

酸马奶中具有潜在共生性乳酸菌和酵母菌的筛选

刘敏敏, 贺银凤*

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 对内蒙古锡盟地区酸马奶中分离出的 8 株乳酸菌和 7 株酵母菌进行潜在共生菌的筛选。在各自培养基中交互添加代谢物作为实验组, 以各自培养基中添加等量生理盐水作为对照, 分析比较稳定期的浊度值。筛选出 3 对具有相互促进作用的乳酸菌(LC)和酵母菌(YE): LC1 和 YE3, LC4 和 YE3, LC5 和 YE4, 其中 LC5 和 YE4 相互促进作用极显著($P < 0.01$)。LC5 和 YE4 在脱脂乳培养基中共同培养和二者在各自培养基中交互添加代谢物培养都表明其具有相互促进作用, YE4 的代谢物促进 LC5 的生长, 使 LC5 发酵液的滴定酸度值增大, 而对 pH 值变化没有影响; LC5 的代谢物促进 YE4 的生长, 使 YE4 发酵液 pH 值增大, 接近酵母菌最适生长 pH 值。

关键词: 酸马奶; 共生特性; 乳酸菌; 酵母菌; 相互作用; 筛选

Screening of Potential Symbiotic Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Koumiss

LIU Min-min, HE Yin-feng*

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: A total of 8 lactic acid bacteria (LAB) and 7 yeast strains that had previously been isolated from koumiss from Xilinguole region in Inner Mongolia of China were applied for potential symbiotic characteristic screening. Metabolites of LAB and yeasts were added interactively into their respective media in the treatment groups, while in the control groups the same volume of normal saline was used. The turbidity was monitored during the stationary phase. Three pairs of LAB (LC) and yeast (YE) with positive interaction were disclosed as follows: LC1 and YE3, LC4 and YE3, LC5 and YE4, among which the positive interaction between LC5 and YE4 was highest ($P < 0.01$). LC5 and YE4 co-cultured in skim milk medium showed an increased cell density compared to those obtained in separate culture. The further research showed that the growth of LC5 during fermentation was advanced by the addition of YE4 metabolites with increased titratable acidity and stable pH value. Likewise, the growth of YE4 was also enhanced by LC5 metabolites and the pH value was increased and almost reached the optimum value for yeasts.

Key words: koumiss; symbiosis characteristic; lactic acid bacterium; yeast; interaction; screening

中图分类号: TS252.53

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)11-0255-05

酸马奶是以鲜马奶为原料, 经乳酸菌和酵母菌共同发酵而成, 具有独特的风味和丰富的营养价值。马奶经微生物发酵后, 含有抑制传染性疾病如肺结核和非传染性疾病如胃肠炎的细菌素^[1], 具有很好的医疗保健作用。Marshall^[2]报道发酵乳制品中乳酸菌和酵母菌之间可能存在相互作用, 但其作用机制尚不是十分清楚。蛋白分解力强的酵母菌如 *Yarrowia lipolytica*

和 *C. catenulata*, 分解蛋白释放的游离氨基酸如亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等, 能够促进蛋白分解力弱的乳酸菌的生长^[3]。一些乳酸菌发酵乳糖的副产物为半乳糖, 能够促进不发酵乳糖而利用半乳糖的酵母菌生长^[4-5]。乳酸菌代谢产生如苯乳酸、4-羟基-苯乳酸、环肽类物质会抑制酵母菌的生长^[6], 而溶脂酵母代谢产生的脂肪酸会抑制乳酸菌的生长^[7]。具有共生性乳酸

收稿日期: 2010-10-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31060222); 内蒙古教育厅自然科学基金项目(NJZY08042)

作者简介: 刘敏敏(1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为乳品微生物。E-mail: liumin091120@126.com

* 通信作者: 贺银凤(1960—), 女, 教授, 博士, 研究方向为乳品科学技术。E-mail: heyinf@yahoo.com.cn

菌和酵母菌所产生的特殊生物效价引起了研究者的广泛关注。Ishii 等^[7]研究发现: *Lactobacillus paracasei* subsp. *Tolerans* 和 *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* 存在着共生关系,二者混合培养过程中富集的大量肽提高了培养液中的活菌数,促进乳酸的产生。*Lactococcus lactis* 和 *Kluyveromyces marxianus* 混合培养过程中酵母菌可以不断中和代谢产物中的乳酸,从而降低乳酸对乳酸菌生长的抑制,使得产物 Nisin 不断富集^[8]。本实验从内蒙古锡盟地区酸马奶中分离得到的乳酸菌和酵母菌中筛选相互作用较好的菌株,并研究其相互作用的生长特性,为进一步研究乳酸菌和酵母菌的共生提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养基

内蒙古锡盟地区酸马奶中分离出的 8 株乳酸菌和 7 株酵母菌^[9],乳酸菌编号分别为 BL1、BL2、LC1、LC2、LC3、LC4、LC5、LC6,酵母菌编号分别为 YE1、YE2、YE3、YE4、YE5、YE6、YE7。由内蒙古农业大学“酸马奶酒中抗菌因子的研究”课题组提供。

葡萄糖-酵母膏-蛋白胨(YEPD)液体及琼脂培养基按文献[9]配制;MRS 液体及琼脂培养基按文献[10]配制;脱脂乳培养基:每 100mL 蒸馏水中加 10g 脱脂乳粉和 0.1g 酵母浸粉。

1.2 仪器与设备

BCN-1360 微生物洁净工作台、HZQ-X100 振荡培养箱 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;HIRAYAMA 高压锅 华粤企业集团有限公司;LG10-2.4A 型大离心机 北京京立离心机有限公司;HPS-250 生化培养箱 哈尔滨市东明医疗仪器厂;SK-1 快速混匀器 常州国华电器有限公司;T6 新悦可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 方法

1.3.1 代谢物的制备

将活化好的乳酸菌按体积分数 2% 分别接种在 MRS 液体培养基中,37℃ 恒温培养 50h;将活化好的酵母菌按体积分数 2% 分别接种在 YEPD 液体培养基中,30℃ 恒温振荡培养 70h。将培养液以 $4000 \times g$ 离心 20min,取上清液,并用 $0.45 \mu m$ 孔径的灭菌滤菌器进行过滤处理,即得到无菌代谢物,乳酸菌代谢物 pH 值调至 5.5 ± 0.2 备用,酵母菌代谢物 pH 值调至 6.5 ± 0.2 备用。

1.3.2 共生菌株的筛选

将制备好的酵母菌代谢物按体积分数 30% 加入到 MRS 液体培养基中,按照同样比例在 MRS 液体培养基

中添加 pH(6.5 ± 0.2)的生理盐水作为对照,按体积分数 2% 接入乳酸菌,37℃ 恒温静止培养 20h,振荡混匀后测其 OD_{600nm} 值。与对照组比较,OD_{600nm} 值高于对照组且差异显著的为有促进作用,低于对照组且差异显著的为有抑制作用。

将制备好的乳酸菌代谢物按体积分数 30% 加入到 YEPD 液体培养基中,按照同样比例在 YEPD 液体培养基中添加 pH(5.5 ± 0.2)的生理盐水作为对照,按基础培养基体积的 2% 接入酵母菌,30℃ 恒温振荡培养 30h,振荡混匀后测其 OD_{600nm} 值。同理判断是否有促进作用。

1.3.3 潜在共生菌生长特性的研究

选取一组相互作用效果最好的乳酸菌和酵母菌进行共生特性的研究。在各自的培养基中添加对方的代谢物后进行发酵,以各自培养基中添加等量生理盐水后进行发酵作为对照,乳酸菌为 37℃ 恒温静止培养,酵母菌为 30℃ 恒温振荡培养,分别培养 36h,每隔 4h 取样测定活菌数、pH 值和滴定酸度,进一步研究二者的相互作用情况。

将乳酸菌和酵母菌按菌浓度比 10:1 混合接入脱脂乳培养基,先 30℃ 恒温振荡培养 12h 后进行 37℃ 恒温静止培养,在 36h 内,每隔 4h 取样测定乳酸菌活菌数,以 37℃ 恒温静止培养的乳酸菌纯培养物中活菌数变化为对照,研究酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响。

将乳酸菌和酵母菌按菌浓度比 10:1 混合接入脱脂乳培养基,先 37℃ 恒温静止培养 8h 后进行 30℃ 恒温振荡培养,在 36h 内,每隔 4h 取样测定酵母菌活菌数,以 30℃ 恒温振荡培养的酵母菌纯培养物中活菌数变化为对照,研究乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响。

1.4 测定指标

1.4.1 活菌浓度测定

将样品用无菌生理盐水按 10 倍进行梯度稀释,取适当稀释度的发酵液进行平板倾注法计数。乳酸菌在 37℃ 培养 1~2d,酵母菌在 30℃ 培养 2~3d。乳酸菌采用含有 1/10000 放线菌酮的 MRS 琼脂培养基培养,以抑制酵母菌的生长;酵母菌采用 YEPD 琼脂培养基培养,培养基用前溶化,当温度降至 45~50℃ 时,按最终体积分数 1% 加入石炭酸溶液以抑制乳酸菌的生长^[11]。每样做 3 个稀释度,每个稀释度做两个重复,取菌落数在 30~300 的平板计数,取平均值,结果用每毫升发酵液的菌落数表示。

1.4.2 浊度值(OD_{600nm})测定

将培养液振荡混匀后测定波长 600nm 处的 OD 值。

1.4.3 pH 值及总酸的测定

pH 值:采用 Sartorius PB-10 pH 计测定。

滴定酸度：取发酵液 10mL，加入 10mL 蒸馏水，再滴入两滴酚酞指示剂，摇匀，用 0.1mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定。消耗 0.1mol/L 氢氧化钠标准溶液的毫升数乘以 10 即为滴定酸度(°T)^[12]。

1.5 实验数据统计分析

数据采用 SAS 9.0 软件的 ANOVA 进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 具有潜在共生特性乳酸菌和酵母菌的筛选

2.1.1 酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响

同种产品中的多种微生物间的相互作用类型通常依据各种微生物菌量变化进行判断，而代谢物对其各自生长量起到关键作用。乳酸菌在添加酵母菌代谢物后培养到稳定期的浊度值减去对照组稳定期浊度值的结果见表 1。

由表 1 可知，YE1、YE3、YE5 的代谢物对 LC1，YE1、YE5 的代谢物对 LC4，YE1、YE4、YE5、YE6 的代谢物对 LC5 均有极显著促进作用($P < 0.01$)。YE2、YE7 的代谢物对 LC1，YE2、YE3、YE4、YE6 的代谢物对 LC4，YE3 的代谢物对 LC5，YE5、YE6 的代谢物对 LC6 均有显著促进作用($P < 0.05$)。YE5 的代谢物对 BL1，YE4、YE6 的代谢物对 BL2，YE3、YE6 的

代谢物对 LC2，YE2、YE4 的代谢物对 LC3 均为抑制作用显著($P < 0.05$)。其余促进作用与抑制作用均不显著。

2.1.2 乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响

乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响见表 2(表示方法同表 1)。BL2 的代谢物对 YE3，LC5 的代谢物对 YE4 均有极显著促进作用($P < 0.01$)。LC1、LC3、LC4、LC6 的代谢物对 YE3，LC1、LC2 的代谢物对 YE4 均有显著促进作用($P < 0.05$)。BL1 的代谢物对 YE6，LC2 的代谢物对 YE3 均有极显著($P < 0.01$)抑制作用。BL1、BL2、LC1、LC6 的代谢物对 YE1，LC6 的代谢物对 YE5、YE6 均有显著抑制作用($P < 0.05$)。其余促进作用与抑制作用均不显著。

综合表 1、2 数据分析结果可知，7 株酵母菌对乳酸菌 LC1、LC4、LC5 均有不同程度的促进作用，8 株乳酸菌中除 LC2 外，其余均对 YE3 有不同程度的促进作用。除 LC6 外其余均对 YE4 有不同程度的促进作用。乳酸菌和酵母菌相互都有促进作用的菌株有 LC1 和 YE3，LC4 和 YE3，YE4 和 LC5，其中酵母菌 YE4 的代谢物对乳酸菌 LC5 的生长与乳酸菌 LC5 的代谢物对酵母菌 YE4 的生长均有极显著促进作用($P < 0.01$)。选取乳酸菌 LC5 和酵母菌 YE4，进一步研究二者的共生特性。

表 1 酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响

Table 1 Effect of yeast metabolites on the growth of LAB (ΔOD_{600nm})

乳酸菌编号	ΔOD_{600nm}						
	YE1	YE2	YE3	YE4	YE5	YE6	YE7
BL1	+ 0.010 ± 0.021	+ 0.004 ± 0.019	- 0.038 ± 0.057	- 0.084 ± 0.057	- 0.077 ± 0.027*	- 0.078 ± 0.027	- 0.001 ± 0.023
BL2	- 0.067 ± 0.037	- 0.029 ± 0.035	- 0.082 ± 0.023	- 0.146 ± 0.017*	- 0.078 ± 0.029	- 0.108 ± 0.021*	- 0.072 ± 0.035
LC1	+ 0.120 ± 0.013**	+ 0.068 ± 0.013*	+ 0.160 ± 0.020**	+ 0.112 ± 0.043	+ 0.191 ± 0.023**	+ 0.123 ± 0.032	+ 0.026 ± 0.008*
LC2	- 0.033 ± 0.003	- 0.052 ± 0.005	- 0.101 ± 0.024*	- 0.075 ± 0.019	+ 0.026 ± 0.008	- 0.089 ± 0.015*	- 0.025 ± 0.007
LC3	- 0.062 ± 0.039	- 0.127 ± 0.016*	- 0.037 ± 0.037	- 0.094 ± 0.113*	- 0.037 ± 0.002	- 0.094 ± 0.035	- 0.020 ± 0.020
LC4	+ 0.116 ± 0.008**	+ 0.069 ± 0.022*	+ 0.197 ± 0.029*	+ 0.185 ± 0.049*	+ 0.195 ± 0.001**	+ 0.180 ± 0.034*	+ 0.061 ± 0.027
LC5	+ 0.085 ± 0.002**	+ 0.010 ± 0.023	+ 0.128 ± 0.033*	+ 0.133 ± 0.010**	+ 0.139 ± 0.018**	+ 0.152 ± 0.001**	+ 0.048 ± 0.039
LC6	+ 0.028 ± 0.030	- 0.039 ± 0.039	+ 0.086 ± 0.037	+ 0.035 ± 0.004	+ 0.114 ± 0.022*	+ 0.096 ± 0.013*	- 0.005 ± 0.019

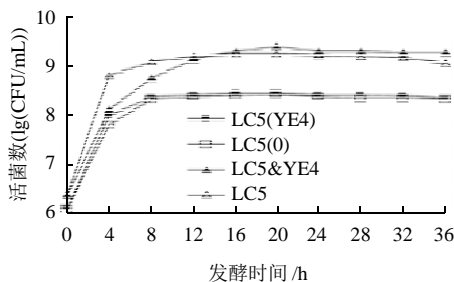
注：+、- 有抑制作用；-、+ 有促进作用；*、** 实验组与对照组比较，差异显著($P < 0.05$)；**、*** 实验组与对照组比较，差异极显著($P < 0.01$)。下同。

表 2 乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响

Table 2 Effect of LAB metabolites on the growth of yeast (ΔOD_{600nm})

酵母菌编号	ΔOD_{600nm}							
	BL1	BL2	LC1	LC2	LC3	LC4	LC5	LC6
YE1	- 0.083 ± 0.004*	- 0.075 ± 0.001*	- 0.120 ± 0.033*	+ 0.018 ± 0.043	+ 0.034 ± 0.015	+ 0.023 ± 0.018	- 0.037 ± 0.040	- 0.094 ± 0.004*
YE2	- 0.018 ± 0.119	- 0.020 ± 0.001	+ 0.039 ± 0.040	+ 0.073 ± 0.054	+ 0.106 ± 0.023	+ 0.034 ± 0.033	+ 0.043 ± 0.001	- 0.043 ± 0.015
YE3	+ 0.011 ± 0.011	+ 0.260 ± 0.016**	+ 0.272 ± 0.037*	- 0.305 ± 0.035**	+ 0.087 ± 0.001*	+ 0.099 ± 0.010*	+ 0.098 ± 0.037	+ 0.090 ± 0.002*
YE4	+ 0.013 ± 0.035	+ 0.029 ± 0.012	+ 0.163 ± 0.010*	+ 0.157 ± 0.004*	+ 0.095 ± 0.015	+ 0.078 ± 0.008	+ 0.247 ± 0.003**	- 0.007 ± 0.004
YE5	- 0.104 ± 0.026	- 0.092 ± 0.007	- 0.074 ± 0.022	+ 0.018 ± 0.033	+ 0.055 ± 0.010	- 0.033 ± 0.003	- 0.101 ± 0.015	- 0.144 ± 0.025*
YE6	- 0.097 ± 0.006**	- 0.029 ± 0.025	- 0.034 ± 0.020	+ 0.009 ± 0.002	+ 0.027 ± 0.006	+ 0.007 ± 0.028	- 0.047 ± 0.016	- 0.123 ± 0.040*
YE7	- 0.076 ± 0.007	- 0.021 ± 0.039	- 0.031 ± 0	+ 0.079 ± 0.008	+ 0.038 ± 0.053	+ 0.026 ± 0.043	- 0.019 ± 0.027	- 0.097 ± 0.015

2.2 乳酸菌 LC5 发酵过程中活菌数的变化趋势



LC5(YE4).MRS 液体培养基中添加 YE4 代谢物作为实验组

1; LC5(0).MRS 液体培养基中添加生理盐水作为对照组

1; LC5&YE4.LC5 和 YE4 在脱脂乳培养基中的混合培

养作为实验组 2, LC5.LC5 纯培养作为对照组 2。

图1 乳酸菌 LC5 在 MRS 液体培养基与脱脂乳培养基中的生长曲线

Fig.1 Growth curves of LAB LC5 in MRS and skim milk medium

图1为乳酸菌 LC5 在两种培养基中发酵过程中的活菌数变化曲线。4~32h 间 LC5 在实验组 1 的活菌数大于其在对照组 1 的活菌数, 且 4~16h 两组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 20~28h 两组间差异表现为极显著 ($P < 0.01$), 32h 和 36h 采样点组间差异显著 ($P < 0.05$)。20h 采样点, 实验组 1 和对照组 1 中 LC5 的活菌数均达到最大, 分别为 2.0×10^8 CFU/mL 和 1.8×10^8 CFU/mL。

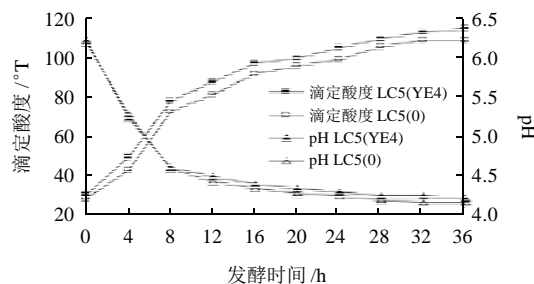
由于前 12h 为利于 YE4 的生长条件, LC5 在实验组 2 的活菌数低于其在对照组 2 的活菌数, 两组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 第 12 小时转放到 LC5 最适生长环境, LC5 继续迅速生长, 且 16~36h 实验组 2 LC5 的活菌数大于其在对照组 2 的活菌数, 16~20h 两组间差异极显著 ($P < 0.01$), 20h 实验组 2 LC5 的活菌数达到最大为 2.34×10^9 CFU/mL, 20~24h LC5 活菌数降幅较大, 之后基本保持稳定, 而对照组 2 LC5 的活菌数 20h 达最大为 1.58×10^9 CFU/mL, 之后持续下降, 24~28h 两组间差异显著 ($P < 0.05$), 32~36h 两组间差异极显著 ($P < 0.01$)。

综合分析两种培养基中 LC5 的生长曲线, 酵母菌 YE4 的代谢物对乳酸菌 LC5 的生长起到了促进作用, 20h 后乳酸菌受代谢物如乳酸的抑制, 其生长量下降, 两个实验组较对照组降幅稍缓。

2.3 乳酸菌 LC5 发酵过程中 pH 值和滴定酸度的变化趋势

由图2可见, 乳酸菌 LC5 的 pH 值在前 8h 降幅较大, 8h 后的降幅趋缓, 发酵过程中实验组与对照组差异不显著 ($P > 0.05$), 36h 时, 实验组与对照组的 pH 值达到最低, 分别为 4.13、4.19; 而滴定酸度在前 20h 上升迅速, 20h 后趋缓, 8~36h 实验组较对照

组高, 且差异显著 ($P < 0.05$), 36h 时分别达到 114°T 和 108°T 。



LC5(YE4).MRS 液体培养基中添加 YE4 代谢物作为实验组

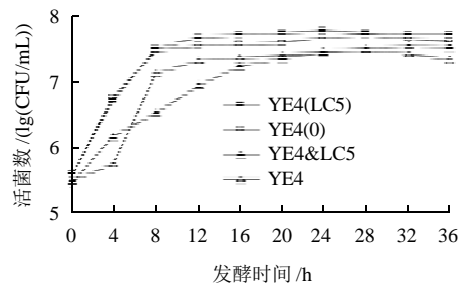
组; LC5(0).MRS 液体培养基中添加生理盐水作为对照组。

图2 LC5 在 MRS 液体培养基中 pH 值及酸度的变化

Fig.2 Changes of pH value and titratable acidity of LAB LC5 in MRS medium

由于发酵液中包含电离和未电离有机酸, 而 pH 值大小取决于发酵液中 H^+ 的浓度, 发酵液的缓冲作用使得两组间 pH 值差异不大, 而滴定酸度测定过程中酸碱中和, 使得有机酸不断电离出 H^+ , 表明酵母菌 YE4 对乳酸菌 LC5 有机酸的生成量有促进作用。

2.4 酵母菌 YE4 发酵过程中活菌数的变化趋势



YE4(LC5).YEPD 液体培养基中添加 LC5 代谢物作为实验组

1; YE4(0).YEPD 液体培养基中添加生理盐水作为对

照组 1; YE4&LC5.YE4 和 LC5 在脱脂乳培养基中的混合

培养作为实验组 2; YE4.YE4 纯培养作为其对照组 2。

图3 酵母菌 YE4 在 YEPD 液体培养基与脱脂乳培养基中的生长曲线

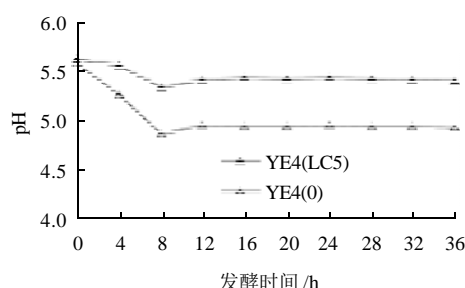
Fig.3 Growth curves of yeast YE4 in YEPD and skim milk medium

图3为酵母菌 YE4 在两种培养基中发酵过程中的活菌数变化曲线, YE4 在实验组 1 中前 12h 增长迅速, 12h 后增长缓慢, 在第 24 小时达到最大, 为 4.5×10^7 CFU/mL; 而在对照组 1 为前 8h 增长迅速, 8h 后增长缓慢, 在第 28 小时活菌数为最大, 达 3.8×10^7 CFU/mL。12~24h 之间酵母菌 YE4 在实验组 1 的活菌数多于其在对照组 1 的活菌数, 且两组间差异表现为极显著 ($P < 0.01$)。0~36h 间 YE4 在实验组 2 的活菌数呈持续上升趋势, 36h 达 3.3×10^7 CFU/mL; 对照组 2 YE4 在前 16h 增长迅速, 16h

后增长缓慢,在第28小时活菌数最大为 3.03×10^7 CFU/mL。实验组2前8h为利于LC5的生长条件,第8小时将其转放到2中YE4最适生长环境,8~16h实验组2 YE4的活菌数低于其在对照组的活菌数,两组间差异极显著($P < 0.01$),20~28h实验组2中与对照组2中YE4的活菌数无显著差异($P > 0.05$),28h实验组YE4的活菌数超过其在对照组2的活菌数,32h两组间差异显著($P < 0.05$),36h两组间差异极显著($P < 0.01$)。

综合分析YE4在两种培养基中的生长曲线,乳酸菌LC5的代谢物延长了酵母菌YE4的对数生长期,且延后了其衰亡期的到来,对酵母菌YE4的生长起到了促进作用。

2.5 酵母菌YE4发酵过程中pH值变化趋势



YE4(LC5). YEPD液体培养基中添加LC5代谢物实验组;

YE4(0). YEPD液体培养基中添加生理盐水作为对照组。

图4 酵母菌YE4在YEPD液体培养基中pH值的变化曲线

Fig.4 Changes of pH value of yeast YE4 in YEPD medium

由图4可见,各组pH值在前8h降幅迅速,8h后趋缓。8h采样点,实验组与对照组的pH值均达到最低,分别为5.32和4.85。4~36h实验组pH值大于对照组pH值,且组间差异极显著($P < 0.01$)。酵母菌YE4在生长过程中利用了部分乳酸菌LC5代谢产生的有机酸,使得发酵液pH值降低幅度减小,接近酵母菌最适生长pH值,促使酵母菌生长量增加。

3 结 论

3.1 在筛选过程中发现具有相互促进作用的乳酸菌和酵母菌为LC1和YE3, LC4和YE3, LC5和YE4,其中LC5和YE4交互添加代谢物后对各自的生长均表现为极显著的促进作用($P < 0.01$)。

3.2 将LC5和YE4在各自培养基中交互添加代谢物进一步研究二者的共生作用, YE4的代谢物可促进LC5的生

长,对LC5发酵液的pH值没有影响,而使其滴定酸度增大; LC5的代谢物促进YE4的生长,使YE4发酵液pH值降低幅度减小,接近酵母菌最适生长pH值,促使酵母菌生长量增加。

3.3 将LC5和YE4共同接入脱脂乳培养基中培养,前12h为利于YE4的生长代谢条件,之后转放到LC5最适生长环境,与始终处于最适生长条件LC5纯培养物中LC5的活菌数进行比较,发现16h后前者中LC5活菌数大于其在后者中的活菌数;同理,前8h为利于LC5的生长代谢条件,之后转放到YE4最适生长环境,与始终处于最适生长条件YE4纯培养物中YE4的活菌数进行比较,发现28h后前者中YE4活菌数大于其在后者中的活菌数。

参考文献:

- [1] 关加怀. 马奶及酸马奶酒的医疗作用[J]. 中国畜产与食品, 1998(2): 87-88.
- [2] MARSHALL V M. Fermented milks and their future trends: I. Microbiological aspects[J]. Dairy Res, 1987, 54: 559-574.
- [3] ROOSTITA R, FLEET G H. Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition[J]. Food Microbiol, 1996, 31: 205-219.
- [4] DAVIDSON B E, HILLIER A J. Developing new starters for fermenting milk products[J]. Dairy Technol, 1995, 50: 6-9.
- [5] NIELSEN M S, FRISVAD J C, NIELSEN P V. Protection by fungal starters against growth and secondary metabolite production of fungal spoilers of cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 42: 91-99.
- [6] BROOME M C, THOMAS M P, HILLIER A J. The effect of linoleic acid on the growth and metabolisms of *Streptococcus lactis*[J]. Australian Journal of Dairy Technology, 1979, 34: 163-168.
- [7] ISHII S, KIKUCHI M, TAKAO S. Identification of compounds causing symbiotic growth of *Lactobacillus paracasei* subsp. Tolerans and *Kluyveromyces marxianus* var. lactis in chigo, Inner Mongolia, China[J]. Animal Science Journal, 1999, 70(2): 81-89.
- [8] SHIMIZU H, MIZUGUCHI T, TANAKA E, et al. Nisin production by a mixed-culture system consisting of *Lactococcus lactis* and *Kluyveromyces marxianus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(7): 3134-3141.
- [9] 贾盘兴, 蔡金科. 微生物遗传学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 408-409.
- [10] 周庆德. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 228-232.
- [11] 殷文政. 锡林郭勒牧区马奶酒生物活性动态的研究(一)[J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2002, 23(2): 14-21.
- [12] GB 6914 — 86 生鲜牛乳收购标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986.