

具有共生关系的乳酸菌和酵母菌的筛选

郭倩茹, 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:对分离自酸马奶酒中的9株乳酸菌和8株酵母菌存在共生作用的菌株进行筛选。分别于各自培养基中加入相应的代谢产物,以等量的生理盐水作为对照,测定其稳定期的浊度值和干重值。结果表明:乳酸菌的代谢产物促进的酵母菌生长有12个组合,而接近一半的酵母菌代谢产物对乳酸菌有促进作用。有7个组合的乳酸菌和酵母菌存在共生作用。结论是7个共生组合分别是:LAB2YST4、LAB4YST2、LAB5YST2、LAB7YST2、LAB7YST4、LAB8YST2、LAB9YST2。7个组合中酵母菌YST2和除LAB2外其余的乳酸菌均存在不同程度的共生,共生原因还待进一步研究。

关键词:乳酸菌,酵母菌,代谢产物,筛选,共生

Screening on the symbiotic lactic acid bacteria and yeasts

GUO Qian-ru, HE Yin-feng*

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

Abstract: Nine strains of lactic acid bacteria and eight strains of the yeasts isolated from koumiss had been screened to select the symbiotic strains. Metabolites were added to the culture mediums with the addition of the same amount of saline as control groups. Turbidity values and dry weight values were measured in the stationary phase. There were twelve combinations that the metabolites of lactic acid bacteria promoted the yeasts growth. Nearly half of the yeasts metabolites promoted the growth of lactic acid bacteria. Seven combinations showed there were a symbiotic relationship between the yeasts and lactic acid bacteria. In a conclusion, the symbiotic combinations were LAB2YST4, LAB4YST2, LAB5YST2, LAB7YST2, LAB7YST4, LAB8YST2, LAB9YST2 respectively. Among them, YST2 and other lactic acid bacteria had showed different levels of the symbiotic relationship between each other except LAB2. The symbiotic reasons needed further study.

Key words: lactic acid bacterium; yeast; metabolite; screening; symbiosis

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)02-0203-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.02.035

微生物的共生现象最早由德国的真菌学家 Heinrich Anton De Bary 于 1879 年首次发现^[1]。自然联系的共生可能出现在几个零星的菌落中,这些菌落基于特殊的信号分子(群体感应)或是有粘着因子如蛋白质或多糖(生物被膜)的共生体。这些联系基于不同分子间相互作用,如理化环境的适应(pH的改变)、营养的相互作用(有机体得益于所共生的有机体的代谢因子)、不同有机体代谢物的交换导致其中一方不能独自代谢(共生代谢)、蛋白的分泌、基因的转移等^[2]。

在已有研究中, SUDUN 等从艾日格中筛选出典型的有共生关系的乳酸菌和酵母菌,通过探究复原脱脂乳代谢产物的变化反映出酵母菌促进乳酸菌的生长^[3]。Pablo 在关于发酵奶中的酵母菌和乳酸菌的相互作用实验中,将乳酸菌和酵母菌进行纯种培养和混合培养,表明大多数的共培养的组合中乳酸菌

和酵母菌存在相互作用^[4]。王洪志利用混合发酵和纯种发酵探究了乳酸菌的加入对酵母菌生长及对风味物质的影响,表明乳酸菌的加入可以提高酵母菌的活菌数并且能够改善产品风味^[5]。

但已有研究中,大都是以纯种培养作对照,将乳酸菌和酵母菌混合培养观察二者是否有共生关系。由于微生物之间的相互作用较难分析,尤其是不同菌群的微生物。基于此判断微生物之间相互作用可添加一方的代谢产物测定另一方微生物的生长情况。本实验采用交互添加代谢产物的方法通过测定浊度值和干重值对具有潜在共生作用的乳酸菌和酵母菌进行筛选。实验筛选出具有典型共生作用的菌株为进一步研究代谢产物的促生机制及菌株间的共生理理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验所用菌株为8株酵母菌和9株乳酸菌 由内蒙古农业大学的内蒙古传统发酵乳制品中乳酸菌和酵母菌共生理理课题组提供,其中酵母菌编号为: YST1厚壁孢酵母属、YST2厚壁孢酵母属、YST3酒香酵母属、YST4厚壁孢酵母属、YST5酒香酵母属、YST6

收稿日期: 2014-05-26

作者简介: 郭倩茹(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品生物技术。

* 通讯作者: 贺银凤(1960-),女,博士研究生,教授,研究方向:食品生物技术。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31060222)。

娄德酵母属、YST7毕赤氏酵母属、YST8酒香酵母属, 乳酸菌编号为: LAB1乳酸链球菌、LAB2粪肠球菌、LAB3耐久肠球菌、LAB4粪肠球菌、LAB5乳酸片球菌、LAB6粪肠球菌、LAB7植物乳杆菌、LAB8旧金山乳杆菌、LAB9干酪乳杆菌; 实验用MRS培养基及YEPD培养基 按文献[6]配制。

SW-CJ-2D双人单面垂直净化工作台 苏州苏净有限公司; HZQ-C气浴恒温振荡器 常州诺基仪器有限公司; 电热鼓风干燥箱、电热恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司; LRH系列生化培养箱 上海一恒科技有限公司; PHS-25数显酸度计 中国雷磁分析仪器厂; HQ-60-II 漩涡混合器 北京北方同正生物技术发展有限公司; OHAUS EX623电子天平 奥豪斯仪器(上海)有限公司; TOMY SX-500高压灭菌锅 日本TOMY公司; T6新悦-可见光分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; TG16-WS台式高速离心机 湖南湘仪离心机有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种的活化与保藏 乳酸菌于MRS液体培养基37℃静置培养24h为活化一代, 活化三代备用。酵母菌于YEPD液体培养基30℃振荡培养30h为活化一代, 活化三代备用。将活化好的乳酸菌和酵母菌置于实验室自制含有1%谷氨酸钠的脱脂乳-80℃保藏。

1.2.2 制备代谢产物 按文献[7]制备。方法如下: 将活化好的乳酸菌于MRS培养基37℃静置培养50h。将发酵液离心得到上清液, 并过滤除菌。调节乳酸菌代谢产物的pH至5.5±0.2。将活化好的酵母菌于YEPD培养基30℃振荡培养70h。将发酵液离心得到上清液, 并过滤除菌。调节酵母菌的代谢产物pH至6.5±0.2。

1.2.3 添加代谢产物的乳酸菌/酵母菌的培养 将30%的酵母代谢产物添加到MRS液体培养基中作为实验组, 同时添加等量的pH为6.5±0.2的生理盐水至MRS液体培养基作为对照组。MRS培养基接入2%的乳酸菌, 37℃静置培养20h, 测其浊度值及干重值。将30%的乳酸代谢产物添加到YEPD液体培养基中作为实验组, 同时添加等量的pH为5.5±0.2的生理盐水至YEPD液体培养基作为对照组。YEPD培养基接入2%的酵母菌, 30℃振荡培养30h, 测其浊度值及干重值。

1.3 浊度值和干重值测定

1.3.1 浊度值 实验测定600nm的吸光光度OD值。通过实验组和对照组的OD的差值可以得到: 若OD差值为正, 则实验组高于对照组为促进作用, 若OD差值为负, 则实验组低于对照组为抑制作用。

1.3.2 干重值 干燥的空离心管称重标记。整个过程发酵液以4000r/min速度离心20min。整个实验离心2次, 生理盐水冲洗1次。离心管中菌泥于电热鼓风干燥箱105℃烘干4h^[8]。用m表示质量则计算公式: m菌泥=m烘干后-m离心管, 通过实验组和对照组的干重的差值可以得到: 若干重差值为正, 则实验组高于对照组为促进作用, 若干重差值为负, 则实验组低于对照组为抑制作用。

1.4 数据统计与分析

实验的每个处理做两个平行样, 两次重复。数据采用SPSS软件11.0版本, 在显著水平为0.05和0.01下进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响

表1是测定浊度值反映的乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响。由表1可知, 有6株乳酸菌的代谢产物对YST1的生长有促进作用。LAB2的代谢产物对前4株菌有促进作用。LAB3的代谢物对YST2、YST5的促进作用极为显著($p<0.01$)。LAB4的代谢产物促进了前6株酵母菌的生长。LAB5的代谢产物对YST1、YST2有促进作用。LAB6代谢产物对所有的酵母菌都有抑制作用。LAB7的代谢产物对YST4的促进作用显著($p<0.05$), 对YST2、YST7的促进作用极显著($p<0.01$)。LAB8对YST2的促进作用显著($p<0.05$)。LAB9仅对YST2有促进作用。

表1 乳酸菌代谢产物对酵母菌生长的影响(ΔOD_{600nm})
Table 1 Effect of lactic acid bacteria metabolites on the growth of yeast (ΔOD_{600nm})

酵母菌编号	乳酸菌编号		
	LAB1	LAB2	LAB3
YST1	+1.134±0.253	+2.626±2.457**	+0.372±0.009
YST2	+1.792±0.021**	+0.078±0.019	+0.819±0.007**
YST3	+0.662±0.019**	+3.556±0.064**	-1.964±0.003**
YST4	+1.226±0.006**	+4.268±0.006**	+0.109±0.084
YST5	+0.046±0.021	-1.441±0.053**	+0.439±0.010**
YST6	+0.373±0.135**	-1.448±0.002**	-1.644±0.074**
YST7	-0.006±0.058	-1.389±0.004**	-0.795±0.123**
YST8	+0.479±0.048	-1.222±0.014**	-0.198±0.125**
	LAB4	LAB5	LAB6
YST1	+0.683±0.038	+0.253±0.425	-0.639±0.615
YST2	+0.839±0.453**	+0.065±0.207	-0.150±0.002
YST3	+0.414±0.064**	-1.244±0.176**	-1.369±0.005**
YST4	+2.993±0.015**	-2.366±0.035**	-0.684±0.025**
YST5	+2.833±0.089**	-1.273±0.007**	-1.586±0.004**
YST6	+2.098±0.069**	-1.056±0.005**	-0.909±0.025**
YST7	-0.420±0.051**	-0.461±0.173**	-1.455±0.017**
YST8	-0.818±1.020**	-0.813±0.102**	-0.195±0.059
	LAB7	LAB8	LAB9
YST1	+0.221±0.004	-0.348±0.020	-0.711±0.015
YST2	+0.668±0.000**	+0.256±0.022*	+0.225±0.077*
YST3	-2.652±0.008**	-1.566±0.001**	-2.269±0.151**
YST4	+0.249±0.013*	+0.029±0.310	-0.054±0.017
YST5	-2.471±0.068**	-1.330±0.008**	-1.771±0.059**
YST6	-1.928±0.170**	-1.601±0.128**	-1.416±0.026**
YST7	+0.993±0.001**	-1.216±0.043**	-1.413±0.008**
YST8	+0.038±0.004	-0.907±0.059*	-0.748±0.208*

注: -, 抑制; +, 促进; *, 差异显著($p<0.05$); **, 差异极显著($p<0.01$); 表2~表4同。

表2是培养酵母菌的过程中添加乳酸菌代谢产

物以生理盐水作对照测得的干重值。除LAB1和LAB2外,其余的乳酸菌代谢产物菌对YST2均有促进作用。LAB2的代谢物对YST4有促进作用。LAB3的代谢物均促进前5株酵母菌的生长。LAB4代谢产物对YST2和YST6促进作用极显著($p < 0.01$)。LAB5代谢产物对YST2、YST6、YST7促进作用极显著($p < 0.01$)。LAB6代谢产物对一半的酵母菌有抑制作用。LAB7代谢产物对YST2、YST4、YST5、YST6有促进作用。LAB8代谢产物对YST2、YST3、YST5、YST6有促进作用。LAB9代谢产物对YST2有显著的促进作用($p < 0.05$)。

表2 乳酸菌代谢物对酵母菌生长的影响(干重)
Table 2 Effect of lactic acid bacteria metabolites on the growth yeast (Δm_d)

酵母菌 编号	乳酸菌编号		
	LAB1	LAB2	LAB3
YST1	-0.369±0.027*	-0.748±0.027**	+0.142±0.160
YST2	-1.452±0.053**	-0.922±0.000**	+0.442±0.054*
YST3	-0.663±0.054**	-1.193±0.054**	+0.492±0.187**
YST4	-0.038±0.054	+0.170±0.027	+0.436±0.027*
YST5	-2.336±0.161**	-2.431±0.080**	+0.372±0.027
YST6	-1.465±0.054**	-1.143±0.027**	-0.953±0.027**
YST7	-0.739±0.295**	-0.227±0.000	-0.303±0.054*
YST8	-1.686±0.107*	-1.458±0.054	-0.284±1.661
	LAB4	LAB5	LAB6
YST1	-0.009±0.054	-0.691±0.160**	-0.464±0.107*
YST2	+0.840±0.134**	+1.104±0.027**	+0.650±0.027**
YST3	-0.378±0.027*	-0.417±0.134*	+1.250±0.187**
YST4	-0.549±0.080**	-0.284±0.241	-0.038±0.054
YST5	-0.101±0.107	-1.219±0.027*	+0.997±0.268*
YST6	+0.960±0.054**	+0.827±0.027**	+2.058±0.054**
YST7	-0.208±0.027	+0.492±0.054**	-0.436±0.080
YST8	+1.118±0.054	+0.152±0.080	-0.701±0.107
	LAB7	LAB8	LAB9
YST1	-0.729±0.054**	-0.862±0.080**	+0.085±0.348
YST2	+0.347±0.027	+0.366±0.053	+0.461±0.026*
YST3	-0.189±0.054	+2.140±0.054**	+0.284±0.054
YST4	+0.114±0.054	-0.152±0.321	-0.152±0.054
YST5	+1.206±0.027*	+0.827±0.080	-1.219±0.080*
YST6	+2.266±0.080**	+2.493±0.133**	-0.953±0.080**
YST7	-0.398±0.027**	-0.133±0.027	-0.758±0.054**
YST8	-0.985±0.027	-0.587±0.054	-1.080±0.054

综合表1、表2的数据分析结果,在72组乳酸菌代谢物和酵母菌共培养的实验中有12组乳酸菌代谢产物促进酵母菌的生长。分别是:LAB2YST4、LAB3YST1、LAB3YST2、LAB4YST6、LAB3YST4、LAB3YST5、LAB4YST2、LAB5YST2、LAB7YST2、LAB7YST4、LAB8YST2、LAB9YST2,其中LAB4代谢物对YST2、YST6促进作用极显著($p < 0.01$)。

2.2 酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响

表3显示酵母菌的代谢产物对乳酸菌生长影响的浊度值。YST2、YST4的代谢产物对所有的乳酸菌

均有促进作用。YST3代谢产物对除LAB5、LAB7、LAB9, YST7的代谢产物对除LAB2和LAB6均有促进作用。YST5对LAB1、LAB2、LAB9有促进作用。YST6对LAB1、LAB2、LAB3、LAB9促进作用极显著($p < 0.01$)。YST8代谢产物对LAB1和LAB8有促进作用。

表4是酵母菌代谢产物对乳酸菌生长的影响实验测得的干重值。横向比较,所有的酵母菌的代谢产物均在不同程度上促进了LAB1、LAB2、LAB4、LAB5、LAB7这5株乳酸菌的生长。纵向比较, YST2、YST4、YST6、YST8的代谢产物对除LAB3外的乳酸菌,均有促进作用。YST3的代谢产物对所有的乳酸菌均有促进作用。YST5代谢产物促进了除LAB6外其余乳酸菌的生长。YST7代谢产物促进了LAB1、LAB2、LAB4、LAB5、LAB6、LAB7的生长。

综合表3、表4, YST2、YST4的代谢产物促进除LAB3的乳酸菌的生长, YST3的代谢产物促进除LAB5、LAB7、LAB9乳酸菌的生长。YST5、YST6代谢产物均对LAB1、LAB2、LAB9有促进作用。YST7代谢产物对LAB1、LAB4、LAB5、LAB7有促进作用。YST8代谢产物对LAB1、LAB8有促进作用。在72对组合中,有34组酵母菌的代谢产物促进了乳酸菌的生长,酵母菌代谢产物促进乳酸菌生长的百分率达47.2%。

综合表1~表4乳酸菌和酵母菌存在共生关系的组合有7个。其中LAB2、LAB7均和YST4共生。LAB4、LAB5、LAB7、LAB8、LAB9均和YST2共生。

3 讨论

在已有的研究中对于乳酸菌和酵母菌共生的原因尚不明确。其中对于乳酸菌促进酵母菌生长的原因Marshall认为一些乳酸菌释放半乳糖,利于不能利用乳糖的酵母菌的生长^[9]。Cheirsilp等发现牛乳中混合培养乳酸菌和酵母菌,乳酸菌将乳糖分解成乳糖和半乳糖,而这些糖类利于酵母菌生长^[10]。Katakura等发现在酸性条件下,酵母菌的甘露糖蛋白与乳酸菌有关,这种蛋白能引起乳酸菌对酵母菌的黏附^[11]。这为二者共生提供了有利的条件。而对于酵母菌促进乳酸菌生长的解释原因较为普遍的解释是酵母菌能够利用乳酸菌产生的乳酸,降低了环境中的pH,减少了大量积累的乳酸,利于乳酸菌的生长。Cheirsilp等研究发现马乳酒乳杆菌和酿酒酵母混合培养显著提高了马乳酒胞外多糖的产量。排除酵母菌引起乳酸量减少带来的影响,酵母菌代谢产物不是促进乳酸菌的生长原因,而是细胞内容物促进了乳酸菌的生长^[10,12]。Roostita等认为乳酸菌所需要的营养物质均可由酵母菌刺激产生。如酵母菌刺激乳酸菌合成维生素,或者酵母菌产生的氨基酸能被乳酸菌所利用^[13]。这和SUDUN等的研究结果一致^[3]。Jasmin等研究发现水开菲尔中的酵母菌和乳酸菌共培养中,酵母菌释放了精氨酸和维生素B₆,促进了乳酸菌的生长^[14]。Pablo则认为乳酸菌和酵母菌共生的原因是共培养过程中产生了有机酸,这些酸能被乳酸菌/酵母菌利用^[4]。本研究利用代谢产物筛选出具有共生作用组合,尽可能把影响微生物之间相互影响因素减少。在筛选出组合中发现YST2和大部分的乳酸菌共生,今

表3 酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响(ΔOD_{600nm})Table 3 Effect of yeast metabolites on the growth of lactic acid bacteria (ΔOD_{600nm})

乳酸菌编号	酵母菌编号			
	YST1	YST2	YST3	YST4
LAB1	-1.444±0.014**	+0.786±0.145*	+3.319±0.046**	+1.751±0.007**
LAB2	-0.197±0.008	+0.313±0.198	+1.327±0.047**	+1.262±0.050**
LAB3	-1.891±0.004**	+0.897±0.017	+0.883±0.141	+1.182±0.551*
LAB4	-2.149±0.005**	+0.874±0.047*	+0.991±0.017*	+1.065±0.011*
LAB5	-1.103±0.140**	+0.217±0.046	-2.984±0.006**	+0.992±0.063**
LAB6	-2.346±0.021**	+0.597±0.003	+0.493±0.389	+0.781±0.025*
LAB7	-2.544±0.018**	+0.597±0.148	-1.381±0.015*	+0.731±0.049
LAB8	-1.024±0.009	+1.531±0.408*	+0.651±0.844*	+2.681±0.034
LAB9	-0.868±0.052	+0.110±0.224	-0.848±0.023	+0.104±0.030
	YST5	YST6	YST7	YST8
LAB1	+0.314±0.021	+2.220±0.427**	+2.253±0.103**	+0.579±0.649
LAB2	+0.247±0.709	+3.314±0.372**	-2.772±0.319**	-0.067±0.171
LAB3	-3.870±0.029**	+2.515±0.057**	+0.735±0.025	-0.118±0.102
LAB4	-0.017±0.042	-1.937±0.008**	+0.640±0.056	-0.059±0.008
LAB5	-0.245±0.047	-2.522±0.017	+0.016±0.033	-0.806±0.051*
LAB6	-3.976±0.005**	-2.164±0.039**	-0.089±0.042	-0.611±0.017*
LAB7	-2.361±0.070**	-0.596±0.007	+0.537±0.021	-0.453±0.072
LAB8	-1.091±0.485	-2.432±0.031**	+0.704±0.034	+0.443±0.047
LAB9	+1.716±0.068**	+1.629±0.132**	+0.113±0.025	-0.275±0.047

表4 酵母菌代谢物对乳酸菌生长的影响(干重)

Table 4 Effect of yeast metabolites on the growth of lactic acid bacteria (Δm_d)

乳酸菌编号	酵母菌编号			
	YST1	YST2	YST3	YST4
LAB1	+0.303±0.054**	+0.474±0.027**	+0.492±0.054**	+0.492±0.054**
LAB2	0±0.027	+0.038±0.027	+0.152±0.027	+0.436±0.375*
LAB3	+0.114±0.054	-0.114±0.054	+0.398±0.187	-0.057±0.027
LAB4	+0.474±0.053**	+0.189±0.080**	+0.114±0.027	+0.057±0.027
LAB5	+0.265±0.054*	+0.398±0.080**	+0.208±0.027	+0.303±0.054*
LAB6	+0.454±0.054	+0.359±0.027	+0.284±0.070	+0.947±0.107**
LAB7	+0.189±0.027**	+0.133±0.054*	+0.398±0.054**	+0.152±0.027*
LAB8	+0.076±0.027	+0.398±0.053**	+0.341±0.187*	+0.473±0.160**
LAB9	+0.455±0.027**	+1.193±0.027**	+0.082±0.107**	+0.492±0.027**
	YST5	YST6	YST7	YST8
LAB1	+0.625±0.027**	+0.700±0.027**	+0.474±0.027**	+0.644±0.054**
LAB2	+0.417±0.187*	+0.360±0.054*	+0.095±0.053	+0.379±0.027*
LAB3	+0.189±0.107	-0.473±0.723	-0.057±0.027	-0.095±0.027
LAB4	+0.038±0.027	+0.436±0.054**	+0.189±0.027**	+0.454±0.080**
LAB5	+0.322±0.080*	+0.322±0.027*	+0.075±0.054	+0.530±0.054*
LAB6	-0.379±0.161	+0.341±0.214	+0.511±0.027*	+0.663±0.080*
LAB7	+0.227±0.080**	+0.246±0.054**	+0.019±0.054	+0.379±0.027
LAB8	+0.038±0.027	+0.436±0.054**	-0.019±0.054	+0.208±0.160
LAB9	+0.549±0.053**	+0.739±0.107**	-0.492±0.188**	+0.455±0.080

后需要进一步分析YST2代谢产物的成分及其对乳酸菌生长的影响,找出二者共生的原因及影响机理。

4 结论

筛选具有共生关系的乳酸菌和酵母菌的实验中,有12组乳酸菌代谢产物促进了酵母菌的生长,

而接近一半(47.2%)的酵母菌代谢产物均促进乳酸菌的生长。筛选实验中,有7个共生组合,分别是:LAB2YST4、LAB4YST2、LAB5YST2、LAB7YST2、LAB7YST4、LAB8YST2、LAB9YST2。在这7个组合里,

(下转第211页)

79.07%~97.18%，且其对羟自由基的清除效果与样品浓度之间存在明显的量效关系。

酶解液对超氧阴离子自由基有明显的清除作用。在0.2~0.6mg/mL的样品浓度范围内，超氧阴离子清除率在20.41%~34.57%，随样品浓度增大清除率升高的幅度较小；在0.6~1.0mg/mL的样品浓度范围内，超氧阴离子清除率从34.57%直线跃升至68.42%。说明高浓度的酶解液具有较强的超氧阴离子自由基清除能力。

酶解液对DPPH自由基清除率从样品浓度0.2mg/mL的79.07%升到1.0mg/mL的97.26%，存在明显的量效关系。

3 结论

以氨基氮含量及外观风味为指标，确定风味蛋白酶适用于企鹅珍珠贝肉的水解。经单因素和正交实验，得到风味蛋白酶的最佳水解条件为：加酶量0.8%、温度55℃、起始pH6.0、固液比1:1.0、酶解6h，产物氨基酸态氮含量为3.65g/100mL。从酶解液共检出17种氨基酸，其中组氨酸含量最高，占总氨基酸总量的32.15%。通过对酶解液抗氧化活性的检测，发现酶解液具有较强的抗氧化活性，且存在明显的量效关系。

参考文献

- [1] 王如才,王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛:中国海洋大学出版社,2008:209.
- [2] 侯小健. 我省企鹅珍珠贝附壳珍珠实现规模化生产[N]. 海南日报,2010-08-29(2).
- [3] 廖艳,吴晓萍. 企鹅珍珠贝肉营养液的研制[J]. 食品工业科技,2006,27(6):132-133.

(上接第206页)

YST2和除LAB2外其余乳酸菌均存在共生作用。

参考文献

- [1] De Bary, H A. Die erscheinung der symbiose[M]. Austria: K. J Trubner, 1879:8.
- [2] Frey-Klett P, Burlinson P, Deveau A, et al. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental and food microbiologists[J]. Microbiology and Molecular Biology, 2011, 4:583-609.
- [3] SUDUN, WULIJIDELIGEN, Kensuke A, et al. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in airag, an alcoholic fermented milk[J]. Animal Science Journal, 2013, 84:66-74.
- [4] Pablo A'lvarez-Marti'n, Ana Bele'n Flo'rez, Ana Herna'andez-Barranco, et al. Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentations[J]. Food Control, 2008, 19:62-70.
- [5] 王洪志. 奶啤生产中乳酸菌对酵母菌发酵作用的研究[J]. 中国酿造, 2009(6):134-136.
- [6] 刘慧. 现代食品微生物学实验技术[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2006:263-267.
- [7] 刘敏敏, 贺银凤. 酸马奶中具有潜在共生性乳酸菌和酵母菌的筛选[J]. 食品科学, 2011, 32(11):255-259.
- [8] Kimoto-nira H, Ohmori H, Suzuki C. Commensal symbiosis

[4] 廖艳, 蒋志红, 吴晓萍, 等. 企鹅珍珠贝肉的一般化学组成及镉的分布[J]. 食品科学, 2014, 35(2):201-204.

[5] 廖艳, 吴晓萍. 企鹅珍珠贝肉营养液的研制[J]. 食品工业科技, 2006, 27(6):132-133.

[6] 吴晓萍, 周春霞, 章超桦, 等. 企鹅珍珠贝全脏器的营养成分分析与评价[J]. 食品科学, 2007(7):385-388.

[7] 左光扬, 章超桦, 高加龙, 等. 企鹅珍珠贝肉酶解产物的制备及其醒酒作用的初步研究[A]. 中国水产学会. 渔业科技创新与发展方式转变—2011年中国水产学会学术年会论文摘要集[C]. 中国水产学会, 2011:1.

[8] 肖如武, 黄骆镰, 黄克, 等. 不同酶水解马氏珍珠贝蛋白的特性研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(7):725-730.

[9] Shon M Y, Choi S D, Kahng G G, et al. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions[J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(4):659-666.

[10] 肖军霞, 黄国清, 孙萍, 等. 牡蛎酶解液的美拉德反应及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2011, 36(4):211-214.

[11] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9):1231-1237.

[12] 刁石强, 李来好, 陈培基, 等. 马氏珍珠贝肉营养成分分析及评价[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版, 2000, 19(1):42-46.

[13] 何国庆, 丁立孝. 食品酶学[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.

[14] 王燕, 邓放明, 刘众, 等. 酶法提取克氏原螯虾头和虾壳的中蛋白质[J]. 食品科学, 2013, 34(12):1-5.

[15] 叶林奇. 组氨酸在蛋白质结构功能中的作用[J]. 涪陵师专学报, 2000, 16(4):74-76.

between a *Lactococcus lactis* strain and an *Enterococcus mundtii* strain increases cell yield in constituted broth[J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(11):6372-6378.

[9] Marshall V M E, Tamine A Y. Microbiology and chemistry of cheese and fermented milk[M]. London: Blackie Academic and Professional, 1997:153-192.

[10] CHEIRSILP B, SHIMIZU H, SHIOYA S. Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 100(1):43-53.

[11] Katakura Y, Sano R, Hashimoto T, et al. Lactic acid bacteria display on the cell surface cytosolic proteins that recognize yeast mannan[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 86:319-326.

[12] CHEIRSILP B, SHOJI H, SHIMIZU H, et al. Interactions between *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefir production[J]. JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING, 2003, 96(3):279-284.

[13] Roostita R, Fleet G H. The occurrence and growth of yeast in Camembert and blue-veined cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 28:293-404.

[14] Jasmin S, Anna G, Matthias A, et al. Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir[J]. Food Microbiology, 2013, 35:92-98.