

## הכללת החידק *Lactobacillus buchneri* בתרבית לתחמיצים והשפעתה על תחמיצי חיטה וסורגום

צבי וינברג<sup>1</sup>, ג'ורג' סאקאטש<sup>2</sup>, גלעד אשבל<sup>1</sup> ויאירה חן<sup>1</sup>

<sup>1</sup> המעבדה לשימור מספוא ומוצרי לוואי, המחלקה לאיסוס, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן. <sup>2</sup> האוניברסיטה הטכנולוגית של בודפסט, בודפסט, הונגריה

### מבוא

המחקר בנושא תרביות חידקים לתחמיצים מתמקד בחיפוש זנים מתאימים שישפרו את התחמיץ בכל שלבי ההחמצה, השימור וההאבסה. הדרישות מתרביות כאלה כוללות:

1. התאמה ויכולת של החידקים להתרבות בירק המוחמץ בתנאים השוררים בתחמיץ.
2. זירוז תהליכי ההחמצה תוך הקטנת הפסדי תסיסה (הפיכת חומר אורגני מזין לגזים).
3. הגנה על התחמיץ בעת הכרייה כאשר המסה נחשפת לאוויר.
4. שיפור ביצועי בעלי החיים (אכילה, גדילה ותנובת חלב).

טרם נמצא זן חידקים בודד שיענה על כל הדרישות הנ"ל (2). מרבית תרביות החידקים המסחריות כוללות זנים של חידקי חומצת חלב הומופרמנטטיביים (שמייצרים בתסיסה בעיקר חומצת חלב) שבדודו ממספוא או מתחמיצים, והן מזרזות את התסיסה ולעתים מייחסים להן תכונות פרוביוטיות, כלומר: שמשפרות את המצב הכללי של בעלי החיים (2). אולם, כפי שדווח בעבר (וינברג וחבריו, 1993), תרביות כאלה מערערות את היציבות של תחמיצי דגנים בזמן חשיפתם לאוויר. לכן, יש צורך לכלול בתרביות לתחמיצים האלה גם זנים שמגנים על התחמיצים גם בעת חשיפה לאוויר. כיון שחומצות שומן נדיפות, דוגמת חומצה אצטית, פרופיונית ובוטירית, מעכבות התפתחות שמרים ופטריות עובש שהם גורמי

קלוקל עיקריים בזמן חשיפת תחמיצים לאוויר, (3) המחקר מתמקד במציאת מיקרואורגניזמים מתאימים שייצרו בתחמיץ חומצות כאלה. מטרת המחקר שנערך היתה לבחון את השפעת הכללתו של *L. buchneri* על תחמיצי חיטה וסורגום, בדגש על העמידות האירובית. זהו חידק הטרופורמנטטיבי שמייצר בתסיסה חומצה אצטית בנוסף לחומצת חלב (4), ולכן הוא נוסה בעבודה זאת.

### מהלך העבודה

חיטה מזן אריאל וסורגום למספוא DekalbFS5 שנקצרו בהבשלת חלב קוצצו והוחמצו בצנצנות אנאירוביות. ביום ההחמצה הירק אולח בונים מטהרים שנשלחו מהאוסף המיקרוביולוגי של המעבדה מהונגריה. האילוח היה במינון כ-10<sup>6</sup> מק"א/ג מספוא, ובוצע על סמך ספירת המיקרואורגניזמים סמוך ליום הניסוי. בניסוי החיטה מספר השמרים שהוספו היה 10<sup>4</sup> × 3/ג. הטיפולים ככלו:

1. ביקורת.
2. *Lactobacillus plantarum* (LP). (זן הומופרמנטטיבי).
3. *Lactobacillus buchneri* (LB). (זן הטרופורמנטטיבי).
4. שמרים: בחיטה שמר שבודד מתחמיץ חיטה בארץ (Y), ובסורגום – שמר מזן *Hansenula* (H).
5. טיפול משולב (2) + (3) (בסורגום בלבד).
6. טיפול משולב (2) + (4).
7. טיפול משולב (3) + (4).
8. טיפול משולב (2) + (3) + (5) (בסורגום בלבד).
9. זן שבודד בארץ מתחמיץ חיטה (בחיטה בלבד).

מפירסומי המינהל החקלאי, המכון לטכנולוגיה ואחסון של תוצרת חקלאית, סדרה ה' 2000, מס' 405. המאמר עבר ביקורת מדעית. מטעמים טכניים אנו מביאים גרסה מקוצרת קמעה. כמובן, רשימת הספרות המלאה ניתן לקבל אצל המחברים.

מלבד 0.8% בטיפולי LB, B+Y. בטבלה 1 ניתנות תוצאות הבדיקה של תחמיצי החיטה עם הטיפולים השונים. תכולת שארית הסוכרים וחומצת החומץ (אצטית) היו הכי גבוהות בטיפולי LB, LB+Y. לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הטיפולים ( $p < 0.05$ ) בתכולת חומצת החלב.

בשלבי ההחמצה הראשונים (עד יום 12), מספר הלקטובאצילים הגיעו ל- $10^8$  ג/ג; ביום 60 מספרם ירד ל- $10^5$  ג/ג. מצב זה טיפוסי לתסיסת ההחמצה. מספר השמרים היה  $10^4$  ג/ג בתחילת ההחמצה; ביום 65 מספר השמרים הגבוה ביותר היה בטיפול Y ( $10^8$  ג/ג); טיפולי LP, LP+Y הכילו  $10^4$  שמרים/ג. בשאר הטיפולים לא נמצאו שמרים בסוף ההחמצה.

בטבלה 2 מסוכמות את תוצאות מבחן החשיפה לאוויר של תחמיצי החיטה. בטיפולי LB, LB+Y, התקבלו התחמיצים היציבים ביותר לפי ערכי pH, אייזצירת  $CO_2$ , ומספר נמוך של שמרים. גם עם טיפול Y התקבל תחמיץ יציב, בעוד שתחמיצי LP היו בלתי יציבים. הזן שבודד מתחמיץ חיטה מקומי התנהג כלקטובאצילוס הומופורמנטיבי מבחינת פרופיל התסיסה ומבחינת החשיפה לאוויר התחמיצים שטיפלו בו דמו לתחמיצי הביקורת.

בטבלה 3 מסוכמות את תוצאות הבדיקה הכימית של תסיסת מיצויי החיטה לאחר 7 ימי הדרגה. תוצאות דומות התקבלו גם לאחר 3 ו-10 ימים. במיצויים המימיים התקבלו הבדלים בין הטיפולים בערכי ה-pH: בטיפולים Y, LB, LB+Y, LP+Y הערכים היו גבוהים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ), לעומת LP. הביקורת נותרה ב-6.6 כמו במיצוי הטרי. תכולת חומצת חומץ הגבוהה ביותר התקבלה בטיפול LB; חומצת חלב הגבוהה ביותר התקבלה בטיפול LP, והנמוכה ביותר בטיפולי LB, LB+Y.

## 2. תחמיצי הסורגום.

ירק הסורגום הטרי הכיל 288 ו-149 ג/ק"ג ח"י וסוכרים מסיסים, בהתאמה וה-pH היה 5.7. בתום תקופת ההחמצה (יום 103) ה-pH ירד ל-4.0-3.7 כאשר הערכים היותר גבוהים

בניסוי החיטה נדגמו 3 צנצנות מכל טיפול בימים 3, 7 ו-65 לאחר ההחמצה; בניסוי הסורגום נדגמו 3 צנצנות לאחר 103 ימי החמצה. בתום תקופת ההחמצה התחמיצים מהטיפולים השונים עברו מבחן חשיפה לאוויר במערכת המורכבת מבקבוקי משקה קל ותוארה בעבר (וינברג וחובריו, 1993). במבחן זה יצירת פחמן דו-חמצני, שינוי pH ומספרי שמרים ועבשים מהווים מדד לקלוקול אירובי.

הבדיקות כללו קביעת תכולת חומר יבש, pH, הפסדי גזים (ע"פ הבדלי משקל), תכולת חומצת חלב ותוצרי חלב ותוצרי תסיסה נדיפים (עם גז כרומוטוגרף), וקביעת מספרי לאקטובצילים, שמרים ופטריית-עובש על מצע Rogosa Malt extract agar מוחמץ, בהתאמה.

בניסוי החיטה נערך גם ניסוי התססה במיצויים נוזליים: החיטה מוצתה במשך 30 דקות ביחס 1:2.5 עם מים ואחרי סינון דרך גאזה הנוזל עוקר באוטוקלב (15 דקות ב- $100^{\circ}C$ ) (121) בתוך מבחנות פקוקות (30 מ"ל בכל מבחנה). הנוזל אולח בטיפולים שאוחרו בניסוי הצנצנות עם החיטה ( $10^8$  לאקטובצילים ו- $10^6$  שמרים/מ"ל) והמבחנות הודגרו ב- $30^{\circ}C$  למשך 7 ימים. שלוש מבחנות מכל טיפול נדגמו לאחר 3 ו-7 ימים. לאחר 7 ימים הפקקים שוחררו והמבחנות נותרו במדגרה ל-3 ימים נוספים, כדי לחקות מצב של חשיפה לאוויר. הבדיקות שנערכו היו כמו בצנצנות, מלבד ח"י והפסדים. הניתוח הסטטיסטי כלל מבחן שונות חד-כיווני ומבחן תחום מרובה על פי Duncan.

## תוצאות

### 1. תחמיצי החיטה

ירק החיטה הטרי הכיל 284 ו-60 ג/ק"ג ח"י וסוכרים מסיסים, בהתאמה וה-pH היה 6.4. לאחר 4 ימי החמצה ה-pH ירד ל-4.1-3.9 בלי הבדלים ניכרים בין הטיפולים. בתום תקופת ההחמצה (יום 65) ה-pH ירד ל-3.9-3.8 והערכים הקצת יותר גבוהים התקבלו בטיפולי LB, LB+Y. הפסדי הגזים הסתכמו ב-0.5% בכל הטיפולים, מלבד 0.8% בטיפולי LB, LB+Y. הפסדי הגזים הסתכמו ב-0.5% בכל הטיפולים,

טבלה 1. תוצאות הבדיקות הכימיות של תחמיצי החיטה (יום 65, ג'/ק"ג ח"י).

חומצת חלב	חומצת חומץ	אתנול	סוכרים מסיסים	הטיפול
63±5	<sup>ד,ג</sup> 25±4	6±1	<sup>א</sup> 39±1	בקורת
61±8	<sup>ה</sup> 16±1	7±2	<sup>ב,א</sup> 36±7	LP
53±6	<sup>ב,א</sup> 32±5	7±3	<sup>ה</sup> 9±2	LB
52±7	<sup>ג,ד</sup> 27±3	6±2	<sup>ד</sup> 20±6	Y
50±7	<sup>ה,ד</sup> 19±2	6±1	<sup>ג,ה</sup> 29±2	LP+Y
55±10	<sup>א</sup> 34±2	6±2	<sup>ה</sup> 10±2	LB+Y
53±4	<sup>ה</sup> 18±3	5±2	<sup>ג</sup> 28±3	זן מקומי

ערכים באותו טור שלידם אותיות שונות, נבדלים באופן מובהק ( $p < 0.05$ ).

LP=Lactobacillus plantarum; LB=L. buchneri; Y = שמרים

זן מקומי = זן שבודד בארץ מתחמיץ חיטה.

טבלה 2. תוצאות מבחן החשיפה לאוויר של תחמיצי החיטה.

שמרים	CO <sub>2</sub> (ג'/ק"ג ח"י)	pH	הטיפול
8.0	<sup>ב</sup> 15±11	<sup>ב</sup> 4.0±0.1	בקורת
9.0	<sup>א</sup> 38±9	<sup>א</sup> 5.0±1.0	LP
5.0	<sup>ג</sup> 0	<sup>ב</sup> 3.8±0.0	LB
8.7	<sup>ג,ד</sup> 4±4	<sup>ב</sup> 3.9±0.2	Y
9.9	<sup>ב</sup> 17±9	<sup>ב</sup> 4.0±0.2	LP+Y
5.0	<sup>ג</sup> 0	<sup>ב</sup> 4.1±0.1	LB+Y
9.1	<sup>ב</sup> 17±12	<sup>ב</sup> 4.1±0.3	זן מקומי

ערכים באותו טור שלידם אותיות שונות, נבדלים באופן מובהק ( $p < 0.05$ ).

השמרים מבוססים כלוגריתמוס של מספר היחידות יוצרות מושבות.

LP=Lactobacillus plantarum; LB=L. buchneri; Y = שמרים

זן מקומי = זן שבודד בארץ מתחמיץ חיטה.

טבלה 3. תוצאת הבדיקה הכימית של מיצויי החיטה המותססים (ג/ק"ג).

חומצת חלב	חומצת חומץ	סוכרים מסיסים	pH	הטיפול
-	-	79±9	6.6±0.0	מיצוי טרי
<sup>א</sup> 0	<sup>א</sup> 0	<sup>א</sup> 50±11	<sup>א</sup> 6.6±0.1	בקורת
<sup>א</sup> 2.88±0.24	<sup>ב</sup> 0.31±0.06	<sup>א,ב</sup> 32±6	<sup>א</sup> 3.7±0.0	LP
<sup>ב</sup> 1.37±0.23	<sup>א</sup> 0.52±0.10	<sup>ב</sup> 39±4	<sup>א</sup> 4.4±0.0	LB
<sup>ב</sup> 0.95±0.06	<sup>א,ב</sup> 0.25±0.01	<sup>א,ב</sup> 35±3	<sup>ב</sup> 6.0±0.2	Y
<sup>ב</sup> 1.82±0.62	<sup>א,ב</sup> 0.27±0.04	<sup>א,ב</sup> 35±6	<sup>א</sup> 4.6±0.3	LP+Y
<sup>ב</sup> 0.98±0.10	<sup>א,ב</sup> 0.21±0.02	<sup>א,ב</sup> 37±3	<sup>ב</sup> 5.8±0.2	LB+Y
<sup>א</sup> 3.73±0.96	<sup>א</sup> 0.12±0.11	<sup>א</sup> 28±5	<sup>א</sup> 3.7±0.0	זן מקומי

ערכים באותו טור שלידם אותיות שונות, נבדלים באופן מובהק (p<0.05).  
 LP=Lactobacillus plantarum; LB=L. buchneri; Y = שמרים  
 זן מקומי = זן שבודד בארץ מתחמיץ חיטה.

טבלה 4. תוצאות הבדיקות הכימיות של תחמיצי הסורגום (יום 103, ג/ק"ג ח"י).

חומצת חלב	חומצת חומץ	אתנול	סוכרים מסיסים	הטיפול
<sup>א,ב,ג</sup> 45±12	<sup>א</sup> 16±1	<sup>א</sup> 12±1	<sup>א,ב</sup> 24±18	בקורת
<sup>א,ב</sup> 54±6	<sup>ה,ז</sup> 7±1	<sup>א</sup> 18±4	<sup>א,ב</sup> 24±12	LP
<sup>א</sup> 37±8	<sup>ב</sup> 28±5	<sup>א</sup> 13±4	<sup>א</sup> 0	LB
<sup>א,ב</sup> 51±8	<sup>א</sup> 15±7	<sup>ב</sup> 6±2	<sup>א,ב</sup> 22±10	LP+LB
<sup>א</sup> 57±5	<sup>א,ב</sup> 12±2	<sup>ב</sup> 5±0	<sup>א,ב</sup> 24±6	H
<sup>א,ב</sup> 40±3	<sup>ה</sup> 4±1	<sup>א</sup> 15±6	<sup>א</sup> 33±20	LP+H
<sup>א</sup> 35±9	<sup>א</sup> 34±3	<sup>א</sup> 13±1	<sup>ב</sup> 6±11	LB+H
<sup>א,ב</sup> 43±3	<sup>א,ב</sup> 11±2	<sup>ב</sup> 5±1	<sup>א</sup> 33±12	LP+LB+H

ערכים באותו טור שלידם אותיות שונות, נבדלים באופן מובהק (p<0.05).  
 LP=Lactobacillus plantarum; LB=L. buchneri; H=Hansenula מזן

טבלה 5. תוצאות מבחן החשיפה לאוויר של תחמיצי הסורגום.

הטיפול	pH	CO <sub>2</sub> (ג'ק"ג ח"י)	שמרים	פטריות עובש
בקורת	<sup>3</sup> 3.9±0.1	<sup>1</sup> 0.6±1.1	6.6	.1.7
LP	<sup>א</sup> 4.9±0.1	<sup>א</sup> 31.4±6.8	9.9	.1.7
LB	<sup>3</sup> 3.9±0.0	<sup>1</sup> 1.3±1.2	5.6	.1.7
LP+LB	<sup>3</sup> 3.7±0.0	<sup>1</sup> 1.6±1.5	6.4	4.6
H	<sup>3</sup> 3.8±0.0	<sup>1</sup> 1.3±1.1	5.1	.1.7
LP+H	<sup>א</sup> 4.6±0.6	<sup>2</sup> 23.0±7.1	9.3	3.5
LB+H	<sup>3</sup> 3.9±0.0	<sup>1</sup> 1.5±1.3	5.4	.1.7
LP+LB+H	<sup>3</sup> 3.7±0.0	<sup>1</sup> 0.5±0.9	6.4	3.2

ערכים באותו טור שלידם אותיות שונות, נבדלים באופן מובהק ( $p < 0.05$ ).  
 השמרים ופטריות העובש מבוטאים כלוגריתמוס של מספר היחידות יוצרות מושבות, ל.ג. = לא נמצאו  
 שמרים מין LP=Lactobacillus plantarum; LB=L. buchneri; H = Hansenula

לאוויר. לצורך כך, LB הוסף לירק המוחמץ לבדו או בשילובים עם LP ושמרים שהם ידועים כמערערים את יציבות התחמיץ בזמן חשיפתו לאוויר. תוצאות העבודה הזאת מצביעות על כך, שתוספת LB ייצבה את התחמיצים בזמן חשיפה לאוויר. תוצאות אלה מיוחסות לריכוז הגבוה יחסית של חומצה אצטית שנוצרה בעקבות התסיסה של LB, שידוע כחידק הטרופורמנטטיבי. שמסוגל להתפתח בתחמיצים (5).

ההבדלים בקצב התסיסה בין הטיפולים השונים באו לידי ביטוי במערכת המיצויים המעוקרים מחיטה שאולחו בטיפולים השונים. בעוד שבצנצנות עם החיטה היתה השפעה לחידקים האפיפיטיים (הטבעיים) שבירק, ובהן ה-pH ירד בכל הטיפולים במהירות, המצב במבחנות עם המיצויים המעוקרים היה שונה: נוצר הבדל בין הטיפולים כפי שתואר לעיל (טבלה 3). לכן, המיצויים יכולים לשמש כמודל המצביע במהירות על מהלך תסיסת החממה עם טיפולים שונים. יחד עם זאת, מערכת

התקבלו בביקורת, ובטיפולי LB, LB+H. הפסדי הגזים הסתכמו ב-0.7%–0.9% בכל הטיפולים, מלבד ב-1.6%–1.7% בטיפולי LB, LB+H.

בטבלה 4 מסוכמות תוצאות הבדיקות הכימיות של תחמיצי הסורגום. תכולת הסוכרים הנותרים היתה הנמוכה ביותר, ותכולת חומצת החומץ הגבוהה ביותר התקבלה בטיפולי LB, LB+H. בתחמיצי הטיפול המשולב LP+LB, חומצת חלב וחומצת חומץ בריכוזים הקרובים לממוצע בין הערכים המתאימים שהתקבלו עם כל חידק בנפרד.

בטבלה 5 מסוכמות תוצאות מבחן החשיפה לאוויר של תחמיצי הסורגום. התחמיצים שטופלו ב-LP, LP+H היו בלתי יציבים וה-pH בהם עלה, נוצר CO<sub>2</sub> בכמויות גדולות ומספרי השמרים עלו. טיפולים משולבים שהכילו LP+LB היו יציבים במבחן החשיפה לאוויר.

**דיון**

מטרת העבודה היתה לבחון את יכולתו של חידק LB לייצב תחמיצי דגנים בזמן חשיפה

# מבחר מוצרים במחירים מפתיעים מהיבואן לצרכן ללא פערי תיווך

בטנות אמריקאיות MILK RITE

אשכולות חליבה STRANGKO

כדי חליבה רבע עטין מסוגים שונים  
כולל פולסטור וגביע אחד

משאבות ואקום עם וללא שימון אמריקאיות

עגלות חליבה ניידות

צנור חלב מסיליקון

כדי חליבה מנירוסטה ושקופים

מגפיים עשויות פולארטון - מבודדות פי 4

כא לשק שימון 30.400  
יקבל הנחה של 10%  
על המוצרים הנ"ל  
באספקת הנחה ליוצא



יבוא ושיווק בלעדי בישראל:

פול - לבאל מכונות חליבה - סוכנויות יבוא  
סילביאנו רן ת.ד. 1060 קרית ים 29000  
טל. 04-8414116, פקס. 04-8414836

המבחנות לא היתה יעילה בחיזוי העמידות האירובית בעקבות הטיפולים, ולא ניכר הבדל בבדיקות הכימיות של המיצויים לאחר שחרור הפקקים.

השימוש בשמרים בעבודה זאת נועד לזרז את קלקול התחמיץ בזמן החשיפה לאוויר וליצור אתגר לטיפול LB. אולם, במפתיע, השמרים השונים במחקר זה לא "תרמו" לקלקול התחמיץ בזמן חשיפתו לאוויר ויצרו בתסיסה מוצרים דוגמת חידקי חומצת חלב הטורפורמנטטיביים. יש רמזים בספרות המקצועית העולמית על תופעה כזאת. כל זה מלמד, שתהליכי הקלקול בעת חשיפה לאוויר מורכבים משחשבו וכוללים כנראה יחסי גומלין בין מיקרואורגניזמים שונים והתחמיץ.

## סיכום

למרות שהוספת הזן ההטרופורמנטטיבי LB כתרבית מוספת לתחמיצים גרמה הפסדי תסיסה קצת יותר גדולים בהשוואה לטיפולים אחרים, כדאי לנסות ולהכליל אותו בתרביות חידקים לתחמיצים יחד עם זנים הומופורמנטטיביים, בגלל כושרו המוכח לייצב את התחמיצים בזמן החשיפה לאוויר. ניסויים מתוכננים בתנאי משק עשויים להוכיח את יעילותו של LB באופן ברור יותר.

## ספרות מאוחרת

1. וינברג, צ., אשבל, ג., עוריאלי, א. וחו, י. 1993. תרביות חידקי חומצת חלב בתחמיץ ועמידותו בתנאי חשיפה לאוויר. השדה כרך ע"ג, חוברת ו', 606-607.
2. Weinberg, Z.G. and Muck, R.E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiology Reviews 19: 53-68.
3. Moon, N.J. 1983. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixture. J. of Applied bacteriology 55: 453-460.
4. Woolford, M.K. 1984. The Chemistry of Silage. In: Woolford, M.K. (ed.) The Silage Fermentation, Marcel Dekker, Inc. New York, Pp. 71-132.
5. Weinberg, Z.G., Ashbel, G., Hen, Y. and Azriel, A. 1995b The effect of propionic acid bacterial inoculant applied at ensiling, on the aerobic stability of wheat and sorghum silages. J. of Industrial Microbiology 15: 493-497.