新疆地区酸马奶中乳酸菌的生物多样性进行研究,以探明该地区酸马奶中乳酸菌的种类和特点。

材料与方法

材料

1.1 样品来源

中国新疆地区哈萨克族和蒙古族牧民家庭自酿传统发酵酸马奶样品采集。

1.2 培养基与试剂

1.2.1 培养液中培养

1.2.2 半固体培养

1.2.3 琼脂平板

1.3 参考菌株

1.3.1 Lactobacillus acidophilus ATCC4356

1.3.2 L. helveticus ATCC12278

1.3.3 L. delbrueckii subsp. bulgaricus JCM1002

1.3.4 MRS\[BL\]TPY

Boehringer Mannheim Diaminopimelic acid\[DAP\]

Sigma

1.4 试剂盒

1.4.1 乳酸旋光试剂盒

1.4.2 乳酸酶

1.4.3 过氧化氢酶

1.4.4 二氨基庚二酸

1.4.5 放线菌酮和硫酸粘菌素

1.4.6 乳酸旋光性测定

1.4.7 冰乙酸

2 结果与分析

2.1 乳酸菌的分离及纯化

2.2 乳酸菌的鉴定

2.3 乳酸菌的生理生化试验

2.4 糖发酵试验

研究表明,内蒙古酸马奶中优势乳酸菌为L. delbrueckii subsp. bulgaricus,其次为L. helveticus。从文献中找到与其特征描述相一致的菌株名称外,其余菌属未在文献中查到。

在不同采样点的酸马奶中均有乳酸菌存在,且其数量与采样点之间菌群的种类有较大差异。除L. helveticus外,酸马奶中还分离到L. plantarum和L. casei。

研究认为内蒙古酸马奶中优势乳酸菌为L. delbrueckii subsp. bulgaricus,其次为L. helveticus。从文献中找到与其特征描述相一致的菌株名称外,其余菌属未在文献中查到。
表

### 中国新疆地区酸马奶中乳杆菌的生理生化试验和糖发酵试验结果

<table>
<thead>
<tr>
<th>菌株类群</th>
<th>葡萄糖产气</th>
<th>苹果酸产气</th>
<th>明胶液化</th>
<th>生长</th>
<th>$\text{NaCl}$</th>
<th>pH3.5</th>
<th>pH4.5</th>
<th>pH9.0</th>
<th>耐热性</th>
<th>DAP</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td><em>L.</em></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>2/78</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
</tr>
<tr>
<td>4/28</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
</tr>
<tr>
<td>9/13</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
</tr>
<tr>
<td>4/28</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
</tr>
<tr>
<td>4/28</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
<td>0/1</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**菌群特征**

### 葡萄糖产气

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 苹果酸产气

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 明胶液化

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 生长

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### $\text{NaCl}$

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### pH3.5

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### pH4.5

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### pH9.0

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 耐热性

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### DAP

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 菌株特征

- *L.* 2/78
- *L.* 4/28
- *L.* 9/13

### 注

菌株类群：不确定菌株；分子为呈现阳性反应的菌株数量，分母为该类群菌株数量。
制作方法、发酵温度及发酵时间息息相关。

注: 有所区别。自然发酵酸马奶中乳酸菌的多样性与过程中产生的乳酸也相应较多,例如前一研究测定的乳酸菌种类及数量。

新疆地区酸马奶平均酸度为 0.17,乳酸菌分离株总数,于不同地区分离菌株总数,及乳酸菌实验方法,分类鉴定方法无法准确判断其归属,有待进一步研究。

乳酸菌分类鉴定及实验方法

<table>
<thead>
<tr>
<th>分类</th>
<th>B</th>
<th>C</th>
<th>D</th>
<th>E</th>
<th>F</th>
<th>Σ, %</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>L. helveticus</td>
<td>16</td>
<td>27</td>
<td>18</td>
<td>7</td>
<td>10</td>
<td>78</td>
</tr>
<tr>
<td>L. acidophilus</td>
<td>3</td>
<td>5</td>
<td>2</td>
<td>7</td>
<td>11</td>
<td>28</td>
</tr>
<tr>
<td>L. casei subsp.</td>
<td>2</td>
<td>4</td>
<td>2</td>
<td>5</td>
<td>–</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>pseudoplanatarum</td>
<td>–</td>
<td>3</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>4.6</td>
</tr>
<tr>
<td>L. gasseri</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>2</td>
<td>–</td>
<td>4.6</td>
</tr>
<tr>
<td>L. casei subsp. casei</td>
<td>3</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>L. curvatus</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>L. corynformis subsp.</td>
<td>–</td>
<td>2</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1.3</td>
</tr>
<tr>
<td>corynformis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>3</td>
<td>3</td>
<td>2.3</td>
</tr>
<tr>
<td>L. sanfrancisco</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. brevis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. plantrum</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. homohiechilli</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. fermentum</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. delbrueckii subsp.</td>
<td>2</td>
<td>1</td>
<td>1</td>
<td>3</td>
<td>1</td>
<td>8.3</td>
</tr>
<tr>
<td>bulgaricus</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>1</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. ruminis</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. crispatus</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. farciminis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. hilgardii</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>Σ</td>
<td>28</td>
<td>45</td>
<td>24</td>
<td>27</td>
<td>28</td>
<td>152</td>
</tr>
</tbody>
</table>

新疆不同地区酸马奶中的乳酸菌种类和数量的分离结果中得到证实。新疆地区的酸马奶中乳糖含量较高,为 0.17。乳酸菌的分离株数量及鉴定结果。

不同类群菌株数,及乳酸菌分类方法无法准确判断其归属,有待进一步研究。

乳酸菌分离株数量及鉴定结果

<table>
<thead>
<tr>
<th>分类</th>
<th>B</th>
<th>C</th>
<th>D</th>
<th>E</th>
<th>F</th>
<th>Σ, %</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>L. helveticus</td>
<td>16</td>
<td>27</td>
<td>18</td>
<td>7</td>
<td>10</td>
<td>78</td>
</tr>
<tr>
<td>L. acidophilus</td>
<td>3</td>
<td>5</td>
<td>2</td>
<td>7</td>
<td>11</td>
<td>28</td>
</tr>
<tr>
<td>L. casei subsp.</td>
<td>2</td>
<td>4</td>
<td>2</td>
<td>5</td>
<td>–</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>pseudoplanatarum</td>
<td>–</td>
<td>3</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>4.6</td>
</tr>
<tr>
<td>L. gasseri</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>2</td>
<td>–</td>
<td>4.6</td>
</tr>
<tr>
<td>L. casei subsp. casei</td>
<td>3</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>L. curvatus</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>L. corynformis subsp.</td>
<td>–</td>
<td>2</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1.3</td>
</tr>
<tr>
<td>corynformis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>3</td>
<td>3</td>
<td>2.3</td>
</tr>
<tr>
<td>L. sanfrancisco</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. brevis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. plantrum</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. homohiechilli</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. fermentum</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. delbrueckii subsp.</td>
<td>2</td>
<td>1</td>
<td>1</td>
<td>3</td>
<td>1</td>
<td>8.3</td>
</tr>
<tr>
<td>bulgaricus</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>1</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. ruminis</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. crispatus</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. farciminis</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>L. hilgardii</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>–</td>
<td>1</td>
<td>–</td>
<td>0.7</td>
</tr>
<tr>
<td>Σ</td>
<td>28</td>
<td>45</td>
<td>24</td>
<td>27</td>
<td>28</td>
<td>152</td>
</tr>
</tbody>
</table>

6%～7%的新疆传统发酵酸马奶中共分离出乳酸菌分离株,新疆地区的乳酸菌分离株数量及鉴定结果。

乳酸菌实验方法,分类鉴定方法无法准确判断其归属,有待进一步研究。