

## 嗜热链球菌培养条件的研究

李锦子 行曙光 马杰

(河南省科学院生物研究所, 郑州 450003)

张勇

(郑州市种畜场, 郑州 450045)

**摘要** 将嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 在 6 种固体培养基及 7 种液体培养基中的生长情况进行了比较, 结果表明, 改良 IRIE 固体培养基上的溶钙圈大, 活菌数最多; 在 7 种液体培养基中亦以改良 IRIE 的 OD 值最高, 活菌最多, 达  $8 \times 10^8$  / ml 以上。以此培养基做生长曲线, 该菌的平衡期为 12~16h。

**关键词** 嗜热链球菌, 静止培养, 改良 IRIE 培养基

随着畜牧业中抗生素的大量应用, 牛乳中抗生素的残留已成为食品公害的问题之一。嗜热链球菌是 TTC 法检测牛乳中抗生素的指示菌, 又是酸奶生产特定菌, 它与保加利亚乳杆菌混合培养则能生产出芳香适口的酸奶。鉴于对此菌的报道很少, 我们着重对其培养条件进行研究, 同时对其生长曲线及酸度、pH 的变化进行了探讨, 取得了较为满意的结果。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 菌株

嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 由郑州市种畜场提供。

#### 1.2 固体培养基

BCP 培养基<sup>[1]</sup>: 用 1%CaCO<sub>3</sub> 替代 BCP, 其余未变; M<sub>17</sub> 培养基<sup>[2]</sup>; IRIE 培养基<sup>[3]</sup>; 改良 IRIE 培养基 (%): 胰胨 0.5, 酵母膏 0.25, 乳糖 1, 琥珀酸钠 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2, 琼脂 1.5, pH6.8±0.2; GYP 培养基<sup>[4]</sup>; 聚胨培养基<sup>[4]</sup>。

#### 1.3 液体培养基

YANO 培养基<sup>[5]</sup>; IRIE 培养基; 改良 IRIE 培养基 (%): 胰胨 1, 酵母膏 0.5, 乳糖 1, 琥珀酸钠 2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2, pH6.8±0.2; MRS 培养基<sup>[6]</sup>; GYP 培养基; 聚胨培养基; Rogoza 培养基<sup>[7]</sup>。

#### 1.4 培养方法

**1.4.1 固体培养:** 常规倾注法。将消毒好的 6 种固体培养基冷却至 45℃, 分别倒入加有菌液的平皿, 制成平板, 倒置于 37℃ 培养 72h, 观察菌落数和溶钙圈大小。

**1.4.2 液体培养:** 以 YANO 液体培养基为基础培养基, 分装于 18×180mm 试管, 接种后 37℃ 培养 16h, 继代二次, 分别接入 7 种液体培养基中。扩大培养使用 100ml 三角瓶, 装量 50ml, 接种量 1.7%, 37℃ 静置培养, 每 4h 检测一次。

#### 1.5 分析方法

OD 值测定: 721 型光电比色计,  $\lambda = 660\text{nm}$ 。

活菌数测定: 平板计数法。

酸度测定: 以 0.1mol/L NaOH 直接滴定, 结果以 °T 表示。

#### 1.6 主要试剂

聚蛋白胨 (日本制药株式会社); 胰蛋白胨 (Difco);  $\beta$ -甘油磷酸氢钠 (瑞典分装); 大豆蛋白胨 (E. Merk. Darmstadt)。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 不同固体培养基上嗜热链球菌生长情况

6种固体培养基每组6个,72h后溶钙圈的大小及活菌数检测结果见表1。

表1 不同固体培养基上嗜热链球菌生长情况

培养基	生长情况(h)			溶钙圈 (mm)	活菌数 (个/ml)
	24	48	72		
BCP	—	—	—	—	—
M17	—	—	+	1~2	$8.0 \times 10^7$
IRIE	+	+	+	2~3	$1.7 \times 10^9$
改良IRIE	—	+	+	1~3	$3.0 \times 10^9$
GYP	—	+	+	1~2	$2.8 \times 10^8$
聚脲	—	+	+	1~2	$1.1 \times 10^9$

注: +出现菌落, —无菌落出现

由表1可以看出,改良的IRIE平板培养基活菌数最多,溶钙圈较大,而IRIE培养基虽然24h出现菌落,溶钙圈也大,但溶钙圈的清晰度不及改良IRIE培养基。由此可见该菌对氮源的要求并不严格。此外,IRIE与改良IRIE均好于链球菌属的选择培养基M17。目前国内酶解大豆蛋白脲供应紧缺,且质量也不稳定,从原料来源考虑,采用改良IRIE培养基更为现实。

2.2 不同液体培养基中嗜热链球菌的数量比较

7种液体培养基测定OD值、酸度、pH值及活菌数的结果表明(表2):改良IRIE培养基的OD值和活菌数都明显高于IRIE培养基,而此时的酸度、pH值均未达到其极限值。MRS培养基的OD值高于改良IRIE培养基,

表2 16h不同液体培养基中嗜热链球菌生长情况

培养基	活菌数(个/ml)	OD值	酸度(°T)	pH值
YANO	$2.39 \times 10^8$	0.65	66.6	4.8
IRIE	$5.24 \times 10^8$	0.46	81.4	4.9
改良IRIE	$8.00 \times 10^8$	0.76	88.8	5.1
MRS	$1.20 \times 10^8$	0.77	125.8	4.0
聚脲	$3.00 \times 10^7$	0.46	59.2	3.8
Rogoza	$3.00 \times 10^8$	0.70	103.6	3.8
GYP	$4.00 \times 10^7$	0.46	51.8	4.0

活菌数为三个平板平均值

但活菌数却不及后者,这可能与其急增的酸度抑制细菌生长有关。

2.3 嗜热链球菌在改良IRIE培养液中生长情况

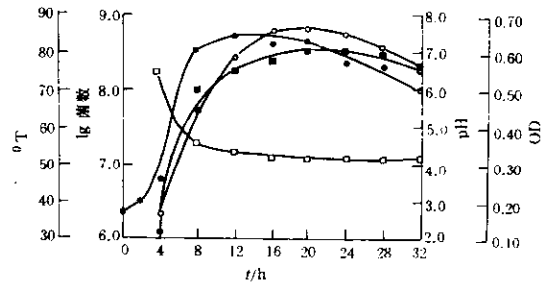


图1 嗜热链球菌在改良IRIE培养基中生长和

酸度变化

●: lg 菌数    ■: OD  
○: 酸度/°T    □: pH

为了解嗜热链球菌在改良IRIE培养液中生长过程,从而掌握发酵最适收获期,进行了生长曲线的测定,同时测定了酸度、pH值。由图1可看出,嗜热链球菌4h以后菌数急增,12h达到高峰,即进入对数生长末期。OD值4h开始急增,8h以后逐渐增加,24h达到高峰。酸度在20h以内,随着菌数的增殖而升高,之后开始下降。pH值在8h后处于平稳状态。这种环境意味着20h开始不利于球菌的生长,生长曲线亦呈下降趋势。综上所述,嗜热链球菌最佳培养基为改良IRIE培养基,最适收获期为12~16h。

参 考 文 献

- [1] Mckay L L, Baldwin K A, Zottola E A. Applied Microbiology, 1972, 23: 1090~1096.
- [2] Betty E T, Sandine W E. Applied Microbiology, 1975, 6: 807~813.
- [3] 入江良三郎, 森地敏树, 见坊 寛等. 農藝化学会誌, 1971, 45(9): 423~425.
- [4] 小崎道雄, 内村 泰, 冈田早苗. 乳酸菌実験マニュアル. 東京: 朝念書店, 1992, 15, 30.
- [5] 矢野信礼, 入江良三郎, 森地敏树等. 農藝化学会誌, 1962, 36: 747.

- [6] ML斯佩克主编, 何晓青, 孟昭赫, 吴光先译. 食品微生物  
检验方法提要. 北京: 人民出版社, 1982, 75.
- [7] 河合康雄, 下桥博隆. (日) 公開特許, 腸内細菌叢改善劑,  
昭 61-5022.

## STUDY ON CULTURE CONDITION OF *STREPTOCOCCUS* *THERMOPHILUS*

Li Jinzi Xing Shuguang Ma Jie

(Biology Institute of Henan Academy of Science, Zhengzhou 450003)

Zhang Yong

(Zhengzhou Stud Stock Farm, Zhengzhou 450045)

**Abstract** In this paper, the growth condition of *Streptococcus thermophilus* in six solid media and seven liquid media is compared. The result is that clearzone is the biggest and colony number is the most in the improved IRIE solid medium. Among seven liquid medium, the OD of *Str. thermophilus* is the highest and living number is the most too in the improved IRIE liquid medium. Living number attained to  $8 \times 10^8$  / ml. Using the improved IRIE liquid medium for testing growth curve of *Str. thermophilus*, its steady period is in 12~16h.

**Key words** *Streptococcus thermophilus*, Non-shaked culture, Improved IRIE medium.