în majoritate fungi filamentoși din ordinele *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.* și *Cladosporium sp.* "Naufos" a fost prima fitază disponibilă în comerț în 1991 – după această specie, activitatea fitazei, capacitatea acesteia de a separa fosforul de acidul fitic a fost definită ca *unitate fitază* (engl. "fitaze unit") – FTU. FTU se definește ca fiind cantitatea de enzimă necesară pentru a elibera un micromol de fosfor anorganic pe minut din 0,0015 mol/l fitat de sodiu la pH 5,5 și 37°C. Această definiție ajută la contorizarea eficacității fitazei provenită din diferite surse. În ultimii 15 ani au fost identificate și caracterizate și alte specii de microorganisme care sintetizează fitază (*Schwanniomyces occidentalis*, *Pichia anomala*, *Arxula adenivorans*, bacteria gram-negativă precum *Escherichia coli* sau *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.* și bacterii gram-pozitive cum ar fi diferite specii de *Bacillus sp.*)

Activitatea fitazei a fost descoperită acum aproape un secol, prin plantele de orez, dar abia în anul 1962, în America de Nord a fost inițiată utilizarea ei în alimentație.

Importanța ecologică a acestei specii biochimice poate fi descrisă prin faptul că, antrenând preluarea fosforului pe către organismele animale, acesta nu mai este eliminat în mediu, drept pentru care problema îmbogățirii apelor un fosfor poate fi atenuată printr-o metodă eficientă de hrănire a peștilor. Cercetătorii trec în revistă factorii ce determină activitatea fitazei, subliniind importanța unui pH optim și a unei temperaturi potrivite pentru realizarea hidrolizei acidului fitic. Studiile ulterioare au scos în evidență diferențele unei diete ce cuprindea doar fitază de origine microbiană față de una care integra proteine de origine vegetală. Din această perspectivă s-a observat că peștii pot lua în greutate în cazul unei alimentații care să conțină proteină de origine vegetală, dar în cazul alimentației ce conținea fitază, datele au fost inconsistente. Cu toate acestea, într-un studiu interprins de Li și Robinson, în care hrana peștilor conținea fitază, animalele astfel hranite au crescut în greutate, în timp ce în alte astfel de experimente nu s-a observat nici o schimbare.

Concluziile acestui articol susțin necesitatea îmbogățirii cunoștințelor cu privire la condițiile necesare realizării hidrolizei în intestinul peștilor și la doza optimă de fitază necesară pentru a dezlocui fosforul din acidul fitic. (Cao Ling, et al. 2007)

Un alt studiu, realizat de data aceasta de 5 cercetători din Australia și un iranian și publicat în anul 2007, a scos în evidență necesitatea, dar mai ales beneficiul cunoașterii condițiilor fizico-chimice de desfășurare a digestiei. Studiul s-a bazat pe o tulpină microbiană nou descoperită în Australia.

Bacteria *Propionibacterium jensenii* 702 denumită în cadrul experimentului PJ702, a fost introdusă direct în hrana vițelilor nou-născuți cu scopul de a crește capacitatea organismului de a asimila substanțele hranitoare, și astfel, la sfârșitul experimentului s-a constatat o luare medie în greutate de 21,3 kg/ individ, față de indivizii care nu au fost supuși experimentului. Experimentul a început prin colectarea a 24 de viței din rasa Holstein-Friesian, în vârstă de o săptămână. Au fost separați apoi în două categorii: "Control" și "Tratament". Hrana celor două grupuri a fost identică pe durata experimentului. Vitele din grupul T au fost hranite separat cu aproximativ 20 ml de hrană ce conținea inocul de PJ702, timp de 14 săptămâni. Concentrația de inocul bacterian depindea de greutatea fiecărui

animal în parte. Bilunar se realiza o analiză a fecalelor pentru a confirma tranzitul intestinal. La un interval de 28 de zile, vitelor li se colecta sângele pentru analize. Toți parametrii hematologici și biomedicali s-au păstrat aceiași în primele 12 săptămâni ale experimentului.

După oprirea experimentului, vitele hranite cu inocul de PJ702 au continuat să crească în același ritm timp de 18 săptămâni.

Înainte de demararea experimentului, bacteria *Propionibacterium jensenii* 702 a fost supusă testelor de determinare a patogenității și s-a demonstrat siguranța medicală a utilizării acestei tulpini microbiene.

Aceste două studii demonstrează felul în care microorganismele intervin în ușurarea rolului macroorganismelor în ciclul lor de viață. Astfel de experimente sunt derulate pentru a se contoriza felul în care practicile din domeniul alimentar pot fi îmbunătățite prin utilizarea unor metode noi determinate științific. În continuare vom trece în revistă felul în care, diversitatea microorganismelor este reflectată și de variile metode în care acestea pot fi utilizate în biotehnologiile alimentare. După cum am vorbit și până acum despre sporirea bimasei unor viței sau cea a peștilor, metabolismul microorganismelor poate fi în așa fel "manageriat" astfel încât multe alte facilități pot rezulta în urma acestui proces: extragerea de diverși compuși – pigmenți (coloranți alimentari naturali), enzime sau lipoproteine utile în biotehnologii alimentare (Laurent Dufosse' et. al. 2005), folosirea microorganismelor pentru împiedicarea formării de micotoxine (Prathapakumar Halady Shetty and Lene Jespersen, 2006) ceea ce implică totodată și utilizarea lor ca factori naturali pentru conservarea alimentelor (Haizhen Mo, Yang Zhu and Zongmao Chen, 2008).

Unul din domeniile interesante în care au fost decoperite alte roluri benefăcătoare ale microorganismelor, este cel al conservării alimentelor, și spun interesant, deoarece vinovate de alterarea alimentelor sunt vinovate tot aceste viețuitoare, evident, din grupe taxonomice diferite. Pentru protejarea alimentelor față de microorganisme, oamenii de știință au venit cu câteva soluții, altele decât refrigerarea, dintre care mai spectaculoase ar fi: tratarea produselor alimentare cu pulsații electrice, folosirea de plasmă la temperatură ridicată, utilizarea dioxidului de clor sau a elementelor metabolizate de unele organisme microbiene în timpul fermentării ceaiului.

Articolul celor trei oameni de știință chinezi Haizhen Mo, Yang Zhu and Zongmao Chen, (2008) scoate în evidență felul în care unele culturi de bacterii folosite pentru prepararea ceaiului – cea mai cunoscută băutură chinezească și totodată și cea mai consumată la nivel mondial – s-au dovedit a fi responsabile de secretarea unor substanțe cu rol de conservant alimentar. Studiile ulterioare au demonstrat că modul de preparare al ceaiurilor este cu precădere important pentru ca bacteriile să-și poată sintetiza substanțele cu rol de conservant. În studiu s-au considerat următoarele bacterii patogene și cu rol în alterarea mâncărilor, asupra cărora s-au efectuat testele: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella sp.* și *Staphylococcus aureus*. *Bacillus subtilis* a fost tulpina cea mai puțin sensibilă, în timp ce *Pseudomonas fluorescens* a demonstrat cel mai înalt grad de sensibilitate față de substanțele conservante eliminate de bacterii în prepararea și fermentarea ceaiurilor. Modul de preparare a ceaiurilor este unul complex și care uneori durează destul de mult – până la câteva săptămâni – de aceea mult timp s-a considerat că ceea ce determină fermentarea ceaiului sunt bacteriile. Analizele biochimice au demonstrat că în derularea procesului fermentativ intervin și o serie de drojdii și fungi, care sunt mult mai probabili cauza secretării substanțelor cu rol de conservanți. Se consideră totuși că nu culturile pure fermentează, ci pentru derularea acestui proces sunt interdependente. Încă se lucrează la indentificarea conservanților de origine microbială, produși prin fermentarea ceaiului. (Haizhen Mo, Yang Zhu and Zongmao Chen, 2008, p.128)

Alături de acest mod de conservare alimentară am putea lua în calcul viziunea unor oameni de știință cu înclinații spre domeniul fizicii. Australienii Jason Wan, John Coventry, Piotr Swiergon,

Peerasak Sanguansri și Cornelis Versteeg, (2009), vorbesc despre o modalitate alternativă în privința conservării alimentelor, dintre care una ce nu presupune factorul termic – utilizarea pulsațiilor câmpurilor electrice – sau plasma cu temperatură scăzută. Metoda pulsațiilor unui câmp electric presupune utilizarea unui câmp electric cu pulsații de intensitate mare care să stopeze activitatea microorganismelor. Această metodă poate fi folosită la conservarea alimentelor lichide la o temperatură scăzută, față de alte procese de preservare ce presupun încălzirea alimentelor, sau normală (<60°C). Avantajul acestei metode este că nu modifică cu nimic gustul sau culoarea alimentelor. Dezavantajul este că prin această metodă nu sunt inactivați și sporii bacterieni. Cea de-a doua metodă presune utilizarea plasmăi încălzite până la miide grade Celsius, ceea ce determină sterilizarea. Plasma se referă la orice gaz neutru, care este ionizat. Această ionizare se poate realiza prin aplicarea unei energii de ordin electric, termic, magnetic, unde radio sau microunde de o anumită frecvență. Metoda este deja utilizată pentru sterilizarea ustensilelor de laborator, în special a celor din plastic ce nu rezistă proceselor tradiționale ce implică o temperatură ridicată.

Utilizarea dioxidului de clor pentru preservarea alimentelor semipreparate, poate suna improbabil și poate crea consumatorului o stare de nesiguranță față de produsele pe care le consumă, însă dioxidul de clor este cel folosit pentru tratarea apelor în sistemele de canalizare urbane. Este o substanță ale cărei efecte de înălbire și rol de oxidant o fac comună uzului uman. Cercetările care au adus această substanță aproape de utilizarea ei în preservarea alimentelor, au demonstrat felul în care această acționează asupra microorganismelor. S-au demonstrat astfel acțiuni antivirale, faptul că poate distruge și sporii de *Cryptosporidium parvum*, dar nu până la un nivel sigur. Distruge deasemenea și celule vegetative, dar și spori de *Bacillus cereus*. Diferiți factori patogeni au fost eliminați din fructe, după ce acestea au fost infectate prin inoculare, dar nu s-a obținut o eliminare completă a bacteriilor. (Vicente M. et. al. 2009)

În comparație cu modul de conservare alimentară actual și cele trei tipuri propuse, tind să cred că o rată mai mare de acceptabilitate în rândul oamenilor o va avea metoda asociată preparării ceaiului. În lume se observă o tendință spre alimentele de tip "BIO", când oamenii vor să mănânce din ce în ce mai sănătos și totodată mai natural. Este posibil ca metoda conservării prin impulsuri electrice să stârnească o doză de scepticism cu privire la modul în care pot fi afectate alimentele în urma unui astfel de tratament și să fie asociată cu o modalitate nenaturală de a acționa asupra alimentelor. Microorganismele au avantajul de a fi înțelese ca prezente oriunde, drept pentru care sunt acceptate ca naturale.

O altă alternativă de utilizare a microorganismelor în industria alimentară, dar și în cea farmaceutică, o reprezintă capacitatea acestora de a sintetiza pigmenți. Extragerea de pigmenți naturali de origine microbiană este o practică ce începe să devină din ce în ce mai căutată, datorită interesului oamenilor pentru o alimentație naturală. Multe companii farmaceutice europene sau cele interesate de dezvoltarea biotehnologiilor alimentare au făcut investiții serioase în cercetare pentru descoperirea unor astfel de coloranți alimentari. Aceste practici sunt corelate la nivel legislativ în funcție de locul în care sunt puse în practică (Laurent Dufosse' et. al. 2005). Spre exemplu, un colorant foarte des utilizat în Asia nu este permis pe piețele europene sau pe cele americane – se consideră periculos pentru sănătate, deși contrariul a fost demonstrat. Este vorba despre pigmentul *Monascus*, din care se produce colorantul alimentar "Anka". Acesta este extras din fungul *Monascus*, gen care cuprinde trei specii: *pilosus*, *purpureus* și *ruber*. Pigmenții *Monascus* sunt în realitate metaboliți fungici, denumiți azaphiloni. Azaphilonii și monascinele sunt pigmenți galbeni, rubropunctatinele și monascorburinele sunt portocalii, iar rubropunctaminele și monascorubraminele sunt mov. Caracteristicile chimice ale acestor pigmenți sunt reprezentate prin solubilitate scăzută în apă, sensibilitate crescută față de căldură

și luminează și printr-o instabilitate într-un mediu cu pH cuprins între 2 și 10. În ceea ce privește solubilitatea lor în apă, s-au încercat o serie de experimente biochimice pentru a le face solubile.

Un alt pigment extras în urma metabolismului microbial este Roșu Arpink (Arpink Red). Acesta este produs de fungul *Penicillium oxalicum*, și este folosit atât în industria alimentară cât și în cea farmaceutică. O altă tulpină ale aceleiași specii – *Penicillium oxalicum var. Armeniaca CCM 8242*, și care este obținută din sol, dă un pigment din clasa anthraquinonelor. O altă utilizare a altor tulpini ale aceleiași specii este aceea de agent biologic de control al *Fusarium sp.* Care provoacă vestejirea roșiilor atât în seră, cât și pe câmp deschis.

Pigmenții carotenoizi pot fi extrași din microalge, dar această specie biochimică nu este singura produsă de aceste microorganisme, algele fiind utilizate și ca surse de carbohidrați, proteine, aminoacizi esențiali, vitamine și chiar de molecule bioactive. Taxonomiștii au clasificat alegele în funcție de culoare lor – verzi, roșii, albastre, maro – iar majoritatea includ pigmenți precum clorofila a, b și c, β-caroten, ficocianină, xantofilă și ficoeritrină. ”Toți acești pigmenți au un potențial foarte mare de utilizare în industria alimentară, farmaceutică sau cosmetică.” (Laurent Dufosse’ et. al. 2005, pag. 394).

Oamenii de știință, prin combinarea genelor unor microorganisme cu proprietăți diferite, au obținut noi tipuri de pigmenți carotenoizi, care nu s-au regăsit în natură, cel puțin până în prezent. Acești pigmenți sunt cei multi-hidroxilați și sunt considerați a fi foarte eficienți ca antioxidanți, în ceea ce privește consumul uman.

Colorantul roz-fluorescent este obținut din microalga roșie *Porphyridium-phycobiliproteins*. Extractele din acest organism sunt de o mare importanță terapeutică, biochimicalele conținând polizaharide cu proprietăți antiinflamatorii și antivirale, acizi grași nesaturați cu catene lungi, carotenoizi – precum zeaxantinul și ficobiliproteine fluorescente.

Culoarea bleumarin poate fi obținută ca și colorant alimentar din microalga roșie *Porphyridium-phycoyanin*, care mai conține și polizaharide sulfanate, pigmenți carotenoizi și lipide. Acest pigment este unul foarte rezistent – într-un experiment rezistând pe un tort ani la rând. Acest pigment nu a fost încă autorizat să fie produs la scară industrială, și încă nu există pe piață. Oricum, alte experimente realizate pe alte microalge roșii nu au indicat existența vreunui efect advers. Autorii articolului pun accent pe faptul că ar trebui demarate studii care să demonstreze siguranța acestui pigment pentru uzul uman, astfel încât să poată înlocui coloranții sintetici. (Laurent Dufosse’ et. al. 2005).

Industria alimentară nu este bazată numai pe aspect, astfel încât unii cercetători și-au îndreptat atenția către studierea felului în care microorganismele sunt implicate în determinare gustului alimentelor. Cel mai important aliment – pâinea – are la bază un ingredient microbial – drojdia. În procesul fermentativ al aluatului intră diferite specii de microorganisme, atât drojdiile cât și bacterii acido-lactice, care sunt responsabile de gustul produsului final. Felul în care aceste microorganisme metabolizează carbohidrații reprezintă cel mai important factor ce determină gustul pâinii. Prin adăugarea de diferite enzime exogene (din afara microorganismelor) în procesul de preparare a aluatului, cercetătorii au observat schimbări ale gustului acestui aliment. Felul de preparare a pâinii are un rol major în caracterizarea gustului final. De obicei aluatul primar este lăsat la crescut câteva ore, uneori o noapte întreagă, pentru ca drojdiile să fermenteze cât mai mult, astfel încât aluatul capătă aspect spongios, crescând tot mai mult. După aceasta fază se adaugă și restul de făină și ingrediente suplimentare (masline, semințe de diferite soiuri, etc.) după care se mai lasă un pic la crescut și abia apoi se coace. În compoziția aluatului primar pot intra, cum am menționat mai sus, și bacterii acido-lactice; dintre acestea, specifice pentru acest domeniu se cunosc mai bine de 50 de specii, cele mai

multe din genul *Lactobacillus*. Majoritatea drojdiilor care se folosesc pentru prepararea pâinii sunt din genurile *Saccharomyces* și *Candida*.

Studiul a fost realizat pe mai multe specii de drojdii, în combinație cu bacteriile acido-lactice și s-a urmărit ce substanțe sunt folosite pentru a fermenta diferiți compuși prezenți în faina umedă. Drojdiile folosite au fost: *Saccharomyces cerevisiae*; *Candida krusei*, *Candida norvegensis*, *Saccharomyces exiguous*, și *Hansenula anomala*. Componentele chimice s-au urmărit a fi fermentate au fost: Acidul lactic, acidul acetic, etanol, etil-acetați, acetaldehide, Benzenaldehide, diacetili, hexene, heptene, și unii derivați ai acestora. Se consideră că într-un aluat raportul dintre conținutul de drojdii și cel de bacterii acido-lactice trebuie să fie de 100:1, pentru o activitate optimă a ambelor specii microbiene. Spre exemplu, deși drojdia *Saccharomyces exiguus* domină procesul de fermentație, această specie nu poate metaboliza maltoza, iar creșterea acestei levuri se face pe baza glucozelor eliberate în mediu de către bacteriile acido-lactice. În schimb, levurile funcționează ca surse de electroni și fructoză pentru bacterii.

Există două tipuri de componente care sunt responsabile de gustul produselor de panificație. Prima categorie include componente non-volatile, ce includ acizii organici produși de către bacteriile homo- și heterofermentative, care au rolul de a acidifia mediul, scăzând pH-ul și astfel conferind un gust specific. A doua categorie este reprezentată de "componentele volatile și include alcoolii, aldehidele, cetonele, esterii și specii chimice pe bază de sulf. Toți acești produși sunt obținuți în timpul fermentației și contribuie la definirea gustului aluatului." (Salim-ur-Rehman, Alistair Paterson și John R. Piggott, 2006). Trebuie menționat că și tipul făinii folosite pentru obținerea aluatului are un rol semnificativ în crearea gustului, prin felul în care microorganismele interacționează cu componentele sale.

Așa cum am observat, în industria alimentară foarte importante sunt microorganismele care au capacitatea de a sintetiza metaboliți pe care omul sa-i poată apoi folosi în diferite produse. Un astfel de produs este matinolul, un poliol (alcoolul unui glucid cu șase atomi de carbon), care este foarte mult utilizat în industriile alimentară, chimică și în cea farmaceutică. Are un gust dulce, dar nu este metabolizat în totalitate de către organismul uman. Nu crește glicemia, deși este un glucid, și de aceea este recomandat în dieta diabeticilor, fiind utilizat la nivel industrial pentru producerea de produse alimentare pentru diabetici. Poate deasemenea să reducă valoarea calorică a unui produs care îl conține, drept pentru care este utilizat și în produse recomandate în cazul dietelor pentru pierdere în greutate. Matinolul are și un oarecare rol conservant, în sensul că nu permite celorlalte zaharuri să se cristalizeze (să se zaharisească), și de aceea este utilizat în fabricarea produselor alimentare care sunt destinate să ocupe rafturile magazinelor mai mult timp, dar și în produsele cosmetice, prelungindu-le valabilitatea. "În medicină manitolul este utilizat ca un diuretic puternic, și în multe intervenții chirurgicale este utilizat pentru a preveni cedarea rinichilor." (Miia Helanto et. al. 2005) Acest compus biochimic a atras după sine formarea unei adevărate pieți economice, având în vedere larga sa utilizare și prețul crescut – un kilogram costă 79,16 \$ (S.M. Ghoreishi și R. Gholami Shahrestani, 2009)

Legătura acestui compus cu lumea microbială o reprezintă capacitatea micilor viețuitoare de a sintetiza acest glucid sau de a-l metaboliza. În continuare vom discuta diferite metode prin care acest produs este sintetizat/produs de către microorganismele – metode biotehnologie dezvoltate de oamenii de știință, în vederea sporirii capacității de obținere a matinolului. O astfel de metodă inovativă pune în prim-plan microorganismele capabile să sintetizeze acest compus din diferiți alți compuși, care pentru organismele microbiene reprezintă sursă de hrană. Avantajele acestei metode, față de metoda de sintetizare a metanolului prin reacții chimice, sunt reprezentate prin faptul că fructoza este convertită în totalitate în manitol, nu se formează compuși secundari nedorți și care să fie greu de îndepărtat, condiții nepretențioase de lucru și faptul că nu necesită medii de creștere pure. De cele mai multe ori

matinolul este obținut prin metabolizarea fructozei de către unele alge – cum ar fi *Caloglossa leprieurii* (S.M. Ghoreishi și R. Gholami Shahrestani, 2009). O bacterie care nu putea însă metaboliza fructoza, dar putea sintetiza manitol, a fost modificată genetic, obținându-se o tulpină mutantă, care a fost apoi capabilă să crească pe medii cu fructoză. Această bacterie mutantă – *Leuconostoc pseudomesenteroides* BPT143 – crește mai repede pe mediu cu fructoză decât bacteria inițială – *Leuconostoc pseudomesenteroides* ATCC12291, care se dezvoltă pe mediu cu fructoză și glucoză, producând astfel mai mult matinol. (Miia Helanto et. al. 2005)

Lumea microbiană este foarte diversă, și această caracteristică este dată și de faptul că microorganismele au o capacitate foarte mare de a se adapta la mediul în care se găsesc, chiar dacă acolo nu există întotdeauna resursa nutritivă de care au nevoie. Din acest motiv, identificarea corectă a organismelor microbiene care pot realiza o anumită funcție necesară într-un proces industrial, este foarte dificilă. O metodă alternativă care să răspundă acestei cerințe o reprezintă hibridizarea fluorescentă in-situ. Această metodă inovativă, propusă de oamenii de știință ajută la identificarea microorganismelor în mediul lor natural, astfel, problemele survenite în urma manipulării acestora în laborator sunt eliminate. Metoda presupune identificarea organismelor microbiene după ARN-ul ribozomal (ARNr) și se bazează pe hibridizări. Aceasta se realizează în trei pași: fixarea și permeabilizarea probei, hibridizarea, spălarea pentru eliminarea particulelor eliberate, nedorite a fi analizate și analizarea celulelor marcate astfel la microscop.

Pentru folosirea microorganismelor la scară industrială, sunt folosite bioreactoarele, mașinării specializate în a crea microorganismelor mediul propice dezvoltării. Aceste bioreactoare sunt folosite într-o multitudine de procese industriale, dintre care multe nu presupun utilizarea de specii microbiene în cadrul procesului. Totuși, și aici, în interiorul acestor bioreactoare, se dezvoltă microorganisme. Acestea sunt supuse unor condiții extreme de viață, ai căror parametri pot varia între valori extreme (pH 2 – 9; 20 – 42°C). Cercetările care s-au efectuat au presupus prelevarea de probe de apă uzată provenită din bioreactoare. Ideea era să găsească în aceste probe microorganisme care se adaptaseră condițiilor procesului, și astfel se presupune că utilizarea lor în acele procese ar ușura desfășurarea lor. Studiile ”au arătat că microorganismele provenite din apa uzată a bioreactoarelor sunt mai simplu de izolat și se adaptează mai ușor ca biocatalizatori industriali, decât microorganismele care se dezvoltă pe medii naturale extreme.” (Michael G. Bramucci și Vasantha Nagarajan, 2000) Minusul acestei descoperiri este acela că acest tip de microorganisme nu sunt foarte elocvent caracterizate. Cu toate acestea, se așteaptă ca prin această metodă să nu se mai piardă timp cu izolarea microbiană, ca până acum.

Microbiologia este o ramură tânără a biologiei, însă avansul rapid al tehnologiilor biologice au reprezentat și rampa de lansare a acestei științe, detreminând implicarea microbiologiei și în științele de mediu. Într-o analiză a modului în care microbiologia și-a pus amprenta în ecologie, se specifică importanța pe care microorganismele încep să o primească la nivel global, din perspectiva impactului lor asupra mediilor în care acestea se dezvoltă. Astfel, oamenii de știință au considerat unele specii de microorganisme mai importante, numindu-le Microorganisme cu Importanță pentru Mediu (Environmentally Relevant Microorganisms) ERM-uri. Scopul acestui articol a fost să treacă în revistă utilitățile pe care le prezintă cunoașterea biologiei unor astfel de organisme, dar mai ales să sublinieze limitele existente. Articolul a fost publicat în 1999 și pune accentul pe importanța combinării cunoștințelor din domeniul ecologiei moleculare și metodele fiziologice de identificare a microorganismelor importante din punct de vedere ecologic. Prin aceste căi se pot dezvolta biotehnologii care se pună în valoare capacitatea microorganismelor de a reduce problemele de nivel ecologic cu care ne confruntăm. (Watanab Kazuya și Paul W. Baker 2000)

În domeniul ecologiei, poate mai important la prima vedere decât domeniul alimentar, o reprezintă capacitatea microorganismelor de a putea fi utilizate și ca factori depoluanți. Curățirea

mediului de poluanți de către microorganisme este considerată a fi preferabilă metodelor de curățire fizice sau tratamentelor chimice, pentru că, pe lângă costurile scăzute și efectele negative mult reduse, prin această metodă poluanții sunt degradați până la nivel anorganic (CO_2 , H_2O , cationi și anioni, etc.), în timp ce în cazul depoluării fizice sau chimice (vaporizare, absorbție sau extracție) poluanții sunt doar transferați într-un alt compartiment.

Perspectiva pare a fi o idee bună, însă indentificarea microorganismelor cu astfel de proprietăți este ceea ce pune cele mai mari piedici în acest sens. O problemă majoră în lucrul cu microorganismele prelevate direct din mediul lor natural de viață este că acestea prezintă o plasticitate ecologică foarte mare, ele reușind să se adapteze pe medii diverse, și de aceea, rezultatele obținute în laborator nu pot fi conclusive pentru caracterizarea dezvoltării și supraviețuirii acestora în mediul lor de viață. Un minus în plus îl reprezintă faptul că microorganismele au o legătură foarte stransă cu mediul pe care se dezvoltă, drept pentru care, într-un mediu natural, este foarte greu să se identifice toate substanțele/agenții care contribuie sau inhibă dezvoltarea microorganismelor. O soluție enunțată de oamenii de știință ar putea fi legarea cunoștințelor și datelor venite din laborator de cele empirice, însă, cunoștințele insuficiente legate de biologia și ecologia microorganismelor este o altă barieră în facilitarea utilizării acestor viețuitoare în diferite activități antropice.

Bibliografie:

1. **Adams M.C., Luo J., Rayward D., King S., Gibson R., Moghaddam G.H.** - *Selection of a novel direct-fed microbial to enhance weight gain in intensively reared calves* – Animal Feed Science and Technology, 145, pag.41–52, 2008
2. **Amann Rudolf, Bernhard M Fuchs, Sebastian Behrens** – *The identification of microorganisms by fluorescence in situ hybridization* - Current Opinion in Biotechnology, Vol. 12, p. 231–236, 2001
3. **Bramucci Michael G., Vasantha Nagarajan** - *Industrial wastewater bioreactors: sources of novel microorganisms for biotechnology* - Trends in Biotechnology, Volume 18, Issue 12, Pages 501-505, 1 December 2000
4. **Cao Ling, Weimin Wang, Chengtai Yang, Yi Yang, James Diana, Amaratne Yakupitiyage Zhi Luo, Dapeng Li** - *Application of microbial phytase in fish feed* – Enzyme and Microbial Technology, Vol. 40, p.497–507, 2007
5. **Dufosse Laurent, Patrick Galaup, Anina Yaron, Shoshana Malis Arad, Philippe Blanc, Kotamballi N. Chidambara Murthy, Gokare A. Ravishankar** - *Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality?* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 16, p. 389–406, 2005
6. **Fox M.B., D.C. Esveld, R.M. Boom** - *Conceptual design of a mass parallelized PEF microreactor* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 18, p. 484 - 491, 2007
7. **Ghoreishi S.M., R. Gholami Shahrestani** – *Innovative strategies for engineering mannitol production* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 20, p. 263 – 270, 2009
8. **Gomez-Lopez Vicente M., Andreja Rajkovic, Peter Ragaert, Nada Smigic, Frank Devlieghere** - *Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review* - Trends in Food Science & Technology 20, p. 17 - 26, 2009
9. **Graca M.A.S., L. Maltby, P. Calow** - *Importance of fungi in the diet of Gammarus pulex and Asellus aquaticus I: feeding strategies* – Oecologia 93, p. 139-144, 1993
10. **Helanto Miia, Johannes Aarnikunnas, Niklas von Weymarn, Ulla Airaksinen, Airi Palva, Matti Leisola** - *Improved mannitol production by a random mutant of Leuconostoc pseudomesenteroides* - Journal of Biotechnology, Vol. 116, p. 283–294, 2005
11. **Mo Haizhen, Yang Zhu, Zongmao Chen** – *Microbial fermented tea e a potential source of natural food preservatives* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 19, p. 124 – 130, 2008
12. **Rehman-ur-Salim, Alistair Paterson, John R. Piggott** - *Flavour in sourdough breads: a review* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 17, p. 557 – 566, 2006
13. **Shetty Halady Prathapkumar, Lene Jespersen** – *Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents* - Trends in Food Science & Technology, Vol. 17, p. 48–55, 2006

- 14. Wan Jason, Coventry John, Swiergon Piotr, Sanguansri Peerasak, Versteeg Cornelis -**
Advances in innovative processing technologies for microbial inactivation and enhancement of food safety e pulsed electric field and low-temperature plasma – Trends in Food Science & Technology, Vol.20, p.414 – 424, 2009

- 15. Watanab Kazuya, Paul W. Baker – REVIEW – Environmentally Relevant Microorganisms –**
Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 89, No. 1, Pag. 1-11 , Japan, 2000