

**MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII
AL REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U: 579.22/.67/.86:637.146

CARTAȘEV ANATOLI

**TULPINI AUTOHTONE NOI DE *STREPTOCOCCUS
THERMOPHILUS* ȘI UTILIZAREA LOR PENTRU
FABRICAREA PRODUSELOR LACTATE FERMENTATE**

167.01 - BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice

CHIȘINĂU, 2018

Teza a fost elaborată în cadrul Direcției Tehnologii Alimentare a Institutului Științifico-practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din Republica Moldova și în cadrul Departamentului de Microbiologie, Biologie Moleculară și Biotehnologie al Institutului de Cercetare a Alimentelor al Centrului Național de Agricultură și Produse Alimentare din Bratislava, Slovacia, precum și în condiții de producere la fabrica de brânzeturi SA „Scucces” și Compania „JLC Group” Republica Moldova.

Conducător științific:

Rudic Valeriu doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician, Om Emerit al Republicii Moldova

Consiliul Științific Specializat D 09.167.01 – 03 din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie, abilitat cu dreptul de a organiza susținerea tezei, a fost aprobat de către Consiliul de Conducere al ANACEC prin decizia nr. 7 din 11.05.2018, în următoarea componență:

Usatfi Agafia **președinte**, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător
Codreanu Svetlana **secretar științific**, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător
Strurza Rodica doctor habilitat în științe tehnice, profesor universitar
Chirsanova Aurica doctor în științe tehnice, conferențiar universitar
Chiselita Oleg doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

Referenți oficiali:

Burțeva Svetlana doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

Rubțov Silvia doctor în științe tehnice, conferențiar universitar, Universitatea Tehnică din Moldova

Susținerea va avea loc la _____, ora _____ în ședința Consiliului Științific Specializat D 09.167.01-03 la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, mun. Chișinău, str. Academiei 1, biroul 352.

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală a Academiei de Științe a Moldovei „A. Lupan”, la Biblioteca Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare și pe pagina web www.cnaa.md.

Autoreferatul a fost expediat la _____ 2018

Secretar științific al Consiliului Științific Specializat

Codreanu Svetlana doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

Conducător științific

Rudic Valeriu doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

Autor

Cartașev Anatoli

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța cercetărilor. Procesele tehnologice bazate pe activitatea microorganismelor au semnificație deosebită pentru biotehnologia modernă, strâns legată de evidențierea și selectarea microorganismelor noi cu proprietăți specifice, ceea ce presupune o creștere a diversității produselor biotehnologice. Streptococii termofili și lactococii mezofili sunt cele mai utilizate culturi bacteriene pentru fabricarea produselor lactate fermentate la scară industrială [1]. Pentru ameliorarea proprietăților reologice ale produselor lactate fermentate și extinderea duratei lor de păstrare sunt utilizate diferite sisteme stabilizatoare, deseori modificate chimic. În acest sens, în ultimii ani, o mare atenție se acordă tulpinilor care sintetizează exopolizaharide (EPS) cu potențial de utilizare în calitate de sursă naturală de aditivi alimentari, ceea ce ameliorează parametrii reologici ai produselor lactate și contribuie la aderarea microorganismelor probiotice la pereții intestinali [2]. Interesul crescând față de bacteriile lactice termofile, se datorează în mare măsură și dezvoltării industriei laptelui, atât pe plan mondial, cât și în Republica Moldova, prin elaborarea și fabricarea produselor lactate fermentate noi, fapt ce necesită îmbogățirea colecțiilor de microorganisme cu noi tulpini de bacterii lactice de interes biotehnologic.

Situația în domeniul de cercetare. Cercetarea tulpinilor noi de bacterii lactice de perspectivă, izolarea, identificarea și caracterizarea lor este un subiect mereu actual în biotehnologie și în special în industria laptelui, bacteriile lactice din specia *S. thermophilus* prezentând interes atât din punct de vedere fundamental cât și aplicativ. Importanța industrială a bacteriilor lactice a inițiat o gamă largă de cercetări privind genetica, biochimia și biofizica acestui grup de microorganisme. Interesul cercetătorilor față de aceste microorganisme termofile a crescut în ultimii ani și datorită necesității de valorificare a tulpinilor noi de bacterii lactice în calitate de tulpini starter. În Republica Moldova până în prezent această tendință se reliefează slab, exprimându-se printr-un nivel insuficient de utilizare a culturilor starter autohtone.

Scopul cercetării expuse în prezenta lucrare constă în izolarea, identificarea și evaluarea caracteristicilor fiziologo-biochimice și biotehnologice ale unor tulpini noi de *S. thermophilus*, selectate în vederea elaborării culturilor starter autohtone și utilizării lor la fabricarea produselor lactate fermentate.

Obiectivele cercetărilor:

1. Izolarea în cultură pură a bacteriilor lactice tipice speciei *S. thermophilus* din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova;
2. Identificarea fenotipică și genotipică a tulpinilor izolate și evidențierea tulpinilor cu potențial biotehnologic înalt pentru industria laptelui;

3. Stabilirea parametrilor optimi de cultivare și păstrare în condiții industriale a tulpinilor producătoare de exopolizaharide din specia *S. thermophilus*;
4. Elaborarea și testarea în condiții de producere a culturilor starter autohtone în baza asociațiilor mixte de tulpini noi de bacterii lactice pentru fabricarea lactatelor fermentate.

Metodologia cercetării științifice. Pentru realizarea lucrării au fost utilizate: metode clasice și moderne de izolare, identificare și caracterizare a bacteriilor lactice din specia *S. thermophilus*; metode standardizate stipulate în documentația tehnico normativă (SM, GOST, ISO) pentru determinarea indicilor de calitate a culturilor starter și a iaurtului; metode matematice de planificare a experimentelor și prelucrare statistică a datelor.

Noutatea și originalitatea științifică. Au fost propuse pentru industria produselor lactate tulpini **noi** de bacterii lactice termofile cu potențial biotehnologic înalt, izolate din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova. În baza tulpinilor selectate au fost elaborate culturi starter autohtone **noi** pentru prepararea iaurtului ce se caracterizează prin activitate înaltă de fermentare a laptelui.

Problema științifică importantă soluționată în lucrare. Au fost selectate și descrise tulpini noi de bacterii lactice din specia *S. thermophilus*, ceea ce a condus la elaborarea culturilor starter autohtone cu potențial biotehnologic înalt pentru industria de procesare a laptelui, fapt ce a permis eficientizarea procesului de fabricare a produselor lactate fermentate.

Semnificația teoretică constă în acumularea de date noi referitor la biodiversitatea tulpinilor autohtone de *S. thermophilus* din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova; argumentarea științifică a perspectivei utilizării culturilor starter autohtone de bacterii lactice termofile pentru prepararea iaurtului. Aplicarea tehnicilor de biologie moleculară pentru identificarea tulpinilor studiate de *S. thermophilus* au demonstrat relevanța tehnicilor Rep-PCR și FT-IR pentru identificarea speciilor de bacterii lactice din surse naturale.

Valoarea aplicativă a lucrării constă în elaborarea culturilor starter autohtone pentru fabricarea lactatelor fermentate în baza asociațiilor mixte de tulpini noi de bacterii lactice, depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene, precum și elaborarea documentului tehnico-normativ „Instrucțiunea Tehnologică IT MD 67-0041795-079:2016 Culturi bacteriene concentrate liofilizate pentru produsele lactate fermentate. Condiții tehnice”.

Rezultatele științifice de bază înaintate spre susținere.

1. Tulpinile autohtone noi de bacterii lactice din specia *S. thermophilus* izolate din lapte și produse lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova, posedă potențial biotehnologic valoros.

2. Mediul de protecție elaborat, cu o compoziție optimă a ingredientelor, asigură pe durata procesului de liofilizare și depozitare îndelungată menținerea viabilității și proprietăților biotehnologice ale tulpinilor noi de *S. thermophilus*.
3. Asocierea culturilor din cadrul speciei *Streptococcus thermophilus*, precum și includerea lor în asociații simbiote de rând cu specia *Lactobacillus bulgaricus*, permite obținerea unor culturi starter multiple echilibrate destinate fabricării iaurtului.
4. Culturile starter autohtone producătoare de exopolizaharide contribuie la ameliorarea proprietăților fizico-chimice și caracteristicilor texturale ale laptelui degresat fermentat.

Implementarea rezultatelor științifice. Tehnologia propusă a fost implementată în condiții de producere în serie la SA „JLC” (lot experimental de iaurt) și la SA „Succes” (lot experimental de produs de brânză).

Aprobarea rezultatelor. Materialele expuse în teză au fost prezentate și discutate în cadrul următoarelor manifestări științifice: Международная Конференция Молодых Ученых, Новосибирск, Россия, 2017, 2016; The III-d International Conference of Modern Technologies in the Food Industry (Chișinău 2016, 2012); The 3rd International Conference on Microbial Biotechnology (Chișinău, 2016); Sibiu Alma Mater University Conference (Sibiu, România, 2013); Simpozionul „Agricultura Modernă – Realizări și Perspective” al Universității Agrare de Stat din Moldova (Chișinău, 2013); Conferința Tehnico-Științifică a Colaboratorilor, Doctoranzilor și Studenților (Chișinău, 2012); International Conference of Young Researchers, 9ed. (Chișinău, 2011), precum și la Sloanele Internaționale de Inventică: EUROINVENT (Iași, România, 2018, 2017), IV UGAL INVENT (Galați, România, 2017) și INFOINVENT (Chișinău, 2015). Rezultatele tezei au fost discutate și aprobate în cadrul ședinței extinse a laboratorului Ficobiotehnologie al IMB cu participarea cercetătorilor Colecției Naționale de Microorganisme Neapatogene și ai laboratorului Biotehnologii Alimentare al Institutului Științifico-practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din 10 noiembrie 2017 și Seminarului Științific de Profil 167.01 Biotehnologie, bionanotehnologie din 19 ianuarie 2018.

Publicații la tema tezei. Rezultatele cercetărilor efectuate au fost publicate în 21 de lucrări științifice, inclusiv articole în reviste recenzate și de circulație internațională cu factor de impact, brevet de invenție de scurtă durată MD-865 din 2015.01.31, Cerere de brevet de invenție de scurtă durată S. 2017 0090 din 07.08.2017.

Volumul și structura tezei. Teza constă din 4 capitole; are un volum de bază de 131 pagini; conține 29 tabele, 44 figuri. 13 anexe. Lista surselor bibliografice citate include 169 titluri.

Cuvintele cheie: *Streptococcus thermophilus*, tulpini autohtone, cultură starter, exopolizaharide, iaurt.

CONȚINUTUL TEZEI

1. BACTERIILE LACTICE DIN SPECIA *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* ȘI UTILIZAREA LOR ÎN INDUSTRIA LAPTELUI

Primul capitol al lucrării include analiza realizărilor științifice în domeniul studiului și valorificării practice a bacteriilor lactice, în special a speciei *Streptococcus thermophilus*, în baza a 169 lucrări relevante publicate de cercetătorii din acest domeniu. Prima parte a capitolului este dedicată cercetărilor privind istoria taxonomică și particularitățile fiziologice și biotehnologice specifice bacteriilor din specia *S. thermophilus*. A doua parte a capitolului 1 este consacrată culturilor starter, clasificării lor, utilizării bacteriilor lactice de *S. thermophilus* pentru fabricarea produselor lactate fermentate și include multiple informații despre rolul tulpinilor de *S. thermophilus* în procesul de fabricare a sortimentului vast de produse lactate fermentate.

2. OBIECTELE DE STUDIU ȘI METODELE APLICATE ÎN CERCETARE

În calitate de obiecte de studiu au fost incluse: tulpinile autohtone de bacterii lactice din specia *S. thermophilus* care au fost izolate din habitat natural – lapte și produsele lactate fermentate din diferite regiuni ale Republicii Moldova; tulpina de referință *S. thermophilus* A737 din Colecția Cehă de Microorganisme (Brno, Republica Cehă); tulpinile de *S. thermophilus* 1241 și *Lactobacillus casei* 4791 din colecția Departamentului de Microbiologie, Biologie Moleculară și Biotehnologie al Institutului de Cercetare a Alimentelor din cadrul Centrului Național de Agricultură și Produse Alimentare din Bratislava, Slovacia; tulpinile tip de referință *Escherichia coli* (ATCC® 25922™) și *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923™) oferite de către laboratorul specializat al Centrului Național de Sănătate Publică al MSMPS al Republicii Moldova.

Pentru realizarea lucrării au fost utilizate metode clasice și moderne de izolare și identificare a bacteriilor lactice din specia *S. thermophilus*, efectuate în laboratorul Biotehnologiei Alimentare din cadrul Direcției Tehnologii Alimentare a IP Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare (Republica Moldova). Cercetările de identificare moleculară a tulpinilor autohtone izolate: spectroscopia în infraroșu cu transformantă Fourier (FTIR), analiza secvențelor genomice repetate (Rep-PCR) au fost realizate în cadrul Departamentului de Microbiologie, Biologie Moleculară și Biotehnologie al Institutului de Cercetare a Alimentelor al Centrului Național de Agricultură și Produse Alimentare din Bratislava, Slovacia. Cercetările consacrate determinării indicilor de calitate a culturilor starter și a iaurtului au fost efectuate conform metodelor standardizate stipulate în documentația tehnico normativă (SM, GOST, ISO).

Prelucrarea statistică a datelor privind rezultatele a 3-5 repetări obținute s-a efectuat prin calcularea mediei, deviației standard și intervalului de încredere pentru o medie. Interpretarea grafică a rezultatelor a fost efectuată cu ajutorul *MO Excel* și *SigmaPlot 11.0*.

3. SELECTAREA TULPINILOR NOI DE *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

La prima etapă de cercetare a fost realizată izolarea culturilor pure de bacterii lactice din specia *S. thermophilus*. Au fost prelevate probe de lapte crud și produse lactate de fermentare spontană în 12 regiuni ale Republicii Moldova: Dondușeni, Edineț, Florești, Soroca, Ungheni, Orhei, Chișinău, Anenii Noi, Căușeni, Taraclia, Cahul, Vulcănești. Au fost studiate circa 300 probe, din care au fost obținute 7 izolate bacteriene cu proprietăți caracteristice speciei *Streptococcus thermophilus*. Selectarea tulpinilor autohtone de *S. thermophilus* a fost efectuată în conformitate cu schema prezentată în Figura 1.

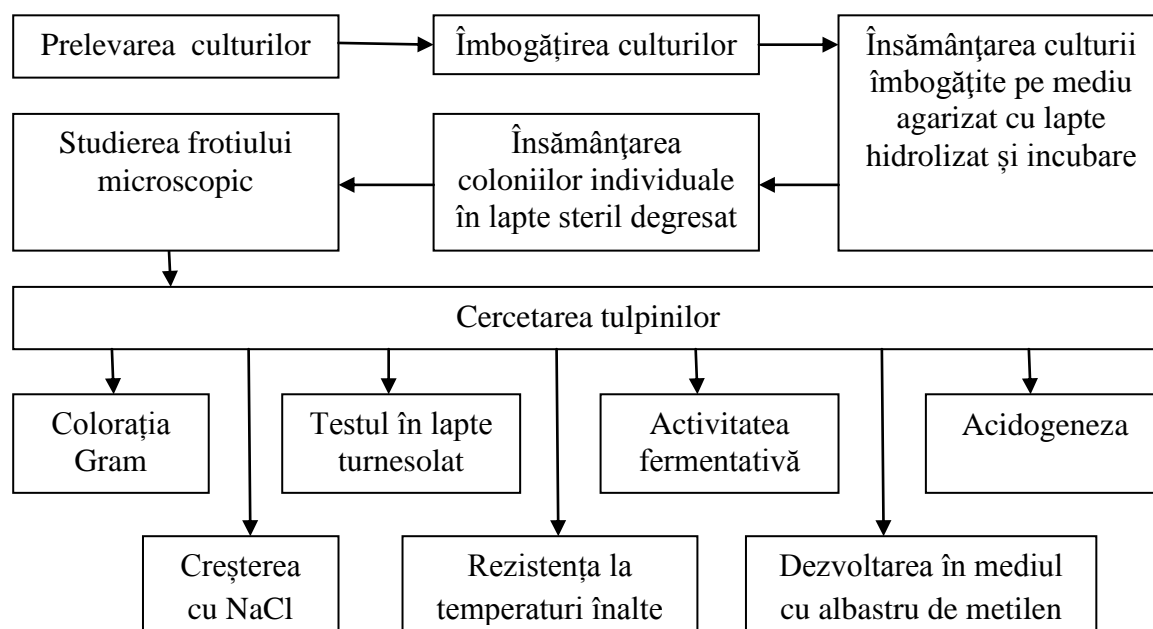


Fig. 1. Schema etapelor de selectare a tulpinilor de *S. thermophilus* de importanță biotehnologică pentru industria produselor lactate

Studiul proprietăților morfologice ale bacteriilor din specie *S. thermophilus* a inclus evaluarea următorilor parametri: forma și localizarea celulelor, mobilitatea acestora, dimensiunea, caracteristica colorării după Gram. Microscopia izolatelor de bacterii lactice termofile a arătat, că toate tulpinile noi izolate din diferite regiuni ale Republicii Moldova sunt Gram pozitive, prezintă coci plasați în lanțuri de diferite lungimi, ceea ce este caracteristic speciei *S. thermophilus* [3].

Rezultatele microscopiei cu obiectiv cu imersie (puterea de mărire 100x) sunt reprezentate în figura 2.

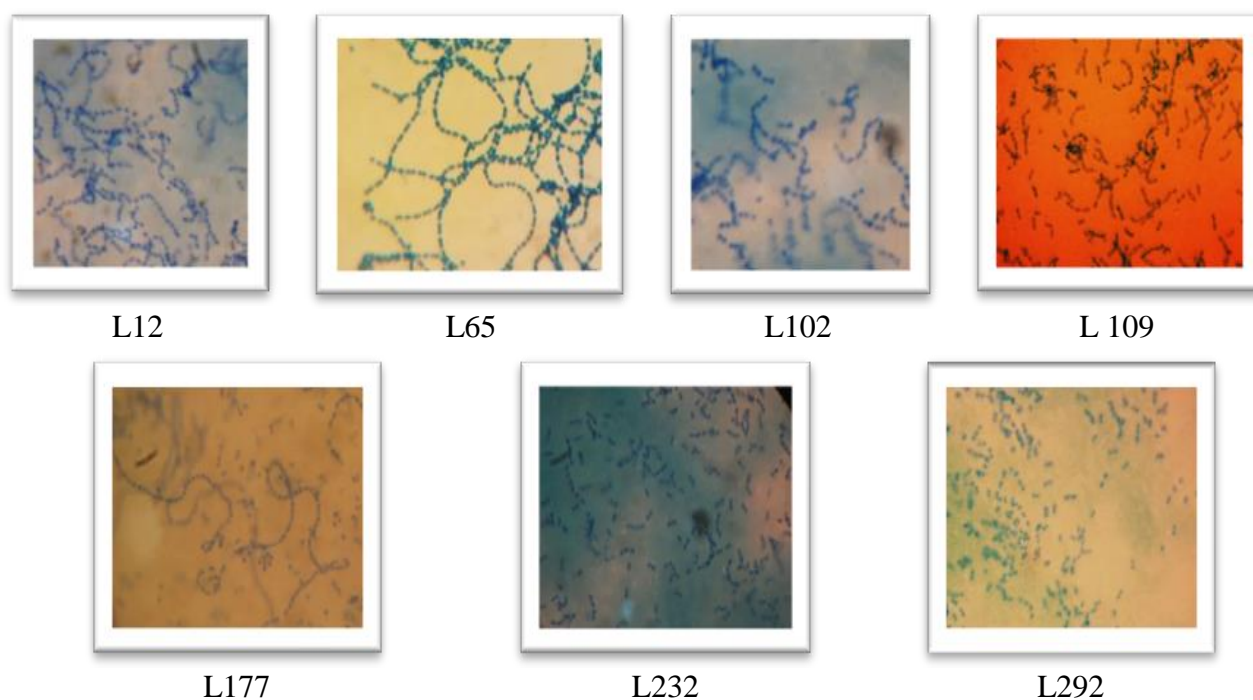


Fig. 2. Aspectul microscopic al tulpinilor, Microscopie optică- obiectiv 100 x

Studiul proprietăților fiziologo-biochimice ale culturilor a demonstrat că bacteriile selectate posedă însușiri caracteristice tulpinilor de *Streptococcus thermophilus*: nu produc catalaza, rezistă la temperatura de 60 °C timp de 30 min, nu cresc pe mediu cu 4% NaCl, dar se dezvoltă la concentrația de 2% de clorură de sodiu, nu sunt rezistente la 0,1% albastru metilen și în mediul cu pH 9,2, au viteză înaltă de acidifiere a laptelui timp de 6 ore [4].

Aceste rezultate indică necesitatea efectuării testului de fermentare a carbohidraților de către tulpinile selectate - o etapă crucială la identificarea bacteriilor lactice, pentru că fiecare tulpina poate asimila un număr limitat de surse de carbon [5]. Rezultatele acestui test sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelulul 1. Fermentarea hidraților de carbon de către tulpinile lactice izolate

Numărul tulpinii	Hidrocarburi										
	Glucoză	Lactoză	Zaharoză	Galactoză	Ramnoză	Maltoză	Rafinoză	Manoză	Sorbită	Glicerină	Esculină
L 12	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 65	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 102	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 109	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 177	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 232	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L 292	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Notă: + fermentează; - nu fermentează

Analizând datele prezentate în tabelul 1, putem observa că tulpinile fermentează lactoza, glucoza și zaharoza. Toate tulpinile cercetate nu au fermentat esculina, ceea ce reprezintă un argument în plus în favoarea apartenenței tulpinilor studiate la specia *S. thermophilus* [4].

După izolarea și identificarea tulpinilor de bacterii lactice prin teste tradiționale, statutul taxonomic și variabilitatea intraspecifică a 5 tulpini de *S. thermophilus* selectate au fost verificate prin aplicarea următoarelor tehnici: *Amplificarea fragmentelor ADNr 16S* cu utilizarea reacției de polimerizare în lanț (PCR- Polimerase Chaine Reaction) folosind primeri specifici; *Amplificarea secvențelor repetitive la nivelul ADN cromozomial prin tehnica Rep-PCR* și *Spectroscopia în infraroșu cu transformantă Fourier (FTIR)*. Analiza profilurilor electroforetice ne permite să afirmăm, ca toate tulpinile au generat în gel o bandă comună, de aproximativ 600 bp și că similaritatea secvențelor genelor ADNr 16S ale celor 5 tulpini analizate constituie 99% (fig. 3).

Ulterior a fost realizat studiul secvențelor repetate prin analiza profilurilor electroforetice obținute în urma amplificării prin PCR cu primerul specific GTG₅. În rezultatul amplificării secvențelor repetitive la nivelul ADN cromozomial prin tehnica Rep-PCR și măsurărilor efectuate s-a obținut o dendrograma reprezentată în figura 4, ce confirmă capacitatea secvențelor genomice repetate de a diferenția tulpinile de bacterii lactice. Prezența sau absența benzilor electroforetice a dus la o asociere a tulpinilor în grupuri, evidențiind similaritatea acestora.

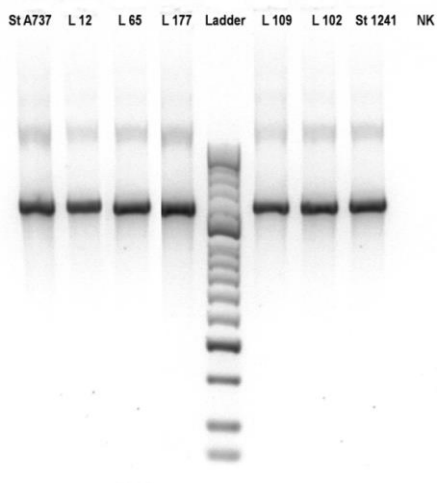


Fig. 3. Electroforeza în gel ADNr16S

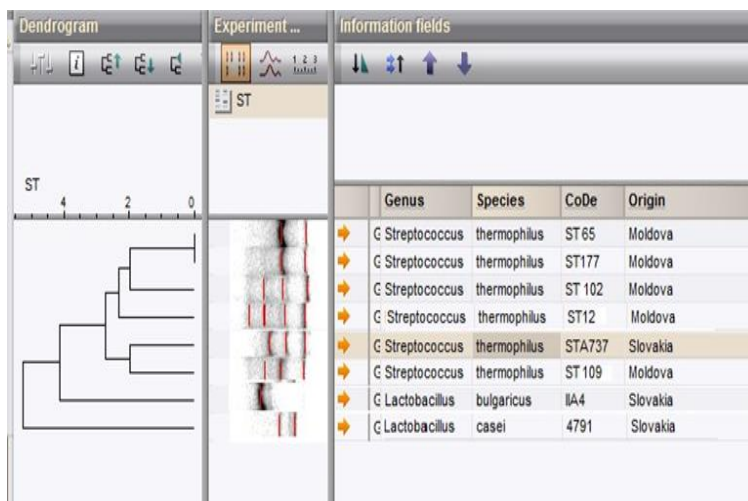


Fig. 4. Dendrograma generală pe baza profilurilor electroforetice obținute în urma amplificării PCR a secvențelor genomice repetate cu primer-ul GTG₅. Scara exprimă similaritatea în unități relative

Caracterizarea bacteriilor lactice autohtone *S. thermophilus* prin spectroscopia FT-IR sugerează că această metoda este potrivită pentru identificarea bacteriilor lactice.

Astfel, în urma cercetărilor au fost stabilite caracteristicile specifice ale tulpinilor autohtone de *S. thermophilus* cu ajutorul tehnologiilor de spectroscopie FTIR și PCR. Datele obținute au fost introduse în Baza de date a Departamentului de Microbiologie, Biologie Moleculară și Biotehnologie al Institutului de Cercetare a Alimentelor în cadrul Centrului Național de Agricultură și Produse Alimentare din Bratislava, Slovacia, pentru studierea și efectuarea analizei comparative a tulpinilor din această specie.

Următoarea etapă a cercetării a fost consacrată determinării proprietăților tehnologice ale microorganismelor studiate, ținând cont de faptul că din sortimentul vast de produse alimentare consumatorii preferă acele produse, ce posedă caracteristici suplimentare, cum ar fi autenticitatea, beneficiile adiacente pentru sănătate, valoarea nutritivă, gustul neobișnuit etc.

Activitatea fermentativă a tulpinilor de bacterii lactice (exprimată în timp, în care cultura este capabilă să aciduleze laptele) este cel mai important parametru tehnologic de apreciere a tulpinilor pentru utilizarea lor în producere [6]. Activitatea înaltă de acidogeneză mărește eficiența economică a producerii. De aceea a fost necesar de a se stabili timpul, pe durata căruia tulpinile de bacterii lactice autohtone selectate coagulează laptele (fig. 5).

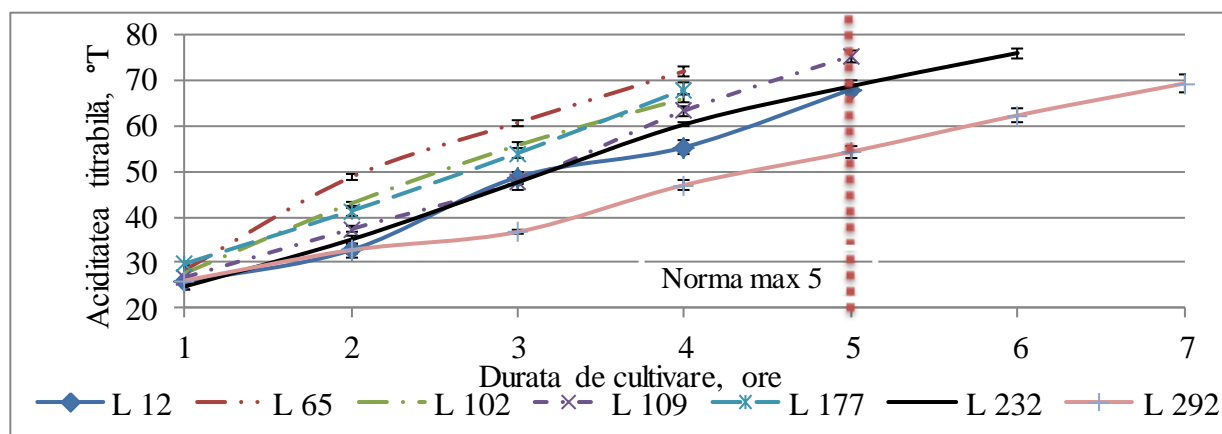


Fig. 5. Viteza de fermentare a laptelui de către tulpinile în studiu

Analiza datelor experimentale (fig. 5) demonstrează, că tulpinile de *S. thermophilus* L 12, L 65, L 102, L 109, L 117 au manifestat viteză înaltă de acidulare a laptelui. Aceste tulpini răspund cerințelor pentru bacteriile lactice termofile, conform cărora activitatea fermentativă a tulpinilor nu trebuie să depășească 6 ore. Pe când tulpinile L 232 și L 292 au fermentat laptele în $6,5 \pm 0,5$ ore și $7,0 \pm 0,5$ ore respectiv, astfel depășind limita rezervată pentru streptococii termofili în fabricarea produselor lactate fermentate.

Efectuându-se analizele microbiologice ale probelor de lapte fermentat cu tulpini de bacterii lactice a fost determinat numărul de microorganisme într-un 1 ml de lapte steril degresat fermentat. Rezultatele obținute privind acest parametru sunt prezentate în fig. 6. S-a stabilit că, titrul de microorganisme viabile a fost la nivel 10^{10} UFC în 1 ml de lapte fermentat de tulpinile

L 12, L 65, L 102, L 177 și 10^9 UFC·mL⁻¹ în cazul tulpinii L 109, ceea ce reprezintă valori înalte comparativ cu 10^7 UFC·mL⁻¹ pentru tulpina L 232 și 10^6 UFC·mL⁻¹ pentru tulpina L 292, ceea ce este insuficient pentru utilizarea tulpinilor în calitate de culturi starter pentru obținerea produselor lactate [7].

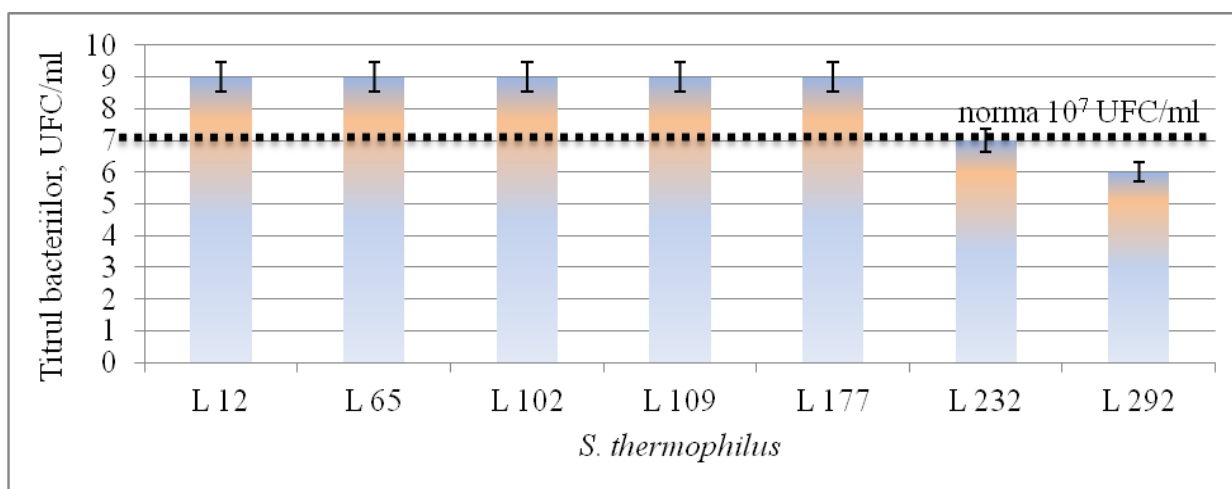


Fig. 6. Titru bacteriilor lactice studiate

Activitatea fermentativă joasă și titru insuficient în laptele fermentat, manifestate de către tulpinile L 232 și L 292 caracterizează aceste izolate ca fiind culturi slabe pentru a fi utilizate la fabricarea produselor lactate fermentate și, prin consecință, aceste tulpini au fost eliminate din studiile ulterioare.

În continuare au fost cercetate proprietățile antimicrobiene ale tulpinilor studiate față de microflora patogenă și condiționat patogenă prezentă deseori la fabricarea produselor lactate. În calitate de culturi de referință au fost utilizate tulpinile de *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ și *Escherichia coli* ATCC® 25922™. Rezultatele cercetărilor privind activitatea antagonista a culturilor de bacterii lactice sunt prezentate în tabelul 3.

Analizând datele, putem concluziona că activitatea antagonistă împotriva microorganismelor patogene a tulpinilor de *S. thermophilus* este considerabilă [8, 9]. Zona de inhibiție variază între 16 și 18 mm față de *E. coli* și 19-21 mm față de *S. aureus*, ce permite inhibarea dezvoltării infecțiilor intestinale. Aceste rezultate confirmă valoarea tulpinilor autohtone, care s-au dovedit mai active față de tulpinile descrise de alți autori [10].

Tabelul 3. Proprietățile antimicrobiene ale tulpinilor de bacterii lactice studiate

Codul tulpinii	Cultura de referință	
	<i>E. coli</i> ATCC® 25922™	<i>S. aureus</i> ATCC® 25923™
	Diametrul zonei de inhibiție, mm	
L 12	16,0±0,6	17,0±1,0
L 65	18,6±0,6	20,0±0,6
L 102	16,3±0,6	17,0±1,1
L 109	16,0±1,0	20,0±0,6
L 177	15,7±0,5	20,0±0,6

Capacitatea de a sintetiza exopolizaharide (EPS) la streptococii termofili este considerată o caracteristică biotehnologică importantă, care, pe de o parte, contribuie la îmbunătățirea viscozității și texturii produsului în procesul de fabricare a unor produse lactate fermentate, cum ar fi iaurturile, iar pe de altă parte protejează celulele bacteriene de efectele adverse ale factorilor externi, cum ar fi modificările fizice și chimice ale mediului, impactul altor bacterii și al bacteriofagilor etc. Utilizarea în calitate de culturi starter a tulpinilor producătoare de EPS din specia *S. thermophilus* face posibilă obținerea unei consistențe mai dense a produselor lactate, fără necesitatea folosirii agenților de îngroșare și stabilizatorilor.

Inițial, tulpinile au fost estimate vizual după lungimea firului filant al coagulului prezentat în figura 7.

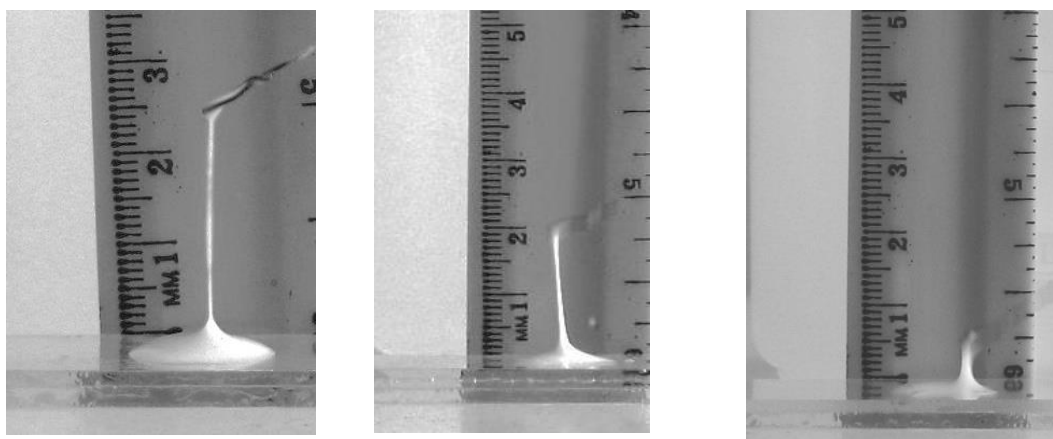


Fig. 7 Aprecierea vizuală a firului filant al coagulului format de culturile:

a) L 177; b) L 65; c) L 102 (Autor foto Cartășev A.) [16]

Rezultatele investigațiilor asupra capacității de sinteză a EPS-lor și proprietăților coagulului format de culturile studiate sunt prezentate în tabelul 4. Analiza datelor obținute demonstrează, că tulpinile studiate formează coagulul cremos sau viscos, cu sau fără eliminarea de zer. În decursul cercetărilor s-au evidențiat 2 tulpini producătoare de EPS: L 65 și L 177. În cazul tulpinii L 102, cantitatea de EPS sintetizate este mică. Celelalte 2 tulpini nu produc EPS, sau cantitatea lor fiind foarte mică, ele co-precipită cu proteinele la adăugarea acidului tricloracetic și nu mai pot fi detectate la precipitarea cu etanol.

Tabelul 4. Sinteza EPS și caracteristica coagulului format sub acțiunea bacteriilor lactice

Codul tulpinii	Consistența coagulului format	Cantitatea EPS mg/100 g	Sinereză, cm ³
L 12	cremoasă	0,0	1,3±0,1
L 65	vâscoasă	43,6±1	0,0
L 102	cremoasă	2,4±0,5	0,8±0,1
L 109	cremoasă	0,0	1,7±0,2
L 177	vâscoasă	52,1±1	0,0

Astfel, din cele 5 tulpini autohtone de bacterii lactice termofile din specia *S. thermophilus* izolate din produse lactate naționale de fermentare spontană au fost identificate 2 tulpini cu activitate înaltă și stabilă de producere a EPS-lor, ce contribuie la formarea unui coagul corespunzător cerințelor tehnice pentru iaurt și care pot servi drept alternativă pentru stabilizatorii utilizați în industria laptelui.

Cercetările efectuate demonstrează posibilitatea de selectare din surse autohtone a tulpinilor de bacterii lactice cu potențial tehnologic natural (nemodificate genetic) și de utilizare a lor la fabricarea produselor lactate sigure pentru consum [6].

În baza investigațiilor efectuate și a rezultatelor obținute, cele mai valoroase tulpini selectate de bacterii din specia *S. thermophilus* au fost depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu atribuirea numerelor de colecție, după cum urmează:

- *Streptococcus thermophilus* L 177 depozitat cu numărul CNMN LB – 50;
- *Streptococcus thermophilus* L 65 depozitat cu numărul CNMN LB – 51;
- *Streptococcus thermophilus* L 12 depozitat cu numărul CNMN LB – 52;
- *Streptococcus thermophilus* L 102 depozitat cu numărul CNMN LB – 53;
- *Streptococcus thermophilus* L 109 depozitat cu numărul CNMN LB – 54.

Tulpinile selectate au constituit obiectul cercetărilor ulterioare, orientate spre determinarea factorilor optimali de sporire a activității lor biotehnologice și de sinteză a componentelor valoroase.

Strategiile tradiționale pentru majorarea cantității de EPS bacteriene includ selecția tulpinilor producătoare de EPS și optimizarea condițiilor de cultivare. Succesul acestor strategii aplicate în cazul bacteriilor lactice este determinat de limitele fiziologice ale tulpinilor.

În continuarea cercetărilor realizate la acest capitol, a fost studiată dinamica multiplicării tulpinilor selectate, evoluția acidității titrabilă și sintezei EPS, în condiții de cultivare periodică a tulpinilor selectate în lapte degresat la temperaturile de 32 ± 1 °C și 40 ± 1 °C (fig. 8). Diagramele reprezentate arată că valoarea maximală a EPS-lor sintetizate la temperatura suboptimală (32 °C) a fost mai mare decât la temperatură optimală (40°C), reprezentând 19,4% pentru tulpină *S. thermophilus* CNMN-LB-50 și 23,8 % pentru *S. thermophilus* CNMN-LB-51. Modificarea temperaturii de cultivare influențează durata fazelor de dezvoltare și randamentul producerii metaboliților extracelulari de către aceste tulpini.

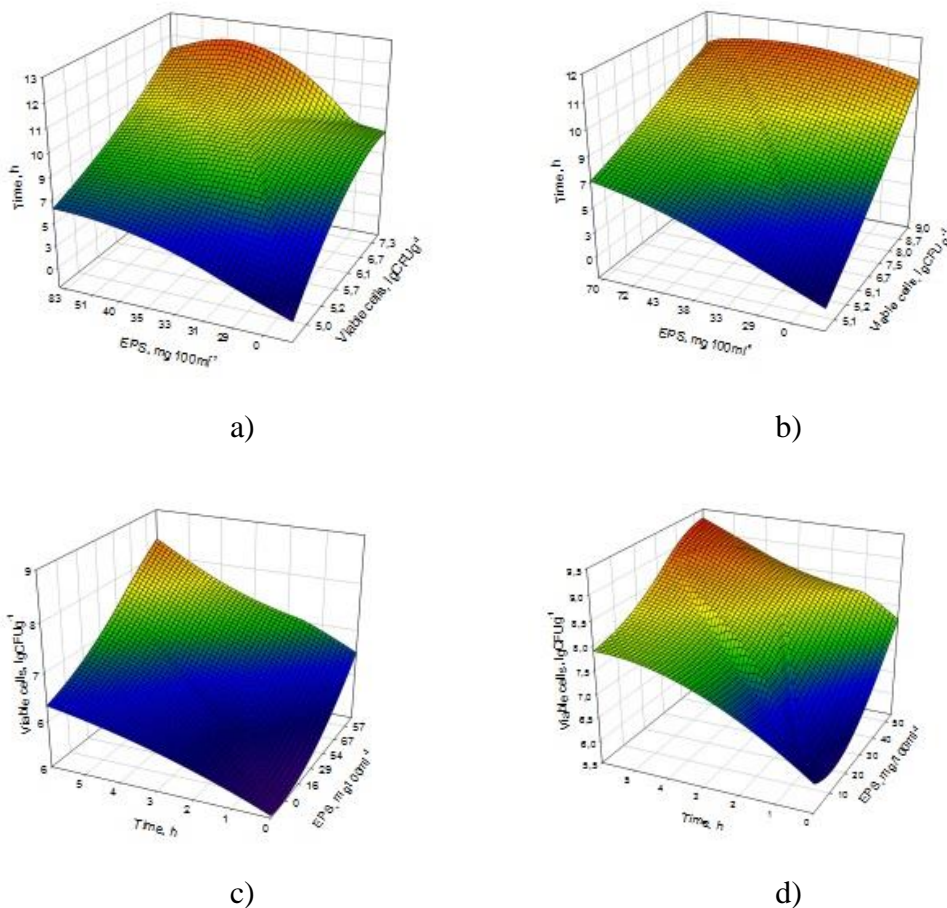


Fig. 8. Evoluția numărului de bacterii lactice viabile și a cantității de EPS în funcție de timpul cultivării la temperatura de $32\pm 1^\circ\text{C}$ (a,b) și $40\pm 1^\circ\text{C}$ (c,d): **a, c** – *S. thermophilus* CNMN-LB-50; **b, d** – *S. thermophilus* CNMN-LB-51

Experimental au fost stabiliți parametrii biotehnologici optimi ai culturilor de bacterii lactice producătoare de EPS, care asigură un randament înalt de obținere a EPS-lor și unui număr mare de celule viabile. Pentru a stimula sinteza EPS în condiții industriale la fabricarea produselor lactate fermentate fără a modifica temperatura, mediul nutritiv trebuie suplimentat cu zaharoză în cantitate de 8%. În condiții industriale tulpinile autohtone de *S. thermophilus* CNMN-LB-50 și CNMN-LB-51 produc cantități suficiente de EPS pentru îmbunătățirea calității produselor lactate, ceea ce permite excluderea substanțelor stabilizatoare din procesul tehnologic [11].

4. APLICAREA TULPINILOR SELECTATE DE *S. THERMOPHILUS* ÎN COMPOZIȚIA CULTURILOR STARTER

Rezultatele cercetărilor efectuate și descrise la Capitolul 3 al lucrării de față au stat la baza elaborării tehnologiei de fabricare a culturilor starter liofilizate de bacterii lactice, care este descrisă în Instrucțiunea tehnologică privind fabricarea culturilor bacteriene liofilizate pentru

produsele lactate fermentate conform SM 307 „Culturile bacteriene liofilizate pentru produsele lactate fermentate”.

În vederea elaborării acestei tehnologii, au fost parcurse următoarele etape:

1. Optimizarea mediului de protecție pentru liofilizarea tulpinilor de *S. thermophilus*;
2. Elaborarea asociațiilor simbiotice de bacterii lactice termofile autohtone pentru fabricarea iaurtului;
3. Includerea culturilor starter elaborate în procesul tehnologic de fabricare a iaurtului;
4. Determinarea termenului de valabilitate a iaurtului fermentat cu aplicarea culturilor starter autohtone;
5. Studiul de fezabilitate economică a utilizării culturilor starter autohtone în procesul tehnologic de preparare a produselor lactate fermentate.

Optimizarea mediului de protecție pentru liofilizarea bacteriilor lactice a fost realizată prin elaborarea modelelor matematice adecvate privind calculul indicelui de viabilitate a tulpinilor liofilizate, luând în considerație toate interacțiunile posibile între agenții de protecție utilizați. În calitate de crioprotectori în componența mediilor de protecție pentru conservarea tulpinilor *S. thermophilus*, au fost utilizați: glicerolul și citratul de sodiu - lioprotectori permeabili, gelatina și zaharoza – impermeabili, în soluția tampon de fosfați K_2HPO_4 și KH_2PO_4 cu pH 7,2.

După evaluarea numărului de celule viabile în fiecare din variantele experimentale, a fost alcătuită ecuația de regresie care descrie veridic ($p < 0,05$) în valori naturale modificarea viabilității bacteriilor lactice în funcție de conținutul substanțelor de protecție în mediul de liofilizare. Vizualizarea grafică a ecuației de regresie este reprezentată în figură 9.

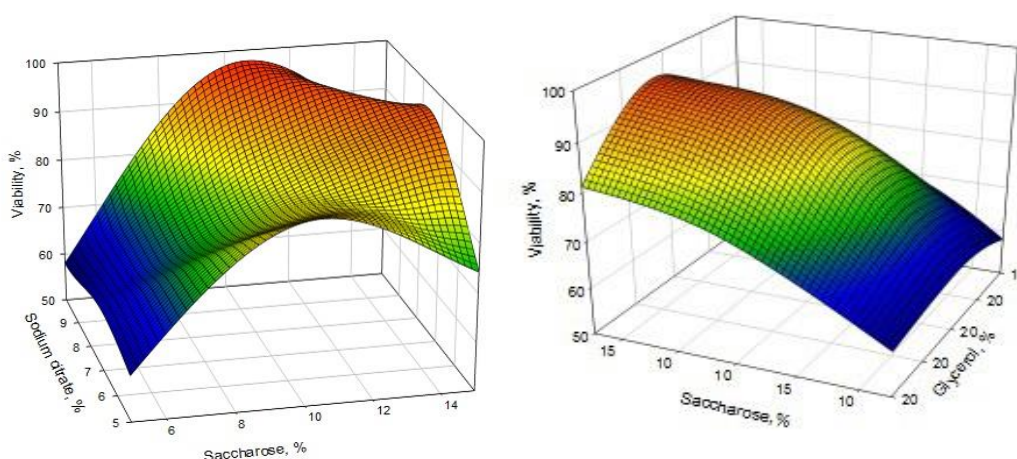


Fig.9. Reprezentarea grafică a modelului matematic de viabilitate a bacteriilor lactice din specia *S. thermophilus* după liofilizare în mediul protector: a) viabilitatea în funcție de zaharoză și citrat de sodiu; b) viabilitatea în funcție de zaharoză și glicerol

Analiza detaliată a modelului matematic ne permite să afirmăm, că zaharoza și citratul de sodiu au o influență semnificativă asupra viabilității culturilor de *S. thermophilus*, ceea ce contribuie și la păstrarea proprietăților lor biotehnologice importante [12].

În rezultatul cercetărilor efectuate a fost stabilită componența optimă a mediului protector pentru fabricarea concentratelor bacetriene: glicerină – 20%, zaharoză - 10-15%, citrat de sodiu – 7,5-10%, gelatină – 5%, adăugate la lapte degresat cu 16% de substanțe uscate [13].

În baza rezultatelor cercetărilor privind optimizarea mediului de protecție și uscare a biomasei tulpinilor *S. thermophilus*, a fost depusă cererea de brevet de invenție de scurtă durată S.2017 0090 din 2017.08.07 „Procedeul de obținere a concentratului bacterian uscat pentru fabricarea produselor lactate fermentate”.

Cercetările privind efectul liofilizării asupra indicilor biotehnologici (aciditatea activă, viscozitatea relativă, sinteza de EPS) au demonstrat la toate 5 tulpini autohtone de *S. thermophilus* o dinamică de reducere nesemnificativă a valorilor acestor parametri după 6 luni de depozitare, care după 3 pasaje ale culturilor în lapte degresat, revin la valorile inițiale, restabilind proprietățile valoroase ale tulpinilor la nivel inițial.

În continuare ne-am propus drept scop de a valorifica potențialul biotehnologic al tulpinilor selectate, prin includerea lor în asociații simbiotice de bacterii lactice pentru utilizarea lor în prepararea culturilor starter.

Au fost elaborate 7 asociații de tulpini în cadrul speciei *S. thermophilus*:

1. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-51;
2. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-52;
3. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-53;
4. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-54;
5. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-51 + *S. thermophilus* CNMN-LB-52 + *S. thermophilus* CNMN-LB-53;
6. Cultura cu EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-51 + *S. thermophilus* CNMN-LB-54;
7. Cultura fără EPS - *S. thermophilus* CNMN-LB-52 + *S. thermophilus* CNMN-LB-53 + *S. thermophilus* CNMN-LB-54.

Asociațiile au fost studiate conform indicilor biotehnologici. Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în tabelul 5, conform cărora, cele mai reușite combinații pentru fabricarea iaurtului sunt **nr. 1** – *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-51, formează coagul filant cu aciditatea titrabilă moderată $68 \pm 1^\circ\text{T}$, **nr. 2** – *S. thermophilus* CNMN-LB-50 + *S. thermophilus* CNMN-LB-52, formează coagul dens, vâscos și **nr.7** – *S. thermophilus* CNMN-LB-52 + *S. thermophilus* CNMN-LB-53 + *S. thermophilus* CNMN-LB-54, formează coagul dens, pentru fabricarea produselor lactate fermentate nevâscoase.

Tabelul 5. Caracteristicile asociațiilor de tulpini în cadrul speciei *S. thermophilus*

Nr. crt.	Durata coagulării, ore	Aciditatea titrabilă, °T	Viscozitatea, cSt	Cantitatea de EPS, mg/100 ml	Aspectul coagulului
1	3,6±0,1	74±1	43±1	81,7±2,1	O, F ⁺ , C, fz
2	3,4±0,2	72,3±2,1	52,7±2,5	46,3±1,5	O,V,F,D,C,fz
3	4,0±0,1	76±1	46,3±1,5	43,1±1,0	O,V,F,D,C,fz
4	4,2±0,3	74±1	48,3±1,5	40,±1,5	O,V,F,D,C,fz
5	3,6±0,2	75,3±1,5	50,3±0,5	56,3±5,5	O,V,F,D,C,fz
6	3,7±0,3	74,3±0,5	44,0±2,6	53,6±3,2	O,V,F,D,C,fz
7	3,9±0,1	75,0±1,0	62,0±2,6	0	O,nV,D,fz

Notă: O – omogen, V – vâscos, nV – nevâscos, F – filant, F⁺ - foarte filant, D – dens, C – cremos, fz – fără eliminarea zerului

De asemenea, a fost creată și o combinație din toate 5 tulpini studiate de *S. thermophilus* CNMN-LB-50, CNMN-LB-51, CNMN-LB-52, CNMN-LB-53, CNMN-LB-54 și incorporată în cultura starter pentru fabricarea brânzeturilor tari în cadrul unui lot experimental produs la SA “SUCCES”, or. Râșcani.

Conform Reglementării Tehnice iaurtul este un produs lactat fabricat prin fermentarea laptelui cu culturi starter ce conțin speciile *S. thermophilus* și *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Relația dintre cele două specii în culturile starter este de simbioză, ceea ce este important pentru formarea acidului lactic, gustului tipic și aromei produsului. De aceea pentru formarea consorțiilor de bacterii lactice utilizate la fabricarea iaurtului, din Colecția Ramurală de Bacterii Lactice (Direcția Tehnologii Alimentare, IȘPHTA) au fost selectate și testate tulpini autohtone de *Lb. bulgaricus*. Tulpina *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42 a fost selectată pentru utilizare în componența următoarelor combinații de tulpini pentru culturi starter destinate fabricării iaurtului: 1) *S. thermophilus* CNMN-LB-50+*S. thermophilus* CNMN-51+*Lb.bulgaricus* CNMN-LB-42 –cultură starter cu EPS; 2) *S. thermophilus* CNMN-LB-50+ *S. thermophilus* CNMN-52+ *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42 –cultură starter cu EPS; 3) *S. thermophilus* CNMN-LB-53+ *S. thermophilus* CNMN-LB-54+ *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42 – cultură starter clasică. Cele 3 asociații au fost supuse studiului după principalii parametri tehnologici, rezultatele cărui sunt reprezentate în Tabelul 6.

Tabelul 6. Caracteristicile asociațiilor de tulpini autohtone pentru iaurt

Nr. d/o	Durata coagulării, ore	Aciditatea titrabilă, °T	Vâscozitatea, cSt	Cantitatea de EPS, mg/100 ml	Aspectul coagulului
1	3,5±0,5	112±2	43,97±1,3	58,43±1,9	O, V, F, D, fz
2	3,5±0,5	118±1	70,25±1,72	47,49±1,3	O, V, F, D, fz
3	4±0,5	98±2	106,51±1,0	0	O,D, nF,fz

Notă: O – omogen, V – vâscos, nV – nevâscos, F – filant, D – dens, fz – fără eliminarea zerului

Culturile starter elaborate au fost examinate microscopic pentru a se determina raportul dintre culturile de *S. thermophilus* și *Lb. bulgaricus* (fig. 10) care evident este în corcondanța cu cerințele stabilite pentru culturile starter destinate fabricării iaurtului [5].

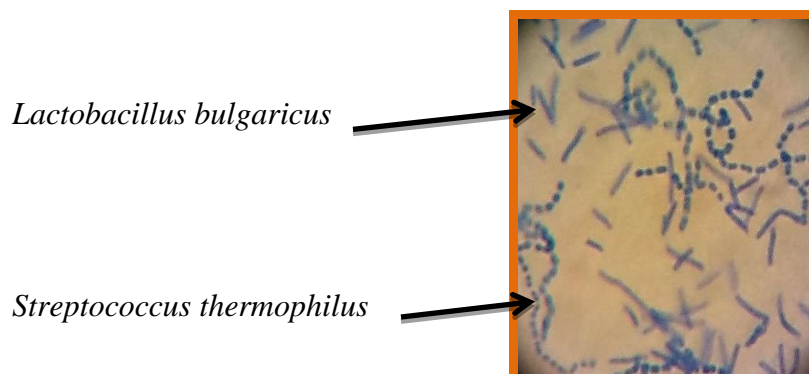


Fig. 10. Aspectul microscopic al asociațiilor formate, Microscopie optică x100

Conform indicilor studiați, asociațiile formate corespund cerințelor față de culturile starter destinate fabricării produselor lactate fermentate [6].

La această etapă au fost elaborate 3 culturi starter compuse pentru fabricarea iaurtului:

1. YO1 – *S. thermophilus* CNMN-LB-50, CNMN-LB-51 și *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42;
2. YO2 – *S. thermophilus* CNMN-LB-50, CNMN-LB-52 și *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42;
3. YO3 – *S. thermophilus* CNMN-LB-52, CNMN-LB-53, CNMN-LB-54 și *Lb. bulgaricus* CNMN-LB-42.

Folosind aceste 3 culturi starter, a fost fabricat un lot de iaurt cu conținut diferit de grăsimi, în condiții industriale ale Concernului „JLC GROUP” din mun. Chișinău. Fermentația a fost efectuată la o temperatură de 40 ± 1 °C, după tehnologia tradițională – iaurt prin metoda la rezervor.

Ulterior fost studiate proprietățile senzoriale, fizico-chimice și microbiologice ale produselor lactate obținute. S-a constatat că culturile starter testate în producere asigură produsul lactat cu microorganisme benefice din abundență. Din datele prezentate rezultă că după maturizare la temperatura de 4 ± 2 °C, numărul de bacterii lactice a rămas aproape de nivelul înregistrat la finalizarea procesului de fermentare, iar mostrele de iaurt corespund cerințelor igienice indicate în „Reguli privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare” [14].

Caracteristicile organoleptice ale mostrelor experimentale de iaurt fabricat cu utilizarea culturilor starter elaborate pe bază de tulpini autohtone a fost evaluată de comisia de degustare din cadrul Direcției "Tehnologii Alimentare" a IP IȘPHTA. Iaurturile fabricate cu culturi starter producătoare de EPS (YO1 și YO2) cu 2,5% de grăsime au fost caracterizate astfel: coagulul de consistență fermă, textura vâscoasă, fără bule de gaz și eliminare de zer, cu aspect de porțelan, de culoare albă cu nuanța gălbuie, aromă specifică de iaurt, cu caractere specifice fermentației lactice și gust plăcut, acrișor.

Aciditatea titrabilă a tuturor mostrelor a crescut puțin și aciditatea activă nu s-a schimbat mult, de aceea putem concluziona că valorile finale ale acidității mostrelor de iaurt cu diferit conținut de grăsime corespund exigențelor Reglementării Tehnice ”Lapte și produsele lactate”.

Următoarea etapă a evaluării indicilor de calitate a iaurturilor fabricate în condiții industriale a fost consacrată studiului proprietăților structurale ale produselor obținute prin fermentare cu culturi starter producătoare de EPS. Cercetările au stabilit că utilizarea culturilor starter multiple la fabricarea iaurtului cu conținut diferit de grăsime poate mări viscozitatea acestora (1,543; 1,557, 1,567 și 1.559 Pa·s, respectiv) și caracteristicile tixotrope (reducerea degradării structurii și creșterea capacității de restabilire a structurii), gradul inferior de distrugere fiind de 30,5%, iar cel mai înalt grad de reducere constituind 84,4%. Un indicator important la fabricarea produselor lactate fermentate cu conținut redus de grăsime este sinereza – separarea zerului. Pentru probele de iaurt fabricate cu utilizarea culturilor starter producătoare de EPS, după maturare și în timpul depozitării, nu a fost detectată sinereza. Iaurtul degresat fabricat cu cultura YO3 a manifestat separarea zerului în cantitate de 0,8%. În rezultatul studiilor s-a determinat, că utilizarea culturilor starter producătoare de EPS blochează procesul de sinereză și conduce la creșterea capacității de reținere a apei în coagul, ceea ce se datorează faptului că EPS-le consolidează legăturile de apă cu componentele de lapte [15].

În experiențele ulterioare au fost studiate parametrii reologici, care caracterizează proprietățile mecanice ale coagurilor – indicatorul de viscozitate a coagului în funcție de viteza de fortificare, tensiunea de fortificare și viteza de distrugere a structurii. Rezultatele au arătat că viscozitatea coagului de iaurt la viteza de fortificare 1 s^{-1} în varianta experimentală YO1 2,5% și YO2 0,1% a fost mai mare decât la mostrele fermentate de YO3 2,5% și 0,1%. Valoarea cea mai mare a tensiunii de fortificare a fost observată pentru varianta YO1 2,5% -16,5 Pa·s; pentru mostrele YO2 și YO3 – de la 12,4 Pa·s până la 15,6 Pa·s respectiv.

Astfel, utilizarea culturilor starter producătoare de EPS contribuie la reglarea procesului de structurare și îmbunătățește proprietățile mecanice ale produselor lactate fermentate în special cu conținut redus de grăsime.

Pentru a confirma datele obținute a fost studiată microstructura iaurtului fabricat cu utilizarea atât a culturilor starter producătoare de EPS cât și fără EPS, prezentată în figura 11.

Analiza microscopică a preparatului histologic a iaurtului fabricat cu utilizarea culturilor starter producătoare de EPS prezintă o structură omogenă, densă, mai ales varianta de iaurt cu 2,5% de grăsime, fără eliminarea zerului, complexe granulate de proteine din lapte sunt colorate în roz-marou (figura 10a). Iaurtul degresat fabricat cu tulpina producătoare de EPS de asemenea are structură compactă, proteinele din lapte sunt grupate într-un mod suficient în complexe mari, repartizate inegal, structura leagă apă liberă ce previne separarea zerului [16].

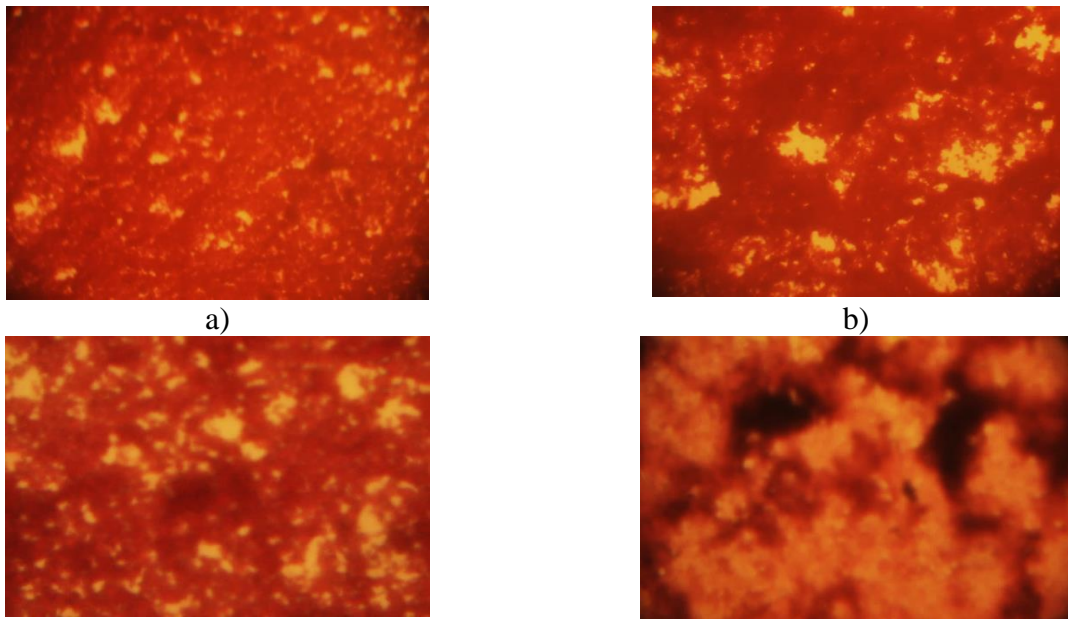


Fig.11. Microstructura iaurtului, microscopie optică x40: a) 2,5% de grasime+ EPS, b)0,1% de grasime+ EPS, c) 2,5% de grasime– control, d) 0,1% de grasime – control

Este evident că EPS-le contribuie la legarea apei din produs și anume pentru produsele lactate degresate. Iaurtul cu 2,5% grăsime, produs cu cultura tradițională de control YO3 fără tulpini producătoare de EPS a avut aciditate mai mare în comparație cu iaurtul fabricat cu utilizarea culturii starter producătoare de EPS, observând-se agregarea proteinei în complexe mici, separate și repartizate neuniform (figura 10 c), ceea ce a cauzat o capacitate mai mică de reținere a apei și separare a zerului [16].

Rezultatele cercetărilor au contribuit la elaborarea tehnologiei de fabricare a culturilor starter pentru producerea lactatelor fermentate conform Standardului Moldovenesc SM 306:2012 „Culturi bacteriene concentrate liofilizate pentru produse lactate fermentate. Condiții tehnice”.

Proprietățile deosebite ale culturilor starter elaborate în baza tulpinilor *S. thermophilus* autohtone sunt confirmate prin brevetul de invenție de scurtă durată MD-865 din 2015.01.31 „Procedeul de obținere a produsului lactat praf”

Cercetările privind determinarea termenului de valabilitate a iaurtului fabricat cu utilizarea culturilor starter autohtone au demonstrat, că fără utilizarea stabilizatorilor și altor aditivi alimentari, calitatea iaurtului fabricat se păstrează la nivelul inițial timp de 20 zile [15].

În final, a fost evaluată fezabilitatea economică a utilizării culturilor starter autohtone în procesul tehnologic de preparare a produselor lactate fermentate. Implementarea tehnologiei de fabricare a culturilor starter autohtone, elaborate în cadrul lucrării date, asigură un cost de 6 ori mai mic per flacon de cultură starter, în comparație cu cele provenite din import, iar efectul economic anual la 1000 de flacoane fabricate ținând cont de prețurile anului 2017 va constitui 16550 lei.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Realizarea cercetărilor și analiza rezultatelor obținute în cadrul tezei de doctor „**Tulpini autohtone noi de *Streptococcus thermophilus* și utilizarea lor pentru fabricarea produselor lactate fermentate**” au condus la formularea următoarelor concluzii:

1. Tulpinile autohtone de bacterii lactice termofile izolate din lapte și produse lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova aparțin speciei *Streptococcus thermophilus*, conform rezultatelor identificării fenotipice și genotipice [17-19].
2. Tulpinile de *Streptococcus thermophilus*: CNMN-LB-50, CNMN-LB-51, CNMN-LB-52, CNMN-LB-53 și CNMN-LB-54 selectate pentru fabricarea produselor lactate fermentate posedă caracteristici biotehnologice valoroase, caracterizându-se prin activitate intensă de acidulare a laptelui și de formare a unui coagul omogen, compact și dens, ceea ce asigură consistența fermă a produselor [4].
3. Tulpinile selectate conțin 10^9 - 10^{10} UFC în 1 g de lapte fermentat și produc acid lactic în cantități suficiente pentru a inhiba creșterea microorganismelor patogene. Tulpinile manifestă activitate antagonistă față de *Escherichia coli* și față de *Staphylococcus aureus*, contribuind la prevenirea dezvoltării infecțiilor intestinale și a patogenilor în probele lactate fermentate [3, 9].
4. Utilizarea tulpinilor *Streptococcus thermophilus* CNMN-LB-50 și *Streptococcus thermophilus* CNMN-LB-51 producătoare de exopolizaharide (EPS) permite excluderea stabilizatorilor chimici din procesul tehnologic. Modificarea temperaturii de cultivare influențează durata fazelor de dezvoltare și randamentul producerii acestor metaboliți extracelulari. Pentru a stimula sinteza EPS în condiții industriale de fabricare a produselor lactate fermentate fără a modifica temperatura, mediul nutritiv trebuie suplimentat cu zaharoză în cantitate de 8%. [13].
5. Mediul protector determinat în baza metodei matematice de planificare a experiențelor conține cantități optime de glicerină (20%), zaharoză (10%), citrat de sodiu (10%), gelatină (5%), compoziție ce asigură viabilitatea bacteriilor lactice la nivel de 97% după liofilizare și menținerea proprietăților biotehnologice a culturilor pe o durată de păstrare îndelungată [14].
6. Asocierea culturilor în cadrul speciei *Streptococcus thermophilus*, precum și includerea lor în cadrul asociațiilor simbiote de rând cu specia *Lactobacillus bulgaricus*, permite obținerea unor culturi starter multiple echilibrate destinate fabricării iaurtului [17-19, 20].

Problema științifică importantă soluționată în lucrare. Au fost selectate și descrise tulpini noi de bacterii lactice din specia *S. thermophilus*, ceea ce a condus la elaborarea culturilor starter autohtone cu potențial biotehnologic înalt pentru industria de procesare a laptelui, fapt ce a permis eficientizarea procesului de fabricare a produselor lactate fermentate.

Aportul personal. În materialele care reflectă conținutul brevetelor de invenție autorului îi revine cota parte în corespundere cu lista autorilor. Toate celelalte rezultate obținute, analiza, generalizările și concluziile aparțin autorului.

Recomandări practice

1. Tulpinile de bacterii lactice de *Streptococcus thermophilus* CNMN LB – 50, CNMN LB – 51, CNMN LB – 52, CNMN LB – 53, CNMN LB – 54 cu proprietăți biotehnologice valoroase *se recomandă* pentru producerea industrială a culturilor starter destinate procesării laptelui la fabricarea produselor lactate fermentate cu conținut diferit de lipide;
2. Mediul optimizat pentru liofilizarea culturilor de bacterii lactice din specia *S. thermophilus* *se recomandă* pentru depozitarea și păstrarea acestora în condiții de producere industrială;
3. Culturile starter elaborate, datorită competitivității și dezvoltării avantajoase în raport cu microflora nedorită în condițiile de fermentare, *se recomandă* pentru utilizare la scară industrială - în procesul de fabricare a iaurtului.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Costin G. Produse lactate fermentate. Galați: Editura Academica, 2005, 384 p.
2. Zhang L., et al. Effect of exopolysaccharide-producing starter cultures and post-fermentation mechanical treatment on textural properties and microstructure of low fat yoghurt. In: International Dairy Journal, 2016, nr. 53, p. 10-19.
3. **Cartășev A.**, Rudic V. New *Streptococcus thermophilus* strain as potential agent for increasing bio-safety of dairy products. În: International scientific Conference on Microbial Biotechnology, 3rd edition, Chișinău, Moldova, october 12-13, 2016, p.96. ISBN 978-9975-3129-3-6.
4. **Cartășev A.**, Bureț E. Caracteristica tehnologică a tulpinilor autohtone de *Streptococcus thermophilus*. În: Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților, vol. 2, Chișinău, Moldova, 15-17 noiembrie, 2012, p. 35-38. ISBN 978-9975-45-251-9.
5. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. Москва: Агропромиздат, 1987. с. 112-147.
6. **Cartășev A.**, Bureț E. Culturi de bacterii lactice producătoare de exopolizaharide. În: Papers of the Sibiu Alma Mater University Conference „Challenges for Science and Research in the Crisis Era”, sixth edition, vol. 2, Sibiu, România, 28-30 martie, 2013, p. 103-106. ISSN 2067-1423.

7. Hotărâre cu privire la Reglementarea Tehnică „Lapte și produsele lactate”. Nr. 611 din 05 iulie 2010. În: Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 13.07.2010, Nr. 119-120
8. Burgain J. Lactic acid bacteria in dairy food: Surface characterization and interactions with food matrix components. In: Advances in Colloid and Interface Science, 2013, vol. 213, p. 21-35.
9. **Cartășev A.** Antimicrobial activity of certain *Streptococcus thermophilus* strains isolated from spontaneous fermentation dairy products. În: Book of abstracts „Scientific conference of doctoral schools from UDJ Galati, Galați, România, 4-5 june, 2015, p. 133-134.
10. Lejkova J., et.al. Isolation of autochthonous lactic acid bacteria from ewes' lump cheese, bryndza cheese and barrelled ewes' cheese, and their characterization using Fourier transform infrared spectroscopy. In: Journal of Food and Nutrition Research, 2015, vol. 54, Nr. 4, pp. 308–313.
11. **Карташев А.,** Коев Г. Влияние условий культивирования на биосинтез экзополисахарида штаммом *Streptococcus thermophilus* LB-50. В: Сборник тезисов III международной конференции молодых ученых биотехнологов, молекулярных биотехнологов и вирусологов, Новосибирск, Россия, 2016, с. 41-45. ISBN 978-5-4437-0563-7
12. **Cartasev A.** Optimization of a protective medium for freeze-dried strains of *Streptococcus thermophilus*. In: Young Scientist, 2017, vol. 46 (180), p.81-83. ISSN 2072-0297
13. Cerere de brevet de invenție nr. s 2017 0090. Procedul de obținere a concentratului bacterian uscat pentru fabricarea produselor lactate fermentate. / **Cartășev Anatoli,** Coev Ghenadii (MD). Cererea depusă 07.08.2017.
14. Hotărârea nr. 221 cu privire la reguli privind criteriile microbiologice pentru produse alimentare din 16.03.2009. În: Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 24.03.2009, nr. 59-61, art. 272
15. **Cartasev A.** Yoghurt made by exopolysaccharide producing Moldavian origin strains of lactic acid bacteria. În: Journal of food and packaging: science, techniques and technologies, 2016, 9, p. 39-43. ISSN 1314-7773.
16. **Cartasev A.,** Rudic V. Effect of starter culture producing exopolysaccharide on yoghurt. In: Chemistry Journal of Moldova, 2017, Nr.12(2), p.7-12. ISSN 2345-1688 DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2017.440>
17. **Cartășev A.** Tulpini autohtone noi de *Streptococcus thermophilus* și utilizarea lor pentru fabricarea produselor lactate fermentate. În: Ugal Invent Salonul Inovării și Cercetării, ediția a III-a, 19 – 20 octombrie 2017, Galați, România. Catalog de invenții, p. 94-95.

18. **Cartășev A., Bureț E., Coev G.** Procedeu de obținere a produselor lactate fermentate praf. În: Ugal Invent Salonul Inovării și Cercetării, ediția a III-a, 19 – 20 Octombrie 2017, Galați, România. Catalog de invenții, p. 85.
19. **Cartășev A., Bureț E., Coev G.** Procedeu de obținere a produselor lactate fermentate praf. În: Catalog oficial al Expoziției Internaționale Specializate Infoinvent, 25-28 noiembrie 2015, Chișinău, p. 163-164.
20. **Cartășev A., Bureț E., Coev G.** Method for producing powdered fermented milk. În: Proceedings of the 9th edition of European Exhibition of Creativity and Innovation, Iași: StudIS, 2017, p. 214. ISBN 978-606-775-212-0

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

2. Articole în diferite reviste științifice

2.1. În reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS

1. **Cartasev A., Rudic V.** Effect of starter culture producing exopolysaccharide on yoghurt. In: Chemistry Journal of Moldova, 2017, Nr.12(2), p.7-12. **ISSN 2345-1688**
DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2017.440>

2.2 În reviste din străinătate recunoscute

1. **Cartasev A.** Optimization of a protective medium for freeze-dried strains of *Streptococcus thermophilus*. In: Young Scientist, 2017, vol. 46 (180), p.81-83. **ISSN 2072-0297**
2. **Cartasev A.** Yoghurt made by exopolysaccharide producing Moldavian origin strains of lactic acid bacteria. În: Journal of food and packaging: science, techniques and technologies, 2016, 9, p. 39-43. **ISSN 1314-7773.**
3. **Карташев А., Бурец Е., Коев Г., Богдан Н.** Штаммы молочнокислых бактерий с перспективными для молочной промышленности биотехнологическими свойствами. В: Вестник Уральской медицинской академической науки, nr. 4/1 (38), Екатеринбург, 2011, с. 80-81. **ISSN 2073-9125.**

2.3. În reviste din Registrul Național al revistelor de profil

Reviste de categoria B

1. **Cartășev A., Rudic V.** Culturi starter de bacterii lactice termofile pentru produsele lactate fermentate. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei: Științele Vieții, 2016, 3(330), p. 156-163. **ISSN 1857-064X.**

3. Articole în culegeri științifice

3.1 Culegeri de lucrări ale conferințelor internaționale

1. **Cartășev A., Bureț E.** Culturi de bacterii lactice producătoare de exopolizaharide. În: Papers of the Sibiu Alma Mater University Conference „Challenges for Science and Research in the Crisis Era”, sixth edition, vol. 2, Sibiu, România, 28-30 martie, 2013, p. 103-106. **ISSN 2067-1423.**

2. Bureț E., **Cartășev A., Coev G.** Improvement of textural properties of fermented milk by using *Streptococcus thermophilus* strains. În: International conference „Modern technologies in the food industry”, Chișinău, Moldova, 2012, p. 230-234. **ISBN 978-9975-80-646-6.**

3. **Cartășev A., Bureț E.** Culturi de *Streptococcus thermophilus* producătoare de exopolizaharide. În: Materialele Simpozionului Științific Internațional „Agricultura Modernă – Realizări și Perspective”, vol. 34, Chișinău, Moldova, 2013, p. 409-412. **ISBN 978-9975-64-246-0.**

4. **Cartășev A.** Effect of exopolysaccharide starter culture and solids on syneresis of yoghurt. În: International conference „Modern technologies in the food industry-2016”, Chișinău, Moldova, 20-22 october, 2016, p. 356-361. **ISBN 978-9975-87-138-9.**

3.2 Culegeri de lucrări ale conferințelor naționale

5. **Cartășev A., Bureț E.** Caracteristica tehnologică a tulpinilor autohtone de *Streptococcus thermophilus*. În: Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților, vol. 2, Chișinău, Moldova, 15-17 noiembrie, 2012, p. 35-38. **ISBN 978-9975-45-251-9.**

4. Materiale/ teze la forurile științifice

4.1 Conferințe internaționale (peste hotare)

1. **Карташев А.** Идентификация местных штаммов *Streptococcus thermophilus* с использованием инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье. В: Сборник тезисов IV международной конференции молодых ученых биотехнологов, молекулярных биотехнологов и вирусологов, Новосибирск, Россия, 2017, с. 239-242. **ISBN 978-5-4437-0687-0**

2. **Карташев А., Коев Г.** Влияние условий культивирования на биосинтез экзополисахарида штаммом *Streptococcus thermophilus* LB-50. В: Сборник тезисов III международной конференции молодых ученых биотехнологов, молекулярных биотехнологов и вирусологов, Новосибирск, Россия, 2016, с. 41-45. **ISBN 978-5-4437-0563-7**

3. **Cartășev A.** Antimicrobial activity of certain *Streptococcus thermophilus* strains isolated from spontaneous fermentation dairy products. În: Book of abstracts „Scientific conference of doctoral schools from UDJ Galati, Galați, România, 4-5 june, 2015, p. 133-134.

4.2.Conferințe internaționale în republică

1. **Cartășev A.**, Rudic V. New *Streptococcus thermophilus* strain as potential agent for increasing bio-safety of dairy products. În: International scientific Conference on Microbial Biotechnology, 3rd edition, Chișinău, Moldova, october 12-13, 2016, p.96. ISBN 978-9975-3129-3-6.

2. **Cartășev A.**, Bureș E. Conservation method of strains of lactic acid bacteria. În: International Conference of young researches, ediția 9, Chișinău, Moldova, 11 octombrie, 2011, p. 13. ISBN 978-9975-4224-7-5.

7. Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții

7.1 Brevete de invenție

1. Brevet de invenție MD 865, A23C 9/12, A23C 9/127, A23C 1/00, A23C 1/08, A23C 23/00, C12R 1/46, C12R 1/225. Procedeu de obținere a produsului lactat fermentat praf. Brevet de invenție de scurtă durată/ Cartășev Anatoli, BUREȘ Elena, COEV Ghenadii (MD). Cererea depusă 2014.06.30, BOPI nr. 1/2015.

7.2 Certificat de înregistrare

1. Cerere de brevet de invenție nr. s 2017 0090. Procedeu de obținere a concentratul bacterian uscat pentru fabricarea produselor lactate fermentate. / **Cartășev Anatoli**, Coev Ghenadii (MD). Cererea depusă 07.08.2017.

7.3 Materiale la saloanele de invenții

1. **Cartășev A.** Tulpini autohtone noi de *Streptococcus thermophilus* și utilizarea lor pentru fabricarea produselor lactate fermentate. În: Ugal Invent Salonul Inovării și Cercetării, ediția a III-a, 19 – 20 Octombrie 2017, Galați, România. Catalog de invenții, p. 94-95.

2. **Cartășev A.**, Bureș E., Coev G. Procedeu de obținere a produselor lactate fermentate praf. În: Ugal Invent Salonul Inovării și Cercetării, ediția a III-a, 19 – 20 Octombrie 2017, Galați, România. Catalog de invenții, p. 85.

3. **Cartășev A.**, Bureș E., Coev G. Procedeu de obținere a produselor lactate fermentate praf. În: Catalog oficial al Expoziției Internaționale Specializate Infoinvent, 25-28 noiembrie 2015, Chișinău, p. 163-164.

4. **Cartășev A.**, Bureș E., Coev G. Method for producing powdered fermented milk. În: Proceedings of the 9th edition of European Exhibition of Creativity and Innovation, Iași: StudIS, 2017, p. 214. ISBN 978-606-775-212-0

ADNONTARE

CARTĂȘEV Anatoli „Tulpini autohtone noi de *Streptococcus thermophilus* și utilizarea lor pentru fabricarea produselor lactate fermentate”, teză de doctor în științe biologice, Chișinău, 2018.

Teza conține 4 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 169 titluri, 13 anexe, 131 pagini de text de bază, 44 de figuri, 29 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 21 de lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: *Streptococcus thermophilus*, tulpini autohtone, culturi starter, exopolizaharide, iaurt.

Domeniul de studiu: 167.01. Biotehnologie, bionanotehnologie.

Scopul lucrării constă izolarea, identificarea și evaluarea caracteristicilor fiziologo-biochimice și biotehnologice ale unor tulpini noi de *S. thermophilus*, selectate în scopul elaborării culturilor starter autohtone și utilizării lor la fabricarea produselor lactate fermentate.

Obiectivele lucrării: izolarea în cultură pură a bacteriilor lactice tipice speciei *S. thermophilus* din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova; identificarea fenotipică și genotipică a tulpinilor izolate și evidențierea tulpinilor cu potențial biotehnologic înalt pentru industria laptelui; stabilirea parametrilor optimi de cultivare și păstrare a tulpinilor producătoare de exopolizaharide din specia *S. thermophilus* în condiții industriale; elaborarea și testarea în condiții de producere a culturilor starter autohtone în baza asociațiilor mixte de tulpini noi de bacterii lactice pentru fabricarea lactatelor fermentate.

Noutatea și originalitatea științifică. Au fost propuse pentru industria produselor lactate tulpini noi de bacterii lactice termofile cu potențial biotehnologic înalt, izolate din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova. În baza tulpinilor selectate au fost elaborate culturi starter autohtone noi pentru prepararea iaurtului ce se caracterizează prin activitate înaltă de fermentare a laptelui.

Problema științifică soluționată. Au fost selectate și descrise tulpini noi de bacterii lactice din specia *S. thermophilus*, ceea ce a condus la elaborarea culturilor starter autohtone cu potențial biotehnologic înalt pentru industria de procesare a laptelui, fapt ce a permis eficientizarea procesului de fabricare a produselor lactate fermentate.

Semnificația teoretică constă în acumularea de date noi referitor la biodiversitatea tulpinilor autohtone de *S. thermophilus* din lapte și produsele lactate de fermentare spontană din diferite zone ale R. Moldova; argumentarea științifică a perspectivei utilizării culturilor starter autohtone de bacterii lactice termofile pentru prepararea iaurtului. Aplicarea tehnicilor de biologie moleculară pentru identificarea tulpinilor studiate de *S. thermophilus* au demonstrat relevanța tehnicilor Rep-PCR și FT-IR pentru identificarea speciilor de bacterii lactice din surse naturale.

Valoarea aplicativă a lucrării constă în elaborarea culturilor starter autohtone pentru fabricarea lactatelor fermentate în baza asociațiilor mixte de tulpini noi de bacterii lactice, depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene, precum și elaborarea documentului tehnico-normativ „Instrucțiunea Tehnologică IT MD 67-0041795-079:2016 Culturi bacteriene concentrate liofilizate pentru produsele lactate fermentate. Condiții tehnice”.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele cercetărilor efectuate au fost implementate în cadrul concernului de industrializare a laptelui „JLC Group” la fabricarea loturilor experimentale de iaurt și la SA „Succes” la fabricarea produsului de brânză semitare.

АННОТАЦИЯ

Карташев Анатолий „Новые местные штаммы *Streptococcus thermophilus* и их использование для получения ферментированных молочных продуктов”, диссертация кандидата биологических наук, Кишинев, 2018.

Диссертация включает 4 главы, заключения и рекомендации, библиографический список из 169 названий, 13 приложений, 131 страниц основного текста, содержит 44 рисунка, 29 таблиц. Результаты исследований опубликованы в 21 научных работах.

Ключевые слова: *Streptococcus thermophilus*, местные штаммы, стартерные культуры, экзополисахариды, йогурт.

Специальность: 167.01. биотехнология, бионанотехнология.

Цель работы состоит в изоляции, идентификации и оценке физиолого-биохимических и биотехнологических характеристик новых штаммов *S. thermophilus*, отобранных для подготовки местных стартерных культур и их использования в производстве ферментированных молочных продуктов.

Задачи работы: получение чистых культур молочнокислых бактерий, типичных для вида *S. thermophilus*, из молока и спонтанно ферментированных молочных продуктов из разных частей Республики Молдова; фенотипическая и генотипическая идентификация изолированных штаммов и выделение штаммов с высоким биотехнологическим потенциалом; установление оптимальных параметров культивирования и консервации штаммов *S. thermophilus*, продуцирующих экзополисахариды в промышленных условиях; разработка и тестирование в условиях производства местных стартерных культур на основе смешанных ассоциаций новых штаммов молочнокислых бактерий для производства ферментированных молочных продуктов.

Научная новизна и оригинальность. Были предложены для использования в молочной промышленности новые штаммы термофильных молочнокислых бактерий с высоким биотехнологическим потенциалом, выделенные из молока и молочных продуктов спонтанной ферментации. На основе выбранных штаммов были приготовлены новые местные стартерные культуры для приготовления йогурта, характеризующиеся высокой ферментативной активностью.

Решенная научная проблема. Отобраны и описаны новые штаммы молочнокислых бактерий *S. thermophilus* с целью создания местных стартерных культур с высоким биотехнологическим потенциалом для молочной промышленности, что позволило повысить эффективность процесса производства ферментированных молочных продуктов.

Теоретическое значение заключается в накоплении новых данных о биологическом разнообразии местных штаммов *S. thermophilus* из молока и молочных продуктах спонтанной ферментации; научная аргументация возможности использования местных стартерных культур термофильных молочнокислых бактерий для приготовления йогурта. Была доказана актуальность методов Rep-PCR и FT-IR для идентификации видов молочных бактерий из природных источников.

Практическое значение работы состоит в разработке стартерных культур для производства ферментированных молочных продуктов и Технологической инструкции IT MD 67-0041795-079:2016 „Концентрированные лиофилизированные бактериальные культуры для ферментированных молочных продуктов. Технические условия”.

Внедрение научных результатов: Полученные результаты были внедрены в рамках концерна молочной промышленности „JLC Group” для производства экспериментальных серий йогурта и на АО „Succes” для производства полутвердого сырного продукта.

ABSTRACT

Cartasev Anatoli: "Novel indigenous strains of *Streptococcus thermophilus* and their use in the dairy products manufacturing", PhD thesis in biological sciences, Chisinau, 2018. The thesis consists of an introduction, 4 chapters, general conclusions and recommendations, bibliography list with 169 references. It comprises 131 pages of the main text, 44 figures, 29 tables and 13 annexes. The results were published in 21 scientific papers.

Keywords: *Streptococcus thermophilus*, indigenous strains, starter culture, exopolysaccharides, yogurt.

Field of study: 167.01. Biotechnology, Bionanotechnology.

Research Goal consists in isolation, identification and evaluation of physiological, biochemical and biotechnological characteristics of new *S. thermophilus* strains selected for the purpose of preparing indigenous starter cultures and their use in the production of fermented dairy products.

The objectives of the study: isolation of pure cultures of typical for *S. thermophilus* lactic acid bacteria from milk and spontaneously fermented dairy products from various regions of the Republic of Moldova; phenotypic and genotypic identification of isolated strains and characterization of biotechnologically valuable strains for the dairy industry; selection of optimal parameters for the cultivation and preservation of exopolysaccharide - producing strains of *S. thermophilus* under industrial conditions; development of indigenous starter cultures based on mixed associations of new strains of lactic acid bacteria and their application for the production of cultured dairy food.

Scientific novelty and originality. New strains of thermophilic lactic acid bacteria with high biotechnological potential, isolated from milk and spontaneous fermentation dairy products from various regions of the Republic of Moldova have been proposed for the dairy industry. On the basis of the selected strains, new native starter cultures with high milk fermentation activity were developed for the preparation of yogurt.

The main scientific problem solved in the study. New *S. thermophilus* strains have been selected and described for the purpose of developing indigenous starter cultures with high biotechnological potential for the milk processing industry to streamline the production of fermented dairy products.

Theoretical value consist in accumulation of new data on the biodiversity of indigenous strains of *S. thermophilus* isolated from milk and spontaneous fermentation dairy products from different regions of the Republic of Moldova; the scientific argumentation of the use of autochthonous starter cultures based on thermophilic lactic acid bacteria for the preparation of yoghurt. The molecular techniques Rep-PCR and FT-IR for identification and typing of new *S. thermophilus* strains have emerged as reliable method for the identification of lactic acid bacteria species from natural sources.

Applicative value consists in elaboration of the starter cultures for the fermented dairy products preparation, described by the technical-normative document "Technology Instruction MD 67-0041795-079: 2016 Lyophilized concentrated bacterial cultures for fermented dairy products. Technical conditions".

Implementation of scientific results. The results of the studies have been implemented within "JLC Group" milk industrialization concern for the production of an experimental industrial yoghurt batch and SA "Succes" for the production of demi soft cheese.

CARTAȘEV ANATOLI

**TULPINI AUTOHTONE NOI DE *STREPTOCOCCUS*
THERMOPHILUS ȘI UTILIZAREA LOR PENTRU
FABRICAREA PRODUSELOR LACTATE FERMENTATE**

167.01 - BIOTEHNOLOGIE, BIONANOTEHNOLOGIE

Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice

Aprobat spre tipar: 12.06.2018

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Tiraj ... ex...

Coli de tipar: 1,0

Comanda nr.

SRL

Str.