

KONTROLLI CILËSISË SË BUKËS TË PRODHUAR ME
PËRDORIMIN E SACCHAROMYCES CEREVISIAE DHE
 α -AMILAZËS SË FRESKËT

TEMA PËR GRADËN MASTER I SHKENCËS NË INXHINIERI DHE
TEKNOLOGJI USHQIMORE

NGA

LEONITA SALIHI



UNIVERSITETI "ISA BOLETINI" MITROVICË
FAKULTETI I TEKNOLOGJISË USHQIMORE
DEPARTAMENTI I TEKNOLOGJISË

MITROVICË

KORRIK, 2021

QUALITY CONTROL OF BREAD PRODUCED USING
SACCHAROMYCES CEREVISIAE AND FRESH α -AMYLASE

THESIS FOR THE DEGREE OF MASTERS OF SCIENCE IN FOOD
ENGINEERING AND TECHNOLOGY

BY

LEONITA SALIHI



UNIVERSITY "ISA BOLETINI" MITROVICË
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF TECHNOLOGY

MITROVICË

JULY, 2021

KONTROLLI I CILËSISË SË BUKËS TË PRODHUAR ME PËRDORIMIN E
SACCHAROMYCES CEREVISIAE DHE α -AMILAZËS SË FRESKËT

TEMA E PREZENTUAR

NGA

LEONITA SALIHI

NË

DEPARTAMENTIN E TEKNOLOGJISË

NË PLOTËSIMIN E PJESSHËM TË OBLIGIMEVE PËR TË FITUAR TITULLIN
MASTER I SHKENCËS NË INXHINIERINË DHE TEKNOLOGJINË USHQIMORE

KORRIK, 2021



UNIVERSITETI "ISA BOLETINI" MITROVICË
FAKULTETI I TEKNOLOGJISË USHQIMORE
DEPARTAMENTI I TEKNOLOGJISË

Aprovuar prej komisionit:

_____ Kryetar

Milaim Sadiku, Prof. Asoc.

_____ Mentor

Alush Musaj, Prof. Dr.

_____ Anëtar

Sadija Kadriu, Prof. Asoc.

Data e aprovimit: _____

QUALITY CONTROL OF BREAD PRODUCED USING SACCHAROMYCES
CEREVISIAE AND FRESH α -AMYLASE

BY

LEONITA SALIHI

IN

DEPARTMENT OF TECHNOLOGY

IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD ENGINEERING

JULY, 2021



UNIVERSITY "ISA BOLETINI" MITROVICË
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF TECHNOLOGY

Approved from Commission:

_____ Chairman
Milaim Sadiku, Prof. Asoc.

_____ Mentor
Alush Musaj, Prof. Dr.

_____ Member
Sadija Kadriu, Prof. Asoc.

Date of approval: _____

ABSTRAKTI I PUNIMIT

Kontrolli i cilësisë së bukës të prodhuar me përdorimin e *Saccharomyces cerevisiae* dhe α -amilazës së freskët

nga

Leonita Salihi

Master i Shkencës në Inxhinieri dhe Teknologji Ushqimore

Fakulteti i Teknologjisë Ushqimore, Mitrovicë, 2021

Prof. Dr. Alush Musaj, Mentor

Qëllimi i këtij hulumtimi është prodhimi i enzimës alfa amilazë duke përdorur bakteret *Bacillus spp* dhe kultivimi i majave *Saccharomyces cerevisia* duke përdorur tre lloje të medimeve, si dhe në fund përcaktimin e cilësisë së bukës së përgatitur me aplikimin e majës së kultivuar dhe enzimës së freskët të prodhuar.

Realizimi i gjithë punës eksperimentale është kryer në laboratorin e Fakultetit të Teknologjisë Ushqimore "Isa Boletini" në Mitrovicë. Prodhimi i enzimës alfa amilazë është realizuar përmes dy llojeve të fermentimeve, fermentimit të lëngët ku si kultura bakteriale janë përdorur bakteret *Bacillus spp* dhe L-B mediumi dhe fermentimit të ngurtë ku si substrat janë përdorur mbetjet industriale si lëvoret e patateve dhe bananeve. Kultivimi i majës *Saccharomyces cerevisia* është bërë duke përdorur tre medime të ndryshme atë YPG, YPS dhe melasën. Maja së bashku me enzimën e prodhuar pastaj u përdoren për përgatitjen e bukës. Në fund bukës së prodhuar në kushte laboratorike i janë analizuar parametrat e cilësisë si poroziteti dhe vëllimi specifik.

Duke u bazuar në rezultatet e fituara arrihet në përfundim se procesi i prodhimit të enzimës; kultivimi i majës dhe aplikimi i tyre në bukë ka rezultuar mjaftë i suksesshëm dhe produktiv.

ABSTRACT OF THE THESIS

Quality control of bread produced using *Saccharomyces cerevisiae* and fresh α -amylase

By

Leonita Salihi

Master of Science in Food Engineering and Technology

Faculty of Food Technology, Mitrovicë, 2021

Prof. Dr. Alush Musaj, Mentor

The aim of this research is to produce the enzyme alpha amylase using the bacteria *Bacillus spp* and the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* yeast using three types of media, as well as finally determining the quality of bread prepared by the application of cultured yeast and freshly produced enzyme.

The realization of all experimental work was performed in the laboratory of the Faculty of Food Technology "Isa Boletini" in Mitrovica. The production of alpha amylase enzyme is realized through two types of fermentations, liquid fermentation where as bacterial culture the bacteria *Bacillus spp* and L-B medium are used and solid fermentation where as substrate are used industrial wastes such as potato and banana peels. Cultivation of *Saccharomyces cerevisia* yeast was done using three different media namely YPG, YPS and molasses. Yeast along with the enzyme produced was then used to make bread. Finally, quality parameters such as porosity and specific volume were analyzed for bread produced under laboratory conditions.

Based on the results obtained it is concluded that the enzyme production process; yeast cultivation and their application in bread has proved quite successful and productive.

PËRMBAJTJA

ABSTRAKTI I PUNIMIT	i
ABSTRACT OF THE THESIS	ii
PËRMBAJTJA.....	iii
LISTA E TABELAVE.....	vii
LISTA E FIGURAVE.....	viii

KAPITULLI I

1. HYRJE.....	1
---------------	---

KAPITULLI II

2. PJESA TEORIKE.....	3
2.1 Enzimat.....	3
2.1.1 Hidrolizat	3
2.1.2 Glukozilazat- Karbohidrazat.....	4
2.2 Amilaza	5
2.2.1 Origjina e amilazave	5
2.2.2 Llojet e amilazave	6
2.2.3 Aplikimet industriale të amilazave	7
2.3 α -amilaza	8
2.3.1 Burimet e α -amilazës	9
2.3.2 Struktura e α -amilazës	10
2.3.3 Prodhimi i α -amilazës	12
2.3.3.1 Parametrat fiziko-kimik të prodhimit të α -amilazës	13
2.3.4 Aplikimi i α -amilazës në industrinë e prodhimit të bukës.....	14
2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15

2.4.1	Karakteristikat e përgjithshme	15
2.4.2	Lëndët ushqyese.....	16
2.4.3	Struktura qelizore.....	17
2.4.4	Cikli jetësor i <i>S.cerevisiae</i>	18
2.4.5	Metabolizmi i sheqernave	19
2.4.6	Efekti Crabtree.....	21
2.4.7	Struktura dhe funksioni gjenetik i <i>S. cerevisiae</i>	21
2.4.8	Cikli i rritjes së qelizave	22
2.4.9	Kushtet e rritje së <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23
2.4.10	Aplikimi i <i>S. cerevisiae</i> në industrinë e prodhimit të bukës	25
2.5	Melasa	26
2.6	Procesi teknologjikë i prodhimit të bukës	28
2.6.1	Mielli.....	28
2.6.2	Uji	29
2.6.3	Kripa	30
2.6.4	Maja	31
2.6.5	Shtesat tjera plotësuese	32
2.7	Linja teknologjike e prodhimit të bukës.....	33
2.7.1	Pranimi i lëndës së parë	33
2.7.2	Përgatitja e lëndëve të para	33
2.7.3	Përzierja e përbërësve	34
2.7.4	Fermentimi.....	35
2.7.5	Formësimi	38
2.7.6	Pjekja	39
2.7.7	Ftohja.....	41
2.7.8	Ruajtja.....	41

KAPITULLI III

3.	METODOLOGJIA.....	43
3.1	Testi i hidrolizës së amidonit	43
3.2	Përgatitja e inokulimeve për bakteret dhe majat	44

3.3 Fermentimet	44
3.3.1 Fermentimi i lëngët për bakteret dhe majat	44
3.3.2 Fermentimi i ngurtë për bakteret <i>Bacillus spp</i>	46
3.3.2.1 Përcaktimi i lagështisë.	47
3.3.3 Fermentimi në bioreaktor	48
3.3.3.1 Përgatitja e mediumit me melasë.	48
3.3.3.2 Fermentimi i mediumit me melasë në Erlermajerë.	50
3.3.3.3 Përcaktimi i absorbancës për fermentimin në bioreaktor.	50
3.4 Përcaktimi i absorbancës	50
3.5 Nxjerrja e supernatantit	51
3.5.1 Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e lëngët	51
3.5.2 Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e ngurtë.....	52
3.6 Përcaktimi i aktivitetit enzimës	52
3.7 Përcaktimi i sheqernave të lira tek majat	53
3.8 Përcaktimi i peshës së thatë të qelizave:	54
3.9 Përcaktimi i reduktimit të sheqernave	55
3.10 Jodoform Testi.....	55
3.11 Përgatitja e bukës duke përdorur majën e kultivuar	56
3.12 Përgatitja e bukës duke përdorur majën me melasë	58
3.13 Përcaktimi i peshës së bukës pas pjekjes	59
3.14 Përcaktimi i porozitetit të bukës.....	60
3.15. Përcaktimi i vëllimit të bukës.....	61
3.16 Rezultatet e arritura nga puna eksperimentale	62
3.16.1 Rezultatet nga përcaktimi i lagështisë	62
3.16.2 Rezultatet e rritjes baktereve <i>Bacillus spp</i>	62
3.16.3 Rezultatet e aktiviteti enzimatik	63
3.16.4 Rezultatet e rritjes majave <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	64
3.16.5 Rezultatet e rritjes së majave në mediumin me melasë	65
3.16.6 Rezultatet e peshimit të bukës së përgatitur	66
3.16.7 Rezultatet e karakteristikave organo-leptik të bukës	67
3.16.8 Rezultatet e porozitetit dhe vëllimit specifik të bukës.....	68

KAPITULLI IV

4. DISKUTIMI I REZULTATEVE.....	69
---------------------------------	----

KAPITULLI V

5. PËRFUNDIME.....	74
CONCLUSIONS.....	75
BIBLIOGRAFIA	76
Burimet të tjera.....	79

LISTA E TABELAVE

Tabela 2.1: Mineralet dhe vitaminat e nevojshme për rritjen e majave [30]	24
Tabela 2.2: Përbërja e kallamit dhe panxharit të sheqerit [30]	27
Tabela 3.1: Paraqitja e parametrave gjatë punës në bioreaktor.....	49
Tabela 3.2: Lagështia e lëvoreve të bananes dhe patates.....	62
Tabela 3.3: Peshat e bukëve të prodhuara.....	66
Tabela 3.4: Karakteristikave organo-leptike të bukës.....	67
Tabela 3.5: Përcaktimi i porozitetit të bukës.....	68
Tabela 3.6: Përcaktimi i vëllimit të bukës	68

LISTA E FIGURAVE

Figura 2.1: Struktura e alfa amilazës [46].....	11
Figura 2.2: Zbërthimi i sheqernave [19]	20
Figura 2.3: Skema teknologjike e prodhimit të bukës	42
Figura 3.1: Testi i hidrolizës.....	43
Figura 3.2: Përgatitja e inokulimeve	44
Figura 3.3: Realizimi i fermentimit të lëngët për baktere	45
Figura 3.4: Realizimi i fermentimit të lëngët për maja	45
Figura 3.5: Tharja e lëvoreve të bananeve dhe patateve.....	46
Figura 3.6: Përgatitja e lëvoreve të bananeve dhe patateve	47
Figura 3.7: Përcaktimi i lagështisë	48
Figura 3.8: Përgatitja e mediumit me melasë.....	48
Figura 3.9: Pamje gjatë punës në bioreaktorë	49
Figura 3.10: Përgatitja e mostrave të marra nga bioreaktori.....	50
Figura 3.11: Përcaktimi i absorbancës	51
Figura 3.12: Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e lëngët	51
Figura 3.13: Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e ngurtë	52
Figura 3.14: Përcaktimi i aktivitetit enzimës	53
Figura 3.15: Përcaktimi i sheqernave të lira	53
Figura 3.16: Përcaktimi i peshës së thatë të qelizave.....	54
Figura 3.17: Realizimi i jodoform testit.....	55
Figura 3.18: Fermentimi i bukës pas 2 orëve	56
Figura 3.19: Fermentimi i bukës pas 18 orëve.....	57
Figura 3.20: Përgatitja dhe pjekja e bukës	57
Figura 3.21: Përgatitja e bukës duke përdorur majën me melasë	58
Figura 3.22: Përgatitja e bukës duke përdorur vetëm qelizat e majave	59

Figura 3.23: Pamja e bukës pas pjekjes	60
Figura 3.24: Përcaktimi i porozitetit të bukës.....	61
Figura 3.25: Përcaktimi i vëllimit specifik të bukës	62
Figura 3.26: Paraqitja grafike e rritjes së bakteve Bacillus spp	63
Figura 3.27: Grafiku i aktivitetit enzimatik gjatë fermentimit të lëngët	63
Figura 3.28: Grafiku i aktivitetit enzimatik gjatë fermentimit të ngurtë.....	64
Figura 3.29: Paraqitja grafike e rritjes së majave në YPG medium.....	64
Figura 3.30: Paraqitja grafike e rritjes së majave në YPS medium	65
Figura 3.31: Grafiku i rritjes së majave në mediumin me melasë	65

KAPITULLI

1. HYRJE

Për disa mijëra vjet, buka ka qenë një nga përbërësit kryesorë të dietës njerëzore, duke e bërë kështu përgatitjen e bukës një nga proceset më të vjetra bioteknologjike [1].

Buka konsiderohet si ushqimi kryesor për shumicën e njerëzve dhe konsumohet çdo ditë, prandaj studiuesit analizojnë vetit fizike të drithërave, vetit kimike të miellit dhe vetitë reologjike të brumit për të parashikuar cilësinë e bukë [2].

Konsumatorët përdorin kritere të shumta për të vlerësuar nëse një produkt ushqimor përmbush kërkesat dhe pritshmërit e tyre. Bazuar në karakteristikat e produktit ushqimor konsumatorët perceptojnë cilësinë dhe japin një qëndrim ndaj atij produkti. Procesi i perceptimit të cilësisë sipas konsumatorit fillon duke mbledhur dhe kategorizuar karakteristikat e brendshme dhe të jashtëm të produktit. Karakteristikat e brendshme të produktit i përkasin vetë produktit, siç janë pamja, ngjyra, forma dhe prezantimi i tij. Në të kundërt, karakteristikat e jashtme të produktit lidhen me çmimin, emrin e markës, vulën e cilësisë, vendin e origjinës, pamjen e dyqanit, informacionin e prodhimit dhe informacionin ushqyes. Bazuar në këto attribute formohen besimet në lidhje me cilësinë e produktit. [3]

Për konsumatorin, ndër karakteristikat kryesore të bukës janë aroma dhe struktura. Aroma karakteristike e bukës formohen kryesisht gjatë pjekjes dhe nga reaksionet enzimatike që ndodhin gjatë fermentimit, ndërsa nxehtësia ndikojnë në aromën e kores së bukës. Përveç aromës, freskia, ngjyra, butësia, struktura dhe vetitë e kafshimit ndikojnë në perceptimin e cilësisë së përgjithshme të bukës [3].

Konsumi i kudondodhur i bukës e vendos atë në një pozitë me rëndësi globale. Produktet e bukës ndryshojnë shumë në të gjithë botën, ashtu si dhe teknikat e tyre të prodhimit, por megjithatë përbërësit që përdoren mbeten të njëjtë. Përbërësit themelore janë: mielli i

drithërave, uji, maja dhe kripa. Drithërat kanë përmbajtje të lartë të amidonit, gjithashtu sigurojnë fibra dietike, proteina, lipide të pasura me acide yndyrore thelbësore, vitamina, veçanërisht vitaminën B-kompleks, minerale, antioksidantë, etj. Mes drithërave të ndryshme që përdoren, gruri ka aftësi unike për të formuar brumë kur përzihet me ujë, si dhe për të mbajtur gazin e prodhuar gjatë fermentimit, prandaj shumica e llojeve të bukës prodhohen duke përdorur miellin e grurit [3].

Saccharomyces cerevisiae ndryshe njihet si maja e bukës, dhe është një nga përbërësit kryesorë për prodhimin e saj. Kjo majë bënë degradimin e karbohidrateve deri në dyoksid karboni dhe etanol dhe si rezultat i prodhimit të gazrat nga fermentimit, shkaktohet rritje e vëllimit të bukës. Gjatë fermentimit të majave përveç dyoksid karboni prodhohen edhe metabolite të tjerë sekondarë, të cilët kanë ndikim në cilësinë e produktit përfundimtar. Maja ndikon në vëllimin, strukturën, aromën, ngjyrën dhe afatet e ruajtjes së bukës dhe produkteve konditore. Për shkak të prodhimit të metabolitëve sekondarë si estere, aldehide dhe ketone, thuhet se maja ndikon në dhënien e aromës së bukës, po ashtu metabolitet e tjerë sekondar që prodhohen të tillë si aminoacidet, glicerina, acidet ndikojnë në ngjyrën dhe afatin e ruajtjes së produktit [4].

Alfa-amilaza është enzima më e rëndësishme zbërthyesë e karbohidrateve për industrinë që bazohen në hidrolizimin e amidonit. Shtimi i amilazave gjatë përgatitjes së bukës dhe produkteve konditore ka raportuar rritje të pranimit të produktit nga ana e konsumatorit. Amilazat janë përdorur si agjentë standardizues dhe anti-ndenjës gjatë prodhimit të bukës. Për këtë qëllim, α -amilazat konsiderohen si aditivë shumë të sigurt, ku ato rrisin nivelin e sheqernave të fermentueshme në brumë, duke nxitur kështu fermentimin e majasë dhe formimin e metaboliteve sekondar që intensifikojnë aromën, shijen e bukës dhe ngjyrën e kores [5].

KAPITULLI II

2. PJESA TEORIKE

2.1 Enzimat

Enzimat janë katalizatorë me prejardhje biologjike për këtë arsye quhen edhe katalizatorë biologjike ose biokatalizatorë. Enzimat rregullojnë reaksionet biokimike, ku i japin kaheje zhvillimit të reaksionit dhe në fund mbesin të pandryshuar. Industrializimi i proceseve bioteknologjike rriti interesimin e përdorimit të enzimave në proceset e përpunimit të ushqimit, si dhe rriti përdorimin e tyre edhe në industrinë e detergjenteve, lëkurës, tekstilit, etj, duke e bërë kështu prodhimin e enzimave një fushë me rëndësi në zhvillimin e bioteknologjisë [6]. Unioni Ndërkombëtar për Biokimi sipas tipit të reaksionit kimik që katalizojnë, enzimat i ndanë në 6 grupe kryesore:

1. Oksidoreduktaza
2. Transferaza
3. Hidrolaza
4. Liaza
5. Izomeraza dhe
6. Ligaza ose sintetaza

2.1.1 Hidrolazat

Janë enzime të cilat katalizojnë zbërthimin e molekulave të përbëra (proteinave, sheqernave dhe të lipideve) në ato më të thjeshta me pjesëmarrjen e ujit. Në këtë rast uji e luan rolin e akceptorit në të cilin bëhet bartja e grupeve, mbetjeve ose radikaleve tjera nga substrati që i nënshtrohet hidrolizës. Këto enzima nuk e katalizojnë vetëm procesin e zbërthimit por në

kushte të veçanta edhe reaksionin e sintezës së komponimeve të përbëra organike prej atyre të thjeshta me lirim e ujit. Grupi i hidrolizave për nga numri i enzimave është grupi më i madhe. Është karakteristik se këto enzima nuk kanë koenzimë, por për aktivitetin e shumë hidrolizave është e nevojshme prezenca e joneve të metaleve dhe reaksionet e hidrolizës janë ireversibile. Në këtë grup enzimesh bëjnë pjesë të gjithë enzimat e traktit digjektiv.[6] Meqenëse ekzistojnë substrate të ndryshme në të cilat veprojnë, hidrolazat mund të ndahen në disa nëngrupe varësisht se cilat lidhje kimike i hidrolizojnë:

1. Hidrolazat e estereve të ndryshme- Esterazat
2. Hidrolazat e lidhjeve glikozidike- Glukozilazat (Karbohidrazat)
3. Hidrolazat e lidhjeve eterike
4. Hidrolazat e lidhjeve peptidike- Peptidazat
5. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes karbonit dhe azotit (C-N)
6. Hidrolazat e anhidriteve të acideve
7. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes karbonit dhe karbonit (C-C)
8. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes karbonit dhe halogjenit (C-X)
9. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes fosforit dhe azotit (P-N)
10. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes sulfurit dhe azotit (S-N)
11. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes karbonit dhe fosforit (C-P)
12. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes sulfurit dhe sulfurit (S-S)
13. Hidrolazat që veprojnë në lidhjet kimike mes karbonit dhe sulfurit (C-S) [7]

2.1.2 Glukozilazat- Karbohidrazat

Janë grup i madhë i hidrolizave që katalizojnë procesin e zbërthimit të lidhjeve glikozidike të karbohidrateve. Këto enzima ndahen në dy nëngrupe:

- Glukan-hidrolazat (Polioza)- këto enzime bëjnë hidrolizën (zbërthimin) e polisakarideve në oligosakaride ose monosakaride. Këtu bëjnë pjesë këto enzime: amilazat, celulazat, dekstranazat, pektinazat dhe enzime të tjera.
- Glukozid-hidrolazat ose glukozidazat (Oligoza)- këto enzime bëjnë hidrolizën (zbërthimin) e oligosakarideve dhe disakarideve në monosakaride. Këtu bëjnë pjesë këto enzime: maltaza, celociaza, laktaza, saharaza, dhe enzime të tjera.

Midis enzimave të rëndësishme industriale, proteazat dhe amilazat konsiderohen të jenë enzimat më të spikatura pasi që ato përdoren gjerësisht në industrinë e pijeve, detergjenteve dhe në industrinë e ushqimit [8].

2.2 Amilaza

Amilaza është enzima e parë e prodhuar në mënyrë industriale, kjo e cila origjinën e ka nga kërpudhat dhe në fillim u përdor si një ndihmë farmaceutike për trajtimet e çrregullimeve të tretjes. Historia e amilazave filloi në vitin 1811 atëherë kur u zbulua enzima e parë degraduese e amidonit dhe hodhi themelet për zbulimin dhe hulumtimin e amilazave tjera [9]. Amilazat janë enzima, të cilat hidrolizojnë (zërthejnë) molekulat e amidonit në produkte të ndryshme përfshirë maltozën, dekstrinat dhe polimere progresivisht më të vogël të përbërë nga njësi glukoze [10]. Fillimisht termi amilazë u përdor për të përcaktuar enzimat të cilat ishin të afta të hidrolizojnë lidhjet α -1,4- glukoze të amilozës, amilopektinës, glikogjenit dhe produkteve të tyre të degradimit. Por pastaj u konstatua që amilazat kryesisht hidrolizojnë lidhjet mes njësisive të ngjitura të glukozës, dhe në këtë mënyrë japin produkte karakteristike varësisht nga lloji i enzimës që përfshihet në reaksion [11]. Amilazat ndahen në dy kategori, endoamilazat dhe ekzoamilazat. Endoamilazat katalizojnë hidrolizën në një mënyrë të rastësishme në brendësi të molekulës së amidonit duke prodhuar oligosakaride lineare dhe të degëzuara me gjatësi të ndryshme të vargut, ndërsa ekzoamilazat veprojnë nga fundi i molekulës së amidonit duke prodhuar produkte me vargje të shkurtra [10].

2.2.1 Origjina e amilazave

Amilazat rrjedhin nga bimët, kafshët, kërpudhat, bakteret, dhe gjenden gjithashtu edhe në eukariotët njëqelizore. Amilazat me origjinë nga bimët dhe nga mikrobet janë përdorur për shekuj të tërë në industrinë e prodhimit të birrës, si dhe janë përdorur edhe si aditivë ushqimor. Amilazat e elbit kryesisht përdoren për prodhimin e birrës, ndërsa amilazat e kërpudhave përdoren gjerësisht në përgatitjen e ushqimeve orientale [12]. Përkundër shpërndarjes së gjerë të amilazave, dhe megjithëse bimët dhe kafshët prodhojnë atë,

burimet mikrobike, kryesisht amilazat me origjinë nga kërpudhat dhe bakteret përdoren për prodhime industriale për shkak të përparësive të tilla si: efektiviteti i kostos; qëndrueshmëria; produktiviteti; termostabiliteti i enzimës; lehtësia e kultivimit të mikroorganizmave; si dhe lehtësia e modifikimit dhe optimizimit të procesit. Prodhimi i amilazave mikrobike nga bakteret varet nga lloji, përbërja e mjedisit, mënyra e kultivimit, rritja e qelizave, kërkesat e lëndëve ushqyese, periudha e inkubacionit, pH, temperatura, prezenca e joneve metalike dhe termostabiliteti. Në fakt, mikroorganizmat të rëndësishëm industriale të tillë si speciet e gjinisë *Bacillus*, mund të shfrytëzohen komercialisht për shkak të shpejtësisë së tyre të rritjes që çon në cikle të shkurtra fermentimi, aftësisë për të sekretuar proteina në mjedisin jashtëqelizor dhe trajtimit të sigurt. Po ashtu edhe kërpudhat që i përkasin gjinisë *Aspergillus* prodhojnë një larmi të madhe të enzimave jashtëqelizore dhe amilazat janë ato me rëndësinë më të madhe industriale. Është përcaktuar se amilazat me origjinë bakteriale kanë më shumë termostabilitet sesa amilazat me origjinë nga kërpudhat, prandaj preferohen të prodhohen më shumë amilazat bakteriale se sa amilazat e kërpudhave [9]. Nivelet më të ulëta të prodhimit të këtyre enzimave janë vërejtur edhe nga speciet tjera si *Saccharomyces*, *Streptomyces*. Amilazat janë ndër enzimën më të studiuar ku llojlojshmëria dhe veprimi i tyre specifik, tërhoqi vëmendjen në të gjithë botën në përpjekjet për të shfrytëzuar aplikimet e tyre fiziologjike dhe bioteknologjike [12].

2.2.2 Llojet e amilazave

Enzimën që i përkasin amilazave, endoamilazave dhe ekzoamilazave, janë në gjendje të hidrolizojnë amidonin. Këto enzima klasifikohen sipas mënyrës në të cilën sulmojnë lidhjen glikozidike α -1,4 ose α -1,4 dhe α -1,6, [9] prandaj ato ndahen në këto klasa vijuese:

- α -amilaza (endoamilaza)- këto enzima janë në gjendje të hidrolizojnë lidhje glikozidike α -1,4 të pranishme në pjesën e brendshme (endo) të polisakarideve, andaj këto enzime bëjnë zbërthimin e vargut polisakarid në varg oligosakarid. α -amilazat janë endoamilaza të njohur, gjenden në një shumëllojshmëri të gjerë të mikroorganizmave, janë metaloenzime të kalciumit, plotësisht të paafta për të funksionuar në mungesë të kalciumit, dhe zbërthejnë karbohidratet me zinxhir të gjatë duke vepruar në vende të rastësishme përgjatë zinxhirit të amidonit, duke

dhënë në fund maltotriozë dhe maltozë nga amiloza, ose maltozë, glukozë dhe sasi të kufizuara të dekstrinës nga amilopektina.

α -amilazat kanë tendencë të veprojnë më shpejtë se β -amilazat dhe në kafshë, janë enzimat kryesore tretëse që kanë pH optimal 6.7-7.0. Në fiziologjinë njerëzore, të dy amilazat, ajo pështymore dhe pankreatike janë α -amilaza dhe gjithashtu gjenden në bimë, kërpudha, dhe baktere [10].

- β -amilaza (ekzoamilaza)- këto enzime sintetizohet gjithashtu nga bakteret, kërpudhat dhe bimët. β -amilaza katalizon hidrolizën e lidhjes glikozidike α -1-4, në periferi të molekulës së amidonit duke shkëputur dy njësi glukoze (maltozë) në të njëjtën kohë. Gjatë pjekjes së frutave β -amilaza zbërthen amidonin në maltozë, duke rezultuar në dhënien e shijes së ëmbël të frutave të pjekur, (p.sh. molla, si shumë kultura të tjera frutore, grumbullojnë amidonin në fazat e hershme të pjekjes dhe pastaj degradojnë progresivisht atë për të rritur ëmbëlsinë gjatë pjekjes). Indet e kafshëve nuk përmbajnë β -amilazë, megjithëse mund të jetë e pranishme në mikroorganizmat që gjenden vetëm në traktin tretës. Shtamet bakteriale që i përkasin gjinive *Bacillus*, *Pseudomonas* dhe *Clostridium*, llojet e aktinomiceteve që i përkasin *Streptomyces* sp. dhe llojet e kërpudhave që i përkasin *Rhizopus* sp. janë raportuar se prodhojnë β -amilazë [10].
- Glukoamilaza ndryshe mund të quhet γ -amilaza- këto enzima katalizon hidrolizën e lidhjeve glikozidike α -1-6, pos hidrolizës së lidhjeve anësore glikozidike α -1-4 të amilozës dhe amilopektinës, duke dhënë njësi të vetme të glukozës. Ndryshe nga format e tjera të amilazës, këto enzime janë më efikase në mjedise acidike dhe kanë një pH optimal prej 3 [10].

2.2.3 Aplikimet industriale të amilazave

Amilazat si enzima zbërthyesë të amidonit janë të dobishme në një gamë të gjerë të aplikimeve industrial. Aplikim mjaftë të lartë kanë në industrinë e prodhimit të bukës, në industrinë e tekstili, industrinë e letrës, industrinë e detergjenteve, industrinë e çokolllatave, në industrinë farmaceutike dhe në industrinë e prodhimit të kimikateve të ndryshme [12]. Amilazat përdoren po ashtu për prodhimin e etanolit, ku amidoni është substrati më i

përdorur për shkak të çmimit të tij të ulët dhe lëndës së parë lehtësisht të disponueshme në shumicën e rajoneve të botës. Këto enzime aplikim gjejnë edhe në industrinë e lavanderisë ku si rezultat i përzierje së proteazave dhe lipazave përdoret për pastrimin e rrobave; në industrinë e prodhimit të pijeve si dhe përdoret edhe për modifikimin e ushqimeve të foshnjave [12]. Amilazat që janë aktive në pH acidike përdoren zakonisht në industrinë e prodhimit shurupit të glukozës, ndërsa ato aktive në pH bazike përdoren zakonisht në industrinë e detergjenteve.

Për shkak të rëndësisë industriale të amilazave, ekziston një interes i vazhdueshëm në izolimin e shtameve të reja bakteriale që prodhojnë enzima të përshtatshme për aplikime industriale.

2.3 α -amilaza

α -amilazat bëjnë pjesë në grupin e endoamilazave që katalizojnë hidrolizën e molekulës së amidonit deri në oligosakaride më të shkurtra, kjo realizohet përmes copëtimit të lidhjeve α -D-1-4 glikozidike. Produktet përfundimtare të veprimit të α -amilazave janë oligosakaridet me gjatësi të ndryshme të vargut me një α -konfiguracion dhe një α -dekstrinë kufizuese, këto produkte përbëjnë një përzierje të maltozës, maltotriozës dhe oligosakarideve të degëzuara që përmbajnë 6-8 njësi glukoze dhe po ashtu përmbajnë të dy lidhjet α -1,4 dhe α -1,6. Edhe enzimat e tjera amilolitike marrin pjesë në procesin e ndarjes së molekulës së amidonit, por kontributi i α -amilazës është më i rëndësishmi sepse starton apo fillon procesin e zbrërimit [13].

α -amilazat (E.C.3.2.1.1)- (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolaza) janë enzima që katalizojnë hidrolizën e lidhjeve të brendshme α -1,4-glikozidike të molekulës së amidonit dhe në këtë rast prodhohen produktet me peshë të ulët molekulare, siç janë njësitë e glukozës, maltozës dhe maltotriozës.[13] Emërtimi i α -amilazave u bë në vitin 1925, sepse produktet e fituara përmes hidrolizës ishin me konfiguracion alfa, pastaj në vitin 1930, u zbulua edhe një tjetër amilazë, e cila dha një β -manozë, dhe ajo u quajti β -amilaza [9].

Shumica e α -amilazave janë metaloenzima, të cilat kërkojnë jone kalciumi (Ca^{2+}) për aktivitetin, integritetin strukturor dhe stabilitetin e tyre. Ato i përkasin grupit të enzimave hidrolazë të lidhjeve glikozidike- (Glukozilazave) [14].

2.3.1 Burimet e α -amilazës

α -amilaza prodhohen nga bimët, kafshët, kërpudhat, majat, bakteret dhe aktinomicetat, megjithatë, enzimat nga burimet kërpudhore dhe bakteriale kanë mbizotëruar aplikimet në sektorët industrialë. Përparësia kryesore e përdorimit të mikroorganizmave për prodhimin e amilazave është kapaciteti ekonomik i prodhimit me shumicë dhe fakti që mikrobet janë të lehta për tu manipuluar dhe për të marrë enzima të karakteristikave të dëshiruara [14].

Burimet bimore nuk konsiderohen si burimi të rëndësishme për prodhimin e këtyre enzimave, por mbeturinat bujqësore që janë të pasura me burim karboni dhe azoti konsiderohen si burime mjaftë efikase për prodhimin e tyre [9].

Kërpudhat që i përkasin gjinisë *Aspergillus* janë përdorur më së shpeshti për prodhimin e α -amilazave. Speciet e kësaj gjinie prodhojnë një larmi të madhe të enzimave jashtëqelizore dhe amilazat janë ato me rëndësinë më të madhe industriale. Kërpudhat filamentoze, të tilla si *Aspergillus oryzae* dhe *Aspergillus niger*, prodhojnë sasi të konsiderueshme të enzimave që përdoren në industri. α -amilazat e kërpudhave preferohen më tepër se burimet e tjera mikrobiale për shkak të statusit të tyre GRAS (Generally Recognized as Safe- përgjithësisht njihen si të sigurta) [14].

Një numër i madhe i baktereve përdorin enzimat jashtëqelizore për të zbërthyer amidonin ose glikogjenin, këto të cilat shërbejnë si burime të energjisë dhe karbonit. α -amilazat mund të prodhohen nga specie të ndryshme të mikroorganizmave, por për aplikime komerciale α -amilazat rrjedhin kryesisht nga gjinia *Bacillus*. Në fakt, mikroorganizmat e tillë të rëndësishëm industriale që gjenden brenda gjinisë *Bacillus*, shfrytëzohen komercialisht për shkak të shpejtësisë së tyre të rritjes, aftësisë për të sekretuar proteina dhe trajtimit të sigurt [9]. Amilazat, të biosintetizuara nga bakteret, tregojnë karakteristika unike si vetitë termofilike, termotolerante, alkaline dhe acidofile. Termostabiliteti është një karakteristikë e dëshiruar e shumicës së enzimave industriale. Enzimat termostabile të izoluara nga organizmat termofilikë, për shkak të qëndrueshmërisë së tyre, kanë aplikim mjaftë të lartë në industri. *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis* dhe *Bacillus amyloliquefaciens* janë të njohur si prodhues të mirë të α -amilazës termostabile, dhe këto janë përdorur gjerësisht për prodhimin komercial të enzimës [14].

Po ashtu enzimat e prodhuara nga mikroorganizmat halofilë tregojnë aktivitet optimal në kripësi të larta dhe për këtë arsye mund të përdoren në shumë procese të ashpra industriale.

Për më tepër, shumica e enzimave halobakteriale janë njaft termotolerante dhe të qëndrueshme në temperaturën e dhomës për periudha të gjata. Amilazat halofile janë prodhuar nga bakteret halofile si *Chromohalobacter sp.*, *Halobacillus sp.*, *Haloarcula hispanica*, *Halomonas meridiani*, *Bacillus dipsosauri* [9].

2.3.2 Struktura e α -amilazës

Përkundër ndryshimeve të shumta që kanë α -amilazat mikrobike, peshat e tyre molekulare janë zakonisht në të njëjtën diapazon 40-70 kDa. Peshat më të larta molekulare u raportuan të jetë 210 kDa, enzime kjo e prodhuar nga *Chloroflexus aurantiacus*, ndërsa, peshat më të ulëta e raportuar ishte 10 kDa e prodhuar nga *Bacillus caldolyticus*. Kjo peshë molekulare mund të rritet për shkak të glikozilimit si në rastin e α -amilazës nga *Thermoactinomyces vulgaris* që arrin vlerën 140 kDa, ndërsa proteoliza shkakton ulje të peshës molekulare. Amilaza e njeriut është një enzimë klasike që përmban kalcium, po ashtu përbëhet edhe nga 512 aminoacide në një zinxhir të vetëm oligosakarid me peshë molekulare 57.6 kDa.

Amilaza ka një strukturë tre-dimensionale të aftë të lidhet me substratin dhe me grupe katalitike shumë specifike, të cilat nxisin thyerjen e lidhjeve glikozide [9].

Strukturat tre dimensionale (3D) të α -amilazave kanë zbuluar enzimën monomerike, që përmbajnë kalcium, në një zinxhir të vetëm polipeptidik të palosura në tre fusha (A-C). Fusha A është fusha më e madhe dhe përbëhet nga një palosje shumë simetrike e tetë β -fijeve paralele të rregulluara në një cilindër dhe të rrethuar nga tetë α -helika. α -amilazat kanë një fushë B që del jashtë përmes β -fletës numër 3 dhe α -spirales. Fusha B është e vendosur mes fushës A dhe C dhe lidhet me fushën A përmes lidhjeve disulfide. Ky varg përmban 44 deri 133 mbetje të aminoacideve dhe luan një rol në lidhjen e substratit ose Ca. Të gjitha α -amilazat e njohura, përmbajnë një vend lidhës të Ca^{+2} i cili ndodhet në ndërfaqe midis fushës A dhe B dhe shërben si stabilizator i strukturës tredimensionale, si dhe vepron edhe si aktivues alosterik. α -amilazat kanë një fushë C e cila është relativisht e ruajtur dhe paloset në një cilindër antiparalele. Kjo fushë lidhet me fushën A përmes zinxhirëve të thjeshtë polipeptidik. Orientimi i fushës C në lidhje me fushën A ndryshon në varësi të llojit dhe burimit të amilazës. Funkzioni i kësaj fushe është i panjohur. Studimet strukturore kanë konfirmuar që vendet aktive të hidrolazave glikozile janë të përbëra nga vende të

shumta lidhëse, ose nën-zona, për njësitë e sheqerit të substrateve polimerike. Çarjet e faqeve aktive formohet midis fushave A dhe B. Vendet e lidhjes së substratit zakonisht janë të veshura me mbetje aromatike, të cilat bëjnë grumbullime hidrofobike në bashkëveprim me unazat e sheqerit. Përveç kësaj, vendet aktive përmbajnë shumë mbetje të cilat formojnë lidhje hidrogjeni me substratin direkt ose përmes molekulave të ujit. Proteina e parë α -amilazë e shqyrtuar me rreze X, u zbulua se përmban tre mbetje të acideve, një mbetje të acidit glutamik dhe dy të acidit aspartike u gjetën në qendër të vendit aktiv, dhe studimet e mëvonshme mutacionale kanë treguar se këto mbetje janë thelbësore për katalizë. Mbetja e acidit glutamik mendohet të jetë dhuruesi i protonit, ndërsa i pari nga dy acidet aspartike mendohet se vepron si nukleofil. Roli i acidit të dytë aspartik është më pak i sigurt, por është sugjeruar që përfshihet në stabilizimin e gjendjes tranzitore dhe gjithashtu në mbajtjen e acidit glutamik në gjendjen e duhur të protonomit për aktivitet. Këto mbetje ndodhin afër skajeve të fijeve 3, 4, 5 dhe 7 të α/β të cilindrit dhe gjenden në katër sekuenca të shkurtra, të njohura prej kohësh si të konservuara në enzimat e familjes α -amilazë [9].

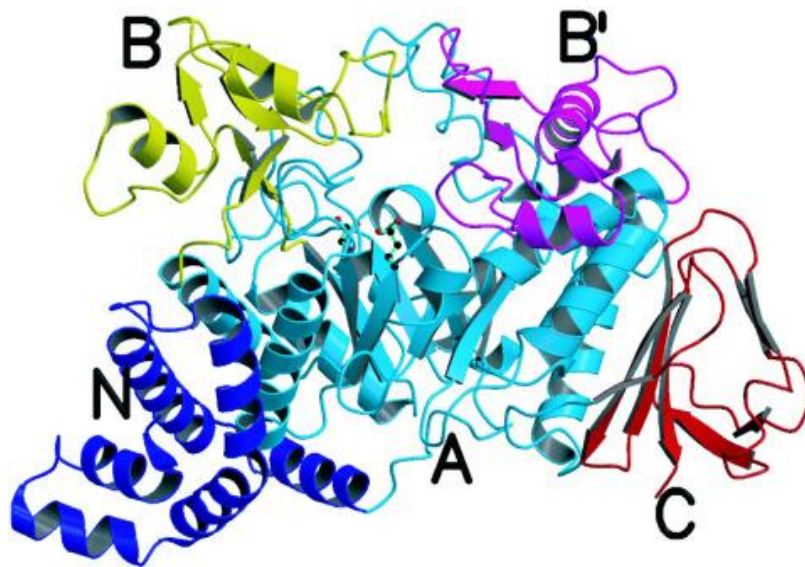


Figura 2.1: Struktura e alfa amilazës [46].

2.3.3 Prodhimi i α -amilazës

Prodhimi i α -amilazës mund të bëhet përmes dy proceseve fermentuese:

- fermentimit të lëngët (SMF- Submerged fermentation) dhe
- fermentimit të ngurtë (SSF- Solid state fermentation)

SMF është përdorur tradicionalisht për prodhimin e enzimave të rëndësishme industriale për shkak të lehtësisë së kontrollit të parametrave si pH, temperatura, ajrosja, transferimi i oksigjenit dhe lagështia. Sistemet SSF duken premtuese për shkak të potencialit natyror dhe përparësive që ato ofrojnë. SSF i ngjan mjedisit natyror të mikroorganizmave dhe për këtë arsye, konsiderohet si mjedis i përshtatshëm që mikroorganizmat të rriten dhe të prodhojnë produkte të dobishme. Kërpudhat dhe majat u cilësuan si mikroorganizma të përshtatshëm për tu rritur në SSF sipas konceptit teorik të aktivitetit të ujit, ndërsa bakteret janë konsideruar të papërshtatshme. Sidoqoftë, përvoja ka treguar që kulturat bakteriale mund të menaxhohen dhe manipulohen mirë edhe në proceset SSF. Avantazhet që SSF ka ndaj SMF, janë produktiviteti superior, teknika më të thjeshta, investime më të ulët, kërkesë më të ulët të energjisë, më pak prodhim të ujit, rikuperim më të mirë të produktit dhe mungesë të ndërtimit të shumës. Kohët e fundit, hulumtimet vlerësuan nëse SSF është sistemi më i mirë për prodhimin e enzimave. Ata zbuluan se SSF është e përshtatshme për prodhimin e enzimave dhe produkteve të tjera termolabile, veçanërisht kur mund të merren rendimente më të larta të prodhimit. Kërpudhat janë mikroorganizma të përshtatshëm për fermentimin e ngurtë, sepse morfologjia e tyre u lejon atyre të kolonizojnë dhe depërtojnë në substratin e ngurtë [13].

Është vërtetuar se të dy këto lloje të fermentimit ndikohet nga një sërë faktorësh fiziko-kimikë. Optimizimi i kushteve të fermentimit, veçanërisht parametrat fizikë dhe kimikë, janë të rëndësishëm në zhvillimin e proceseve të fermentimit për shkak të ndikimit të tyre në ekonomi dhe praktikën e procesit.

Karakteristikat e α -amilazave siç janë termostabiliteti, profili i pH, stabiliteti i pH dhe pavarësia e Ca duhet të përputhen varësisht me zbatimin e tyre. Për shembull, α -amilazat e përdorura në industrinë e amidonit duhet të jenë aktive dhe të qëndrueshme në pH të ulët, po ashtu ato duhet të jenë aktive edhe në vlera të larta të pH kur përdoren në industrinë e detergjenteve [13].

2.3.3.1 Parametrat fiziko-kimik të prodhimit të α -amilazës. Ndër parametrat që duhet kushtuar më shumë rëndësi gjatë prodhimit të α -amilazave janë përbërja e mjedisit të rritjes, pH mjedisit, përqendrimi i fosfatit, mosha e inokulimit, temperatura, ajrimi, burimet e karbonit dhe azotit, etj. Substratet që përdoret për prodhimin e këtyre enzimave duhet jenë të pasura me lëndë ushqyese të tilla si burime të karbonit, burime të azotit, prezencë të joneve të fosfatit, etj. Si burime të karbonit më të përshtatshme për prodhimin e α -amilazave rezultuan të jenë amidoni dhe maltoza, por mund të përdoren edhe burimet e tjera si glukoza, maltoza, laktoza, fruktoza, galaktoza, trehaloza, etj [15].

Për prodhimin e α -amilazës e nevojshme është edhe prezenca e burimeve të azotit, këto burime të cilat mund të jenë organike ose inorganike. Si burime organike të azotit të përshtatshme për prodhimin maksimal të α -amilazës janë ekstrakti i majave, peptoni, ekstrakti i mishit, etj. Përveç këtyre, kripërat e ndryshme inorganike si sulfat amoni dhe nitrat amoni janë raportuar se janë mjaftë të përshtatshme për prodhimin e α -amilazës në specie të ndryshme të kërpudhave. Raportohet se aminoacidet së bashku me vitaminat gjithashtu ndikojnë në prodhimin e α -amilazës. Fosfati luan një rol të rëndësishëm rregullues në sintezën e metaboliteve primare dhe sekondare të mikroorganizmave dhe gjithashtu ndikon në rritjen e organizmit dhe prodhimin e α -amilazës [15]. Edhe prania e joneve ndikon në prodhimin e tyre, ku shumica e α -amilazave kërkojnë jone kalciumi (Ca^{2+}) për të shprehur aktivitetin, integritetin strukturor dhe stabilitetin e tyre, ndërsa mungesa e këtyre joneve shkakton frenim të prodhimit. Sasia e kalciumit të lidhur varion nga një në dhjetë.

Ndër parametrat fizikë, pH e mjedisit të rritjes luan një rol të rëndësishëm duke nxitur ndryshime morfologjik në organizëm dhe në sekretimin e enzimës. Për secilin mikroorganizëm ekziston një pH optimale ku qeliza rritet dhe shfaqë aktivitetin maksimal të saj. pH optimale të α -amilazave ndryshon nga 2 në 12, α -amilazat që prodhohen nga shumica e baktereve dhe kërpudhave kanë pH optimale në diapazonin acidik drejt atij neutral, gjithashtu këto enzima janë përgjithësisht të qëndrueshme në një gamë të gjerë të pH nga 4 deri 11. Kultivimi i mikroorganizmave në një vlerë të pafavorshme të pH mund të kufizojë shkallën e rritjes dhe prodhimin e amilazës [15].

Shumica e shtameve *Bacillus* që përdoren për prodhimin komercial të α -amilazave kanë pH optimal midis 6.0-7.0, në pH të këtillë kemi rritje dhe prodhim maksimal të enzimës.

α -amilazat e prodhuara nga majat si *S. cerevisiae* dhe *S. kluyveri* shfaqin prodhimtari maksimale në pH 5.0. pH optimal e *Penicillium olsonii* u përcaktua pas inkubimit në pH të ndryshëm (3.6-6.8) dhe aktiviteti maksimal i enzimës u regjistrua në pH 5.6, po ashtu edhe shtamet *Aspergillus falvas var. columnaris* pas inkubimit në pH (5.8- 8.0) u vërtetuan se aktiviteti maksimal i enzimës shfaqet në pH optimale 6.2 [12].

Ndikimi i temperaturës në prodhimin e α -amilazës lidhet me rritjen e organizmit. Prandaj, temperatura optimale varet nga fakti nëse kultura është mezofile ose termofile. Shumica e studimeve për prodhimin e α -amilazës janë bërë duke përdorur kërpudha mezofile brenda intervalit të temperaturës prej 25-37°C. Rendimentet optimale të α -amilazës u arritën në 30-37°C për *A. oryzae*. Prodhimi i α -amilazës është raportuar gjithashtu në 55°C për disa kërpudha termofile *Thermomonospora fusca* dhe në 50°C për *T. lanuginosus* [15].

α -amilazat janë prodhuar në një gamë shumë më të gjerë të temperaturës tek bakteret, prodhim i vazhdueshëm i α -amilazës nga *B. amyloliquefaciens* është raportuar në 36°C. Sidoqoftë, temperatura të larta deri 80°C janë përdorur për prodhimin e amilazës nga mikroorganizma hipertermofilik si *Thermococcus profundus*. Temperatura optimale për prodhimin e α -amilazës nga *Streptomyces erumpens* ishte 50°C, ndërsa kur u rrit temperatura mbi 50°C, pati një ulje të papritur të prodhimit të enzimave [15].

2.3.4 Aplikimi i α -amilazës në industrinë e prodhimit të bukës.

Amilazat janë ndër enzimat më të rëndësishme të përdorura për qëllime industriale.

Me avancimin e bioteknologjisë aplikimi i amilazës është zgjeruar në shumë fusha si dhe përdorimi i tyre është përhapur edhe në industrinë e tekstilit, ushqimit, pijeve dhe distilimit. α -amilazat janë një nga format më të njohura dhe të rëndësishme të amilazave industriale. Këto enzima gjejnë zbatim të lartë në shumë industri të tilla si industrinë ushqimore, industrinë e pijeve, industrinë e çokollatës, industrinë e detergjenteve, industrinë e biokarburanteve, industria e përpunimit të amidonit, industria e tekstilit, etj [13].

Aplikim mjaftë të lartë α -amilaza ka në industrinë e prodhimit të bukës. Këto enzima i shtohen brumit të bukës për të degraduar amidonin që gjendet në miell deri në dekstrinë, të cilat më pas fermentohen nga majaja. Brumi i bukës, përbëhet nga miell, ujë, maja, kripa dhe po ashtu mund të shtohen edhe përbërës të tjerë. Mielli përmban gluten, amidon,

polisakaride, lipide dhe sasi të vogla të mineraleve. Sapo të bëhet brumi, majaja fillon të zbërthej sheqernat, duke i shndërruar ato në alkool dhe CO₂, dhe në këtë mënyrë brumit i rritet volumi. Komponenti kryesor i miellit të grurit është amidoni. Alfa-amilazat zbërthejnë amidonin që gjendet në miellin e grurit deri në dekstrinë, dhe pastaj majat kryejnë fermentimin e brumit [15]. Shtimi i α -amilazës në brumë rezulton në rritjen e shpejtësisë së fermentimit dhe zvogëlimin e viskozitetit të brumit, duke rezultuar në përmirësimin e vëllimit dhe strukturës së produktit, kjo enzimë kryesisht shtohet për të dhënë produktit një vëllim më të lartë, ngjyrë më të mirë dhe një thërrime më të butë. Për më tepër, ajo gjeneron sheqernat shtesë në brumë, dhe në këtë mënyrë përmirëson shijen, ngjyrën e kores dhe cilësinë e bukës [16]. Përveç gjenerimit të përbërësve të fermentueshëm, α -amilazat gjithashtu kanë një efekt anti-ndenjës në pjekjen e bukës, dhe përmirësojnë mbajtjen e butësisë së produkteve të pjekur, duke rritur jetëgjatësinë e këtyre produkteve [14]. Sot, në industrinë e bukës janë duke u përdorur shumë lloje të enzimave si proteaza, lipaza, pentosanaza, celulaza, oksidaza, lipoksigjenaza etj, por asnjëra prej tyre nuk kishte qenë në gjendje të zëvendësojnë α -amilazën [15].

2.4 *Saccharomyces cerevisiae*

2.4.1 Karakteristikat e përgjithshme

Edhe pse ka mbi 1.500 lloje të majave, termi "majë" shpesh i referohet *Saccharomyces*, pasi për të studiuar strukturën dhe përbërjen kimike të majave si kulturë referente është marrë *S. cerevisiae*. Fjala "*Saccharomyces*" rrjedh nga greqishtja dhe ka kuptimin e "mykut të sheqerit" ose "kërpudhave të sheqerit", ku Saccharo-është forma ndërthurëse e "sheqerit" dhe micelit të "kërpudhave". Ndërsa fjala *Cerevisiae* rrjedh nga Latinishtja dhe ka kuptimin "birrë". *Saccharomyces cerevisiae* bënë pjesë në grupin e organizmave eukariot. Përkatësisht është një maja me ngjyrë të verdhë në të gjelbër, me formë globulare, dhe i përket mbretërisë së kërpudhave [49]. *Saccharomyces cerevisiae* e njohur gjithashtu si maja e bukës, është një mikrob njëqelizor eukariot. Majat kultivohen më së miri në një mjedis me pH neutrale ose pak acidike, në kushte aerobe, me një furnizim adekuat të lëndëve ushqyese, në temperaturat optimale prej 28-30°C. Zakonisht shtamet arrijnë dendësinë maksimale në mediume YPD. Kolonitë janë të dukshme 2-3 ditë pas vendosjes

së tyre në mediumet e freskëta dhe kolonit e formuara janë të sheshta, të lëmuara, të shndritshme dhe me ngjyrë krem [17].

S. cerevisiae është një majë e fortë, e aftë të përballojë kushtet stresuese dhe ka një efikasiteti të lartë fermentues; rritje të shpejtë; përdorimi efektiv të sheqerit; aftësia për të prodhuar dhe konsumuar etanolin; ka tolerancë ndaj përqendrimeve të larta të etanolit, niveleve të ulëta të oksigjenit, ndaj ndryshimeve të presionit osmotik; është termotolerante dhe tregon aktivitet qelizor edhe në mjedise acidike [49].

Majat janë organizma kemoorganotrofë, kështu që ata përdorin përbërësit organike (oksidojnë sheqernat, yndyrat dhe proteinat) si burime energjie dhe nuk kërkojnë rrezet e diellit për tu rritur. Majat e gjinisë *Saccharomyces* janë në gjendje të përdorin sheqernat si burime të karbonit dhe energjisë. Të gjitha llojet e kësaj specie mund të rriten në mënyrë aerobike në disa lloje sheqernash, përfshirë këtu glukozën, maltozën dhe trehalozën, por nuk arrijnë të rriten në laktozë, megjithatë galaktoza dhe fruktoza janë dy nga sheqernat që më së lehti fermentohen nga ana e tyre [18]. *S. cerevisiae* janë organizma anaerob fakultativë, që do të thotë se mund të rriten me ose pa oksigjen. Në kushte aerobe, ajo i nënshtrohet fosforilimit oksidativ ku glukozja shndërrohet në CO₂, H₂O dhe energji. Në kushte anaerobe, majatë nuk rriten në mënyrë efikase, sepse energjia rrjedh vetëm nga glikoliza dhe sheqernat në vend të kësaj shndërrohen në nënprodukte të ndërmjetme [17].

2.4.2 Lëndët ushqyese

Majat *Saccharomyces cerevisiae* e marrin karbonin kryesisht nga glukozja, fruktoza, saharoza dhe maltoza, dhe si burim të azotit shumica e majave asimilojnë direkt jonet e amonit, ures, ose mund të përdorin aminoacidet, peptidet që përmbajnë baza të azotit, ndërsa shumë pak specie kanë aftësinë të përdorin nitratat si burime azoti. Për rritjen e qelizave është e nevojshme plotësimi i kërkesave për fosfor, dhe squfur këto të cilat zakonisht absorbohen në formën e fosfateve dhe sulfatave inorganike ose nga përbërësit organik që përmbajnë squfur siç janë aminoacidet metionina dhe cisteina. Disa lloje të metaleve, të tilla si magnez, hekur, kalcium, dhe zink, janë gjithashtu të nevojshme për rritjen e mirë të qelizave. Shumica e shtameve të *S. cerevisiae* kërkojnë biotinë, për rritjen e qelizave [49].

2.4.3 Struktura qelizore

Krahasuar me prokariotët, secila qelizë e majave është e rrethuar nga një mur qelizor. Ky i cili është i pasur me kitinë dhe përmban polisaharide, manoproteina dhe glukane. Muri i brendshëm i qelizave përmban sasi të lartë të β -glukanëve, ndërsa muri i jashtëm i qelizës përmban sasi të lartë të manoproteinës. Përbërja e murit qelizor ndikon në dhënien e formës së qelizës dhe siguron një mbrojtje mekanike dhe termike nga mjedisi. Aftësia mbrojtëse mundësohet nga posedimi i shumë shtresa të ndryshme, këto të cilat shërbejnë për të mbrojtur qelizat *S. cerevisiae* nga pushtuesit, për mbrojtje kundër materialeve të huaja si dhe nga çdo ndryshim i presionit osmotik. Për më tepër, posedimi i murit parandalon shpërthimin osmotik të qelizës dhe vepron si një sitë për molekulat e mëdha që mund të dëmtojnë membranën qelizore. Ky mur i jep majasë një shans shumë më të mirë për të mbijetuar, përkundër kushteve të vështira mjedisore, por gjithashtu lejon që qeliza të komunikojë me mjedisin duke mundësuar riprodhimin, njohjen dhe pranimin. Muri qelizor lidhet me membranën qelizore nëpër hapësirën periplazmike nga zinxhirët e glukanit dhe të kitinës. Gjithashtu ai përmban enzima të ndryshme përgjegjëse për rregullimin e metabolizmit të majave. Për shkak të formës njëqelizore dhe pamundësisë krijimit të sporokarpit, ashtu si bëjnë kërpudhat e tjera, *S. cerevisiae* konsiderohet si majë [17].

Si qelizë eukariote, *S. cerevisiae* përmban organele të lidhura me membranë. Kromozomet ndodhen në bërthamë dhe përdorin mitokondritë për të kryer frymëmarrjen qelizore. Si të gjithë kërpudhat e tjera, citoplazma e qelizave *S. cerevisiae* mbyllet dhe mbrohet nga një mur qelizor dhe membrana. Membrana plazmatike ndan përbërësit e qelizës nga përbërja e jashtme ndërsa membrana nukleare mbështjell dhe mbron materialin gjenetik. Për më tepër, membrana mitokondriale është e përfshirë në gjenerimin e energjisë metabolike, ndërsa rrjeta endoplazmike dhe aparati Golgjit janë të përfshirë në klasifikimin dhe sintezën e proteinave dhe lipideve. Po kështu, membranat vakuolare dhe peroksisomale lokalizojnë funksione të veçanta metabolike dhe tretëse. Një tjetër tipar i rëndësishëm i qelizës së majave, si një anëtar i perandorisë eukariote, është prania e citoskeletit. Ky rrjet intraqelizor mbështet mekanikisht qelizën, lejon lëvizjen, dhe përbëhet nga dy lloje të filamenteve të aktinës [17].

Shtresa e dyfishtë lipidike e membranave të *S. cerevisiae* përbëhet nga lipide polare dhe proteina, të ngjashme me ato që gjenden në membranat e qelizave më të larta eukariote.

Prandaj, këto proteina mund të jenë ose të brendshme, që shtrihen në të gjithë membranën, ose të jashtme, të ngulitura në një pjesë të membranës dhe të dalura nga njëra anë. Funkcionet e këtyre proteinave ndryshojnë varësisht nga aminoacide dhe transportuesit e sheqerit, por ato gjithashtu mund të jenë pjesë e citoskeletit. Në mënyrë të barabartë, membrana plazmatike formon një barrierë relativisht të papërshkueshme për molekulat hidrofile. Në korrespondencë me nevojat metabolike të majave, proteinat e specializuara ndërmjetësojnë në marrjen dhe sekretimin selektiv të aminoacideve, sheqerit ose joneve nëpër membranë. Në ndryshim nga eukariotët më të lartë, në të cilët kolesteroli është steroli më i bollshëm, membrana plazmatike e majasë përmban kryesisht ergosterol. Interesante është se përbërja lipidike e membranave qelizore në kushte anaerobe tregon ndryshimin në krahasim me qelizat e rritura në kushte aerobe. Anaerobikisht, membrana plazmatike përmban më shumë acide yndyrore të ngopura, më pak sterole, ergosterole dhe squalenë. Dallimet e përmendura mund të shpjegohen nga paaftësia e qelizës për të sintetizuar këto përbërje pa praninë e oksigjenit [17].

Në krahasim me prokariotët qelizat e majave përmbajnë një ose më shumë vakuola ku produktet sekondare të tilla si CO₂ dhe etanoli, depozitohen këtu. Rëndësia e tyre qëndron në ruajtjen e enzimave të ndryshme dhe aminoacideve të nevojshme për sintezën e proteinave në metabolizmin e majave. Vakuolat shërbejnë si një mekanizëm sekretues dhe deponues, po ashtu kanë funksion osmo-rregullues dhe në ruajtjen e aminoacideve.

Qelizave të *S. cerevisiae* u mungojnë flagjelet ose mekanizme të tjerë që mund t'i lejojnë ata të lëvizin. Prandaj, ata mund të lëvizin vetëm në mënyrë pasive me anë të rrymave të ajrit ose ujit [17].

2.4.4 Cikli jetësor i *S.cerevisiae*

Majat *S. cerevisiae* mund të ekzistojnë si qeliza haploid ose si qeliza diploide, por zakonisht gjenden në formën diploide. Haploidët bashkohen për të formuar diploidë, dhe diploidët i nënshtrohen mejozës për të formuar haploidë. Madhësitë e qelizave haploide dhe diploide ndryshojnë brenda fazës së rritjes dhe tendosjes, qelizat diploide kanë formë elipse me diametër 5-6µm dhe qelizat haploide kanë formë sferike me diametër 4µm. Qelizat diploide kur përballen me kushte stresuese, siç është shterimi i lëndëve ushqyese, prezencë e

burimeve të dobëta karboni dhe azoti, ose mungesa e një burimi azoti, atëherë ato do t'i nënshtrohen ndarjes mejotike të quajtur sporulim, duke prodhuar katër spore haploide (ascus).

Si shumë kërpudha të tjera, qelizat e *S. cerevisiae* mund të riprodhojnë si në mënyrë aseksuale ashtu edhe seksuale. Riprodhimi aseksual i qelizave *S. cerevisiae* quhet bulëzim, ndërsa riprodhimi seksual i qelizave quhet sporulim. Në kushte normale, qelizat e *S. cerevisiae* i nënshtrohen mitozës dhe riprodhimit vegjetativ në mënyrë aseksuale. Riprodhimi vegjetativ i majave realizohet përmes procesit të bulëzimit, ku nga qeliza mëmë formohet një bulb që gradualisht shkon duke u rritur. Më tej ndodhë ndarja e bërthamës së qelizës mëmë, ku një nga bërthamat e reja dhe një pjesë e citoplazmës më të gjithë përbërësit e saj kalon tek bulbi. Në fund qelizat bija veçohen nga qeliza mëmë, dhe kur të piqet plotësisht, ndahen nga qeliza mëmë dhe funksionojnë si një qelizë e pavarur, pastaj edhe ato mund të bulëzohet dhe të jepin qeliza të reja [17, 49].

S. cerevisiae është një nga organizmat e rrallë që mund të bëjnë të katër proceset, duke përfshirë frymëmarrjen aerobike dhe anaerobe, si dhe riprodhimin seksual dhe aseksual. Kjo aftësi e veçantë lejon që kjo specie të jetojë në shumë ambiente të ndryshme.

S. cerevisiae ka një aftësi shumë unike dhe interesante që mund të sigurojë një mbrojtje nga speciet e tjera. Nga një hulumtim i fundit, u gjet që *S. cerevisiae* prodhonte toksina kundër specieve të tjera. Këto toksina, të quajtura "toksina vrasëse", janë proteina ose glikoproteina të prodhuara nga një sërë majash, ky mekanizëm është i dobishëm për qelizat *S. cerevisiae* në konkurrencë me qelizat e tjera të majave për mbijetesë [49].

2.4.5 Metabolizmi i sheqernave

Glukoza është burimi kryesor i karbonit dhe energjisë i konvertuar përmes rrugës glikolitike dhe ciklit Krebs-it glukoza konvertohet në energji në formë të ATP-së. Sakaroza metabolizohet pas hidrolizimit në glukozë dhe fruktozë nga enzima invertazë. Maltoza fillimisht transferohet në qelizë nga permeaza e maltozës, shndërrohet në dy molekula glukoze nga enzima manase dhe pastaj metabolizohet. Sheqernat si sakaroza, maltoza ose galaktoza nuk metabolizohen kur ka prani të glukozës. Disa maja mund të përdorin edhe burime jo konvencionale të karbonit, të tilla si biopolimeret, pentozat, alkoolët, poliolet,

hidrokarburet, acidet yndyrore dhe acidet organike, gjë që është me interes të veçantë për bioteknologët e ushqimit dhe mjedisit [17].

Majat zakonisht përdorin dy rrugë për të prodhuar ATP-në nga sheqernat:

Frymërrjen oksidative dhe Fermentimin alkoolik.

Proceset e frymëmarrjes dhe fermentimit rregullohen nga faktorët e mjedisit, kryesisht nga përqendrimet e glukozës dhe oksigjenit. Të dy rrugët fillojnë me glikolizë, ku prodhohen dy molekula të acidit piruvik dhe ATP nga glukozja. Gjatë frymëmarrjes bëhet oksidimi dekarboksilues i acidit piruvik në acetyl-CoA, pastaj përmes fosforilimit oksidativ acetyl-CoA zërthehet në CO₂, dhe për realizim e këtij procesi nevojitet sasi e oksigjenit dhe lirohet rendiment i lartë i energjisë. Ndërsa gjatë fermentimit, acidi piruvik shndërrohet fillimisht në acetaldehid përmes piruvat dekarboksilazë, pastaj përmes alkooli dehidrogjenazës acetaldehidi kalon në etanol dhe lirohet CO₂, po ashtu lirohet edhe rendiment i ulët i energjisë. Rendimentet e energji që prodhohen kryesisht përdoren nga qelizat për të kryer aktivitetet e tyre qelizore, duke i lejuar ata të mbijetojnë në mjedise të pasura me oksigjen dhe me mungesë oksigjeni. Në nivele të larta sheqeri dhe oksigjeni, majat mund të prodhojnë ATP përmes frymëmarrjes, fermentimit ose duke përdorur njëkohësisht të dy rrugët, në figurën e mëposhtme është sqaruar rruga që ndjekin majat gjatë zbrërthimit të sheqernave [18].

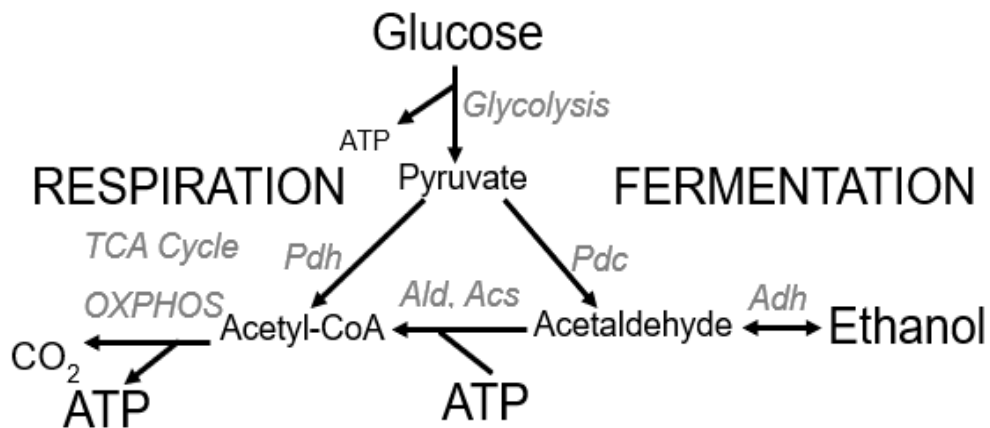


Figura 2.2: Zbrërthimi i sheqernave [19].

2.4.6 Efekti Crabtree

Për shumë vite Efekti Pasteur ishte një temë e rëndësishme në biokimi. Pasteur ishte i pari që krahasoi rritjen e majave në kushte aerobike dhe anaerobike dhe ky efekt përcaktohet si një frenim i rrugës së fermentimit nga frymëmarrja. Te disa specie të majave si *S. cerevisiae* kur ka prani të një përqendrimi të lartë të glukozës, efekti Pasteur nuk ka mundësi të ndodhë, sepse në këto kushte degradimi i glukozës vazhdon vetëm përmes fermentimit. Ky fenomen njihet si 'kundra-efekti Pasteur' ose Efekti Crabtree- (përdorimi i rrugës fermentative kur ka prani të oksigjenit dhe në përqendrime të larta të glukozës). Nga këndvështrimi i efektit Crabtree, majat klasifikohen si "Crabtree-positive" dhe "Crabtree-negative". Majat të cilat për metabolizimin e sheqernave përdorin vetëm procesin e frymëmarrjes quhen maja Crabtree-negative, ndërsa majat të cilat për metabolizimin e sheqernave përdorin njëkohësisht të dy proceset, fermentimin dhe frymëmarrjen quhen maja Crabtree-pozitive.

Rruga që përdoret për të zbrërthyer sheqernat varet nga përqendrimi i glukozës. Kur *S. cerevisiae* kultivohet në medium me përqendrim të ulët të glukozës, përshtatja e procesit të frymëmarrjes rritet kur përqendrimi i glukozës zvogëlohet, ndërsa kur maja kultivohet në medium me përqendrim të lartë të glukozës, përshtatja e procesit të frymëmarrjes u zvogëlua kur përqendrimi i glukozës u rrit. Njëkohësisht mund të thuhet se me rritjen e përqendrimit të glukozës, shkalla e fermentimit aerobik gjithashtu rritet. Kjo ndodhë si rezultat i frenimit të sintetizimit të enzimave të frymëmarrjes nga nivelet e larta të fermentimit të cilat ndodhin si shkak i përqendrimeve të larta të glukozës [18, 19].

2.4.7 Struktura dhe funksioni gjenetik i *S. cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae është organizmi i parë eukariot, që sekuenca e tërë gjenomit është e përcaktuar. Kjo majë është kërpudhë njëqelizore që zotëron një ADN gjenomike bërthamore të përbërë prej 12068 kilobaza (kb) të organizuara në 16 kromozome. Gjenomi përmban afërsisht 6000 gjene, nga të cilat 5800 parashikohet të jenë gjene potenciale të kodifikimit të proteinave, afërsisht 140 gjene që specifikojnë ARN ribosomale, 40 gjene për molekula të vogla të ARN bërthamore dhe 275 gjene për ARN transportuese. Analizat bioinformatike kanë zbuluar se një numër gjenesh që kodifikojnë proteina janë me origjinë

të huaj, pra, janë rezultat i transferimit të gjeneve anësore. Këto gjene, të cilat hynë në gjenomin e *S. cerevisiae* ose janë me origjinë eukariote ose prokariote. Kjo erdhi fillimisht si një surprizë, për shkak të stilit ushqyes osmotrofik, pranisë së murit qelizor të fortë, membranave qelizore, por përmes studimeve u përcaktua se gjenomi i *S. cerevisiae* përmban gjene me origjinë prokariotike dhe eukariotike. Në ndryshim nga gjenomet e organizmave shumëqelizore, gjenomi i majasë është shumë kompakte. Mes gjeneve që kodifikojnë proteinat, 11% marrin pjesë në metabolizëm, 3% në prodhimin dhe ruajtjen e energjisë, 3% në replikimin e ADN-së, 7% në transkriptim dhe 6% në përkthim [17, 20]. Për shkak të vetive fiziologjike të dëshirueshme dhe metodave të vendosura për manipulim gjenetik, *S. cerevisiae* padyshim që do të vazhdojë të jetë organizmi i dëshiruar për shumë aplikime industriale. Për shkak të historisë së gjatë të përdorimit dhe mungesës së prodhimit të toksinave, shumica e shtameve *S. cerevisiae* konsiderohen si të njohura dhe të sigurta për përdorim në ushqime.

2.4.8 Cikli i rritjes së qelizave

Termi rritje zakonisht përdoret për të treguar si rritjen e masës qelizore të një qelize individuale, ashtu edhe rritjen e numrit të një popullate qelizore. Gjatë rritjes, kulturat e majave kalojnë nëpër katër faza:

- Faza lag- Kur qelizat e majave inokulohet në një medium të freskët, ato hyjnë në një fazë të shkurtër përgatitore. Në këtë fazë qelizat aktivizojnë rrugët metabolike, në mënyrë që të fitohen mjaft lëndë ushqyese thelbësore dhe për të filluar rritjen aktive. Gjatë kësaj faze, nuk ka rritje, qelizat individuale metabolizohen në mënyrë aktive dhe përgatiten për ndarje. Kohëzgjatja dhe shtrirja e fazës lag varet nga madhësia fillestare e popullsisë dhe kushtet mjedisore (dmth. temperatura, pH, alkooli, oksigjeni, përqendrimi i kripës, lëndët ushqyese etj.) [21].
- Faza log ose faza eksponenciale- Në fund të fazës përgatitore qelizat e majave janë përshtatur me kushtet e rritjes së ofruar. Në këtë fazë rritja e masës qelizore dhe biomasës dyfishohet në mënyrë të rregullt në lidhje me kohën. Gjatë kësaj faze qelizat hyjnë në rritjen e shpejtë logaritmike, në të cilën metabolizmi është kryesisht glikolitik.

- Faza e ngadalësimit- Me kalimin e kohës pjesa më e madhe e substratit metabolizohet, si dhe përqendrimi i glukozës zvogëlohet, në këtë mënyrë glukoza bëhet kufizuese dhe rritja e qelizave fillon të ngadalësohet.
- Faza stacionare- Përfundimisht qelizat e majave arrijnë në fazën e palëvizshme, në të cilën qelizat ndalojnë së ndari dhe majaja bëhet rezistente ndaj streseve, duke përfshirë nxehtësinë dhe stresin oksidativ. Biomasa gjatë kësaj faze rritet vetën në mënyrë graduale, ose mbetet konstante, por megjithatë përbërja e qelizave mundë të ndryshojë. Në këtë fazë njëkohësisht ndodhë edhe vdekja e qelizave të vjetra, të cilat në mjedisin rritës lirojnë karbohidratet dhe proteinat, këto të cilat shfrytëzohen si substrat për shumimin e qelizave të reja. Në ato kushte, qelizat janë në gjendje të mbijetojnë për disa muaj [21].

2.4.9 Kushtet e rritje së *Saccharomyces cerevisiae*

Mediumi i rritjes qelizave mikrobike është një lëng ose xhel i krijuar për të siguruar që mikroorganizmat të kenë të gjithë elementët e nevojshëm ushqyes dhe përbërësit për një rritje ideale, pa shkaktuar ndonjë stres shtesë gjatë rritjes së tyre. Një medium ideal për rritje duhet të përmbajë lëndë ushqyese në formën e proteinave ose aminoacideve, burime energjetike në formën e karbohidrateve dhe disa gjurmë të mineraleve ose kripërave thelbësore [22]. Mineralet dhe vitaminat e kërkuara për rritjen e majasë janë treguar në tabelën 2.1.

Mediumet kimike, zakonisht janë përzierje të përbërësve të ndryshëm dhe aplikohen gjerësisht në kultivimin e algave, baktereve, majasë, etj. Mediumi ideal për të kultivuar *S. cerevisiae* ka për qëllim të sigurojë përbërësit e nevojshëm për rritjen optimale të *S. cerevisiae* në një shkallë laboratorike. Qëllimi është që të sigurohen të gjithë lëndët ushqyese të nevojshme si karboni, azoti, vitaminat dhe mineralet.

Në këtë kontekst, mediumi më së shpeshti që përdoret është mediumi Ekstraktit të Majave-Peptonit-Dekstrozës (YPD). Një nga komponentët e mediumit YPD, është ekstraktit i majasë që mundëson rritjen e *S. cerevisiae* varësisht nga nevojat për vitaminat. Peptoni shtohet si burim i karbonit, azotit, vitaminave dhe mineraleve dhe dekstroza nga ana tjetër

shtohet si burim i karbohidrateve. Përveç këtyre, ka raporte mbi përdorimin e mediume kimike për t'iu përshtatur posaçërisht nevojave të rritjes së *S. cerevisiae* [22].

Mund të përdoren edhe mediume kimike për rritjen e majës *S. cerevisiae*, ky lloj mediumi përmban: glukozë; ekstrakt të majave, kripëra të sulfatit amonit, Mg, Zn, Cu, Fe, kripëra të klorurit Ca, Co, Mn, kripëra të fosfatit K, Na, biotinë; acid nikotinic; tiaminë HCl; piridoksinë HCl; acid para-aminobenzoik, etj.

Ndër faktorët kryesor që ndikojnë në rritjen dhe zhvillimin e majave janë: pH temperatura, sasia e oksigjenit, etj. Te majat vërehet një rritje dhe dyfishim më i shpejtë i qelizave në temperatura nën 40°C, përkatësisht temperaturat optimale të rritjes janë 30-37°C. Temperaturë të ngjashme të rritjes ka edhe *S. cerevisiae*, e cila në temperaturë 10°C fillon rritjen ndërsa temperatura optimale për rritjen e saj është 30-35°C, por megjithatë në temperaturën 30°C, vërehet një dendësi qelizore dukshëm më e lartë e qelizave *S. cerevisiae* në krahasim me temperaturat e tjera. Kjo vërejtje si rezultat se në temperatura më të ulëta se 30°C, proceset kinetike brenda qelizës ngadalësohen, po ashtu edhe në temperaturat më të larta se 30°C, funksionaliteti i qelizës gjithashtu zvogëlohet, për shkak të rritjes së akumulimit të etanolit [23].

Tabela 2.1: Minerale dhe vitaminat e nevojshme për rritjen e majave [30].

ELEMENTE (g)		GJURMË MINERALES (mg)		VITAMINA (mg)	
N	25.4	Zn	23	Biotinë	1.25
S	36	Fe	44.9	Pantotenatë	62.5
P	5	Cu	1.3	m-inositol	1250
K	0.6	Mn	10.4	Tiaminë	50
Mg	0.62	Co	4.8	Pridoksinë	62.5
Ca	0.24	Mo	12.9	Acid nikotinic	50
Na	0.23	B	12.8		
		I	4		

Një faktor tjetër i rëndësishëm për rritjen e majave është edhe pH. Pasi majat janë acidofile atëherë pH optimale e rritjes së tyre varion nga 4-6, por ka edhe prej atyre specieve që rriten në pH më të ulët. Edhe *S. cerevisiae* rritet shumë më mirë në pH acidike se sa në pH neutral ose alkalike. Shumica e shtameve *S. cerevisiae* fillojnë rritjen e tyre në vlera të pH 2.5 dhe ndërpresin atë në pH 8-8.5, vlera optimale e pH për rritjen e majave ndryshonë nga pH 4 deri në 6, varësisht nga temperatura, prania e oksigjenit, lloji i kulturës dhe aktiviteti majës, por megjithatë rritje më të lartë të qelizave arrihet në pH 5. Shumica e fermentimeve që ndodhin përmes specieve *Saccharomyces* kontrollohen në pH 4-5, pH e këtillë zvogëlon rrezikun e kontaminimit bakterial [24].

2.4.10 Aplikimi i *S. cerevisiae* në industrinë e prodhimit të bukës

S. cerevisiae është majë mjaftë e rëndësishme pasi gjen aplikim në procese të ndryshme bioteknologjike, rëndësi kjo e cila lidhet me faktin se maja ka kapacitet fermentues, ku prodhon alkool dhe CO₂, po ashtu shfaqë rezistencë ndaj kushteve të pafavorshme të osmolaritetit dhe pH-së ulët, ka tolerancë ndaj përqendrimeve të larta të etanolit, nivelit të ulët të oksigjenit; si dhe ndaj ndryshimeve të presionit osmotik [20].

S. cerevisia ka një aplikim veçanërisht të lart në industrinë e ushqimit, në industrinë e prodhimit të pijeve, në industrinë e prodhimit të biokarburanteve, në industrinë e prodhimit të çokollatave, etj. Rol të rëndësishëm *S. cerevisia* luan edhe në industrinë e prodhimit të bukës dhe produkteve konditore. Kjo majë ndryshe njihet edhe si maja e bukës. Prodhimi i bukës nuk është i mundur pa aplikim e saj, maja zakonisht inokulohet në brumë në një përqendrim prej 2%. Sasia e majës që përdoret gjatë përgatitjes së bukës varet nga përbërja e brumit që do fermentohet dhe nga zgjatja e procesit. Oksigjeni mbetet i bllokuar në brumë, dhe ky oksigjen konsumohet nga majat ku në minutat e para shfaqet procesi i frymëmarrjes qelizore të majave dhe kemi një rritje të riprodhimit të qelizave, por pas disa minutave vërehet se shkalla e riprodhimit po zvogëlohet sepse fillon procesi i fermentimit. Qelizat e majave bëjnë degradimin e karbohidrateve deri në CO₂ dhe etanol dhe si rezultat i prodhimit të gazrat nga fermentimit, shkaktohet rritje e vëllimit të bukës, prandaj thuhet që majat janë shkaktarët kryesor që shfaqin ndryshime në strukturën e bukës, në sintezën e

acideve organike dhe produkteve të paqëndrueshme që kontribuojnë në shijen dhe aromën e bukës [20]. Gjatë përgatitjes së bukës majat kanë tri funksione themelore:

- Majat prodhojnë gaz
- Ndikojnë në rehologjin e brumit
- Ndikojnë në prodhimin e metabolitëve sekondar

2.5 Melasa

Melasa është një nënprodukt i rëndësishëm i industrisë së rafinimit të panxhar sheqerit ose kallamit të sheqerit. Melasat janë shurupe, me ngjyrë të errët, që mbeten kur nuk mund të nxirret më sheqer nga kokrrat e papërpunuara. Melasa kryesisht përbëhet nga sheqernat fermentuese (sakaroza gjendet në sasi më të lartë, ndërsa sheqernat e tjerë janë të pranishëm në sasi më të vogël: rafinoza (1%), glukozja (0.25%) dhe fruktoza (0.25%)). Melasa përmban edhe gjurmë të elementeve minerale të K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, dhe përbërës bioaktivë si proteina të papërpunuara, substanca jo azotike, kompleksi të vitaminës B, biotinë, etj. Melasa ka kapacitet të lartë antioksidues, ky i cili atribuohet nga prania e përbërjeve fenolike, derivateve të tyre, melaninave, dhe produkteve të karamelizimit të sheqerit [25].

Melasa gjen zbatim mjaftë të lartë në industrinë ushqimore, veçanërisht në industrinë e ëmbëlsirave dhe produkteve konditore. Aroma e saj unike e karamelit, që përshtatet me aromën e vaniljes, çokollatës, kafesë, dhe rumit, shija e hidhur në të ëmbël, ngjyra e saj e errët, janë mjaftë të dobishme për produktet konditore. Melasa konsiderohet si ushqim me vlera të larta ushqyese, pasi është e pasur me makro elemente (kalium, kalcium, magnez, hekur) dhe si e tillë përdoret për fortifikimin e produkteve ushqimore [25].

Melasa është një mbetje agro-industriale dhe një nënprodukt i industrisë së sheqerit, si e tillë përmban sasi të lartë të sheqernave monomerike dhe polimerike. Përdoret gjerësisht në industrinë kimike për të prodhuar maja të bukës dhe etanol. Melasat e azhurnuara dhe të para-trajtuara janë burimi më i madh ekonomik i karbohidrateve për fermentimin e etanolit. Si pluhur, melasa e panxhar sheqerit përdoret si substrat në fermentimet gjatë prodhimit të majave të bukës dhe birrës, etanolit, acidit citrik, lizinës, etj. Në tabelën 2.2 është paraqitur përmbajtja e kallam-sheqerit dhe panxhar-sheqerit [26].

Tabela 2.2: Përbërja e kallamit dhe panxharit të sheqerit [30].

PËRBËRJA	MELASA E KALLAM-SHEQERIT	MELASA E PANXHAR-SHEQERIT
Sheqerna	73.1	66.5
Sakarozë	45.5	63.5
Rafinozë	0	1.5
Sheqerna të kthyera	22.1	0
Të tjera	5.5	1.5
Lëndë Organike	15.5	23.0
GA dhe PY	2.4	4.0
N të tjera	3.1	0
Aminoacide të tjera	0	3.0
Betandinë	0	5.5
Acide organike	7.0	5.5
Pektinë	2.7	5.0
Inorganikë	11.7	10.5
K ₂ O	5.3	6.0
Na ₂ O	0.1	1.0
CaO	0.2	0.2
MgO	1.0	0.2
Al ₃ O ₃ ·Fe ₂ O ₃	0	0.1
SiO ₃	0	0.1
Cl	1.1	0.11
SO ₂	2.3	0.5
P ₂ O ₅	0.8	0.1
N ₂ O ₅	0	0.4
Tjera	0.9	0.2

2.6 Procesi teknologjikë i prodhimit të bukës

Përgatitja e bukës është një nga proceset më të vjetra biokimike në të gjithë botën. *Saccharomyces cerevisiae* e njohur si maja e bukës është një nga përbërësit kryesorë për prodhimin e bukës. Termi "cerevisiae" (që do të thotë birrë) nënkupton marrëdhënien e ngushtë mes prodhimit të birrës dhe bukës. Historikisht, e njëjta majë u përdor për të dy proceset. Në shekullin e nëntëmbëdhjetë, majatë e mbetura nga industria e birrës u ndanë me furrtarët për prodhimin e saj. Sot, mijëra kultura të ndryshme mikrobike të përmirësuara gjenetikiisht përdoren për aplikime të ndryshme si prodhimin e bukës, prodhimin e pijeve dhe verës. Megjithëse bërja e bukës ka një traditë të gjatë, gjatë gjithë historisë njerëzore, pak vëmendje është kushtuar lidhjes mes shtimit të majasë dhe cilësisë së bukës [27].

Për shkak të konsumit të lartë të bukës, sektori i përgatitjes së bukës përbën sektorin më të rëndësishëm të industrisë ushqimore. Zhvillimi teknologjik i industrisë së bukës bëhet me qëllim të rritjes së cilësisë. Për më tepër, cilësia e bukës dhe zvogëlimi i mbetjeve janë jashtëzakonisht të rëndësishme. Rolet e përbërësve dhe hapat e procesit duhet të jenë të njohur mirë për të korrigjuar të metat në bukë dhe për të identifikuar burimin e mungesës ose tepricës që mund të lindë gjatë prodhimit.

Për përgatitjen e bukës ekzistojnë formula të shumta që përcaktojnë edhe cilësinë e saj. Por megjithatë për përgatitjen e bukës në formën e saj më të thjeshtë përdoren vetëm mielli, maja, kripa dhe uji [28].

2.6.1 Mielli

Mielli është përbërës i rëndësishëm, pa të cilin prodhimi i bukës nuk do të ishte i mundur. Për përgatitjen e bukës mund të përdoren lloje të ndryshme të miellit si miell gruri, thekre, elbi, tërshëre, misri, por shumica e llojeve të bukës prodhohen duke përdorur miellin e grurit, miell ky i cili fitohet pas bluarjes së grurit. Gruri klasifikohet sipas fortësisë dhe ngjyrës së kokrrës. Llojet e grurit ndryshojnë në vetitë e tyre në varësi të varietetit dhe zonës ku ato rriten. Ato mund të grupohen në dy grupe të përgjithshme si varietete të forta dhe të buta. Gruri i fortë i pranverës dhe i dimrit janë llojet më të dëshirueshëm për prodhimin e bukës. Këto lloje të grurit bluhen mirë dhe japin miell me përmbajtje të lartë të proteinave, prej këtyre llojeve të miellrave fitohen brumëra të fortë, elastikë. Këto

brumëra kanë tolerancë të mirë ndaj kushteve të pjekjes, përzierjes, fermentimit dhe temperaturës, po ashtu kanë veti dhe rendiment të shkëlqyeshëm mbajtës të gazit, si dhe kanë kapacitete të larta thithëse të ujit. Gruri i butë përdoret kryesisht në prodhimin e miellit që përdoret për ëmbëlsira, pasta dhe biskota, por nuk preferohet për prodhimin e bukës. Këto lloje të grurit japin miell me përmbajtje të ulët të proteinave, miell me aftësi të ulët thithëse të ujit dhe tolerancë të dobët ndaj përzierjes dhe fermentimit [29].

Karakteristika më e rëndësishme e miellit është përmbajtja e proteinave. Mielli i grurit që përdoret për përgatitjen e bukës në përgjithësi përmban 11-30% proteina, ku gluteni është më i rëndësishmi. Në thelb, kur mielli përziehet me ujë, proteinat në miell formojnë glutenin, një material që shtrihet dhe i jep forcë brumit dhe e lejon atë të rritet. Mielli me përmbajtje të lartë të proteinave e bën brumin me më shumë gluten. Gluteni është përgjegjës për strukturën e brendshme, elasticitetin dhe shtrirjen e bukës. Mielli përmban edhe mono dhe disaharide si glukozë, fruktozë, saharozë, maltozë, etj [28].

2.6.2 Uji

Uji është një nga përbërësit kryesorë për prodhimin e bukës. Uji që përdoret për prodhimin e bukës duhet të jetë ujë i pijshëm, nuk duhet të ketë shije ose aromë anormale në temperatura të ulëta dhe të larta; nuk duhet të ketë ngjyrë; nuk duhet të jetë i trubullt; duhet të jetë i kulluar; etj [30].

Uji ka disa funksione në prodhimin e bukës. Bën të mundur formimin e glutenit. Gluteni si i tillë nuk ekziston në miell. Vetëm kur proteinat e miellit hidratohen, formohet gluteni. Uji kontrollon qëndrueshmërinë e brumit. Uji ndihmon në kontrollin e temperaturave të brumit. Ngrohja ose ftohja e brumërave mund të rregullohet përmes ujit. Ai shpërndan kripërat, pezullon dhe shpërndan përbërësit jo-miell në mënyrë uniforme. Uji lag dhe fryn amidonin dhe e bën të tretshëm. Uji gjithashtu bën të mundur aktivizimin enzimatik. Uji e mban bukën të shijshme më gjatë, nëse lejohet të mbetet ujë i mjaftueshëm në produktin përfundimtar [29].

Për prodhimin e bukës, uji i përdorur nuk duhet të jetë as shumë i fortë, as shumë i butë. Duhet të jetë mesatarisht i fortë. Fortësia e ujit përcaktohet nga përqendrimi i kripërave minerale. Uji i butë ka pak minerale, dhe ndikon në krijimin e brumit ngjitës, po ashtu

rezulton në mungesë të prodhimit të gazit gjatë fermentimit dhe gjithashtu mbajtja e gazit do të jetë e dobët. Një dukuri e till mund të shmanget duke shtuar përmirësues brumi ose duke shtuar një sasi të madhe të kripës [30].

2.6.3 Kripa

Kripa ka shumë qëllime në bukë, më e dukshme është se shton aromën e bukës, gjithashtu vepron si një ruajtës natyral duke dehidruar bakteret, duke shtuar kështu jetëgjatësinë e bukës. Gjatë bërjes së bukës, kripa ngadalëson reagimet e fermentimit duke dehidratuar majanë dhe bakteret, duke lejuar kështu që brumi të fermentohet më gjatë para se të formësohet dhe piqet. Koha më e gjatë e fermentimit lejon që të zhvillohet më shumë aroma e saj. Kripa gjithashtu stabilizon rrjetin e glutenit, duke e bërë glutenin më të fortë. Kjo krijon një brumë më të mirë që i reziston presionit të gazit dhe ngrihet më ngadalë [31].

Kripa shtohet në brum deri në sasi 4%. Në përqendrime të ulëta kripa rritë aftësinë gazformuese, ndërsa përdorimi i kripës në sasi mbi 2–2.5 % keqëson cilësinë, dobëson elasticitetin e brumit, zvogëlon aftësinë gazformuese, rrit aftësinë ujëthithëse, dhe ndikon negativisht në aktivitetin e majave [28].

Duhet të theksohet se kripa që përdoret për prodhimin e bukës duhet ti përmbushë disa karakteristikat si: duhet të jetë plotësisht e tretshme në ujë; duhet të jetë sa më e pastër; duhet të jete e grimtuar imët; duhet të jetë pa shije të hidhur ose pickuese; duhet të formojë tretësirë të pastër, pasi tretësira e turbullt tregon praninë e papastërtive të caktuara; etj.

Kripa preferohet të hidhet nga fundi i procesit të brumëbërjes sepse në rastë se hidhet më përpara, si shkak i karakteristikave të saj antioksiduese, do të vonoj oksidimin e brumit duke reduktuar bardhësin e tij. Po ashtu kripa, për shkakë të karakteristikave të saj antiseptike, reagon edhe gjatë fermentimit, duke zvogëluar sidomos fermentimin dytësorë të mikroorganizmave prodhuese të acideve si ai acetik, buterik, laktik, dhe duke zvogëluar zhvillimin e anhidrit karbonik me reduktimin relativ të porozitetit të bukës. Kripa ndikon në ngjyrosjen e sipërfaqes së bukës, duke i dhënë kores një ngjyrë më të gjallë, krokante dhe aromë më të spikatur [30].

2.6.4 Maja

Majatë në prodhimin e bukës përdoren për shkrifërimin e brumit, për ti dhënë bukës shije, aromë karakteristike, porozitet dhe vëllim të dëshiruar. Majatë e bukës përbëhen nga shtame të ndryshme të gjinisë *Saccharomyces*. Qelizat e këtyre majave kanë formë sferike dhe vezake, me një diametër mesatar prej rreth 2-10 mikronë. Maja janë anaerobe fakultative, majatë shndërrojnë sheqernat në dioksid karboni, energji dhe biomasë në prani të oksigjenit. Në mungesë të oksigjenit ata përdorin fermentimin alkoolik për të shndërruar sheqerin në etanol, dioksid karboni dhe glicerinë [30].

Fermentimi i brumit nga majaja më së miri bëhet në temperaturë mes 25-27°C. Në temperaturë nën këto diapazone, fermentimi do të jetë i ngadaltë. Në temperatura më të larta, fermentimi mund të rritet me ritëm të lartë me të cilin brumi kushtëzohet [29].

Në përgjithësi, majat që përdoren për industrinë e pjekurinave duhet të përmbushin disa kërkesa specifike në lidhje me aplikimin dhe karakteristikat e përpunimit, të tilla si prodhimi adekuat i gazit për të siguruar një fermentim uniform, tolerancë ndaj një game të gjerë të pH, temperaturës dhe përqendrimeve të kripës ose sheqerit si dhe formimin e përbërësve që ndikojnë në dhënien e aromës karakteristike.

Sot, maja e bukës prodhohet në forma të ndryshme në të gjithë botën. Majat mund të gjendet në disa forma si maja të freskëta, të kompresuar, aktive të thata dhe maja të thatë me aktivitet të menjëhershme. Dallimi midis këtyre formateve lidhet me pamjen e tyre fizike për shkak të ndryshimeve në përmbajtjen e lagështisë. Reduktimi i lagështisë përdoret kryesisht për të zgjatur afatin e ruajtjes së majës. Maja të freskëta dhe të kompresuar përdoren më shpesh në industri, pasi ato konsiderohen të jenë më të besueshme, si dhe prodhojnë më shumë dioksid karboni gjatë fermentimit [27].

Sasia e majës që përdoret për përgatitjen e bukës varet nga përbërja e brumit (veçanërisht nga niveli i sheqerit në brumë dhe zgjatja e fermentimit). Gjatë përgatitjes së bukës majaja ka tri funksione kryesore:

- Prodhimin e gazit- Majat zërthen sheqernat që gjenden në brumë dhe prodhojnë gaz (CO₂), sheqernat që më së shpejti zërthehen janë saharoza dhe maltoza, këto të cilat fillimisht zërthehen në glukozë dhe fruktozë dhe pastaj fillon procesi fermentimit.

- Zhvillimin e brumit- CO₂ i prodhuar nga majat e ul pH e brumit, kjo ulje e pH, si dhe etanoli i prodhuar ndikon në reinologjinë e brumit.
- Prodhimin e aromave- Aroma e bukës prodhohet nga maja dhe metabolitet e tjerë. Gjatë zbërthimit të sheqernave qelizat e majave prodhojnë sasi të kufizuara të substancave aromatike si alkoolët, acide, esteret, aldehidet, ketonet, duke përmirësuar kështu karakteristikat organoleptike të bukës [28].

2.6.5 Shtesat tjera plotësuese

Përveç përbërësve thelbësor për prodhimin e bukës mund të përdoren edhe shtesa tjera plotësuese të cilët ndikojnë pozitivisht në përmirësimin e aromës, shijes, ngjyrës, teksturës, strukturës dhe cilësisë së bukës. Në kuadër të shtesave hyjnë:

Sheqeri- Sipas preferencave, sheqeri shtohet në brumë në nivelin nga 0-30%. Sheqeri hidrolizohet përmes invertazës jashtëqelizore të majave dhe në këtë mënyrë gjatë përgatitjes së bukës majat fermentojnë vetëm glukozën ose fruktozën. Një efekt tjetër i rëndësishëm është që shtimi i sheqerit në brumë ulë aktivitetin ujqor të brumit, ku kjo ulje e aktivitetit ujqor çon në uljen e shkallës së fermentimit të majave [28].

Sheqeri kryen disa funksione në bukë si: është burim energjie për aktivitetin e majave; përmirëson aromën e bukës, errëson ngjyra e korës; jep ëmbëlsinë e nevojshme; ndihmon në mbajtjen e lagështisë për shkak të natyrës së saj higroskopike; zgjat freskinë e bukës; shton vlera ushqyese për produktin; etj [29].

Vaji- Yndyrat janë substanca të cilat gjejnë përdorim në industrinë e prodhimit të bukës. Shtimi i yndyrave në brumë përmirëson konsistencën e brumit, përmirëson vëllimin e bukës; pamjen e kores; përmirëson pamjen, strukturën, konsistencën e tullit; zgjat freskinë e bukës, etj [30].

Përmirësuesit- Konsistojnë në agjentë oksidues dhe reduktues, rregullatorë të pH, emulsifikues dhe enzima që përmirësojnë ose japin karakteristikat e dëshirueshme në bukë si teksturën, zgjatjen e kohës së përdorimit dhe fermentimin e shpejtë. Disa nga përmirësuesit janë α dhe β amilaza, proteaza, etj [28].

Konservuesit- pasi buka ka aktivitet të lartë ujqor, ajo mund të infektohet nga majat dhe myqet. Për pengimin e zhvillimit të myqeve në bukë shpesh përdoren kripërat e acideve

yndyrore si propionat kalciumi ose acide si acidi acetik. Acidet yndyrore të pangopura shërbejnë si frenues të majave duke përfshirë këtu edhe *Saccharomyces cerevisiae* [28]. Në prodhimet e brumit si shtesa tjera plotësuese mund përdoren edhe: qumështi; vezët; lëndët shkriuesuese; ngjyruetit ushqimorë natyrore dhe artificialë; esencat e ndryshme aromatike; erëzat, frutat e thata; frutat e frekëta e të koservuara; perimet e freskëta e të konservuara; produkte të sallamerisë; etj.

2.7 Linja teknologjike e prodhimit të bukës

2.7.1 Pranimi i lëndës së parë

Lëndët e para që përdoren për prodhimin e bukës duhet ti përmbushin të gjitha kriteret fiziko-kimike dhe bakteriologjike në mënyrë që të përdoren për përpunim.

2.7.2 Përgatitja e lëndëve të para

Sitja e miellit- Mielli para se të përdoret për prodhimin e bukës, fillimisht sitet. Sitja e miellit realizohet përmes sitave manuale apo atyre automatike, sitja realizohet për arsye të ndryshme si : për të ajrosur miellin; për të larguar grimcat e trasha dhe papastërtitë e tjera; si dhe për ta bërë miellin më homogjen [32].

Peshimi- Pas sitjes bëhet peshimi i përbërësve varësisht nga receptura që përdoret. Përbërësit e vegjël duhet të peshohen më saktësisht. Kripa, sheqeri, agjentët oksidues dhe majaja shtohen në formë tretësire. Majaja shtohet si një pezullim, i cili përzihet mirë çdo herë para se të shtohet në miell. Sekuenca e shtimit të përbërësve gjithashtu ndikon në karakteristikat e brumit. Në përgjithësi yndyrat dhe kripa shtohen në fazën e fundit [32].

Përgatitja e kripës- Kripa që përdoret në prodhimin e bukës duhet të jetë e pastër. Ajo nuk duhet të përmbajë kripëra të magnezit, që i japin brumit shije të hidhur. Kripa tretet në ujë me përqëndrim të caktuar (24–25 %) që të shpërndahet më lehtë e në mënyrë të njëtrajtshme në brumë.

Përgatitja e ujit- Uji që nevojitet në përgatitjen e brumit, mbahet në disa enë të posaçme të pajisura me matës vëllimi e me sistem ngrohjeje me avull ose rrymë elektrike për

ngrohjen e tij deri në temperaturën e dëshiruar. Nëpërmjet nxehtësisë së ujit bëhet korigjimi i temperaturës së brumit.

Përgatitja e majasë- Para se të përdoren majatë, duhet të termostatohen sipas temperaturës së repartit ku përgatitet brumi. Pas termostatimit majaja e presuar, në raport të caktuar, hollohet me ujë të ngrohtë duke e përzier vazhdimisht derisa të formohet një pezulli e homogjenizuar mirë.

Përgatitja e lëndëve përmirësuese- Lëndët përmirësuese si: yndyrat, qumështi, sheqeri, erëzat, vezët, etj, duhet t'i përgjigjen kërkesave të standardit shtetëror. Që këto lëndë të shpërndahen në mënyrë të njëtrajtshme në brumë, përgatiten në gjendje të lëngët ose të bluara imët, sipas veçorive të tyre fizike. Praktikisht sheqeri tretet në ujë, yndyrat e ngurta shkrihen me nxehtësi, qumështi hollohet me ujë, kurse erëzat bluhen imët etj [30].

2.7.3 Përzierja e përbërësve

Fillimisht përzihen përbërësit që gjenden në gjendje të ngurtë, pastaj shtohet uji, ku mielli fillon të laget dhe ngjitet. Pasi mielli është hidratues, sjell zhvillimin e rrjetit të glutenit në brumë, dhe kur të bëhet hidratimi i plotë i përbërësve atëherë fitohet një masë e lagësht. Masa e lagësht është e pabarabartë dhe e lagur, ku gluteni fillon të zhvillohet në sistemin e brumit. Me përzierjen e mëtejshme zhvillohet rrjeta e glutenit në brumë, ku brumi fillon ta humbas pamjen e tij të lagësht, dhe arrin një pikë ku lëvizshmëria është minimale, dhe ai bëhet i zgjerueshëm dhe elastik. Kur përzierja vazhdon brumi bëhet i butë, me shkëlqim, me natyrë viskoelastik, dhe nuk ngjitet më në muret e përzierësit. Me përzierjen e mëtejshme brumi bëhet elastik, i butë, i lëmuar, ku formon membranë të hollë me trashësi uniforme. Kur brumi arrin këto karakteristika atëherë mund të thuhet se ai mund të kalojë në fazat e tjera të prodhimit të bukës [32].

Është e rëndësishme të theksohet se nëse përzierja vazhdon përtej kësaj pike, ndodh degradimi mekanik i brumit që rezulton në prishjen e rrjetit të tij. Përfundimisht brumi bëhet i lagësht, ngjitës dhe jashtëzakonisht i zgjerueshëm. Një brumë i tillë do të krijojë problem në trajtimin e brumit dhe tregon një përpunueshmëri të dobët. Koha e përzierjes ndryshon varësisht nga lloji i miellit, lloji i përzierësit, shpejtësia e përzierjes, prania e kripës, aditivëve, madhësisë së grimcave, etj.

Përzierja e miellit dhe përbërësve të tjerë shërben: për të shpërndarë të gjithë përbërësit në mënyrë uniforme; për të përzier dhe hidratuar përbërësit e brumit; për të zhvilluar strukturën ose rrjetën e glutenit në brumë me qëllim që brumi të mbajë gazin; për të ajrosur brumin në mënyrë që të prodhohen filluskat e CO₂ gjatë fermentimit dhe për të siguruar oksigjenin atmosferik për oksidimin e brumit dhe aktivitetin e majasë [32].

2.7.4 Fermentimi

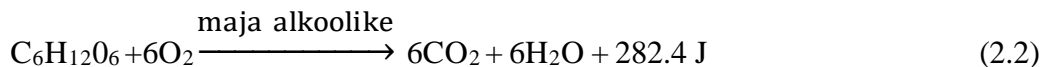
Brumi pasi të përzieret dhe të arrij formën e dëshiruar i nënshtrohet fermentimit për një periudhë kohore të caktuar derisa të arrijë strukturën e nevojshme. Fermentimi arrihet nga majaja *Saccaromyces cerevisiae*. Majaja në brumë zbërthen sheqernat në dioksid karboni dhe etanol. Gazi i prodhuar gjatë fermentimit bën që brumi të bëhet si shkumë. Kur brumi i fermentuar pjeket, struktura e shkumës shndërrohet në strukturë sfungjore që është përgjegjëse për strukturën e gazuar të bukës. Kushtet në të cilat ndodh fermentimi ndikojnë në shpejtësinë e prodhimit të dioksidit të karbonit dhe zhvillimin e aromës në brumë. Ndikimi i temperaturës dhe lagështisë relative janë veçanërisht të rëndësishme për aktivitetin e majasë dhe prodhimin e gazit. Në temperaturë 20-40°C, shkalla e fermentimit të majave dyfishohet për çdo rritje të temperaturës prej 10°C. Mbi 40°C qelizat e majave fillojnë të shkatërrohen. Majat përformojnë mirë në temperaturë 30-35°C dhe lagështia relative prej 85%. Diapazoni optimal i pH për majat është 4-6. Nën pH 4 aktiviteti i majave fillon të zvogëlohet dhe deaktivizohen nën pH 3. Presioni osmotik gjithashtu ndikon në aktivitetin e majave [32].

Nëpërmjet fermentimit prodhohen gazet e nevojshme që shkaktojnë shkrifërimin e brumit, rritet shkalla e përvetësimit, po ashtu fermentimi ndikon edhe në dhënien e shijes dhe aromës karakteristike të bukës. Fermentimet që zhvillohen gjatë prodhimit të bukës janë: fermentimi alkoolik, fermentimi laktik, fermentimi acetik, etj.

Fermentimi alkoolik- zhvillohet në kushte anaerobe ose në kushte aerobe. Në kushte anaerobe sheqeri zbërthehet në alkool dhe dioksid karboni. Alkooli i fituar dobëson aktivitetin e majave dhe kështu ngadalëson procesin e fermentimit sipas këtij reaksioni:



Në kushte aerobe sheqernat zërthehen në CO₂ (ky i cili shkrifëton brumin dhe përmirëson strukturën e tullit të bukës) ujë dhe nxehtësi sipas këtij reaksioni:

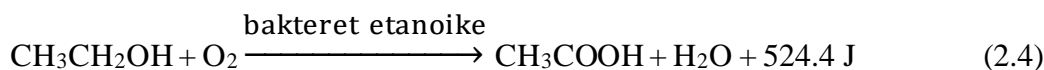


Fermentimi laktik- shkaktohet nga bakteret laktike, të cilat zërthejnë sheqerin deri në acid laktik, sipas këtij reaksioni:



Në prodhimin e bukës tharmimi laktik zhvillohet më shumë gjatë procesit të zënies së brumit duke përdorur majat lupolos ose majat e tharta. Shumica e baktereve laktike prodhojnë edhe acid etanik që favorizohet nga brumi i fortë ose temperatura e ulët gjatë përgatitjes së brumit.

Fermentimi acetik- shkaktohet nga lloje të ndryshme baktereve acetike, ku gjatë këtij fermentimi, alkooli në prani të oksigjenit të ajrit oksidohet në acid acetik dhe ujë sipas këtij reaksioni:



Në prodhimin e bukës brumi përmban një sasi shumë të vogël të acidi acetik, që përftohet gjatë tharmimit alkoolik, por nëq procesi i tharmimit zhvillohet në kushte të papërshtatshme atëherë rritet përqëndrimi i acidit acetik e si pasojë, brumi thartohet e bëhet i papërdorshëm për prodhimin e bukës.

Fermentimi adekuat i brumit përcaktohet me anë të kontrollit organoshqisor dhe analizave kimike.

Treguesit organoshqisorë janë:

- ngjyra e sipërfaqes së brumit- duhet të jetë kafe e çelët në kafe më të errët;
- elasticiteti i brumit- në prekje brumi duhet të jetë elastik;
- mesi i sipërfaqes së brumit duhet të jetë i ulur;
- nuk duhet vërehen plasje të flluskave ose nuk duhet dëgjohen zhurma të daljes së gazeve (dioksid karboni, avuj alkooli etj);
- aromën e tij karakteristike.

Pos treguesve organoleptik rëndësi në përcaktimin e fermentimit të brumit kanë edhe analizat kimike, kryesisht grada e aciditetit të brumit. Brumi i përgatitur me majë të presuar

është i gatshëm kur aciditeti i tij arrinë 5° – 6° (gradë aciditeti). Kur aciditeti është nën 5° , brumi nuk është i fermentuar plotësisht, ndërsa brumi me aciditet 6° – 6.5° e ka kaluar kufirin e gatishmërisë. Prandaj duhet matur herë pas here aciditeti i brumit që të përcaktohet me përpikëri çasti i mbarimit të fermentimit [30].

Gjatë fermentimit ndodhin disa ndryshime të dëshiruara fiziko-kimike në brumë si:

Ndryshimet fizike

- Rritja e vëllimit për shkak të prodhimit të CO_2
- Rritja e temperaturës
- Rritja e numrit të qelizave të majave
- Humbja e lagështisë
- Ndryshimet në qëndrueshmërinë e brumit. Brumi bëhet i butë, elastik dhe zgjatues.

Ndryshimet kimike

- Reduktimi i pH: pH e brumit zvogëlohet nga 5.5 në 4.7 për shkak të formimit të acideve të ndryshme (p.sh acidi acetik).
- Formimi i sheqerit të maltozës si rezultat i veprimit të enzimave në amidon.
- Zhvillimi i brumit për shkak të ndërprerjes së lidhjeve S-S dhe formimit të grupeve të reja S-H dhe S-S, të cilat përmirësojnë vetinë e mbajtjes së gazit të brumit.
- Shndërrimi i amidonit në sheqer të thjeshtë nga veprimi i enzimave, i cili më pas shndërrohet në CO_2 dhe alkool nga grupi vijues i enzimave të pranishme [32].

Shumë e rëndësishme është përzierja e brumit kur kalon $2/3$ e kohës normale të fermentimit, sepse në këtë mënyrë rritet aftësia mbajtëse e gazit në brumit. Përzierja e brumit ka si qëllim barazimin e temperaturës së brumit në të gjithë masën; zvogëlimin e efektit të akumulimit të tepërt të dioksidit të karbonit brenda masës së brumit; fut oksigjenin atmosferik për të stimuluar aktivitetin e majasë; gjithashtu ndihmon në zhvillimin mekanik të glutenit si rezultat i veprimit të shtrirjes dhe palosjes.

2.7.5 Formësimi

Funksioni i formësimit të brumit është të transformojë brumin e fermentuar në copa brumi të vogla dhe të formësuara siç duhet, në mënyrë që kur brumi të pjekët të jep produkt të dëshiruar. Formësimi i brumit përfshin:

- Ndarjen- Brumi ndahet në copa individuale me peshë dhe madhësi uniforme të paracaktuar. Pësja e brumit që do të arrihet varet nga pësja përfundimtare e bukës së kërkuar. Në përgjithësi, merret 12% e peshës shtesë të brumit për të kompensuar humbjen. Ndarja duhet të bëhet brenda kohës më të shkurtër në mënyrë që të sigurohet pësja uniforme. Nëse ka një vonesë gjatë ndarjes, hapat korrigjues duhet të ndërmerren ose duke e degazuar brumin ose duke rritur madhësinë e brumit. Degazuesit janë në thelb pompa brumi që ushqejnë brumin dhe gjatë procesit heqin shumicën e gazit. Përparësitë e përdorimit të degazuesve janë: ndarja më e njëtrajtshme; pjekja bëhet më uniforme; forma dhe struktura e bukës është më uniforme.
- Dhënia e formës- Kur pjesa e brumit lë përzierësin, ajo ka formë të parregullt me sipërfaqe të prera, ngjitëse nga të cilat gazi mund të shpërndahet lehtë. Funksioni i dhënies së formës është të japë një formë të re, të lëmuar brumit në mënyrë që të mbajë gazin si dhe të zvogëlojë ngjitjen duke lehtësuar kështu trajtimin. Kur brumit i është dhënë forma, ai bëhet mjaft i degazuar si rezultat i ngjeshjes që i është ushtruar. Brumit i mungon zgjatueshmëria, lëshohet lehtë, dhe bëhet si gomë. Prandaj për të rivendosur një strukturë më fleksibile, të lakueshme, e cila do t'i përgjigjet mirë manipulimit të formës, është e nevojshme që brumit të pushojë ndërsa vazhdon fermentimi. Koha mesatare në këtë fazë shkon nga 5-20 minuta.

Pasi që brumit ti jepet forma, vendoset në një enë dhe lihet të pushoj. Gjatë kësaj periudhe pushimi, fermentimi i brumit vazhdon. Brumi përfundimisht fermentohet deri sa të arrij lartësinë e dëshiruar. Ky proces në përgjithësi kryhet në temperaturë 30-35°C dhe në lagështirë relative 85%, dhe zgjat rreth 55-65 minuta. Gjatë kësaj periudhe rritet jashtëzakonisht vëllimi i tij, ku ai zgjerohet prandaj duhet të tregohet kujdes që lëkura e brumit të mbetet e lëmuar dhe fleksibile në mënyrë që ajo të mos shqyhet ndërsa zgjerohet. Kërkohej gjithashtu një nivel i lartë i lagështisë për të minimizuar humbjen e peshës. Gjatë pushimit të brumit rendësi duhet kushtuar temperaturës, lagështisë dhe kohës. Temperatura

varet nga shumëllojshmëria e faktorëve të tillë si forca e miellit, formulimi i brumit në lidhje me oksidantët, kondicionerët e brumit, shkalla e fermentimit dhe lloji i produktit të dëshiruar. Lagështia e ulët krijon kore të thatë në brumë, ndërsa lagështia e tepërt çon në kondensimin e lagështisë [32].

2.7.6 Pjekja

Pas pushimit brumi vendoset në furrë me nxehtësi për pjekje. Temperatura e pjekjes zakonisht ndryshon në varësi të furrës dhe llojit të produktit, por zakonisht mbahet në kufijtë 220-250°C. Gjatë pjekjes, temperatura e qendrës së brumit arrin në rreth 95°C në mënyrë që të sigurohet që struktura e produktit të jetë plotësisht e vendosur. Kur brumi vendoset në furrë, nxehtësia transferohet nëpër brumë me disa mekanizma si konveksioni, rrezatimi, konduksioni, kondensimi i avullit dhe avullimi i ujit. Koha e pjekjes së bukës mund të shkojë nga 25 deri në 30 minuta, varësisht nga madhësia e bukës.

Ndërsa brumi futet në furrë për pjekjeje ai pëson disa ndryshime organoshqisore, fizike dhe biokimike të tilla si:

Ndryshimet organoshqisore

- Këto ndryshime prekin ngjyrën, vëllimin, konsistencën, shijen dhe aromën e bukës. Nga veprimi i temperaturës së lartë në furrë, sipërfaqja e brumit formon një cipë të hollë e të thatë, që më vonë shndërrohet në kore. Korja e sapoformuar vjen gjithnjë duke u trashur, forcuar, duke humbur elasticitetin. Ngjyra e bukës gradualisht vjen duke u errësuar. Brumi nën koren e sapoformuar shndërrohet në një shtresë tulli, që bëhet përherë e më e trashë. Kjo shtresë i humbet vetitë plastike e fiton pak elasticitet [30].

Ndryshimet fizike

- Brumi zgjerohet shpejt në minutat e para në furrë. Faktorë përgjegjës për këtë shkak janë se gazrat nxehen dhe rriten në vëllim, uji, CO₂ dhe etanoli avullohen. E gjithë kjo shkakton rritje të presionit të brendshëm të brumit dhe brumi ngrihet me shpejtësi në fazën fillestare të pjekjes. Aktiviteti i majave zvogëlohet ndërsa nxehet brumi dhe majat deaktivizohet në 55°C.

- Formimi i kores: Brumi që është i ekspozuar ndaj temperaturës së furrës zhvillon sipërfaqen dhe formon një kore ndërsa lagështia nga sipërfaqja e brumit avullohet shumë shpejt. Korja siguron forcën e bukës [32].

Ndryshimet kimike

- Aktiviteti i majave: Aktiviteti i majave varet nga temperatura, dhe rritet shumë shpejt pasi brumi të vendoset në furrë por deaktivizohet në 55°C.
- Xhelatinimi i amidonit: Amidoni fillon të xhelatinizohet në 60°C. Brumi përmban ujë për të xhelatinizuar amidonin plotësisht. Ky xhelatinizim i brumit ndihmon në mbajtjen e gazit dhe vendosjen e strukturës së bukës.
- Koagulimi i glutenit: Xhelatinizimi i amidonit shoqërohet me thithjen e ujit ndërsa denaturalizimi i glutenit shoqërohet me heqjen e ujit. Xhelatinizimi vendoset kur temperatura është rreth 74°C, dhe vazhdon deri në fund të pjekjes. Në këtë proces, matrica gluten që rrethon qelizat individuale shndërrohet në një strukturë filmi gjysmë të ngurtë. Kështu, një ndryshim i madh që ndodh gjatë procesit të pjekjes është rishpërndarja e ujit nga faza e glutenit në fazën e amidonit.
- Aktiviteti i enzimës: Veprimi i amilazës në amidon rritet për çdo ngritje të temperaturës për 10°C. Në të njëjtën kohë, fillon edhe inaktivizimi i enzimave për shkak të nxehtësisë lartë. Denatyrimi i β -amilazës bëhet në temperaturë më të ulët (57-71°C) në krahasim me α -amilazën e cila denatyrohet në temperatura që variojnë nga 65-95°C. Aktiviteti i pamjaftueshëm i amilazës mund të kufizojë vëllimin e bukës sepse amidoni ngurtësohet shpejt, ndërsa aktiviteti i tepërt i amilazës mund të shkaktojë shembjen e bukës.
- Reaksioni i skuqjes: Reaksioni i skuqjes fillon në temperaturën rreth 160°C, dhe është rezultat i ngrohjes së sheqernave me proteina ose substancave tjera që përmbajnë azot për të formuar përbërje me ngjyrë, të njohura si melanoidina. Ky reagim gjithashtu i jep ngjyrën dhe aromën bukës [32].

2.7.7 Ftohja

Pas pjekjes dhe para paketimit, buka ftohet për të lehtësuar prerjen dhe për të parandaluar kondensimin e lagështisë në mbështjellës. Preferohet që buka të vendoset në raftet e magazinës për ta lënë të ftohet siç duhet. Temperatura e dëshirueshme e bukës gjatë prerjes është 95-105°F.

2.7.8 Ruajtja

Korja e bukës, në orët e para të ruajtjes së saj e rrit përqindjen e lagështisë nga 0 në 12-15%, si pasojë e lëvizjes së lagështisë nga tulli në sipërfaqe. Kjo e ndryshon koren nga e fortë dhe e thyeshme, në të butë e elastike. Këto ndryshime janë më të theksuara në bukët me kore të hollë e me përqindje të lartë të lagështisë.

Tulli ftohet më ngadalë se korja, andaj 1-3 orët e para të ruajtjes, pjesa qendrore e tij ka temperaturë mbi 50-60°C. Në këtë fazë të ruajtjes në tulin e bukës zhvillohen disa procese që janë të ngjashme me ato të pjekjes. Është provuar se në tulin e bukës së thekrës me temperaturë mbi 60°C në dy orët e para mbas pjekjes, rritet përmbajtja e sheqerit, dekstrinës, sasisë së përgjithshme të karbohidrateve të tretshme, si dhe ngjithshmëria e tullit. Gjatë ruajtjes rritet elasticiteti i tullit, ky i cili e arrin kulmin kur temperatura e tij barazohet me atë të mjedisit rrethues. Gjatë ruajtjes në temperaturë 15-20°C për 10-12 orë buka bëhet bajate. Bajatisja prek disa cilësi organo-leptike të tullit, të kores, në tërësi të bukës siq janë:

- **Tulli-** bëhet më i fortë, shtypet më me vështirësi e thërmohet shumë.
- **Korja-** bëhet e butë, elastike e në raste të veçanta, rudhet.
- **Shija, aroma-** e këndëshme e bukës së porsapjekur zhduken gradualisht. Mendohet se humbja e shijes dhe aromës karakteristike të bukës është pasojë e proceseve oksiduese që ndodhin në mënyrë të ngadalshme.

Ndryshimet që pësojnë gjatë ruajtjes tulli, korja, shija e aroma, kanë rëndësi të veçantë në zgjidhjen e problemit për konservimin e bukës në gjendje të freskët.

Faktorët që ndikojnë në ruajtjen e freskisë së bukës janë: cilësia e miellit, sasia e cilësia e glutenit, zbatimi i regjimit teknologjik të prodhimit, kushtet e ruajtjes etj [30].

Skema teknologjike e prodhimit të bukës është paraqitur në figurën e mëposhtme.

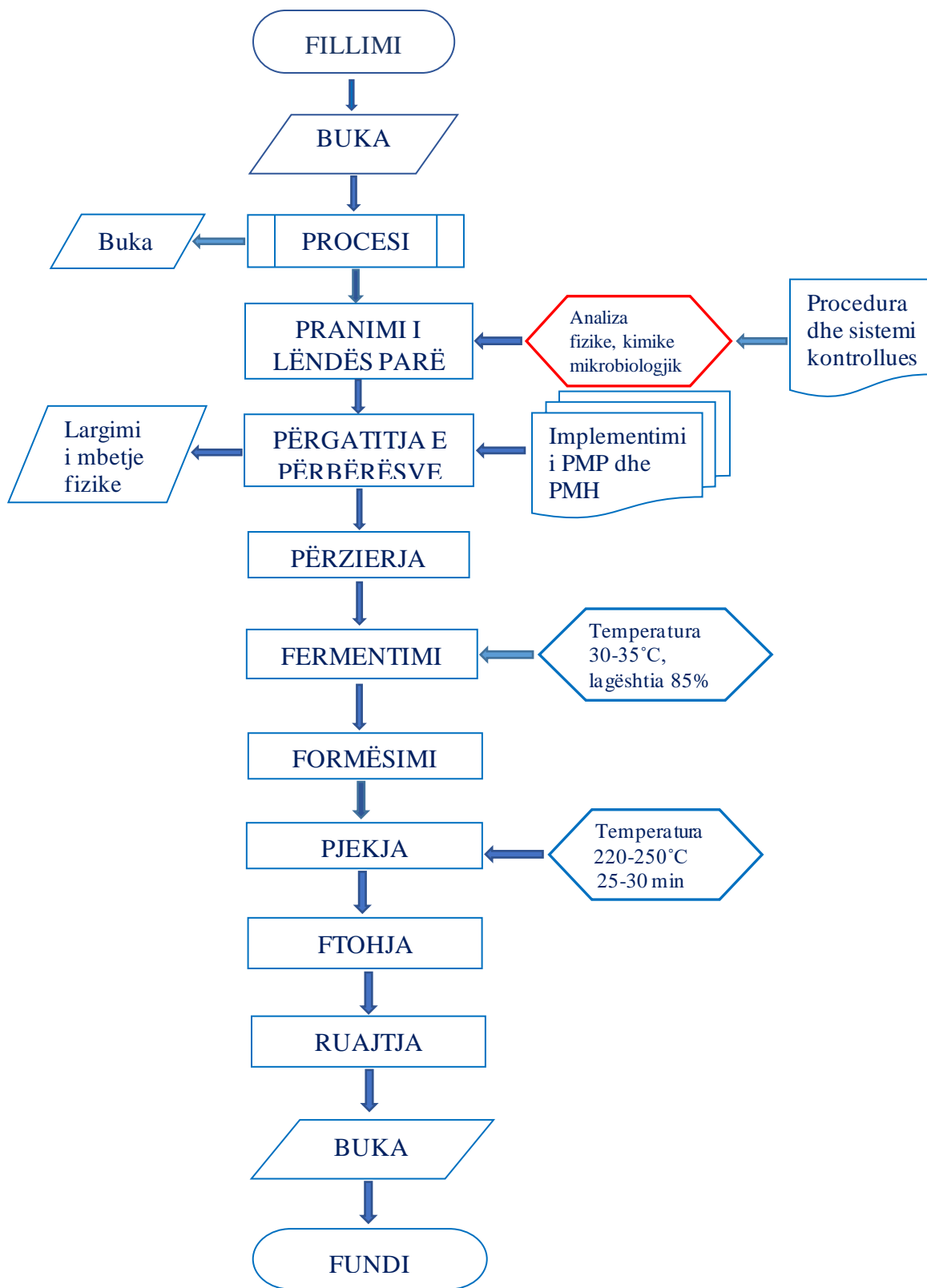


Figura 2.3: Skema teknologjike e prodhimit të bukës.

KAPITULLI III

3. METODOLOGJIA

3.1 Testi i hidrolizës së amidonit

Për realizimin e testit hidrolizës fillimisht kulturat (S10-4, S10-1- *Bacillus spp*) duhet të mbjellën në terrenin ushqyes Nutrient agar me 1% amidon (1.5g Pepton nga mishi; 5g Amidon; 6g Agar; 1000ml ujë i distiluar). Pas mbjelljes pllakat mbyllen me parafilm dhe vendosen në inkubator për 24 orë në 37°C. Pas 24 orëve inkubimi pllakat vështrohen për kolonit e formuara dhe realizohet testi i hidrolizës, ku fillimisht shtrihen pllakat e petrit dhe në secilën pllakë shtohen nga 5ml tretësirë e jodit (3g kristale jodi; 6g jodur kaliumi; 1000ml ujë i distiluar). Në fund vështrohet ngjyrat që kanë formuar pllakat [37]. Zonat ku hidrolizohet amidoni marrin ngjyrë blu të ndritshme, testi i hidrolizës është paraqitur në figurën e mëposhtme.



Figura 3.1: Testi i hidrolizës.

3.2 Përgatitja e inokulimeve për bakteret dhe majat

Merren 5 Falkon tuba të 50ml dhe të to shtohen nga 5ml L-B medium (20g L-B medium; 1000ml ujë I distiluar) dhe 1 koloni *Bacillus spp* e marrë nga pllaka e petrit ku paraprakisht është mbjellë. Falkon tubat mbyllen me parafilm dhe inkubohen për 24 orë në 37°C [38]. Merren 5 Falkon tuba të 50ml dhe të to shtohen nga 5ml YPG medium (10g Ekstrakt maje; 20g Pepton; 10g Glukozë; 1000ml ujë i distiluat) dhe 1 koloni *S. cerevisiae* e marrë nga pllaka e petrit ku paraprakisht është mbjellë. Falkon tubat mbyllen me parafilm dhe inkubohen për 24 orë në 26°C [39]. Përgatitja e inokulimeve është paraqitur në figurën 3.2.

3.3 Fermentimet

3.3.1 Fermentimi i lëngët për bakteret dhe majat

Në 3 Erlermajer të 500ml te sterilizuar paraprakisht vendosen nga 100ml L-B medium dhe 1.7ml inokulum. Erlermajerët përzihen dhe prej tyre merren nga 1ml vendosen në kiveta ku pastaj përcaktohet absorbanca e tyre. Në fund Erlermajerët mbyllen me tapë pambuku dhe dërgohen në përzierës në 37°C për 72 orë. Pas çdo 24 orëve Erlermajerët largohen nga përzierësja vendoseshin në UV kabinë dhe në ta shtoheshin edhe nga 2ml lëng të patateve. Gjatë 24 orëve të para absorbanca përcaktohet pas çdo 3 ore, ndërsa pastaj absorbanca caktohet pas çdo 12 orëve [40, 41]. Realizimi i fermentimit të lëngët për bakteret *Bacillus spp* është paraqitur në figurën 3.3.



Figura 3.2: Përgatitja e inokulimeve.



Figura 3.3: Realizimi i fermentimit të lëngët për baktere.

Në 3 Erlermajerë të 500ml te sterilizuar paraprakisht vendosen nga 100ml YPG medium dhe 2ml nga inokulimi. Ndërsa në 2 Erlermajerët tjerë vendosen nga 100ml YPS medium (10g Ekstrakt maje; 20g Pepton; 10g Saharozë; 1000ml ujë I distiluar) dhe 2ml inokulim. Erlermajerët përzihen, prej tyre merren nga 1ml vendoset në kivet ku pastaj përcaktohet absorbanca. Në fund Erlermajerët mbyllen me tapë pambuku dhe dërgohen në përzierëse në 20°C për 72 orë. Fillimisht absorbanca caktohet pas çdo 6 orëve, pastaj pas çdo 12 orëve [39]. Realizimi i fermentimit të lëngët për majat është paraqitur në figurën 3.4.



Figura 3.4: Realizimi i fermentimit të lëngët për maja.

3.3.2 Fermentimi i ngurtë për bakteret *Bacillus spp*

Për realizimin e fermentimit të ngurtë janë përdoret lëvoret e patates dhe bananes.

Lëvoret e patates janë marr nga kompania e prodhimit të chipsit “Vipa chips”. Këto lëvore janë vendosur mbi një letër filtruese dhe janë futur në furrë për tharje në temperaturë 70°C për 24h.

Lëvoret e bananes janë marr nga markete të ndryshme, janë copëtuar në copëza të imëta, janë vendosur mbi një letër filtruese dhe janë futur në furrë për tharje në temperaturë 40°C për 24h. Pas tharjes lëvoreve i u është përcaktuar lagështia. Realizimi i tharjes së lëvoreve të bananes dhe patates është paraqitur në figurën e mëposhtme [34, 35].

Për realizimin e fermentimit të ngurtë nevojiten 12 Erlermajer të 250ml, të pastruar, dhe tharë paraprakisht:



Figura 3.5: Tharja e lëvoreve të bananeve dhe patateve.

Në 4 Erlenmajer vendosen nga 10g lëvore të patateve të thara + 7.5 ml medium me kripëra (3g ekstrakt maje; 5g Pepton; 20g Glukozë; 15g NaCl; 11g Na₂HPO₄ ° 2H₂O; 6.1g NaH₂PO₄ ° 2H₂O; 3g KCl; 0.1g MgSO₄ ° 7H₂O; 1000ml ujë i distiluat) + 7.5ml lëng të patateve.

Në 4 Erlenmajer të tjerë vendosen nga 10g lëvore të bananeve të thara + 7.5 ml medium me kripëra + 7.5ml lëng të patateve.

Në 4 Erlenmajer të tjerë vendosen nga 5g lëvore të patateve të thara + 5g lëvore të bananeve të thara + 7.5ml medium me kripëra + 7.5ml lëng të patateve. Të gjithë Erlenmajerët mbyllen me tapa pambuku dhe vendosen në autokllave në 121°C për 15 minuta. Pas autokllavimit, në secilin prej tyre shtohet nga 1.5ml inokulum, dhe vendosen në përzierës për 72 orë në 37°C. Pas 24 orëve në çdo Erlenmajerë shtohen nga 2ml lëng të patateve [35]. Në figurën 3.6 është paraqitur përgatitja e mbetjeve industriale për realizimin e fermentimit të ngurtë.

3.3.2.1 Përcaktimi i lagështisë. Lëvoreve të patateve dhe bananeve i u përcaktua lagështia para, pas tharjes dhe pas autokllavimit. Përcaktimi i lagështisë u realizua përmes aparaturës VWR, ku 13gr mostër vendosen në enën përkatëse, presim deri sa aparatura të arrihej temperaturën 106°C, pas arritjes së kësaj temperature fillon matja e lagështisë në mënyrë automatike. Procedura e përcaktimit të lagështisë është paraqitur në figurën 3.7.

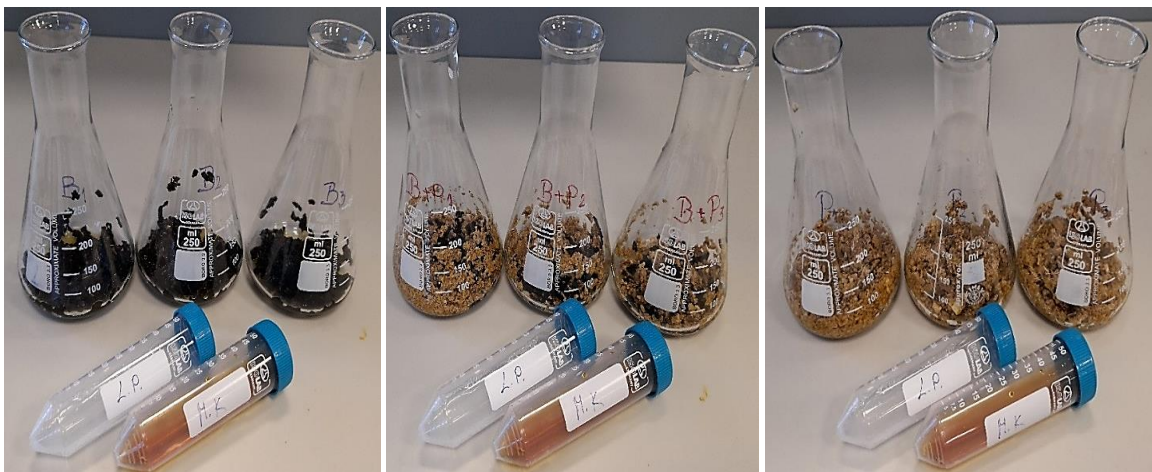


Figura 3.6: Përgatitja e lëvoreve të bananeve dhe patateve.



Figura 3.7: Përcaktimi i lagështisë.

3.3.3 Fermentimi në bioreaktor

3.3.3.1 Përgatitja e mediumit me melasë. Në një enë laboratorike vendosen 40g melasë pluhur dhe 1000ml ujë të distiluat, përzihen përbërësit deri sa të tretet melasa në ujë. Pas tretjes realizohet paratrajtimi me HCl në raport 1:400, dhe ena vendoset në përzierës magnetik për 24 orë. Pas 24 orëve bëhet rregulli i pH së mediumit deri sa të arrihet pH 4.5, pastaj shtohen edhe 1g ekstrakt të majës; 1.5g NH_4Cl ; dhe 0.1g KH_2PO_4 . Mediumi i përgatitur autokllavohet për 15 minuta në 121°C [42]. Ecuria e përgatitjes së mediumit me melasë është paraqitur në figurën 3.8.

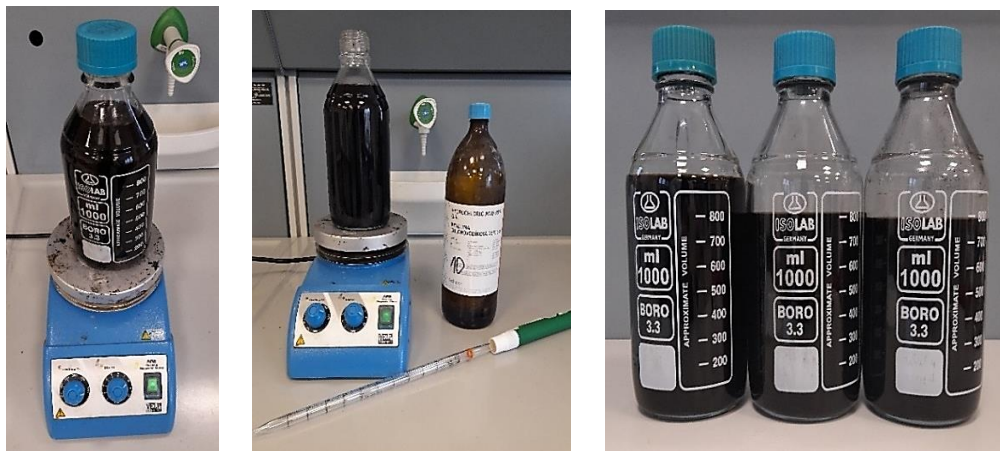


Figura 3.8: Përgatitja e mediumit me melasë.

Tabela 3.1: Paraqitja e parametrave gjatë punës në bioreaktor.

PARAMETRAT	VLERA E ARRITUR	VLERA E CAKTUAR
TEMPERATURA	30°C	30°C
PËRZIERËSI	400min ⁻¹	400min ⁻¹
pH	5.00	5.00
pO ₂	50%	50%
RRJEDHJA TOTALE	3,00 L/min ⁻¹	3,00 L/min ⁻¹
PËRZIERJA E GAZRAVE	21% O ₂	21% O ₂

Përgatitet edhe bioreaktorit, ku fillimisht bëhet pastrimi dhe sterilizimi i tij. Bioreaktori dhe baza (NH₄OH) autokllavohen në UV kabinë, ndërsa acidi (H₃PO₄) dhe agjentin antishkumues (vaji i ullirit) autokllavohen në autokllavë. Pas autokllavimit 3L medium dhe 5% inokulum (majat *S. cerevisia*) shtohen në biorektorë. Pas shtimit të mediumit dhe inokulumit rregullohen edhe parametrat e nevojshëm për fermentim dhe lihet bioreaktori të punoj për 72 orë. Rregullimi i parametrave të bioreaktorit është paraqitur në tabelën 3.1. Kohë pas kohe kontrollohet puna e bioreaktorit si dhe merren mostrat. Në fillim mostrat janë marrë çdo 3 orë dhe është përcaktuar absorbanca në 600nm, pastaj mostrat janë marrë çdo 6 orë dhe në fund çdo 12 orë. Pamje nga bioreaktori janë paraqitur në figurën 3.9.

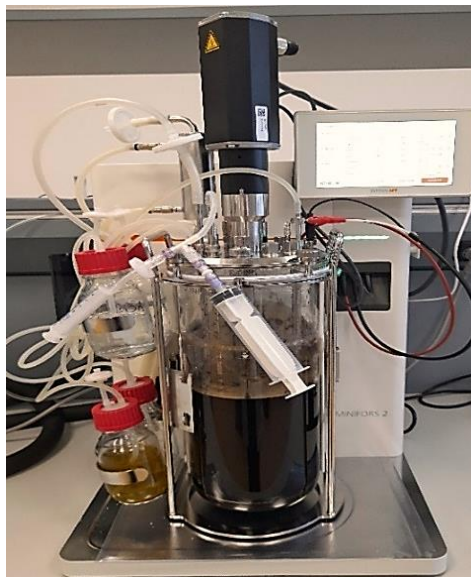


Figura 3.9: Pamje gjatë punës në bioreaktorë.

3.3.3.2 Fermentimi i mediumit me melasë në Erlermajerë. Në 2 Erlermajerë të 500ml shtohen nga 200ml medium dhe 2ml inokulum. Fillimisht nga secili Erlermajer merren nga 1ml mostër, vendosen në kivet ku pastaj përcaktohet absorbanca. Erlermajerët mbyllen me tapë pambuku vendosen në përzierës për 72 orë në 20°C. Kjo procedurë përsëritet vazhdimisht. Mostrat në fillim janë marrë pas çdo 3 orëve, pastaj pas çdo 12 orëve, ku i është përcaktuar absorbanca përmes spektrofotometrit V-630 në 600nm [42].

3.3.3.3 Përcaktimi i absorbancës për fermentimin në bioreaktor. Mostrat e marra nga bioreaktori dhe nga Erlermajerët fillimisht u holluan me ujë të distiluar në raport 1:9 dhe pastaj u matë absorbanca e tyre në 600nm. Nëse absorbanca del e lartë atëherë përsëri realizohen hollime deri sa spektrofotometri të lexoj saktë atë [42]. Realizimi i kësaj procedure është paraqitur në figurën 3.10.

3.4 Përcaktimi i absorbancës

Fillimisht pas çdo 3 orëve, pastaj pas çdo 12 orëve Erlermajerat vendosen në UV kabinën, merren 3ml prej tyre, 2ml përdoren për të nxjerrë supernatantin ndërsa 1ml vendoset në kivet për të përcaktuar absorbanca në 600nm [43]. Absorbanca e mostrave përcaktohet përmes spektrofotometrit V-630 dhe paraqitet në figurën 3.11.



Figura 3.10: Përgatitja e mostrave të marra nga bioreaktori.



Figura 3.11: Përcaktimi i absorbancës.

3.5 Nxjerrja e supernatantit

3.5.1 Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e lëngët

Nxjerrja e supernatantit realizohet kur 2ml nga Elermajerat vendosen në Ependorf tuba të 2 ml, këta të cilët pastaj futen në centrifugë për 15 minuta në 3300rrpm dhe pas centrifugimit vërehet formimi i dy shtresave, shtresa e epërme supernatanti ndërsa shtresa e poshtme qelizat. Supernatanti i nxjerrë pastaj vendoset në një Ependorf tubë të pastër, ky i cili pastaj përdoret për të përcaktuar aktivitetin e enzimës duke përdorur edhe reagjentin DNS. Këtë procedurë e kemi realizuar 0h, 6h, 12h, 24h, 36h, 48h, dhe 72h [41]. Nxjerrja e suprnatantit për fermentimin e lëngët është paraqitur në figurën 3.12.

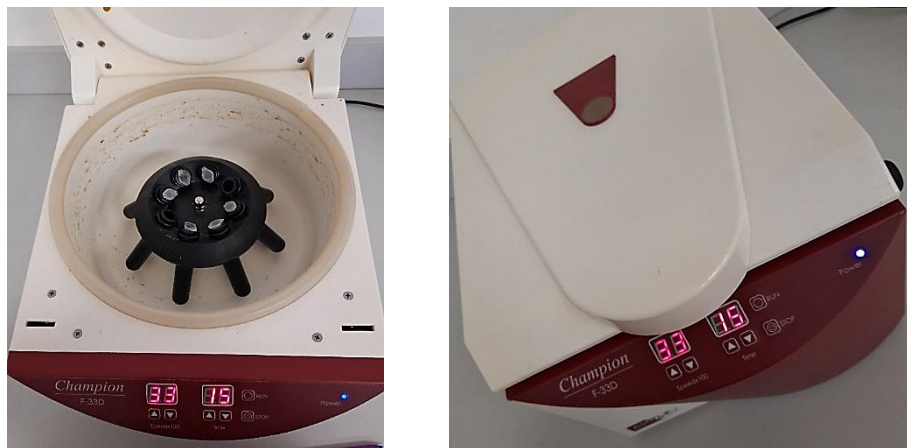


Figura 3.12: Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e lëngët.

3.5.2 Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e ngurtë

Pas çdo 24 orëve 3 Elermajerë largohen nga përzierësi (një që përmbante lëvore të patateve; një që përmbante lëvore të bananeve dhe një që përmbante lëvore të bananeve dhe patateve), në ta shtohen nga 50ml ujë të distiluar. Elermajerët përsëri vendosen në përzierës për 30 minuta, pastaj lëngu i liruar vendoset në 2 ose 3 Faklon tuba të pastër. Falkon tubat centrifugohen në 3300 rpm për 15 minuta. Pas centrifugimit supernatanti i nxjerrë vendoset në Falkon tuba të pastër dhe dërgohet në frigoriferë [34]. Kjo procedurë është paraqitur në figurën 3.13.

3.6 Përcaktimi i aktivitetit enzimës

Pas 0h, 6h, 12h, 24h, 36h, 48h, 72h për fermentimin e lëngët dhe pas 0h, 24h, 48h, 72h për fermentimin e ngurtë merren nga 6 Ependorf tuba dhe në secilin Ependorf tubë shtohet nga 0.8ml tretësirë amidoni dhe 0.2ml nga supernatanti i nxjerrë. Ependorf tubat mbyllen, vendosen në një mbajtëse dhe futen në banje ujore në 45-50°C për 30 min. Pastaj largohen nga banja ujore dhe në secilin tubë shtohen nga 1ml reagjent DNS, vendosen përsëri në banjë ujore por në temperature 100°C për 10minuta. Pas këtij intervali kohor largohen nga banja ujore lihen të ftohen për disa minuta dhe pastaj vendosen në kivet ku përcaktohet absorbancën e tyre në 540nm [44]. Realizimi i kësaj procedure tregohet në figurën 3.14.

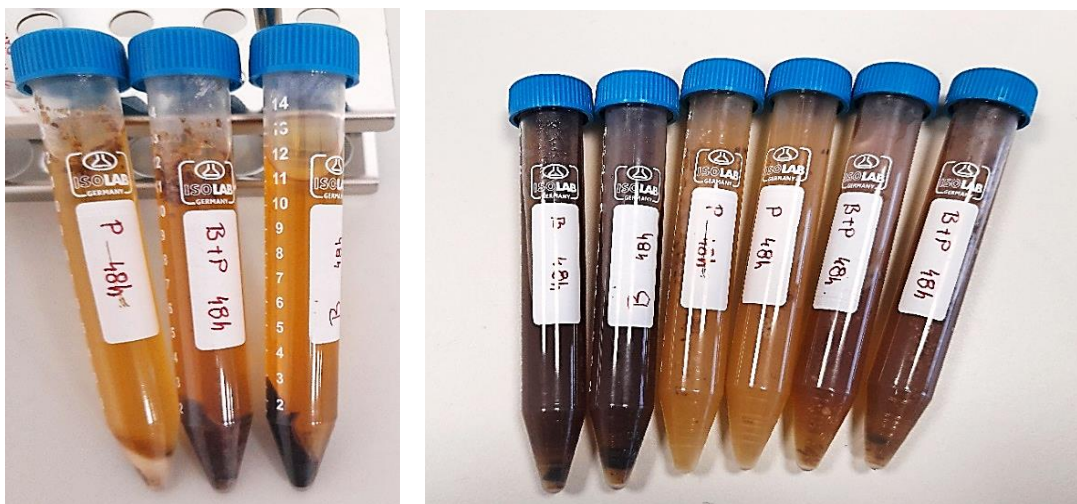


Figura 3.13: Nxjerrja e supernatantit për fermentimin e ngurtë.

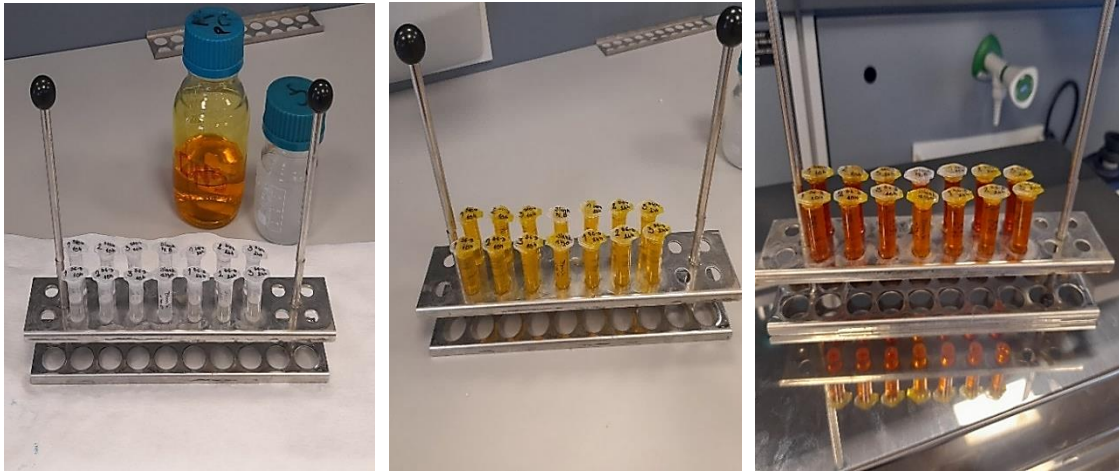


Figura 3.14: Përcaktimi i aktivitetit enzimës.

3.7 Përcaktimi i sheqernave të lira tek majat

Merren 10 Ependorf tuba (për secilin mostër nga dy Ependorf tuba) në secilin Ependorf tubë shtohet nga 0.8ml ujë i distiluar, 0.2ml nga supernatanti (mostrat e majës që janë marrë dhe janë centrifuguar në 0h, 6h, 12h, 24h, 36h, 48h, 72h) dhe nga 1ml reagjent DNS. Ependorf tubat mbyllen, vendosen në mbajtëse metalike dhe futen në banje ujore në temperaturë vlimi për 5 min. Pastaj largohen nga banja ujore lihen të ftohen për disa minuta, vendosen në kivet ku përcaktohet absorbancën e tyre në 540nm me anën e spektrofotometrit [45]. Përcaktimi i sheqernave të lira tregohet në figurën 3.15.

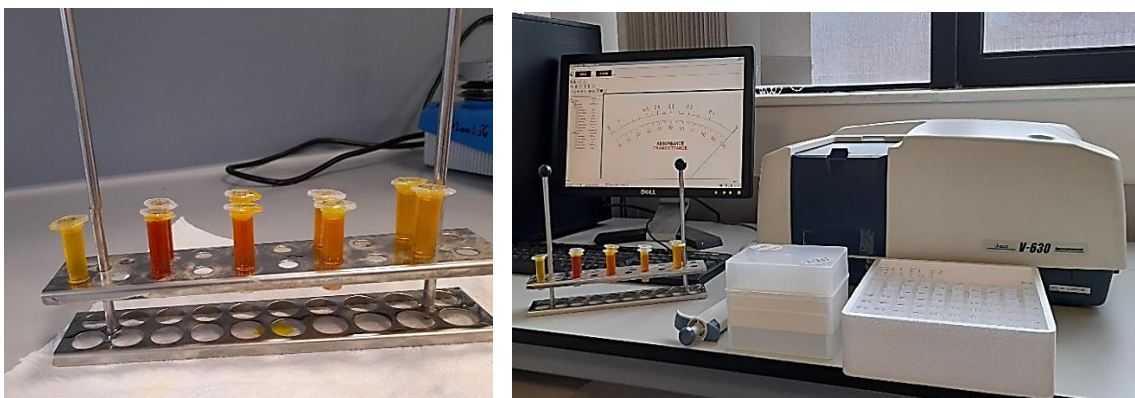


Figura 3.15: Përcaktimi i sheqernave të lira.

3.8 Përcaktimi i peshës së thatë të qelizave:

Fillimisht merren 8 Falkon tuba të 15ml, dhe peshohen përmes peshores analitike. Pastaj përgatiten hollimet e kulturës në këtë mënyrë:

1- 10ml kulturë

½- 5ml kulturë + 5 ml medium

¼- 2.5ml kulturë + 7.5ml medium

1/8- 1.25ml kulturë + 8.75ml medium

Hollimet përzihen mirë dhe përcaktohet absorbanca e tyre në 600nm, nëse absorbanca del e lartë atëherë bëhet hollimi i mostrës. Pas përcaktimit të absorbancës hollime vendosen në Falkon tubat e peshuar paraprakisht dhe dërgohen në centrifugë në 8000 rpm për 15 minuta. Pas këtij intervali kohorë vërehet se janë formuar dy shtresa: shtresa e epërme (supernatanti) dhe shtresa e poshtme qelizat bakteriale. Supernatanti largohet dhe në Falkon tuba shtohen nga 5ml ujë të distiluar, vendosen përsëri në centrifugë. Pas centrifugimit largohet uji dhe falkontubat që përmbajnë qelizat bakteriale vendosen në furrë për tharje për 24-48h në 60°C. Pasi 48h Falkon tubat largohen nga furra dhe përmes peshores analitike peshohen dhe përcaktohet pesha e thatë e qelizave [43]. Përcaktimi i peshës së thatë të qelizave është paraqitur në figurën 3.16.

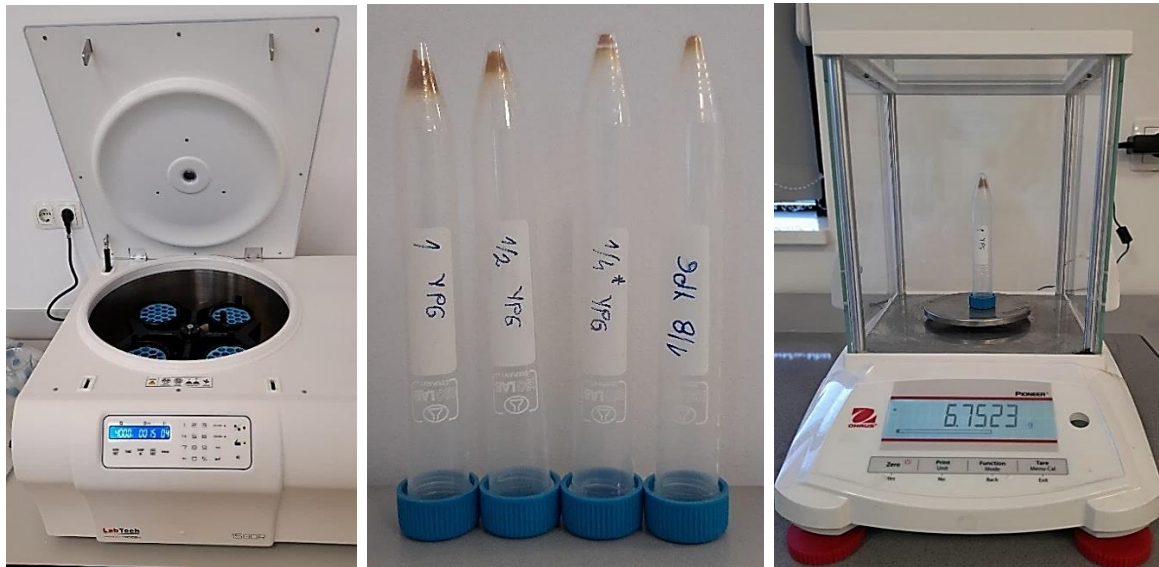


Figura 3.16: Përcaktimi i peshës së thatë të qelizave.

3.9 Përcaktimi i reduktimit të sheqernave

Përcaktimi i reduktimit të sheqernave është realizuar duke përdorur metodën me DNS. Mostrat e marra nga bioreaktori në 0h, 12h, 24h, 30h, 36h, 48h, 72h, fillimisht janë centrifuguar dhe është nxjerr supernatanti, pastaj merren 14 Ependorf tuba të 2ml dhe në ta vendosen nga 0.8ml ujë të distilua, 0.2ml nga supernatanti dhe 1ml reagjent DNS. Ependorf tubat mbyllen dhe futen në banje ujore në temperaturë vlmi për 5 min. Pastaj ftohen në temperaturë dhome dhe vendosen në kivet ku përcaktohet absorbancën [50].

3.10 Jodoform Testi

Mostrat e marra nga biorektori pas 0h, 12h, 24h, 30h, 36h, 48h, 72h, fillimisht filtrohen dhe filtrati i nxjerrë vendoset në enë të pastër. Për secilën mostër merret nga një epruvetë dhe në të vendoset 3ml filtrat, 5ml tretësirë e jodur kaliumit dhe disa pika NaOH. Ky test realizohet për të vërtetuar nëse është prodhuar etanol apo jo. Epruvetat vendosen për disa sekonda në ujë të ngrohtë dhe nëse vërehet se në pjesën e poshtme po formohen disa droçka atëherë kjo dëshmon që ka prodhim të etanolit, ndërsa nëse lëngu mbetet i kthjellët atëherë nuk ka ndodhur prodhim i etanolit [51]. Realizimi i këtij testi është treguar në figurën 3.17.

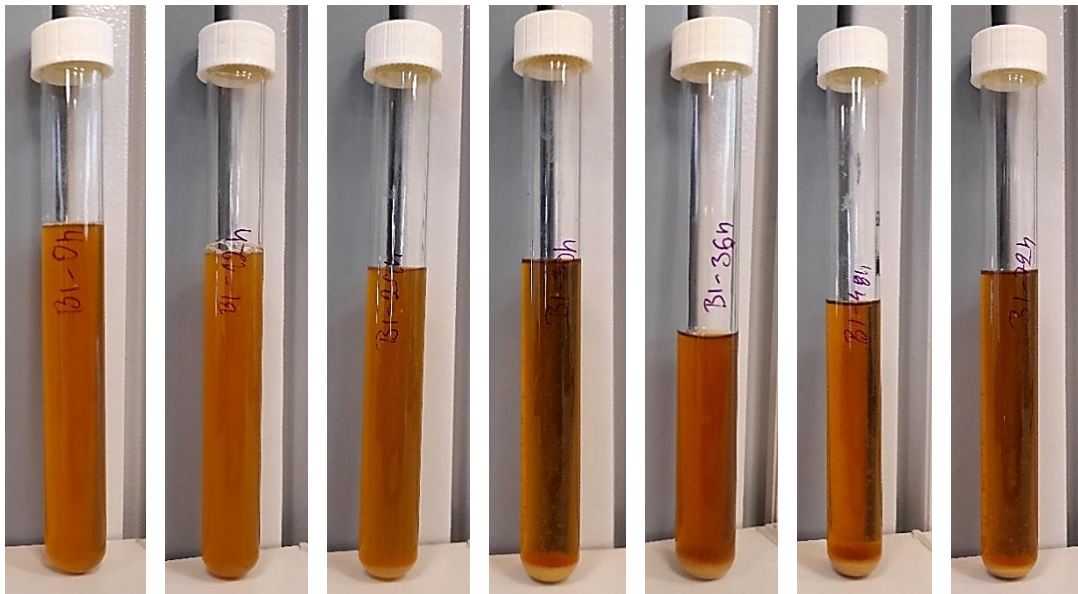


Figura 3.17: Realizimi i jodoform testit.

3.11 Përgatitja e bukës duke përdorur majën e kultivuar

Fillimisht sigurohen ingredientët e nevojshëm si: mielli, kripa, maja, enzima, dhe uji.

Për përgatitjen e bukës është përdorur maja komerciale dhe majat e kultivuar në laborator. Majat laboratorike janë kultivuar në dy medime në YPG dhe YPS, po ashtu pas 24h, 48h, 72h nga Erlermajerët ku kultivoheshin majat janë marr nga 15ml dhe janë vendosur në Falkon tubë. Falkon tubat centrifugohen për 15 minuta në 8000rpm dhe pas largimit të supernatantit merren qelizat e majave dhe përdoren për përgatitjen e bukës.

Paraprakisht peshohen 1g majë; 1g kripë; 60ml ujë i ngrohtë; 4.5ml enzimë; 100g miell. Pas peshimit të ingredientëve në një enë laboratorike shtohet mielli, maja (maja komerciale ose maja e kultivuar në laborator), kripa, enzima, uji dhe bëhet përzierja deri sa të formohet brumi. Brumi I fituar vendoset në menzurë laboratorike 250ml që të vëzhgohet fermentimi i saj pas 2h dhe pas 18h. Fermentimi i bukës pas 2 orëve është paraqitur në figurën 3.18, ndërsa fermentimi pas 18 orëve është paraqitur në figurën 3.19.

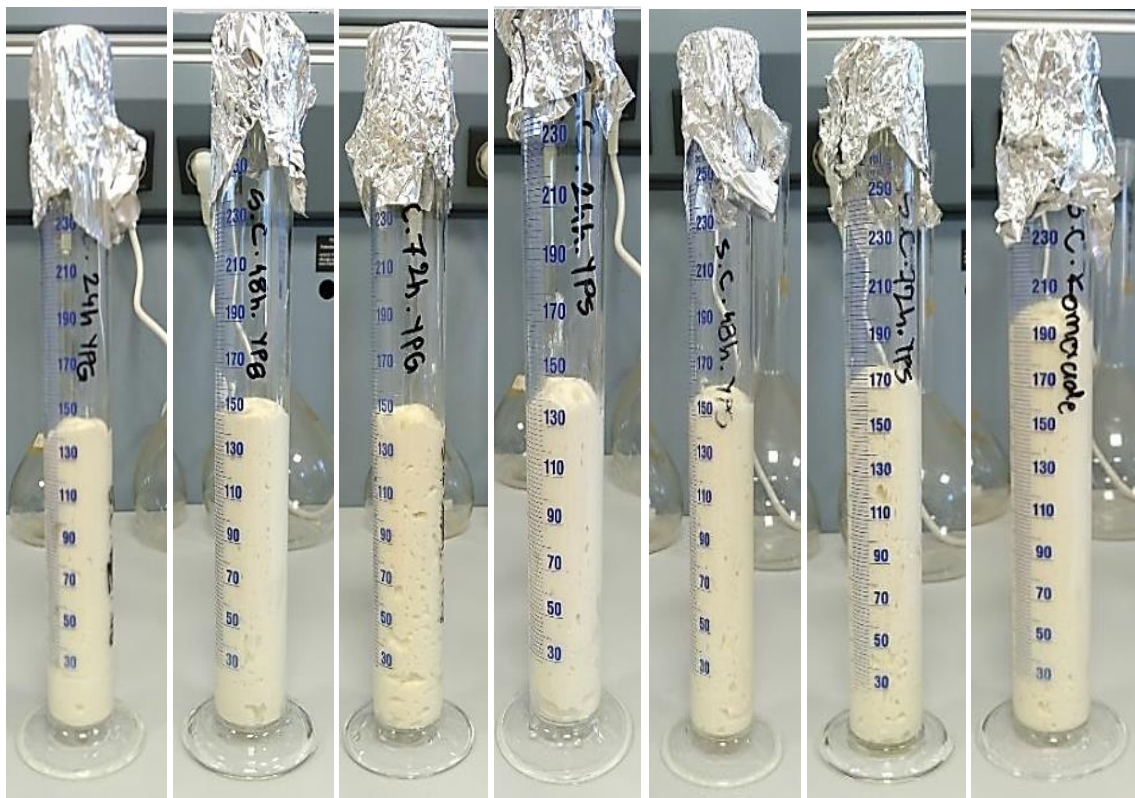


Figura 3.18: Fermentimi i bukës pas 2 orëve.



Figura 3.19: Fermentimi i bukës pas 18 orëve.

Brumi lihet që të fermentohet për 18h. Pas 18h bëhet formimi i bukës dhe pjekja në 170°C për 20minuta. Përgatitja dhe pjekja e bukës është paraqitur në figurën e mëposhtme.

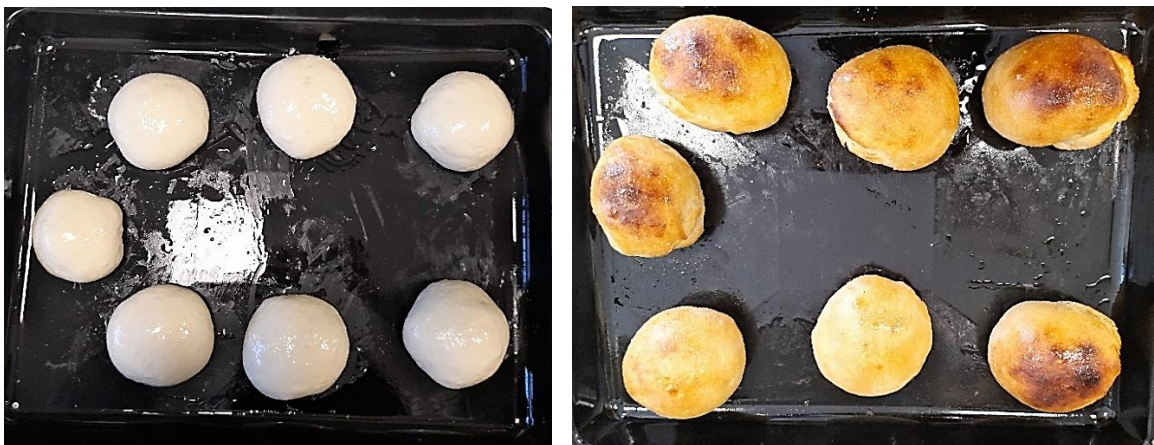


Figura 3.20: Përgatitja dhe pjekja e bukës.

3.12 Përgatitja e bukës duke përdorur majën me melasë

Pas 72 orëve fermentim në bioreaktor merren dy Ependorf tuba të 50ml, dhe në ta shtohen nga 50ml qeliza të majave së bashku me medium. Njëri Ependorf tubë ruhet si i tillë në frigorifer ku pastaj përdoret për përgatitjen e bukës, ndërsa Ependorf tubi tjetër centrifugohet, largohet supernatanti dhe vetëm qelizat e majave përdoren për përgatitjen e bukës.

Pasi të sigurohen dhe peshohen ingredientët si mielli, maja, kripa, dhe uji, në një enë laboratorike shtohen përbërësit dhe bëhet përzierja e tyre deri sa të formohet brumi. Brumi i fituar vendoset në menzurë laboratorike 250ml që të vëzhgohet fermentimi i saj pas 2h dhe pas 18h. Ecuria e përgatitjes së bukës duke përdorur majën së bashku me mediumin e melasës është paraqitur në figurën 3.21, ndërsa përgatitja e bukës duke përdorur vetëm qelizat majave të kultivuara në mediumin me melasë është paraqitur në figurën 3.22.



Figura 3.21: Përgatitja e bukës duke përdorur majën me melasë.

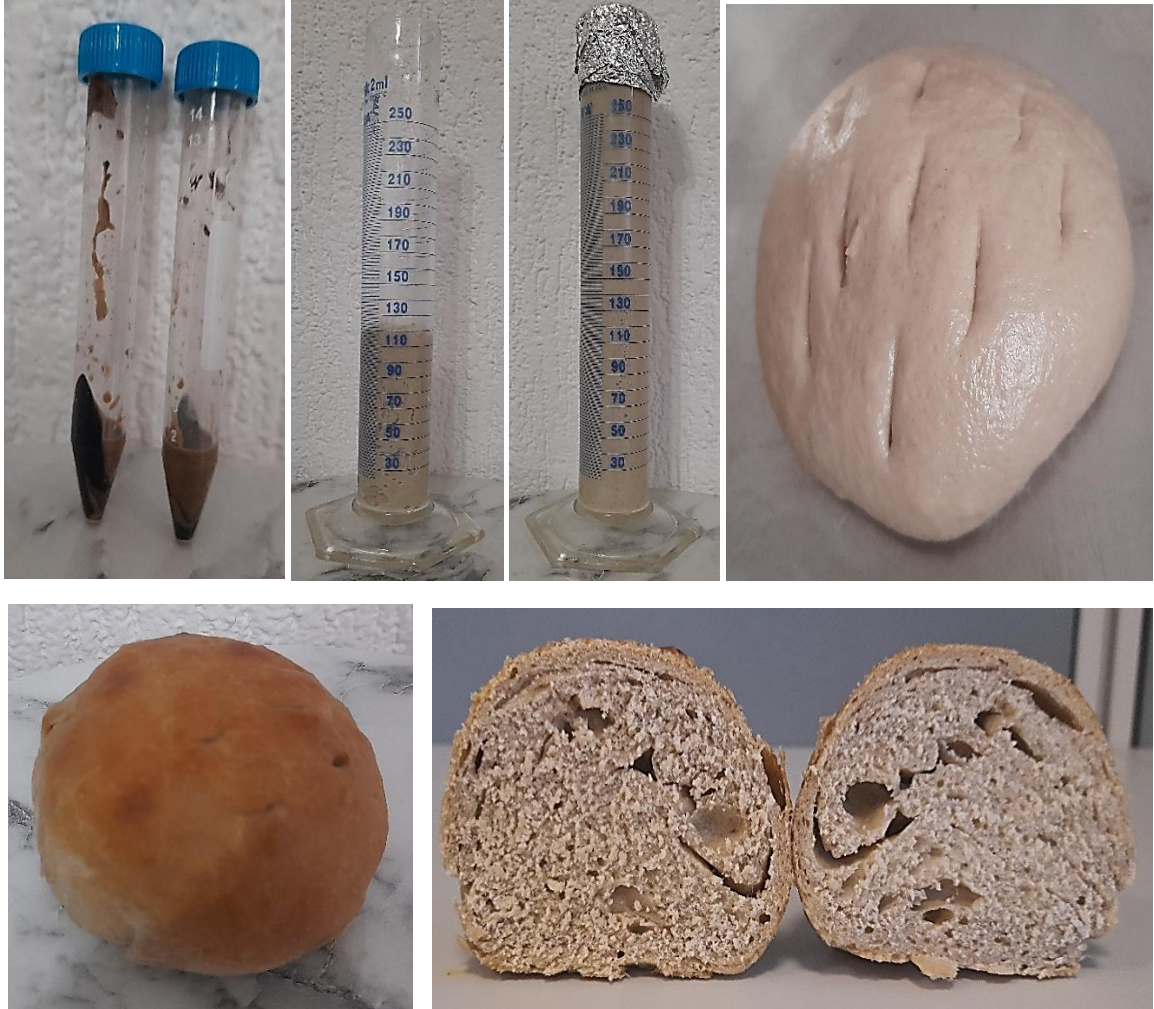


Figura 3.22: Përgatitja e bukës duke përdorur vetëm qelizat e majave.

3.13 Përcaktimi i peshës së bukës pas pjekjes

Pasi që buka të pjekët matet pesha e saj, përcaktohen karakteristikat organo-leptike dhe në fund realizohen testet që përcaktojnë cilësinë e saj. Peshimi i bukëve të pjekura është treguar në figurën e mëposhtme.

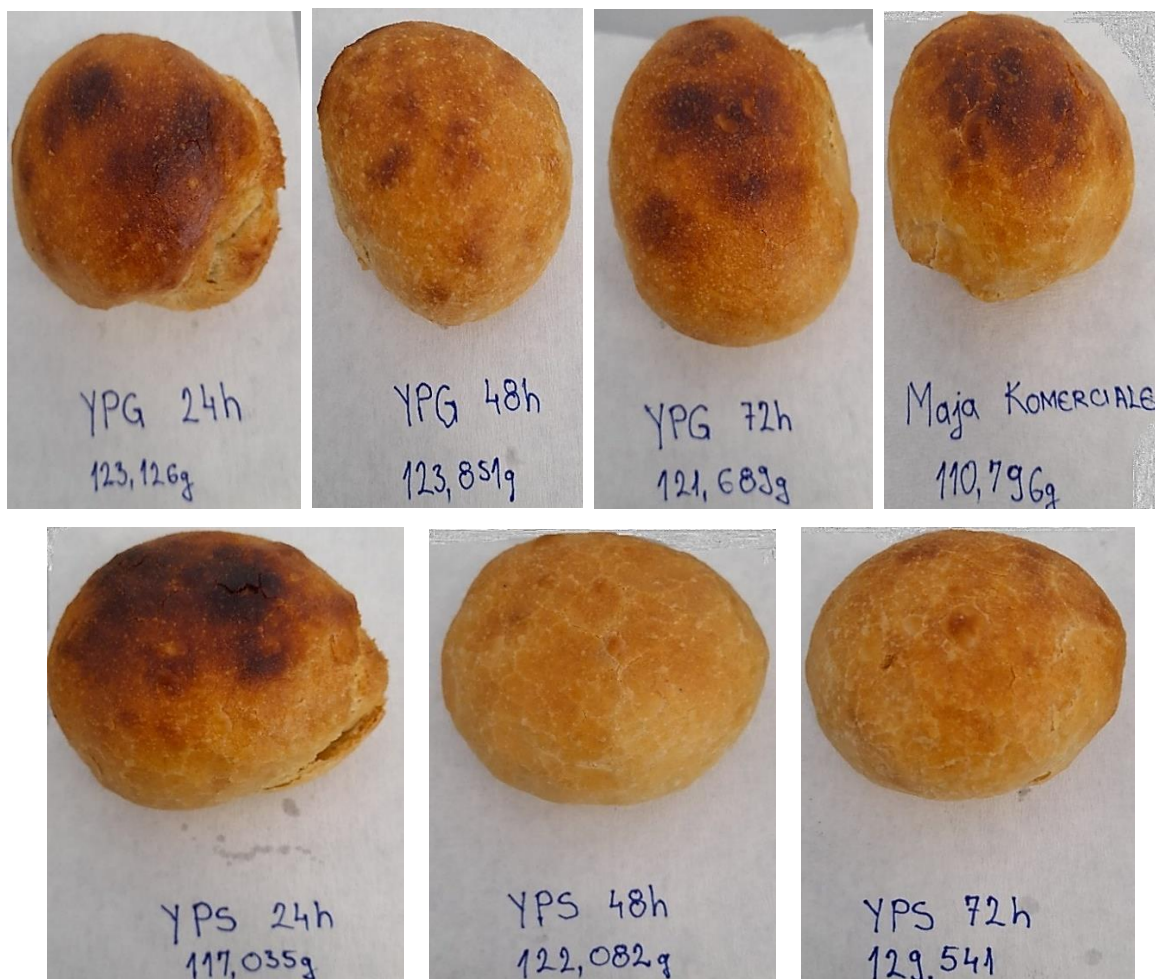


Figura 3.23: Pamja e bukës pas pjekjes.

3.14 Përcaktimi i porozitetit të bukës

Nga mesi i bukës pritet një fetë buke me trashësi 5cm. Prej saj me kujdes priten një copë tuli në formë kubike me përmasa 3cm, me vëllim 27cm^3 . Pastaj në një cilindër me vëllim 50ml shtohen 30 ml vaj ose vajgur. Brenda cilindrit vendoset copa e tulit, në formë sferë e ngjeshur si top, duke shkatërruar strukturën poroze. Procedura e këtillë është treguar në figurën 3.23. Duke matur rritjen e vëllimit të lëngut në enë gjendet vëllimi që zënë masa e mostrave të tulit [47]. Në këtë raste poroziteti mund të përcaktohet me anë të barazimit:

$$X = \frac{27 - (b - a)}{27} \cdot 100 \quad (3,1)$$

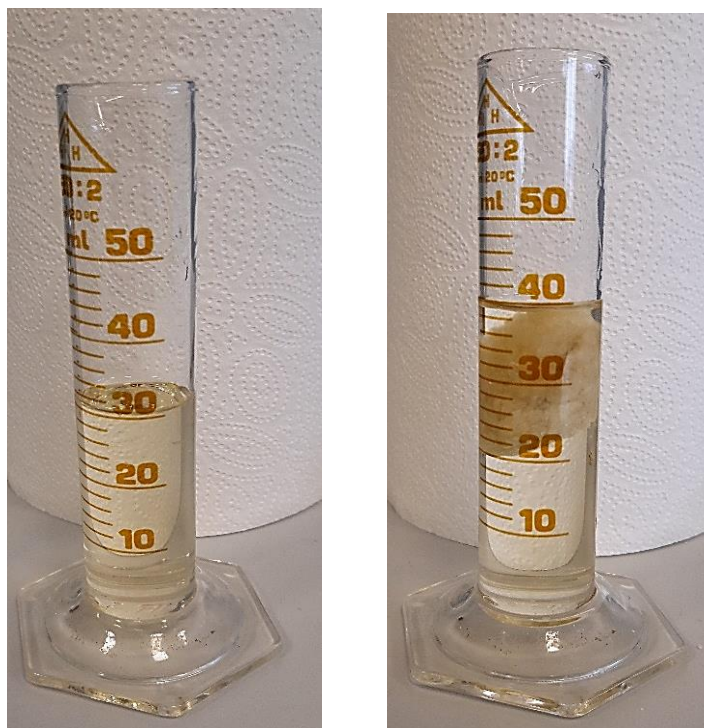


Figura 3.24: Përcaktimi i porozitetit të bukës.

3.15. Përcaktimi i vëllimit të bukës

Vëllimi i bukës u përcaktua duke përdorur metodën e zhvendosjes së farave të vogla. Një enë laboratorike është përdorur për të matur vëllimin duke përdorur fara liri. Farat e lirit u vendosën në enën laboratorike me vëllim të njohur derisa të mbulohej fundi. Maten 30gr bukë përmes peshores analitike. Buka vendoset brenda enës dhe sipër saj shtohen farat e lirit deri sa të arrihet vëllimi i dëshiruar. Farat e lirit shtesë, të cilat barazojnë vëllimin e bukës, u matën përmes një cilindri të graduar [48]. Përcaktimi i vëllimit të bukës është paraqitur në figurën 3.24. Vëllimi specifik i bukës u llogarit duke përdorur barazimin e mëposhtëm:

$$\text{Vëllimi specifik (cm}^3\text{/g)} = \frac{\text{vëllimi i bukës}}{\text{pesha e bukës}} \quad (3,2)$$



Figura 3.25: Përcaktimi i vëllimit specifik të bukës.

3.16 Rezultatet e arritura nga puna eksperimentale

3.16.1 Rezultatet nga përcaktimi i lagështisë

Rezultatet nga përcaktimin i lagështisë së lëvoreve të bananeve dhe patateve para tharjes, pas tharjes si dhe pas autoklavimit janë paraqitur në tabelën 3.2.

3.16.2 Rezultatet e rritjes baktereve *Bacillus spp*

Rezultatet e kurbës së rritjes së *Bacillus spp* në L-B medium janë paraqitur grafikisht në figurën 3.25.

Tabela 3.2: Lagështia e lëvoreve të bananes dhe patateve.

KOHA	LAGËSHTIA %	
	Lagështia e lëvoreve të bananes	Lagështia e lëvoreve të patateve
Para tharjes	mbi 100	mbi 70
Pas tharjes	6,56	5,41
Pas autoklavimit	64	52,64

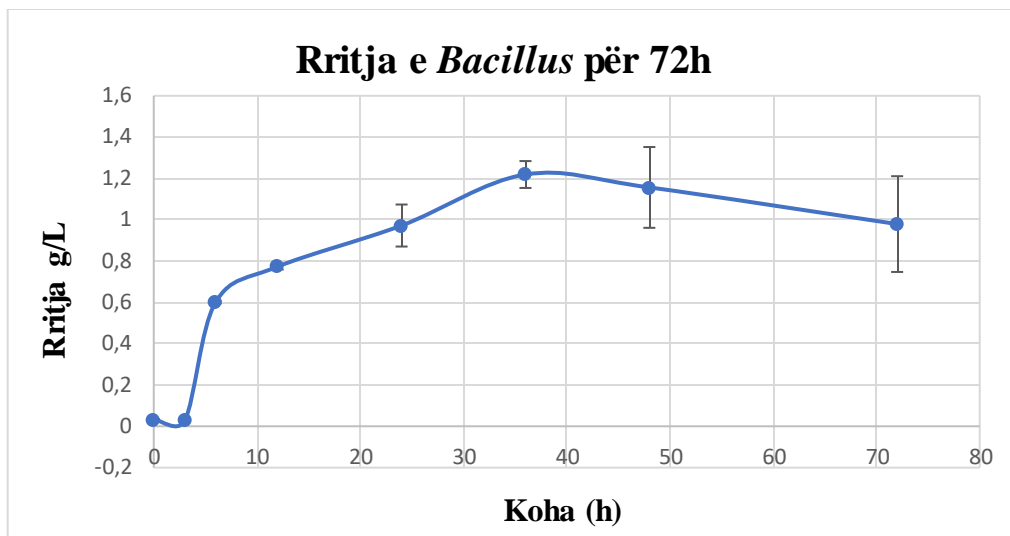


Figura 3.26: Paraqitja grafike e rritjes së bakteve *Bacillus spp.*

3.16.3 Rezultatet e aktiviteti enzimatik

Në figurën 3.26 janë paraqitur grafikisht rezultatet e aktivitetit enzimatikë gjatë fermentimit të lëngët ku për prodhimin e enzimës α -amilazë janë përdorur bakteret *Bacillus spp.* Ndërsa në figurën 3.27 janë paraqitur grafikisht rezultatet e aktivitetit enzimatik gjatë fermentimit të ngurtë ku si substrat janë përdorur mbetjet industriale.

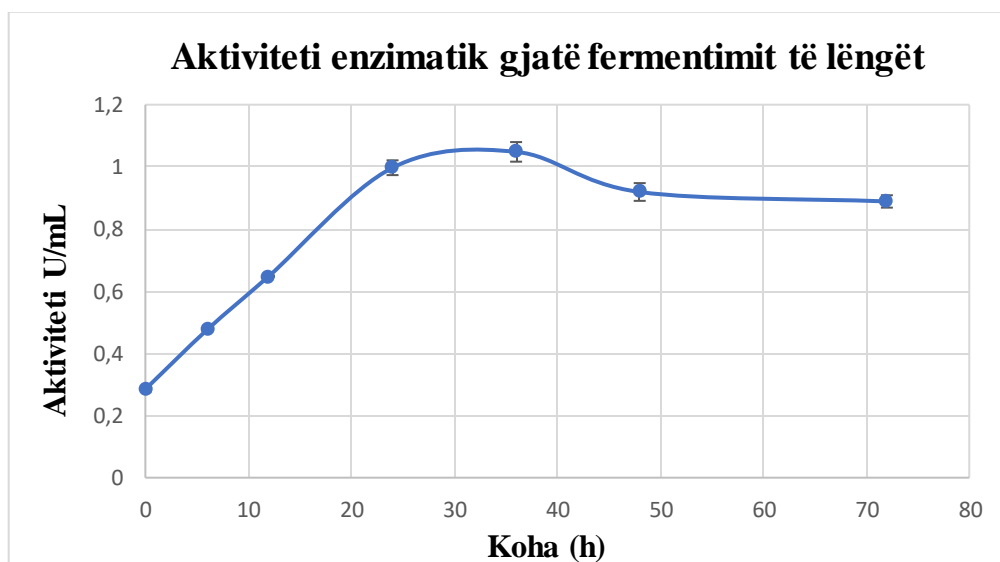


Figura 3.27: Grafiku i aktivitetit enzimatik gjatë fermentimit të lëngët.

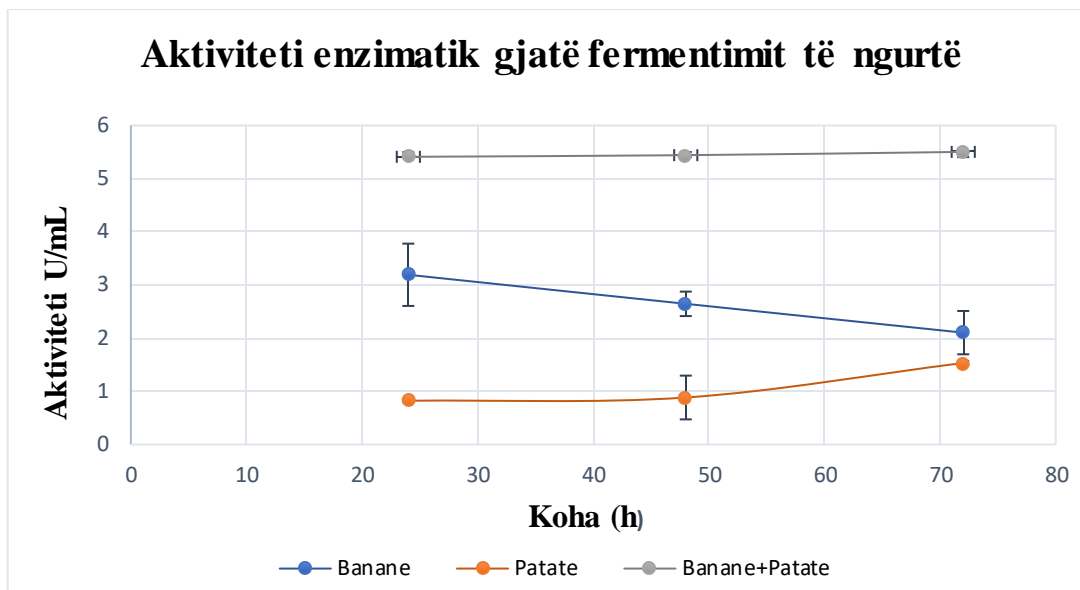


Figura 3.28: Grafiku i aktivitetit enzimatik gjatë fermentimit të ngurtë.

3.16.4 Rezultatet e rritjes majave *Saccharomyces cerevisiae*

Rezultatet e kurbës së rritjes së majave *S. cerevisia* në YPG medium si dhe reduktimi i sheqernave për 72 orë, janë paraqitur grafikisht në figurën 3.28. Ndërsa rezultatet e kurbës së rritjes së majave *S. cerevisia* në YPS medium për 72 orë janë paraqitur grafikisht në figurën 3.29.

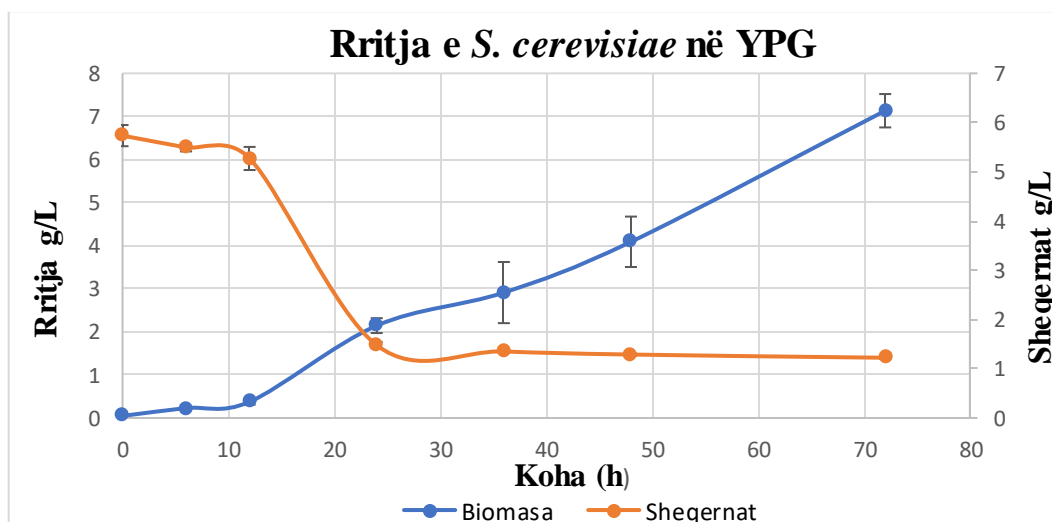


Figura 3.29: Paraqitja grafike e rritjes së majave në YPG medium.

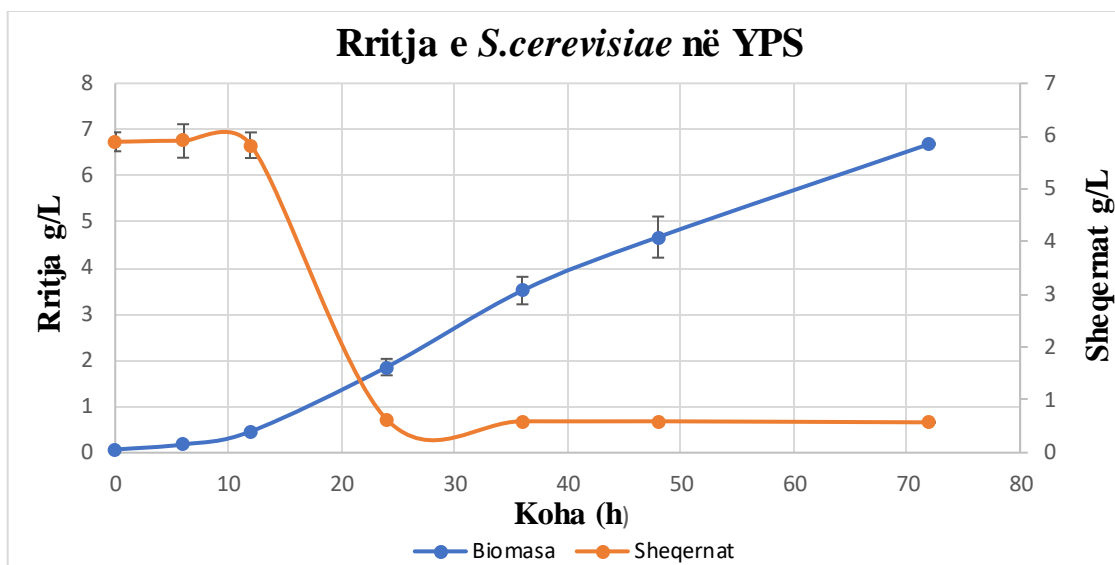


Figura 3.30: Paraqitja grafike e rritjes së majave në YPS medium.

3.16.5 Rezultatet e rritjes së majave në mediumin me melasë

Rezultatet e rritjes së majës *S. cerevisiae* në bioreaktorë, në Erlermajerë si dhe reduktimi i sheqernave për 72 orë në mediumin me melasë janë paraqitur në figurën 3.30.

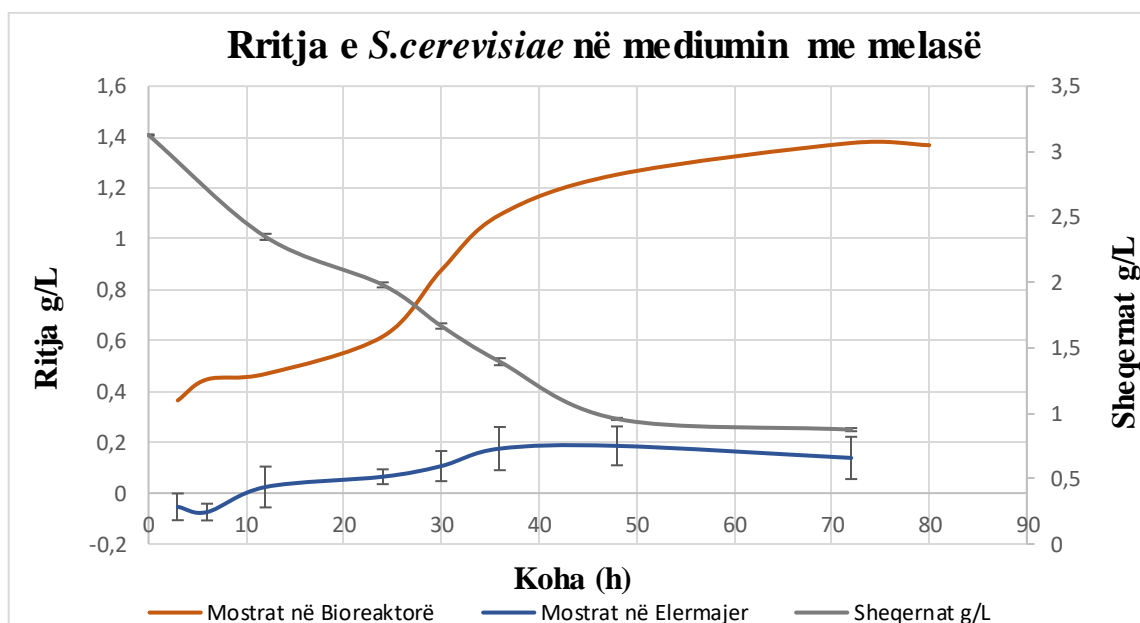


Figura 3.31: Grafiku i rritjes së majave në mediumin me melasë.

3.16.6 Rezultatet e peshimit të bukës së përgatitur

Buka pas pjekjes është peshuar përmes peshores analitike dhe rezultatet e fituara janë paraqitur në tabelën 3.3.

Tabela 3.3: Pesha e bukëve të prodhuara.

BUKA E PRODHUAR DUKE PËRDORUR:	PESHA (g)		
	Pesha para pjekjes	Pesha pas pjekjes	Humbjet gjatë pjekjes
Majën e rritur në YPG medium për 24 orë	164,5 ±2	123,126	41,374 ±2
Majën e rritur në YPG medium për 48 orë	164,5 ±2	123,851	40,649 ±2
Majën e rritur në YPG medium për 72 orë	164,5 ±2	121,689	42,811 ±2
Majën e rritur në YPS medium për 24 orë	164,5 ±2	117,035	47,465 ±2
Majën e rritur në YPS medium për 48 orë	164,5 ±2	122,082	42,418 ±2
Majën e rritur në YPS medium për 72 orë	164,5 ±2	129,541	34,959 ±2
Majën komerciale	164,5 ±2	110,796	53,704 ±2
Majën + medium me melasë	151 ±2	113,072	37.928 ±2
Qelizat e majës të kultivuara në mediumin me melasë	154 ±2	112,523	41,477 ±2

3.16.7 Rezultatet e karakteristikave organo-leptik të bukës

Në tabelën 3.4 janë paraqitur karakteristikat organo-leprike të bukës së përgatitu.

Tabela 3.4: Karakteristikave organo-leptike të bukës.

BUKA E PRODHUAR DUKE PËRDORUR:	KARAKTERISTIKAT ORGANO-LEPTIKE				
	Ngjyra	Aroma	Pamja	Konsistenca	Madhësia poreve
Majën e rritur në YPG medium për 24 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të imëta
Majën e rritur në YPG medium për 48 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të mëdha
Majën e rritur në YPG medium për 72 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të imëta
Majën e rritur në YPS medium për 24 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	Gjysmë e fortë	Pore të imëta
Majën e rritur në YPS medium për 48 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të imëta
Majën e rritur në YPS medium për 72 orë	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të imëta
Majën komerciale	Mjalti	E këndshme	E rregullt	E butë	Pore të imëta
Majën+ medium me melasë	Kafe e mbyllur	E këndshme	E rregullt	E fortë	Pore të mëdha
Qelizat e majës të kultivuara në mediumin me melasë	Kafe e zbehtë	E këndshme	E rregullt	Gjysmë e fortë	Pore të mëdha

3.16.8 Rezultatet e porozitetit dhe vëllimit specifik të bukës

Rezultatet e fituara pas përcaktimit të porozitetit të bukës janë paraqitur në tabelën 3.5.

Ndërsa rezultatet e fituara pas përcaktimit të vëllimit të bukës janë paraqitur në tabelën 3.6.

Tabela 3.5: Përcaktimi i porozitetit të bukës.

BUKA E PRODHUAR DUKE PËRDORUR:	POROZITETI %
Majën e rritur në YPG medium për 24 orë	66,67
Majën e rritur në YPG medium për 48 orë	59,25
Majën e rritur në YPG medium për 72 orë	70,37
Majën e rritur në YPS medium për 24 orë	62,96
Majën e rritur në YPS medium për 48 orë	59,25
Majën e rritur në YPS medium për 24 orë	66,67
Majën komerciale	62,96
Majën + medium me melasë	62,96
Qelizat e majës të kultivuara në mediumin me melasë	59,25

Tabela 3.6: Përcaktimi i vëllimit të bukës.

BUKA E PRODHUAR DUKE PËRDORUR:	VËLLIMI mL/g
Majën e rritur në YPG medium për 24 orë	2,36667
Majën e rritur në YPG medium për 48 orë	2,36667
Majën e rritur në YPG medium për 72 orë	2,06667
Majën e rritur në YPS medium për 24 orë	2,36667
Majën e rritur në YPS medium për 48 orë	2,06667
Majën e rritur në YPS medium për 72 orë	2,06667
Majën komerciale	2,06667
Majën + medium me melasë	2.1
Qelizat e majës të kultivuara në mediumin me melasë	2.13333

KAPITULLI IV

4 DISKUTIMI I REZULTATEVE

Gjatë punës laboratorike të zhvilluar në kuadër të këtij hulumtimi është realizuar dhe analizuar prodhimi i enzimës alfa amilazë duke përdorur bakteret *Bacillus spp*, si dhe kultivimi i majës *S. cerevisiae* në tri lloje të medimeve. Pas prodhimit të enzimës si dhe pas kultivimit të majës është bërë aplikimi i tyre në procesin e përgatitjes së bukës, ku krejt në fund bukës së prodhuar iu përcaktua cilësia përmes disa testeve të thjeshta.

Nëse analizohet Figura 3.1 ku pas mbjelljes së kulturave bakteriale në terrenin ushqyes Nutrient agar me 1% amidon dhe pas shtimit të tretësirës së jodit, vërehet se bakteret S10-1, S10-4 që i përkasin baktereve të gjinisë *Bacillus spp* më së tepërmi kanë hidrolizuar amidonin e pranishëm në terrenin ushqyes dhe kanë shfaqur zona blu të ndritshme. Paraqitja e këtyre zonave tregon se bakteret kanë konsumuar amidonin si dhe kanë bërë zbërthimin e tij në përbërës më të thjesht. Në këtë mënyrë është bërë selektimi i mikroorganizmave dhe mikroorganizmat e selektuar pastaj janë përdorur për proceset fermentuese.

Nëse shikohen rezultatet e paraqitura në Tabelën 3.2 atëherë vërehet se përqindje më të lartë të lagështisë përmbajnë lëvoret e bananes në krahasim me lëvoret e patates. Para tharjes përmbajtja e lagështisë për lëvoret e bananes ishte mbi 100%, dhe përmes procesit tharjes lagështia u zvogëlua deri në 6.56%, pastaj lagështia arriti vlerën 64% pas autoklavimit. Ndërsa përmbajtja e lagështisë për lëvoret e patates para tharjes ishte mbi 70%, me tharje lagështia u zvogëlua deri në 5.41%, dhe pas autoklavimit lagështia arriti vlerën 52.64%.

Në Figurën 3.25 paraqitet grafikisht kurba e rritjes së baktereve *Bacillus spp*. Rritja e këtyre baktereve u realizua përmes fermentimit të lëngët, ku erlermajerët e mbushur me L-B

medium dhe inokulum u vendosën në përzierës, në temperaturë 37°C për 72 orë. Nëse analizohet kjo kurbë atëherë vërehet se bakteret janë ambientuar shumë shpejt kushteve të ofruara dhe si pasoj shfaqin një fazë të shkurtër lag, dhe ritëm të shpejtë të rritjes gjatë fazës eksponenciale. Rritja bakteriale ka filluar pas 3 orëve fermentim, interval kohorë ky i cili tregon që bakteret kanë përfunduar fazën lag dhe kanë filluar fazën eksponenciale të rritjes. Ndërsa prodhimi maksimal i biomasës (1,2189 g/L) është arritur pas 36 orëve fermentim. Nëse rezultate e paraqitura në figurën 3.25 krahasohen me rezultatet e (Nataša et-al) atëherë vërehet se në rastin tonë bakteret kanë treguar një rritje më të vogël. Arsyeja e rritjes më të vogël mund të jetë mos optimizimi i mediumit paraprakisht si dhe mos përdorimi i burimeve shtesë të karbonit dhe azotit gjatë fermentimit, pasi dihet se burimet e këtyra janë esenciale për rritjen dhe fermentimin mikrobial [33].

Në Figurën 3.26 është paraqitur grafikisht aktiviteti enzimatik gjatë fermentimit të lëngët. Fermentimi i lëngët është realizuar duke përdorur L-B mediumin dhe bakteret *Bacillus spp* si inokulum. Fermentimi është realizuar dhe analizuar për 72 orë, në temperaturë 37°C, ku pas çdo 24 orëve në medium u shtua edhe një sasi e lëngut të patateve, ky i cili mendohet se inicion rritjen bakteriale dhe nxitjen e prodhimit të enzimës alfa amilazë. Nëse analizohen rezultatet e paraqitura në figurën 3.26 vërehet se aktiviteti maksimal enzimatik është arritur pas 36 orëve fermentim, dhe vlera e aktivitetit në këtë interval kohorë është 1.05U/mL. Po ashtu vërehet se me vazhdimin e fermentimit vlera e aktivitetit fillon të zvogëlohet gradualisht, ku përgjatë orës 72 aktiviteti arrin vlerën 0.88U/mL. Arsyeje e kësaj rënie mund të jetë prodhimi njëkohësisht edhe i enzimave tjera gjë që ndikon në uljen e aktivitetit të amilazës. Nëse rezultatet tona krahasohen me rezultatet e (Nataša et-al) atëherë vërehet se në rastin tonë bakteret kanë treguar një aktivitet më të ulët enzimatik. Shkaku i këtij aktiviteti më të ulët mund të jetë mos prezenca e burimeve të azotit në medium, pasi ne kemi shtuar lëngun e patateve për të plotësuar mungesën e burimeve të karbonit por në këtë mënyrë nuk është plotësuar edhe mungesa e burimeve të azotit [33]. Mbeturinat bujqësore përdoren si substrate për të realizuar fermentimin e lëngët edhe atë të ngurtë në mënyrë që të ulët kostoja e mediumit fermentues. Këto mbetje përmbajnë burime karboni dhe azoti të domosdoshëm për rritjen dhe metabolizmin e organizmave. Këto burime ushqyese gjenden në shumë mbetje bujqësore si, mbetje të patateve, bananeve, misrit, grurit, orizit dhe kryesisht përdoren për prodhimin e α -amilazës. Ne për të realizuar

fermentimin e ngurtë, kemi përdorur dy lloje të mbetjeve industriale (mbetjet e patateve dhe bananeve), dhe një kombinim të tyre në raporte 1:1. Nga rezultatet e fituara në Figurën 3.27 vërehet se gjatë fermentimit të ngurtë aktiviteti maksimal enzimatik është arritur pas 72 orëve fermentim, kur si substrat janë përdorur kombinimi i mbetjeve industrial dhe vlera e aktivitetit në këtë interval kohorë është 5.5U/mL. Po ashtu vërehet se kur si substrat janë përdorur lëvoret e patates aktiviteti enzimatik ka shkuar duke u rritur gradualisht dhe vlera maksimale (1.53U/mL) në këtë rast është arritur pas 72 orëve fermentim. E kundërta ka ndodhur kur si substrat janë përdorur mbetjet e bananes, në këtë rast aktiviteti maksimal është arritur pas 24 orëve fermentim (3.19U/mL), dhe ky aktivitet ka shkuar duke u zvogëluar përgjatë orëve të tjera të fermentimit. Arsyeja e zvogëlimit të aktivitetit mund të jetë përqendrimi i lartë i lagështisë tek lëvoret e bananes, kjo e cila ka shkaktuar ngopje të shpejtë të mikroorganizmave dhe pastaj ka frenuar rritjen dhe prodhimin e enzimës. Rezultatet tona të aktivitetit enzimatik kur si substrat përdoren mbetjet e bananeve janë në përputhje me rezultatet e (*Shaista et-al*) ku edhe në këtë rast u gjet që aktiviteti maksimal arrihet pas 24 orëve fermentim [34].

Ndërsa nëse rezultatet tona të aktivitetit enzimatik kur si substrat përdoren lëvoret e patateve krahasohen me rezultatet e (*Jyoti et-al*) vërehet se në rastin tonë bakteret kanë treguar një aktivitet më të ulët enzimatik, por është vërtetuar po ashtu që *Bacillus spp* tregon aktivitet më të lartë enzimatik kur përqindja e lagështisë është e lartë, kjo arsyeton aktivitetin më të ulët enzimatik që është prodhuar në rastin tonë [35].

Në Figurën 3.28 është paraqitur grafikisht kurba e rritjes së majave *S. cerevisia* në YPG medium si dhe është treguar reduktimi i sheqernave gjatë 72 orëve fermentim. Nëse analizohet kjo kurbë vërehet se gjatë fazës lag majat kryesisht janë ambientuar me kushtet e ofruara dhe nuk kanë shfaqur rritje të biomasës apo konsumim të sheqernave, ndërsa gjatë fazës eksponenciale majat kanë konsumuar sheqerin prezent në medium dhe kanë shfaqur rritje maksimale të biomasës. Rezultate të ngjashme janë arritur edhe në Figurën 3.29, ku për rritjen e majave është përdorur YPS mediumi.

Nëse kurbat e rritjes së majave krahasohen me rezultatet e (*P. Siedlarz et-al*) atëherë vërehet se në rastin tonë majat kanë treguar një përshtatje më të ngadaltë me kushtet e ofruara dhe si pasojë shfaqet një zgjatje e fazës lag (prej 0 deri në 12 orë), duke vazhduar pastaj me një ritëm të shpejtë të rritjes gjatë fazës eksponenciale. Kjo zgjatje e fazës lag,

mund të shkaktohet si rezultat i mos përshtatjes së mikroorganizmave ndaj kushteve të ofruara, duke marrë parasysh që temperatura optimale e rritjes së majës është 30°C, ndërsa në rastin tonë temperatura e ofruar ishte 20°C [36].

Dihet po ashtu që burimet e karbonit janë të domosdoshme për rritjen, shumëzimin dhe fermentimin e majave. Rezultatet e (*P. Siedlarz et al*) treguan që rritje më të mirë majat tregojnë kur glukoza dhe sakaroza përdoren si burime të karbonit. Duke u bazuar në këto rezultate edhe në kemi përdorur burimet e njëjta për rritjen e majave. Rezultatet tona tregojnë se në rastin kur glukoza u përdor si burim karboni, majat kanë shfaqur biomasë maksimale (7,132 g/L) përgjatë 72 orëve fermentim, ndërsa kur si burim karboni u përdor sakaroza vërehet se kurba e rritjes ishte më e drejtë por biomasa përfundimtare gjatë 72 orëve fermentim ishte më e ulët (6,688 g/L). Arsyeja pse ndodhë kjo është sepse majat janë një hapë mbrapa kur si burim karboni kanë sakarozën pasi kjo fillimisht zbërthehet në glukozë dhe fruktozë e pastaj glukoza e liruar konsumohet nga majat [36].

Në figurën 3.30 janë paraqitur grafikisht kurbat e rritjes së majave *S. cerevisiae* gjatë fermentimit në bioreaktorë dhe Erlermajerë, si dhe u tregua edhe reduktimi i sheqernave gjatë 72 orëve fermentim. Fermentimi është realizuar duke përdorur si medium ushqyes melasën pluhur, kjo e cila fillimisht është paratrajtuar, është pasuruar me nutrient të tjera ushqyese dhe pastaj është vendosur në bioreaktorë dhe erlrmajerë për të realizuar procesin e fermentimit.

Nëse analizohet kurba e rritjes së majave gjatë fermentimit në bioreaktorë atëherë vërehet se majat mjaftë shpejtë janë ambientuar kushteve të ofruara, kanë filluar konsumimin e sheqernave prezent në medium dhe kanë shfaqur fazë të shkurtër lag. Pas përfundimi të fazës lag (pas 6 orëve) vërehet se fillon faza eksponenciale e rritjes ku majat vazhdojnë konsumimin e sheqernave dhe lëndëve të tjera ushqyese prezentë në medium duke formuar kështu biomasë qelizore. Biomasa maksimale (1,376) u arrit pas 72 orëve fermentim në bioreaktorë.

Ndërsa nëse analizohet kurba e rritjes së majave gjatë fermentimit në Erlermajerë atëherë vërehet se majat kanë shfaqur rritje shumë të vogël dhe biomasa maksimale (0,185) u arrit pas 48 orëve fermentim. Arsyeja e rritjes kaq të vogël mund të jetë mos ofrimi i kushteve ideale të rritjes pasi temperatura e ofruar gjatë këtij fermentimi ka qenë më e vogël se 20°C.

Në tabelën 3.3 janë paraqitur peshat e bukëve të përgatitura në kushte laboratorike. Bukët janë përgatitur duke përdorur sasi të njëjtë të përbërësve të njëjtë, dhe nga të dhënat tabelare vërehet se pesha e bukës zvogëlohet pas pjekjes. Kjo rënie në peshë shkaktohet pasi gjatë pjekjes bëhet largimi i gazrave të formuara si rezultat i fermentimit të majave si dhe avullimi i ujit prezent në brumë. Të dhënat në tabelë tregojnë që humbje më të madhe (53.704 g) gjatë pjekjes ka pësuar buka që është prodhuar duke përdorur majën komerciale, ndërsa humbje më të vogël (34,959 g) ka pësuar buka që është prodhuar duke përdorur majën e kultivuar në YPS medium për 72 orë.

Në tabelën 3.4 janë paraqitur të gjitha karakteristikat organo-leptike të bukëve të përgatitura në kushte laboratorike. Pas vlerësimit organo-leptik që iu bë bukëve të prodhuara me përdorimin e majave që ishin kultivuar në YPG, YPS medium për 72 orë, atëherë u vërtetua që bukët kishin ngjyrë mjalti, ngjyrë kjo e cila është ngjyra karakteristike e bukës normale; kishin aromë të këndshme; kishin konsistencë të butë, dhe përmes prerjes tërthore u vërtetua edhe prania e poreve të imta të shpërndara në tërë vëllimin e bukës. Ndërsa pas vlerësimit organo-leptik që iu bë bukëve që u prodhuan duke përdorur majën e kultivuar në medium me melasë, u vërtetua se buka kishte ngjyrë kafe, ngjyrë kjo e cila vie si shkak i prezencës melasës; kishte aromë të këndshme; kishte konsistencë më të fortë si dhe poret e formuara ishin më të mëdha krahasuar me bukët e tjera. Në përgjithësi mund të thuhet se të gjitha bukët që ishin prodhuar duke përdorur majat e kultivuar në laborator kishin karakteristika e njëjta sikurse buka e prodhuar me majë komerciale.

Cilësia e bukëve të prodhuar nuk u përcaktua vetë përmes analizimit të karakteristikave organo-leptike, por u përcaktua edhe përmes analizimit të parametrave të cilësisë. Si parametra të cilësisë u analizuan kryesisht poroziteti dhe vëllimi specifik i bukës. Nga rezultatet e paraqitura në Tabelën 3.5 dhe atë 3.6 është vërejtur se si poroziteti ashtu edhe vëllimi specifik kanë qenë më të larta në rastin kur për prodhimin e bukës janë përdorur majat e kultivuara në laboratorë, në krahasim me bukën e prodhuar me përdorimin e majës komerciale.

KAPITULLI V

5 PËRFUNDIME

Procesi i prodhimit të enzimës alfa amilazë, kultivimi i majës *Saccharomyces.cerevisia* dhe në fund aplikimi i këtyre të dyjave në bukë ka rezultuar mjaftë i suksesshëm gjatë punës që është zhvilluar në laboratorë. Në bazë të analizave të zhvilluara dhe rezultateve të arritura mund të konkludojmë se:

- Prodhim më të mirë të enzimës alfa amilazë arrihet gjatë fermentim të ngurtë, në rastin kur është përdorur fermentimi i kombinuar me mbetje industrial si burime karboni, në krahasim me fermentimin e lëngët ku është përdorur L-B mediumi.
- Rritje e mirë e majës *S. cerevisiae* arrihet kur në medime janë prezent lëndët ushqyerës e sidomos burimet e karbonit, ky i cili është i domosdoshëm për rritjen, shumëzimin dhe fermentimin e majasë. Rezultatet treguan se kur mediumi përmbante glukozë dhe sakarozë, majat tregojnë rritje mjaftë të mirë dhe kanë sjellje të ngjashme. Sidoqoftë, glukozë duket të jetë burimi më i mirë i të ushqyerit, sepse majat shfaqin rritje më të madhe të biomasës.
- Vlerësimi organo-leptik që i është bërë bukës së përgatitur na jep të drejtë të konkludojmë që buka i plotëson të gjitha kriteret organo-leptik. Po ashtu edhe në bazë të analizave të zhvilluar lidhur me cilësinë e bukës, shihet se shtimi i enzimës dhe majës së kultivuar ka ndikuar pozitivisht në parametrat e cilësisë. Parametra këta të cilët kanë qenë më të larta në rastin e përdorimit të enzimës dhe majës së freskët në krahasim me përdorimin e majës komerciale.

CONCLUSIONS

The process of production of the enzyme alpha amylase, the cultivation of *Saccharomyces.cerevisia* yeast and finally the application of both of these in bread has proved to be quite successful during the work that has been carried out in laboratories. Based on the analysis conducted and the results achieved we can conclude that:

- Better production of alpha amylase enzyme is achieved during solid fermentation, when fermentation combined with industrial waste is used as carbon sources, compared to liquid fermentation where L-B medium is used.
- Good growth of *S. cerevisia* yeast is achieved when nutrients are present in the media, especially carbon sources, which is necessary for the growth, multiplication and fermentation of yeast. The results showed that when the medium contained glucose and sucrose, the peaks show quite good growth and have similar behaviors. However, glucose seems to be the best source of nutrition because peaks exhibit greater biomass growth.
- The organoleptic evaluation of prepared bread gives us the right to conclude that the bread meets all organoleptic criteria. Also based on the analysis conducted regarding the quality of bread, it is seen that the addition of enzyme and cultured yeast has had a positive impact on quality parameters. These parameters were higher in the case of enzyme use and fresh yeast compared to the use of commercial yeast.

BIBLIOGRAFIA

- [1] H. Goesaert, K. Brijs, W.S. Veraverbeke, C.M. Courtin, K. Gebruers, J.A. Delcour, (2005), Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality, Trends in Food Science & Technology Elsevier, 16 12–30.
- [2] Abboud Al-Saleh, Charles S. Brennan, (2012), Bread Wheat Quality: Some Physical, Chemical and Rheological Characteristics of Syrian and English Bread Wheat Samples, Foods 1, 3-17.
- [3] Xavier Gellynck, Bianka Kuhne, Filip Van Bockstaele, Davy Van de Walle, Koen Dewettinck, (2009), Consumer perception of bread quality, Elsevier, Appetite 53, 16–23.
- [4] Mareile Heitmann, Emanuele Zanninia, Elke Arendt, (2016), Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: a review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58 (7), 1152-1164.
- [5] Amel Ait Kaki El-Hadef El-Okki, Mohammed Gagaoua, Hayat Bourekoua, Kahina Hafid, Leila Bennamoun, Shahrazed Djekrif-Dakhmouche, Mohamed El-Hadef El-Okki, Zahia Meraihi, (2017), Improving Bread Quality with the Application of a Newly Purified Thermostable α -Amylase from *Rhizopus oryzae* FSIS4, Foods 6, 1.
- [6] Haqif Qerimi, (1996). "Biokimia", Prishtinë
- [7] Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB), (2019), IUBMB
- [8] Sabit Dërmaku, (1997), "Biokimia", Prishtinë.
- [9] SP Tiwari, R Srivastava, CS Singh, K Shukla, RK Singh, P Singh, R Singh, NL Singh, R Sharma, (2015), Amylases: an overview with special reference to alpha amylase, Journal of Global Biosciences, Volume 4, 1886-1901.
- [10] Kirti Rani, Rachita Rana, Sanchi Datt, (2015), Review on characteristics and application of amylases, International Journal of Microbiology and Bioinformatics, Vol. 5, 1-5.

- [11] Prasanna V. Aiyer, (2005), Amylases and their applications, African Journal of Biotechnology, December Vol. 4, (13), 1525-1529.
- [12] Ritu Saini, Harnek Singh Saini, Anjali Dahiya, (2017); Amylases: Characteristics and industrial applications, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1865-1871.
- [13] Paula Monteiro de Souza; Pérola de Oliveira e Magalhaes, (2010), Application Of Microbial A-Amylase In Industry A Review, Brazilian Journal of Microbiology 41: 850-861.
- [14] Mohsen Mobini-Dehkordi, Fahime Afzal Javan, (2012), Application of alpha-amylase in biotechnology, Journal of Biology and today's world, volume 1, 39-50.
- [15] Rani Gupta, Paresh Gigras, Harapriya Mohapatra, Vineet Kumar Goswami, Bhavna Chauhan, (2003), Microbial a-amylases: a biotechnological perspective, Elsevier, Process Biochemistry 1-8.
- [16] Nisha Kumari, Sushil, Babita Rani, Kamla Malik, Ram Avtar, (2019); Microbial amylases: An overview on recent advancement, Journal of Entomology and Zoology Studies 7(1): 198-205.
- [17] Marina Kovacevic, (2015), Morphological and physiological characteristics of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells differing in the life span, University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry.
- [18] R. H. De Deken, (1966), The Crabtree Effect: A Regulatory System in Yeast, J. gen. Microbiol. 44, 149-156.
- [19] Annabel Morley, Thomas Pfeiffer, (2014), An evolutionary perspective on the Crabtree effect, Front. Mol. Biosci., 21.
- [20] Maria Parapouli, Anastasios Vasileiadis, Amalia-Sofia Afendra, Efstathios Hatziloukas, *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications, AIMS Microbiology, 6 (1): 1–31.
- [21] L. Xhagolli, I. Malollari, (2009), "Inxhinieria e proceseve biokimike", Tiranë.
- [22] Magaret Sivapragasam, Cecilia Devi Wilfred, Joshua Raj Jaganathan, Sooridarsan Krishnan, Wan Azlina Wan Ab Wan Karim Ghani, (2019), Choline-Based Ionic Liquids as Media for the Growth of *Saccharomyces cerevisiae*, Processes 471.
- [23] Ying Chen, Nicola Crema, Chelsea Forbes, Mandy Li, (2012), The Effect of Temperature on the Cell Density of *Saccharomyces cerevisiae*, Vol. 2.
- [24] Xingyan Liu, Bo Jia, Xiangyu Sun, Jingya Ai, Lihua Wang, Cheng Wang, Fang Zhao, Jicheng Zhan,, Weidong Huang, (2015), Effect of Initial PH on Growth

Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*, Journal of Food Science,.

- [25] Ljubiša Č. Šarić* , Bojana V. Filipčev, Olivera D. Šimurina, Dragana V. Plavšić, Bojana M. Šarić, Jasmina M. Lazarević, Ivan Lj. Milovanović, (2016), Sugar Beet Molasses: Properties And Applications In Osmotic Dehydration Of Fruits And Vegetables, Food and Feed Research, 43 (2), 135-144.
- [26] Hoda Shafaghat, Ghasem D. Najafpour, Pouya Sirous Rezaei, Mazyar Sharifzadeh, (2010), Optimal Growth Of *Saccharomyces Cerevisiae* (Ptcc 24860) On Pretreated Molasses For The Ethanol Production: The Application Of The Response Surface Methodology, Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly, 16 (2) 199–206.
- [27] Mareile Heitmann, Emanuele Zannini, Elke Arendt, (2018), Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: A Review, Critical Reviews In Food Science And Nutrition Vol. 58, 1152–1164.
- [28] Kristaq Sini, (2008), "Bioteknologjia e produkteve ushqimore", Tiranë.
- [29] Complite Bread Book, (1977), "Chapter II, Bread Making Proces".
- [30] Abdyl Sinani, (2009), "Shkenca dhe teknologjia e produkteve të pjekjes".
- [31] Emily Buehler, (2006), "The Chemistry and Craft of Making Bread".
- [32] B.S.Khatkar, Bread Making Process, Directorate Of Distance Education Guru Jambheshwar University Of Science And Technology Hisar.
- [33] N. Božić, J. Ruiz, J. L. Santín, Z. Vujčić, (2011), Optimization of the growth and α -amylase production of *Bacillus subtilis* IP 5832 in shake flask and laboratory fermenter batch cultures, Journal of the Serbian Chemical Society, 76 (7), 965–972
- [34] Sh. Kokab, M. Asghar, K. Rehman, M.J. Asad, O. Adedyo, (2003), Bio-Processing of Banana Peel for α -Amylase Production by *Bacillus subtilis*, International Journal of Agriculture & Biology, Vol. 5, No.1.
- [35] Jyoti Shukla, Rita Kar, (2006), Potato peel as a solid state substrate for thermostable α -amylase production by thermophilic *Bacillus* isolates, World Journal of Microbiology & Biotechnology 417–422.
- [36] P. Siedlarz, M. Sroka, M. Dylazg, U. Nawrot, M. Gonchar, M. Kus-Liśkiewicz, (2015), Preliminary physiological characteristics of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* clinical isolates identified by molecular biology techniques, Letters in Applied Microbiology, 62, 277—282.

- [37] Q. Mushtaq, M. Irfan, F. Tabssum, J. I. Qazi, (2016), Potato peels: A potential food waste for amylase production, *Journal of Food Process Engineering*, 1-8.
- [38] T. Salman, M. Kamal, M. Ahmed, Syeda Mariam Siddiq, Rafeeq Alam Khan, Amir Hassan, (2016), Medium optimization for the production of amylase by *Bacillus subtilis* RM16 in Shake-flask fermentation, *Pak. J. Pharm. Sci*, Vol.29, .439-444.
- [39] Ivanna Karina Olivares-Marin, Juan Carlos González-Hernández, Carlos Regalado-Gonzalez, Luis Alberto Madrigal-Perez, (2018), *Saccharomyces cerevisiae* Exponential Growth Kinetics in Batch Culture to Analyze Respiratory and Fermentative Metabolism, *Journal of Visualized Experiments*, 1-10.
- [40] Dibyangana Raul, Tania Biswas, Suchita Mukhopadhyay, Shrayan Kumar Das, Suvroma Gupta, (2014), Production and Partial Purification of Alpha Amylase from *Bacillus subtilis* (MTCC 121) Using Solid State Fermentation, *Biochemistry Research International*, Volume 2014, 5 pg.
- [41] Ikram-ul-Haq, Roheena Abdullah, Hamad Ashraf, Athar Hussain Shah, (2002), Isolation and Screening of Fungi for the Biosynthesis of Alpha Amylase, *Asian Network for Scientific Information*, Vol. 1, 61-66.
- [42] Hoda Shafaghat, Ghasem D. Najafpour, Pouya Sirous Rezaei, Mazyar Sharifzadeh, (2010), Optimal Growth Of *Saccharomyces Cerevisiae* (Ptcc 24860) On Pretreated Molasses For The Ethanol Production: The Application Of The Response Surface Methodology, *CI&CEQ*, 16 (2) 199–206.
- [43] Exp.No 1, Determination of Biomass Concentration by Dry Weight Method, pg 1-3.
- [44] A. Madika, J. B. Ameh, D. A. Machido, (2017), Production of Alpha Amylase by *Bacillus subtilis* Using Maize Husk as Substrate, *Journal of Advances in Microbiology*, 6 (2): 1-9.
- [45] HiGenoMB unzipping genes, HIMEDIA, HiPer Carbohydrates Estimation Teaching Kit (Quantitative), India, 1-10pg.
- [46] Lars K. Skov, Osman Mirza, Anette Henriksen, Gabrielle Potocki De Montalk, Magali Remaud-Simeon, Patricia Sarcabal, Rene-Marc Willemot, Pierre Monsan, Michael Gajhede, (2001), Amylosucrase, a Glucan-synthesizing Enzyme from the α -Amylase Family, *The Journal Of Biological Chemistry*, Vol. 276, 25273–25278.
- [47] Gafur Xhabiri, Abdyl Sinani, (2011), "Analizat laboratorike të drithërave, miellrave, brumërave dhe produkteve të pjekjes", Gostivarë-Tiranë.
- [48] A.Al-Saleh, C. S.Brennan, (2012), Bread wheat quality: some physical, chemical and rheological characteristics of syrian and english bread wheat samples, *Foods*, 3-17.

Burime të tjera

- [49] The Saccharomyces cerevisiae World- Daniel Seo,
Në dispozicion:
<http://danielseobiodiversity.blogspot.com>,
[Marrë më 16.06.2020]
- [50] Estimation of Reducing Sugars by the Dinitro Salicylic Acid (DNS) Method,
Në dispozicion:
https://biocyclopedia.com/index/biotechnology_methods/biochemistry/estimation_of_reducing_sugars_by_the_dinitro_salicylic_acid_dns_method.php.
[Marrë më 03.04.2021]
- [51] Alcohols Advanced 9. Iodoform test for $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{-R}$,
Në dispozicion:
<https://www.youtube.com/watch?v=iOeDDme-Tl0>.
[Marrë më 08.04.2021]