

## MAJATË E EGRA KONTAMINUESE QË NDIKOJNË NË CILËSINË E BIRRËS GJATË DHE PAS PROCESIT TË FERMENTIMIT

LINDA LUARASI,<sup>1</sup> ROZANA TROJA,<sup>2</sup> JONILDA LLUPA.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Bioteknologjisë

<sup>2</sup>Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Kimisë Industriale

e-mail: [linda.luarasi@gmail.com](mailto:linda.luarasi@gmail.com)

### Përmbledhje

Birra është produkti përfundimtar i fermentimit alkoolik të mushtit. Proçesi i prodhimit të mushtit siguron një substrat të pasur me karbohidrate të fermentueshëm dhe lëndë të azotuara të tretshme (peptone dhe aminoacide), të cilat janë një terren shumë i mirë për zhvillimin jo vetëm të majasë fermentuese *S.cerevisiae*, por dhe të mikroorganizmave kontaminantë si maja të egra dhe baktere, të cilat sjellin ndryshime në konsistencën dhe karakteristikat organoleptike të produktit final. Qëllimi i këtij studimi është identifikimi i majave të egra që ndikojnë në cilësinë e birrës gjatë dhe pas proçesit të fermentimit. Për këtë qëllim u krye kontrolli i pastërtisë së kulturës starter si dhe kontrolli mikrobiologjik i birrave të filtruara dhe atyre të ambalazuara. Analizat u kryen në mostra birre të një marke vendase gjatë periudhës Gusht–Shtator. Metodat e analizave u bazuan në standartet *Analytica Microbiologica* EBC. Rezultatet e përftuara treguan një pastërti të kulturës starter, ndërsa tek birrat e filtruara pati zhvillim të një kolonie majaje e cila i përkiste gjinisë *Rhodotorula*.

**Fjalëkyçe:** birrë, majata të egra, *S. cerevisiae*, fermentim.

### Abstract

Beer is the final product of the alcoholic fermentation of the wort. The process of wort production provides a substrate richer in fermentable carbohydrates and soluble nitrogen compounds (peptone and amino acids), which are a suitable medium not only for the development of the fermentation yeast *S. cerevisiae*, but also for other microorganisms such as wild yeasts and bacteria that cause modification of the consistence and the organoleptic characteristics of the final product. The purpose of this study is the identification of the wild yeasts that affect the beer quality during and after the fermentation process. For this reason, the microbiological purity of the fermenting culture was evaluated and also the microbiological control of filtered and unfiltered beer was performed. The beer samples were taken from a local brand. All the cultivation methods are based on EBC standards, *Analytica Microbiologica*. The obtained results showed a microbiological purity of the fermenting culture, while during the microbiological control of the filtered beer, a colony of the wild yeast was grown, which belonged to the *Rhodotorula* genera.

**Keywords:** beer, wild yeasts, *S. cerevisiae*, fermentation.

## Hyrje

Proçesi i prodhimit të birrës karakterizohet nga një aktivitet i mikroorganizmave në çdo stad të tij. Shumica e këtyre aktiviteteve mikrobiale janë të dëshirueshme, duke qënë se birra është një produkt i fermentuar, por disa prej tyre paraqesin një disavantazh serioz për cilësinë e produktit final dhe prandaj duhen menaxhuar me shumë kujdes.

Si shumë produkte të tjera ushqimore të fermentuara, birra është rezistente ndaj zhvillimeve të mëtejshme të mikroorganizmave. Arsyet janë:

1. pH i ulët (rreth 4) inhibon shumicën e mikroorganizmave
2. përqëndrimi i lartë i alkoolit është toksik për shumë mikroorganizma
3. veprimi antiseptik i acideve të lupolos është bakteriostatik për shumë baktere, sidomos ato Gram-pozitive
4. vetëm mbetjet e nutrientëve (sheqernat pentozë dhe oligosakaridet e larta të maltos) janë të disponueshme si burim karboni.

Pavarësisht këtyre faktorëve kufizues, ekzistojnë disa maja dhe baktere të cilat rriten në birrë. Çdo mikroorganizëm i cili nuk është inokuluar me qëllim dhe që nuk është nën kontroll nga prodhuesit e birrës, quhet kontaminant. Dy janë grupet kryesore të mikroorganizmave përgjegjëse për kontaminimin e birrës: a) majatë e egra, b) bakteret. (Priest, 2003).

Majatë e egra mund të jenë të tipit *Saccharomyces* dhe jo-*Saccharomyces*. Majatë e egra *Saccharomyces* janë anaerobe fakultative dhe mund të shkaktojnë defekte në shije si dhe performancë të pazakontë fermentimi. Një nga majatë *Sacharomyces* më problematike është *Saccharomyces diastaticus*. Kjo maja e veçantë ka aftësinë për të zbërthyer dekstrinat të cilat nuk janë përdorur nga shtamet e *Saccharomyces cerevisae* duke çuar kështu në prodhimin e një produkti që dëmton cilësinë. Majatë e egra jo-*Saccharomyces* prirën të jenë organizma anaerobe dhe i përkasin gjinive të ndryshme. Më shpesh të gjendurat janë: *Brettanomyces spp* të cilat shkaktojnë prodhimin e komponimeve fenolike volatile, përgjegjëse për shfaqjen e aromave të padëshiruara në birrë., *Pichia spp* formimin e biofilmave dhe prodhimin e estereve të ndryshme, *Candida* dhe *Hansenula spp* të cilat rriten shpejt dhe formojnë biofilma. Megjithatë duhen përmendur edhe raste të majave jo-*Saccharomyces* të cilat përdoren me qëllim në prodhimin e birrës për të theksuar karakterin unik të një birre, si për shembull *Torulaspora delbrueckii* e cila përdoret për të gjeneruar një shije karafili në birrë. Burimet potenciale të kontaminimit të birrës nga majatë e egra janë: lëndët e para dhe aditivët, pajisjet dhe tubacionet, si dhe mjedisi ku prodhohet birra (Campbell, 2003).

Lëndët e para – është shumë e rëndësishme që shtami i majasë që do të përdoret për fermentim të jetë mikrobiologjikisht i pastër gjithashtu dhe çdo pajisje në kontakt me majanë. Është e preferueshme që çdo shtesë të realizohet mundësisht përpara proçesit të zjerjes për të siguruar kështu njëfarë sterilizimi.

Paisjet dhe tubacionet – çdo sipërfaqe në kontakt me mushtin, birrën apo majanë duhet t'i nënshtrohen pastrimit dhe sterilizimit me qëllim shmangien e kontaminimit nga mikroorganizmat ndotës si dhe formimin e biofilmave përgjatë tyre.

Mjedisi ku prodhohet birra – mikroorganizmat janë gjithmonë të pranishme në ajër, që shpesh kanë të bëjnë me grimcat e pluhurit dhe lagështinë e ajrit. Ato gjithashtu mund të futen në mjedis nëpërmjet insekteve apo edhe dëmtuesve të tjerë. Duhet bërë çdo përpjekje e mundshme për të shmangur rrezikun e ndotjes nga jashtë dhe për të zvogëluar kontaminimin nga ajri (Back, 2009).

### **Materiali dhe metodat**

#### **Marrja e mostrës së majasë fermentuese *Saccharomyces uvarum* W34/70**

Në këtë punim është marrë në studim majaja e birrës me fermentim të poshtëm *Saccharomyces carlsbergensis* syn. *uvarum*, (kulturë e pastër, shtami W34/70) nga koleksioni i majave HEFEBANK WEIHENSTEPHAN, Gjermani, e shoqëruar me certifikatë fitosanitare si dhe certifikatë analizash. Ky shtam W34/70 është një maja birre e selektuar dhe kultivuar në mënyrë natyrale dhe nuk i është nënshtuar metodave të modifikimit gjenetik klasik apo rekombinant, dhe si rrjedhojë nuk përmban asnjë gjen apo plasmid me rezistencë ndaj antibiotikëve.

#### **Kontrulli mikrobiologjik i kulturës së majasë**

Kultura e pastër e majasë duhet të demonstrojë karakteristikat e dëshiruara fermentuese dhe nuk duhet të përmbajë asnjë mikroorganizëm kontaminues.

Karakteristikat fermentuese të një majaje birre janë përshkruar në metodat EBC. Mikroorganizmat kontaminues përcaktohen nga inkubimi në terren të lëngët ose të ngurtë (EBC 3.2.5).

Terreni origjinal për mikrobiologjinë e birrës është vet mushti i saj, i ngurtësuar me agar nëse është e nevojshme. Avantazhi i përdorimit të një terreni me efektin inhibitor të lupolos është që vetëm mikroorganizmat kontaminante potenciale në birrë janë të aftë të rriten, por përmbajtja e tij është mjaft e pasur për qelime laboratorike.

Terreni i lëngët ekstrakt malti, i dehidratuar dhe i disponueshëm në formë tregtare, është më i varfër në nutrientë sesa mushti por i mjaftueshëm për të gjitha majatë dhe shumicën e baktereve në birrë, i cili përdoret gjerësisht.

Për vlerësimin e përgjithshëm të pastërtisë së kulturës së majasë kultivimi u realizua me anë të metodës së kultivimit me mbulim në terren musht agar në pjata Petri të cilat u inkubuan në termostat në 28°C për 3 ditë.

### Kontrolli mikrobiologjik i birrës së filtruar

Birrë e filtruar në këtë rast nënkupton birrën e cila nuk i është nënshtruar procesit të pasterizimit. Pika e marrjes së mostrës ishte direkt nga tanku i presionit. 50 ml birrë e filtruar u kultivua në terren selektiv, musht agar dhe PCA. Metoda e kultivimit përshkruhet në standardet EBC Analytica Mibrobiologica 3.3.4.1.

### Shkalla e fermentimit nga *S. uvarum* dhe *Rhodotorula* në ME broth

Përveç krahasim të karakteristikave morfologjike midis dy shtameve të majave, *S. uvarum* dhe *Rhodotorula*, u krye edhe prova e shkallës së fermentimit të tyre në terren të lëngët ekstrakt malti. Kjo procedurë u realizua me ndihmën e tubave të shumëfishtë dhe mikrotubave Durham.

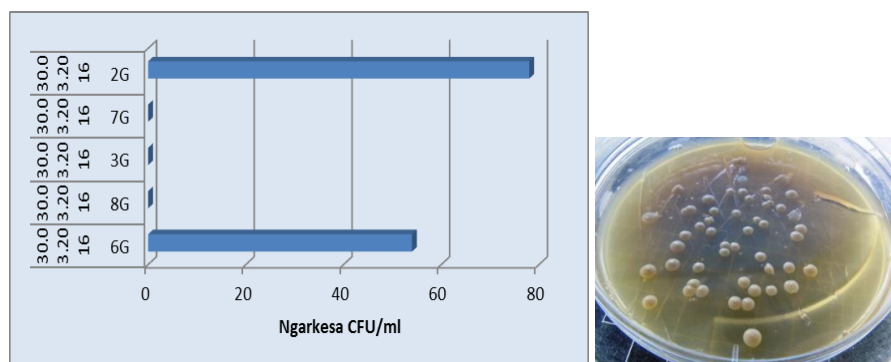
### Rezultatet dhe diskutime

#### Vlerësimi mikrobiologjik i produktit të gatshëm – birra të filtruara

Kontrolli mikrobiologjik, i fokusuar në cilësinë e produktit përfundimtar, demonstroi prezencën e disa mikroorganizmave specifike, shumica prej tyre baktere, maja dhe myqe të parrezikshme.

Rreziku i kontaminimit mikrobial lidhet jo vetëm me cilësinë e lëndëve të para por edhe me kushtet operuese në ambientet e prodhimit.

Numri i përgjithshëm i mikroorganizmave në birrat e filtruara gjatë kultivimit në musht agar i përkiste kulturës së majasë *Saccharomyces uvarum*.



**Figura 1.** Numri i përgjithshëm i mikroorganizmave në birrë të filtruar në musht agar

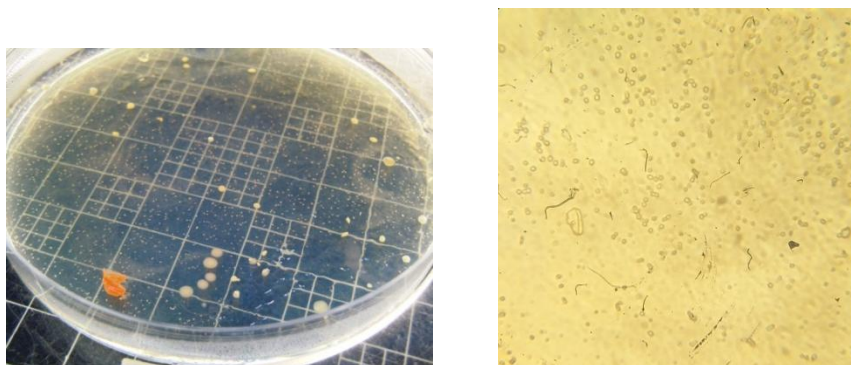
Në lidhje me ngarkesën e përgjithshme tek birrat e filtruara në PCA, vihet re prania e majave të pigmentuara *Sporobolomyces* dhe *Rhodotorula*.

Sipas studimeve të tjera, besohet që këto maja të egra që nuk i përkasin gjinisë *Saccharomyces* kanë origjinë nga lëndët e para.

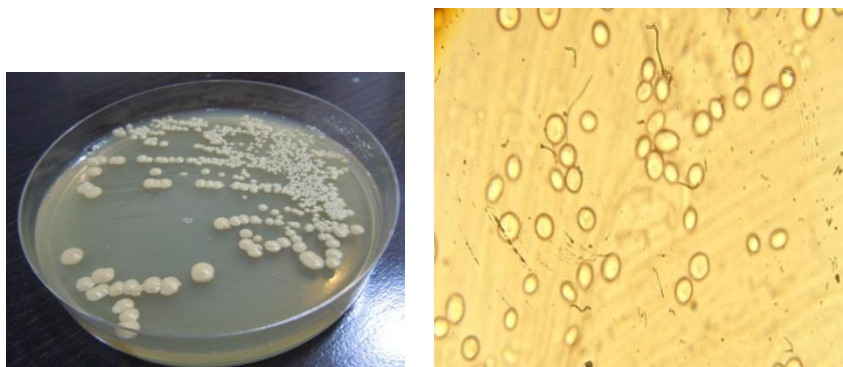
Numri i kolonive të majasë tek kokrrat e maltit variojnë nga  $7.2 \times 10^2$ – $1.1 \times 10^4$ /g, më së shumti të gjinive *Sporobolomyces* dhe *Rhodotorula* (Wiles, 1953).

Përveç vlerësimit të kolonive të majasë u përgatitën edhe preparate mikroskopike për të vëzhguar karakteristikat morfologjike.

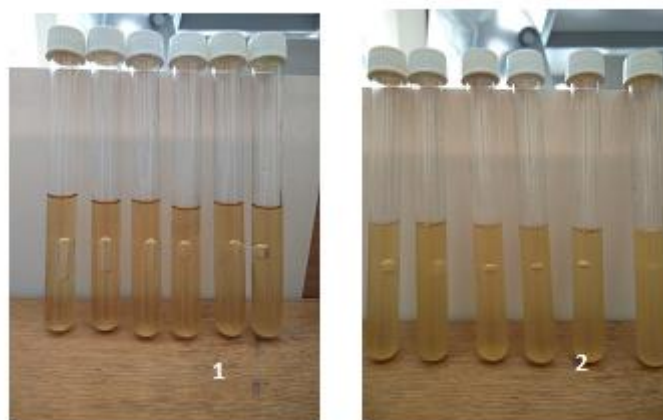
Gjinia *Rhodotorula* shfaq karakteristika të ndryshme morfologjike dhe fiziologjike me majanë kryesore. Ka koloni të pigmentuara, qelizat e saj janë më të vogla në madhësi sesa *S. uvarum*, dhe shfaq një shkallë fermentimit më të dobët kur rritet në terren të lëngët ekstrakt malti.



**Figura 2.** Kolonitë dhe forma e qelizës së *Rhodotorula*



**Figura 3.** Kolonitë dhe forma e qelizës së *S. uvarum*



**Figura 3.** Shkalla e prodhimit të CO<sub>2</sub> nga *S. uvarum* (1) dhe *Rhodotorula* (2)

Nga rezultatet e përfuara shihet qartë një ndryshim i madh i shkallës së prodhimit të gazit nga këto dy lloje majash. *S. uvarum* shfaq një fermentim të mirë kurse *Rhodotorula* (maja e egër) shfaq një fermentim të dobët, duke mos përbërë kështu një problem për kulturën e majasë.

### Përfundime

Vlerësimi i përgjithshëm mikrobiologjik në fazat e ndryshme të prodhimit të birrës shfaq prezencën e disa shtameve specifike të cilët nuk konsiderohen patogjenë ose të dëmshëm. Edhe pse kompanitë e prodhimit të birrës aplikojnë praktika të mira higjenike, është e pashmangshme prezenca e mikroorganizmave të ajrit si dhe të atyre që hasen në mjedisin e ruajtjes së lëndës së parë. Majate e egra që nuk i perkasin familjes *Saccharomyces* të cilat janë *Sporobolomyces* dhe *Rhodotorula* janë bazidiomicete të zakonshme mjedisore, që gjenden shpesh në ambientet e prodhimit të birrës. Gjatë vlerësimit mikrobiologjik të numrit të përgjithshëm të mikroorganizmave në procesin e fermentimit, nuk u vu re prania e ndonjë shtami specifik.

Në lidhje me pikat kritike të kontrollit, me problematikat dhe të një rëndësie të veçantë janë sektorët e daljes së birrës nga filtrimi, tanku i presionit, mbushja e birrës, shishet bosh dhe birra përpara taposjes. Procesi i larjes së shisheve konsiderohet gjithashtu një proces delikat duke qënë një burim potencial i rritjes së mikroorganizmave.

### Literatura

Back, W. (2009). Microflora in the Brewery. In: Microbiology 18. In: Handbook of Brewing: Process, Technology, Markets. Eßlinger H. M. (2009), WileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 477-490

Berry D. R., Russell I., Stewart G.C. (1987). Yeast Biotechnology; Part I, Ch. 2, p. 36. ISBN 978-94-010-7903-7

Campbell, I. (2003). Microbiological methods in brewing analysis. *Brewing Microbiology* 3<sup>rd</sup> edition 12, 367-378, ISBN 0-306-47288-0

EBC Analytica Microbiologica – Method 3.1.4 (1984). *Journal of the Institute of Brewing* Volume 90, Issue 4; 273

EBC Analytica Microbiologica – Method 3.2.2 (1984). *Journal of the Institute of Brewing* Volume 90, Issue 4; 272–276

EBC Analytica Microbiologica – Method 2.4.7 (1981). *Journal of the Institute of Brewing* Volume 87, Issue 5; 303–321

Priest, F. G. Campbell, I. (2003). *Brewing Microbiology* 3<sup>rd</sup> edition. Kluwver Academic/Plenum Publishers, New York. ISBN 0-306-47288-0

Storgårds, E. (2000). Process hygiene control in beer production and dispensing. Technical Research Center of Finland ISBN 951-38-5559-7

Vaughan, A. O’Sullivan, T. Van Sinderen, D. (2005). Enhancing the microbiological stability of beer – A review. *Journal of the Institute of Brewing* 111(4), 355–371

Wiles, E. (1953). Identification and significance of yeasts encountered in the brewery. *Journal of the Institute of Brewing* Volume 59, Issue 4; 265–284