

INVESTIGATION OF THE THERMO-BACTERIAL PARAMETERS OF MICROORGANISMS DURING THE PRODUCTION PROCESS OF BEER AND IN BEER HULUMTIMI PARAMETRAVE TERMO-BAKTERIALE TË MIKROORGANIZMAVE GJATË PROCESIT TË PRODHIMIT TË BIRRËS DHE NË BIRRË

XHEMË LAJÇI¹, NUSHE LAJÇI²

¹Sh.A"Birra PEJA", Pejë dhe Fakulteti i Xehetarisë dhe Metalurgjisë, Mitrovicë, Universiteti i Prishtinës

²Fakulteti i Xehetarisë dhe Metalurgjisë, Mitrovicë, Universiteti i Prishtinës, KOSOVË

Email: xhlajqi62@hotmail.com

AKTET IV, 2: 273-280, 2011

PERMBLEDHJE

Koha e nevojshme për shkatërrimin termik dhe rezistenca e mikroorganizmave të cilat janë të pranishme gjatë procesit të prodhimit të birrës është vlerësuar në bazë të parametrave termike pranë temperaturave të caktuara që trajton shkenca e termo-bakteriologjisë (Bigelov, 1921; Ball, 1923; Strumbo, 1973) si: koha e reduktimit decimal (D) dhe termo-rezistenca e bakteve (Z), të cilat lidhen me vetitë dhe natyrën e bakteve.

Materiali dhe metodat eksperimentale gjatë hulumtimit janë bërë sipas normave të MEBAK (Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission) dhe EBC (European Brewery Convention, Microbiology Committee, Central European brew-technical analysis commission). Metoda zbatuar për izolimin e mikroorganizmave, inkubimin dhe njësimin e numrit të kolonive (CFU/ml) të zhvilluara është bërë sipas metodës së Koch-ut në terrene selektive, ndërsa koha e reduktimit decimal (D) dhe koeficienti i rezistencës termike (Z) të mikroorganizmave është njësuar përmes regresionit njëfish linear. Rëndësia e këtij punimi qëndron në uljen e shpenzimeve të energjisë, në ruajtjen dhe sigurimin e vlerave ushqyese të produktit gjatë procesit të prodhimit.

Fjale kyçe: *Lactobacillus spp.*, majatë e egra, *Pediococcus spp.*, *Saccharomyces carlsbergensis*.

SUMMARY

The time needed for thermal destroy and resistance of microorganisms which are present during the production process and in beer, is estimated on the basis of the thermal parameters in defined temperatures that are treated by the thermo-bacterial science (Bigelov, 1921 and Ball, 1923, Strumbo, 1973) of bacteria such as: the time of decimal reduction (D) and thermo-resistance of bacteria (Z), that are connected to the character and the nature of bacteria. The material and the experimental methods during research are done according to MEBAK (Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission) and EBC (European Brewery Convention Microbiology-Committee, Central European brew-technical analyses commission). The method applied for the isolation of microorganisms, incubation and counting of the number of colonies developed (CFU/ml) is done according to the Koch method of selective terrain, and the time of decimal reduction (D) and the coefficient of thermal resistance (Z) of microorganisms are calculated through linear regression. The importance of this work is the reducing energy costs, preserving and providing nutritional values of product during production process.

Key words: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Saccharomyces carlsbergensis*, Wild yeast.

1. HYRJE

Shkaktar të jo stabilitetit biologjik dhe shfaqjeve të sëmundjeve të veçanta të birrës i takojnë vetëm disa gjinive të bakteve dhe të majave.

Mushti si burim i lëndës ushqyese për prodhimin e birrës është bazë ushqyese shumë e pasur me sheqerna, aminoacide, kripëra minerale, acide organike, biofaktorë, vlerë optimale pH dhe sasi

oksigjeni të tretur të cilat ofrojnë kushte të përshtatshme për rritjen dhe zhvillimin e mikroorganizmave¹.

Në anën tjetër, flora bakteriale në birrari ndryshon me ndryshimin e substratit ushqyes, përkatësisht sipas fazave të procesit teknologjik prej fillimit të prodhimit të mushtit deri te mbushja e shisheve ose fuçive. Për këtë, gjatë përgatitjes dhe zierjes së mushtit, tek mushti i kulpëruar prej ftohjes deri të fermentimi, tek fermentimi kryesor (primar), tek fermentimi plotësues dhe birra e gatshme paraqiten bakteret aerobe, bakteret anaerobe dhe majatë e egra^{1,3}.

Për të eliminuar të gjitha kjo ngarkesa mikrobiale te dëmshme në ruajtjen dhe cilësinë e birrës është e nevojshme të bëhet trajtimi termik i pajisjeve, tubacioneve dhe birrës së gatshme para ose pasi të bëhet ambalazhimi i saj.

Në përgjithësi, parametrat e zgjedhur bazohen në trajtimin me nxehtësi, të përcaktuar nga rregulloret kombëtare ose rajonale për trajtimin e produkteve ushqimore. Trajtimi përmes nxehtësisë i sugjeruar nga Federata Ndërkombëtare e Bulmetit (International Dairy Federation, IDF, 1994) dhe direktivat e EC 92/46/CCE [1992] mund të merren si referenca "universale"^{3,8,9}.

Megjithatë, as IDF [1994] dhe as direktivat e EC 92/46/CCE[1992] nuk sigurojnë një vlerë të përshtatshme të konstantes së rezistencës termike "z" sipas së cilës llogaritën seria e trajtimeve ekuivalente. Një situatë e tillë nuk merr parasysh bazën aktuale të termo-bakteriologjisë [Pfung, 1987] dhe as propozimet e prezantuara nga Ball & Olson [1957].^{3,8,9}

Prandaj, koha e nevojshme për shkatërrimin termik dhe rezistenca e mikroorganizmave të cilat janë të pranishme gjatë procesit të prodhimit dhe në birrë është vlerësuar në bazë të parametrave termike pranë temperaturave të caktuara që trajton shkenca e termo-bakteriologjisë për bakteret: koha e reduktimit decimal (D) dhe termo-rezistenca e baktereve (Z), të cilat lidhen me vetitë dhe natyrën e baktereve.

2. MATERIALI DHE METODA

2.1. SHQYRTIMI I LITERATURËS

2.1.1. Shkatërrimi termik i mikroorganizmave

Duke studiuar shkatërrimin e mikroorganizmave në temperatura të larta, Bigelow (1921) dhe Ball (1923) kanë ardhur në përfundim se nga aspekti kimiko-fizik procesi termik i mbytjes së mikroorganizmave paraqet reaksion të rendit të parë. Për mikroorganizma të mbijetuar do të kemi:^{8,9}

$$-\frac{dN}{dt} = k \cdot N \quad [2.1]$$

ku N është numri i mikroorganizmave të mbijetuar në njësinë e vëllimit në cilindo moment pas fillimit të veprimit të temperaturës, k është konstante e shpejtësisë së shkatërrimit të mikroorganizmave dhe varet nga lloji i mikroorganizmit dhe temperaturës, dhe t është koha e veprimit të nxehtësisë.

2.1.2. Koha e reduktimit decimal [D]

Koha e reduktimit decimal (D) paraqet kohën e nevojshme për reduktimin 90% të popullatës mikrobiale. Përkatësisht, reduktimi në të dhjetën pjesë të numrit fillestar të mikroorganizmave në njësinë e vëllimit, në formë ekuacioni shprehet:^{8,9}

$$D = \frac{t}{\log N_0 - \log N} \quad [2.2]$$

ku N_0 është numri fillestar i mikroorganizmave të gjallë.

2.1.3. Konstantja e rezistencës termike [Z]

Konstantja e rezistencës termike (Z) përshkruan rezistencën termike të mikroorganizmave. Ajo është përcaktuar si një rritje e temperaturës së nevojshme për të shkaktuar reduktim në 90% të kohës së reduktimit decimal D dhe në formë ekuacioni shprehet me:^{8,9}

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log r_1 - \log r_2} \quad [2.3]$$

2.1.4. Koha e vdekjes termike [F]

Koha e vdekjes termike është koha e duhur për të shkaktuar një reduktim të vendosur në një popullatë mikroorganizmash ose sporesh. Kjo kohë mund të shprehet si një shumëfish i vlerës së D. Zakonisht në proceset termike të ushqimeve të pazbërthyeshme, vlera e përdorur për kohën e vdekjes termike është $F = 12 D$, që është vlera e D për *Clostridium botulinum*.^{8,9}

2.2. MATERIALI DHE METODA

Studimi i parametrave termike të mikroorganizmave në birrë është kryer në laboratorin kimiko-mikrobiologjik të fabrikës së birrës "SH.A. Birra Peja" në Pejë.

Materiali dhe metodat eksperimentale gjatë hulumtimit janë bërë sipas normave të MEBAK (Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission) dhe EBC (European Brewery convention (Microbiology-Committee, Central European brew-technical analysis commission)).^{2,6}

Materiali

Bazat ushqyese për zhvillimin dhe identifikimin e mikroorganizmave:

- MRS Agar për bakteret *Lactobacillus spp.* dhe *Pediococcus spp.*
- Malt Agar për majanë *Saccharomyces carlsbergensis*,
- Crystal Violet Agar për majatë e egra në birrë,
- Tretja e Ringovit, tretje fiziologjike.^{2,6,10}

Pajisjet

Vargu i epruvetave me nga 9 ml të tretësirës fiziologjike të sterilizuar, raftet për epruveta, pipëzat sterile prej 1 ml, kutitë sterile të Pjetrit (\varnothing 10 cm), lapsi për shkrim mbi qelq, epruveta me agarin ushqyes të përgatitur për derdhje, flakorja, mikroskopi, banja për ngrohjen e ujit, sterilizatori, inkubatori anaerob dhe aerob, pH-metri.

2.3. IZOLIMI DHE KULTIVIMI I MIKROORGANIZMAVE

Mënyrat e izolimit të mikroorganizmave në të gjitha rastet është bërë sipas metodës së Kochut në terren selektiv në katër etapa:^{2,6,10}

- marrja e mostrave: birra dhe maja janë marrë gjatë procesit të prodhimit,

- përgatitja e hollimeve në principin $1:10^1$, $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, dhe $1:10^5$,

- mbjellja në terrene ushqyese selektivë: MRS Agar për bakteret *Lactobacillus spp.* dhe *Pediococcus spp.*, Malt Agar për majanë *Saccharomyces carlsbergensis* dhe Crystal Violet Agar për majatë e egra në birrë,^{2,6}

- numërimi i kolonive të formuara,

- njësimi i numrit të mikroorganizmave në mostrën bazë, nën supozimin se secila koloni e ka prejardhjen (formuar) prej një qelize të vetme.^{6,10}

Mostrat bazë për hulumtim trajtimit termik të mikroorganizmave të izoluara janë si në vijim:

Për bakteret e gjinisë *Lactobacillus spp.*-Mostra e parë: $1.2 \cdot 10^4$ [CFU/ml], mostra e dytë: $5.6 \cdot 10^4$ [CFU/ml], mostra e tretë: $3.6 \cdot 10^4$ [CFU/ml] dhe mostra e katërt: $5.0 \cdot 10^4$ [CFU/ml].

Për bakteret e gjinisë *Pediococcus spp.*-Mostra e parë: $6.7 \cdot 10^4$ [CFU/ml], mostra e dytë: $5.25 \cdot 10^4$ [CFU/ml], mostra e tretë: $6.8 \cdot 10^4$ [CFU/ml] dhe mostra e katërt: $3.2 \cdot 10^5$ [CFU/ml].

Për majatë e egra-mostra e parë: $1.45 \cdot 10^5$ [CFU/ml], mostra e dytë: $4.0 \cdot 10^5$ [CFU/ml], mostra e tretë: $5.2 \cdot 10^4$ [CFU/ml] dhe mostra e katërt: $3.4 \cdot 10^5$ [CFU/ml].

Për majatë *Saccharomyces carlsbergensis*-katër mostrat: $1 \cdot 10^5$ [CFU/ml].

3. REZULTET DHE DISKUTIMI

3.1. Përcaktimi i kohës së reduktimit decima, D

Numri i mikroorganizmave të mbijetuar gjatë trajtimit në temperatura për kohë të caktuar për bakteret *Lactobacillus spp.* (54, 56, 58 dhe 60 °C) është paraqitur në tabelën 3.1, për bakteret *Pediococcus spp.* (56, 58, 60 dhe 62 °C) në tabelën 3.2, për majatë e egra (48, 50, 52 dhe 54°C) në tabelën 3.3 dhe për majatë *Saccharomyces carlsbergensis* (47, 49, 50 dhe 52°C) në tabelën 3.4.

Njësimi i kohës së reduktimit decimal është bërë përmes regresionit njëfish linear të programit MINITAB 15 i cili është paraqitur gjithashtu në figurat 3.1, 3.3, 3.5 dhe 3.7.^{3,8}

Barazimet matematikore dhe koeficientet e drejtimit (k.d.) të drejtëzave të fituara për njësimin kohës së reduktimit decimal janë:

Për bakteret *Lactobacillus spp.*:

Në 54°C: $Y = -0,0111 X + 4,079$, $\sigma^2 = 0,995$,

Në 56°C: $Y = -0,01995 X + 4,746$, $\sigma^2 = 0,980$,

Në 58°C: $Y = -0,03327 X + 4,556$, $\sigma^2 = 0,984$,

Në 60°C: $Y = -0,05537 X + 4,699$, $\sigma^2 = 0,988$.

Koha e reduktimit decimal e njësuar në: 54°C (D= 1.5 min), 56°C (D=0.835 min), 58°C (D=0.5 min) dhe 60°C (D=0.3 min).

Për bakteret *Pediococcus spp.*:

Në 56°C: $Y = -0,036 X + 4,827$, $\sigma^2 = 1$,

Në 58°C: $Y = -0,0648 X + 4,72$, $\sigma^2 = 0,998$,

Në 60°C: $Y = -0,1165 X + 4,83$, $\sigma^2 = 0,952$,

Në 62°C: $Y = -0,165 X + 5,505$, $\sigma^2 = 0,952$.

Koha e reduktimit decimal e njësuar në: 56°C (D=0.463 min), 58°C (D=0.257 min), 60°C (D=0.143 min) dhe 62°C (D= 0.101 min).

Për majatë e egra:

Në 48°C: $Y = -0,2447 X + 5,457$, $\sigma^2 = 0,987$,

Në 50°C: $Y = -0,679 X + 5,76$, $\sigma^2 = 0,997$,

Në 52°C: $Y = -1,89 X + 5,725$, $\sigma^2 = 0,994$,

Në 54°C: $Y = -0,0857 X + 5,65$, $\sigma^2 = 0,983$.

Koha e reduktimit decimal e njësuar në: 48°C (D=4.08 min), 50°C (D=1.47 min), 52°C (D=0.53 min) dhe 54°C (D= 0.195 min).

Për majatë *Saccharomyces carlsbergensis*:

Në 47°C: $Y = -0,29 \cdot X + 4,1$, $\sigma^2 = 0,954$,

Në 49°C: $Y = -0,0102 \cdot X + 4,1$, $\sigma^2 = 0,950$,

Në 50°C: $Y = -0,0282 \cdot X + 4,4$, $\sigma^2 = 0,962$,

Në 52°C: $Y = -0,069 \cdot X + 4,2$, $\sigma^2 = 0,964$.

Koha e reduktimit decimal e njësuar në: 47°C (D=3.45 min), 49°C (D=1.63 min), 50°C (D=0.59 min) dhe 52°C (D= 0.24 min).

54°C		56°C		58°C		60°C	
Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]
0	12000	0	55730	0	36000	0	50000
50	5010	30	3500	20	15180	10	6530
100	660	60	310	40	960	20	1920
150	340	90	290	60	154	30	350
200	60	120	170	80	56	40	166
250	20	150	24	100	20	50	50
300	5	180	10	120	3	60	22
360	1	220	1,4	140	1	80	1

Tabela 3.1. Numri i bakteveve *Lactobacillus sp.* të mbijetuar

56°C		58°C		60°C		62°C	
Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]	Koha [s]	N [CFU/ml]
0	67150	0	52500	0	68000	0	320000
15	15890	10	7386	5	6336	5	12550
30	5540	20	2530	10	9497	10	15530
45	1380	30	410	15	510	15	405
60	456	40	120	20	436	20	210
75	120	50	23	25	41	25	13
90	38	60	6	30	20		
105	10	70	1				
120	3						

Tabela 3.2. Numri i bakteveve *Pediococcus sp.* të mbijetuar

48°C		50°C		52°C		54°C	
Koha [min]	N [CFU/ml]	Koha [min]	N [CFU/ml]	Koha [min]	N [CFU/ml]	Koha [min]	N [CFU/ml]
0	144980	0	400000	0	520000	0	340000
5	45135	2	38805	1	3220	0,25	51240
10	706	4	520	2	194	0,5	535
15	93	6	53	3	2	0,75	90
20	3	8	2	4		1	3

Tabela 3.3. Numri i majave të egra të mbijetuar

47°C		49°C		50°C		52°C	
Koha, min	N, CFU/ml	Koha, min	N, CFU/ml	Koha, min	N, CFU/ml	Koha, min	N, CFU/ml
0	10000	0	10000	0	10000	0	10000
3	4355	1	12890	0,5	12060	0,25	5788
6	94	2	191	1	1450	0,5	33
9	50	3	538	1,5	22	0,75	19
12	4	4	23	2	6	1	1,07
		5	22	2,5	2		
		6	3				

Tabela 3.4. Numri i mikroorganizmave të mbijetuar *Saccharomyces carlsbergensis*

3.2. Përcaktimi i rezistencës termike-Z

Konstantja e rezistencës termike Z është njësuar përmes vlerave të regresionit njëfish linear të logaritmit të kohës së reduktimit decimal dhe është paraqitur në grafikun gjysmë logaritmik në figurat 3.2, 3.4, 3.6, dhe 3.8.^{3, 8} Konstantja e rezistencës termike Z është përcaktuar përmes vlerës pozitive reciproke të koeficientit të drejtimit (k.d = - 1/Z) të drejtëzave të fituara:

Për bakteret *Lactobacillus*

$$Y = - 0.11585 X + 1.954, \quad \sigma^2 = 0.999;$$

për *Pediococcus sp.*:

$$Y = - 0,112 X + 7.7, \quad \sigma^2 = 0.987;$$

për majatë e egra:

$$Y = - 0.239 \cdot X + 13.58, \quad \sigma^2 = 0.970;$$

për majatë *Saccharomyces carlsbergensis*:

$$Y = - 0.22 X + 11.168, \quad \sigma^2 = 1$$

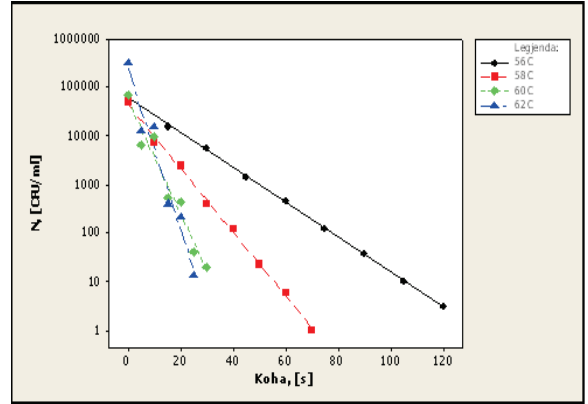


Figura 3.3. Grafiku gjysmë logaritmik i popullatës mikrobiale *Pediococcus sp.* të mbijetua

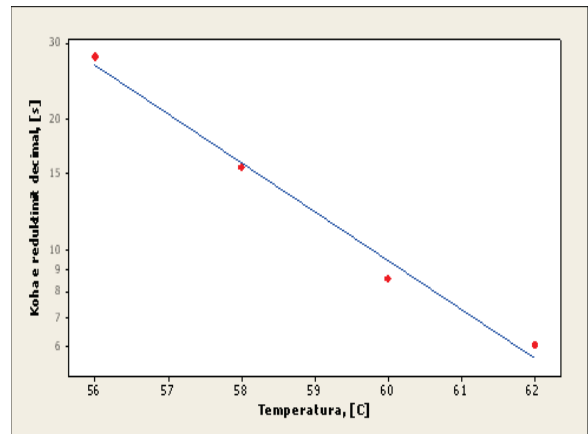


Figura 3.4. Grafiku gjysmë logaritmik i kohës së reduktimit decimal në varësi të temperaturës

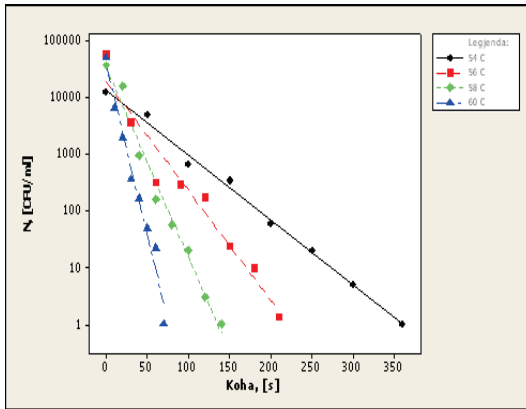


Figura 3.1. Grafiku gjysmë logaritmik i popullatës mikrobiale *Lactobacillus sp.* të mbijetuar

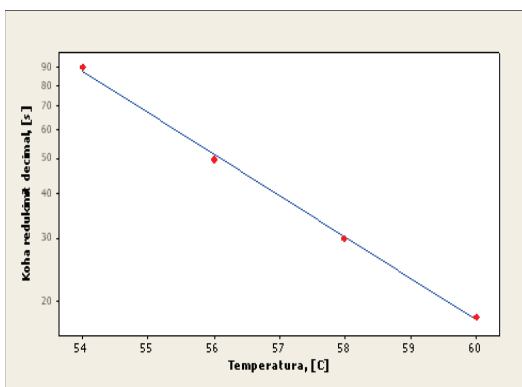


Figura 3.2. Grafiku gjysmë logaritmik i kohës së reduktimit decimal në varësi të temperaturës

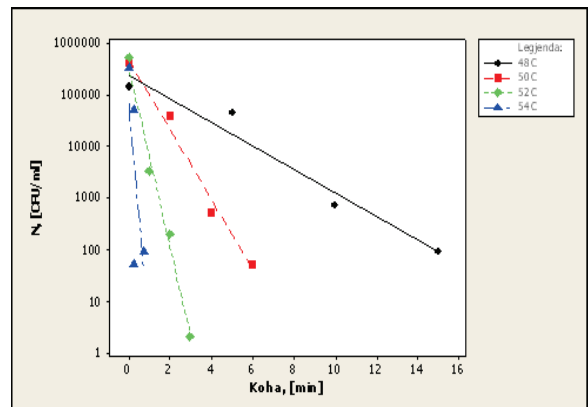


Figura 3.5. Grafiku gjysmë logaritmik i popullatës së majave të egra të mbijetuar

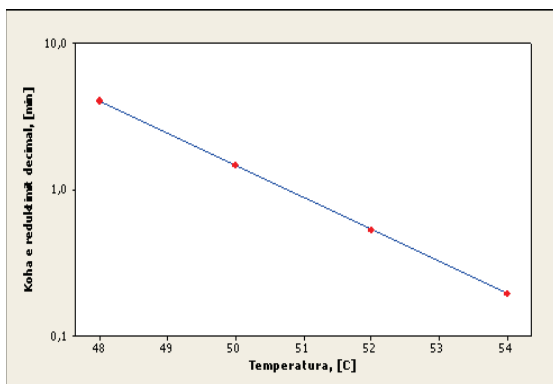


Figura 3.6. Grafiku gjysmë logaritmik i kohës së reduktimit decimal në varësi të temperaturës

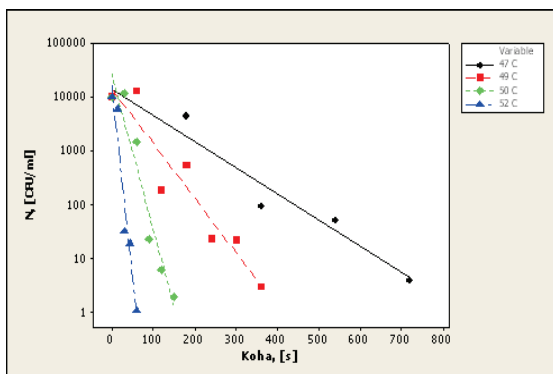


Figura 3.7. Grafiku gjysmë logaritmik i popullatës të majave *Saccharomyces carlsbergensis* të mbijetuar

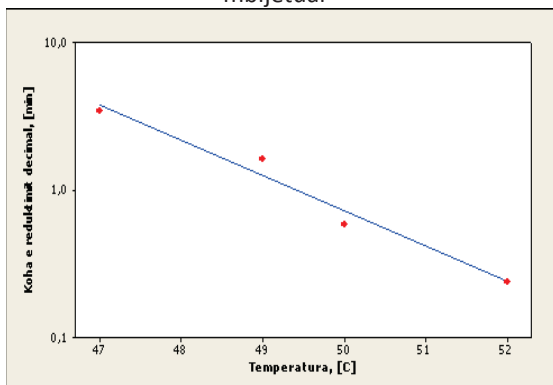


Figura 3.8. Grafiku gjysmë logaritmik i kohës së reduktimit decimal në varësi të temperaturës

1. Për bakteret *Lactobacillus sp.* koha e reduktimit decimal është: në 54°C (D=1.50 min), 56°C (D=0.83 min), 58 °C (D=0.50 min), 60°C (D=0.30 min) dhe konstantja e rezistencës termike Z=8.63 °C,

2. Për bakteret *Pediococcus sp.* koha e reduktimit decimal është në: 56°C (D=0,463 min), 58°C (D=0,257 min), 60°C (D=0,143 min), 62°C (D=0,101 min) dhe konstantja e rezistencës termike Z=8.9 °C

3. Për majatë e egra koha e reduktimit decimal është në: 48 °C (D=4.08 min), 50 °C (D=1.47 min), 52 °C (D=0.53 min), 54 °C (D=0.195 min) dhe konstantja e rezistencës termike Z= 4.54°C,

4. Për majatë e birrës *Saccharomyces carlsbergensis*, koha e reduktimit decimal është në: 47°C (D=3.45 min), 49°C (D=1.63 min), 50°C (D=0.59 min), 52°C (D=0.24 min) dhe konstantja e rezistencës termike Z= 4.18 °C.

LITERATURA

1. D.E. Briggs, C.A. Boulton, P.A. Brewing Science and practice, Brookes and Roger Stevens, chapter 17 *Microbiology*. pp.622-863

2. Mihailović M.B., Marković S.B., Praktikum praktične vežbe iz mikrobiologije, IDP „Naučna knjiga“ Beograd, 1991. f-37-45, 63-67, 105-106, 157-158.

3. Tucker S.G. Food Biodeterioration and Preservation, Chapter 3 Thermal Processing Ian J. Britt © 2008 by Blackwell Publishing Ltd, pp. 62-70.

4. Marić V., Bohunicki J. Priručnik za mikrobiologje u pivovarstvu, Tehnološki fakultet, Zagreb, 1972. pp. 63, 73, 83, 95-99, 110,124, 141, 153.

5. Morello A.J., Granato A.P., Mizer E.H., Laboratory Manual and Workbook in Microbiology Applications to Patient Care 7th Edition. SBN: 0-07-246354-6. Publication Date: June 2002. Pp. 15-22, 33-35, 54-55, 59-62, 65-67, 247-253.

6. Muškatirović M. Prevod Dip.inž, Analitika EBC III i Microbiološka analitika EBC. Evropska Pivarska Konvencija. Beograd, 1985. Pp. 183-212, 192-217, 243-262.

PËRFUNDIMI

7. Hysko M., Manual i mikrobiologjisë, F.SH.M-N. U.P. Tiranë, 2005. Pp. 14-26, 41, 81-102, 133, 147.
8. Ramesh K. Shah Rochester, Fundamentals of heatexchanger design. Institute of Technology, Rochester, New York Formerly at Delphi Harrison Thermal Systems, Lockport, New York, Dusan P. Sekulic. University of Kentucky, Lexington, Kentucky. Pp. 1-72.
9. Russell H. & Ayliffe's, Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization Edited by: Adam P Fraise, Peter A Lambert, Jean-Yves. Fourth edition 2004, Blackwell Publishing. F-361-377.
10. Wilhelm L.R., Suter D.A., Brusewitz G.H. Food & Process Engineering Technology. Amer Society of Agricultural (2005). f-163-172.
11. Ramesh K. Shah Rochester, FUNDAMENTALS OF HEAT EXCHANGER DESIGN. Institute of Technology, Rochester, New York Formerly at Delphi Harrison Thermal Systems, Lockport, New York, Dusan P. Sekulic. University of Kentucky, Lexington, Kentucky. f-1-72.
12. Russell, Hugo & Ayliffe's, Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization Edited by: Adam P Fraise, Peter A Lambert, Jean-Yves. Fourth edition 2004, Blackwell Publishing. F-361-377.
13. Wilhelm L.R., Suter D.A., Brusewitz G.H. Food & Process Engineering Technology. Amer Society of Agricultural (2005). Pp. 163-172.