6种常用低聚糖对嗜热链球菌体外生长的影响

夏晓凤[1,2]，王虎飞[1,2]，吴晓玉*[1,2]

（1. 江西农业大学 生物科学与工程学院，江西 南昌 330045；2. 南昌市发酵应用技术重点实验室，江西 南昌 330045）

摘要：为使低聚糖和嗜热链球菌在生产中能合理配伍使用，并为益生菌产品的开发提供理论依据，采用6种常用低聚糖分别替代M17培养基中部分或全部乳糖组分，以及添加不同浓度低聚糖到M17作为发酵培养基这两种方法，研究6种低聚糖对嗜热链球菌生长以及产酸性能的影响。结果表明，6种低聚糖替代乳糖可造成嗜热链球菌生长能力下降甚至停止生长，而在乳糖存在的情况下，添加低聚糖有利于菌株的生长及产酸。

关键词：低聚糖；嗜热链球菌；生长；乳酸；高效液相色谱

中图分类号：TS 24；TS 201　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1673—1689(2016)03—0310—08

Effects of Six Commonly Used Oligosaccharides on the Growth of *Streptococcus thermophilus in vitro*

XIA Xiaofeng[1,2]，*WANG Hufei*[1,2]，*WU Xiaoyu*[*1,2]

（1. School of Bioscience and Bioengineering，Jiangxi Agricultural University，Nanchang 330045，China；2. Nanchang Key Laboratory of Fermentation Application Technology，Nanchang 330045，China）

Abstract：The effect of six oligosaccharides on the growth of *Streptococcus thermophilus* and its capability of lactic acid production was investigated by two methods to provide a theoretical basis for the realization of the compatibility use of oligosaccharides and Streptococcus thermophilus for industry production and probiotic products development. One way is to partly or completely replace the lactose composition of M17 culture medium by six commonly used oligosaccharides. Another way is to add six oligosaccharides with various concentrations into M17 culture medium. Six oligosaccharides have been proved to cause a reduction in the growth of *Streptococcus thermophilus* or even cause growth stop if oligosaccharides completely replaced lactose，while the addition of oligosaccharides was conducive to the growth of *Streptococcus thermophilus* with the presence of lactose.

Keywords：oligosaccharide，*Streptococcus thermophilus*，growth，lactic acid，HPLC

嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)是乳酸菌的一种，是仅次于乳酸乳球菌的第二大重要的商业菌种[1]。它属于化能异养型微生物，不能合成多种有机化合物，必须从外界吸收多种小分子营养物质

收稿日期：2014-11-25

基金项目：农业部功能食品重点实验室开放基金项目(粤农科蚕加字【2012】9号)。

* **通信作者**：吴晓玉(1966—)，女，江西南昌人，工学博士，教授，主要从事微生物开发利用研究。E-mail：xywu166@163.com

才能较好实现自身的新陈代谢。*S. thermophilus* 之所以成为重要的商业菌种在于其发酵产生大量的有机酸(如乳酸、甲酸、乙酸)、醇、醛、酮和氨基酸等代谢物质,这些物质相互作用形成了发酵产品特有的风味[2-5],是主要的乳品发酵剂之一。*S. thermophilus* 以单一或复合制剂用于青贮饲料时,可以提高畜禽对饲料的利用率,促进畜禽生长,降低畜禽死亡率[6-7]。该菌可大量产生乳酸等有机酸,降低肠道 pH,抑制病原菌和肠内腐败菌的生长,激活宿主的巨噬细胞和免疫细胞,同时显著降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量[8]。另外,嗜热链球菌具有 β-乳糖酶,能缓解乳糖不耐受性,具有部分抑制肿瘤的能力[3]。

研究表明,功能性低聚糖具有多种生理功能,可通过促进肠道益生菌的生长和抑制病原菌的生长来调节肠道菌群平衡,降低血脂血压和血清胆固醇,促进营养物质(如矿物质)的消化吸收,增强机体免疫功能等[9]。低聚糖同时具有用量小、增殖效果显著等特性,故少许添加量就能达到良好的生理功能。目前广泛应用于食品、医药、保健品,以及饲料工业[10-11]。虽然低聚糖和嗜热链球菌对人体和动物均具有明显的益生作用,但至目前,就 6 种常用低聚糖对嗜热链球菌生长影响的研究少有报道。因此,本文拟阐述 6 种常用低聚糖对嗜热链球菌生长的影响,以期为低聚糖和嗜热链球菌在生产中的配伍使用以及益生菌产品的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 *Streptococcus thermophilus*(嗜热链球菌),购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.1.2 6 种低聚糖种类 低聚异麦芽糖(质量分数 99%)、低聚果糖(质量分数 99%)、低聚乳糖(质量分数 95%)、低聚半乳糖(质量分数 99%)、低聚木糖(质量分数 99%)和乳酮糖(质量分数 99%),购自河南金源生物科技有限公司。

1.1.3 培养基 M_{17} 培养基(改良培养基,g/L):胰蛋白胨 5,鱼蛋白胨 5,牛肉膏 5,酵母浸膏 2.5,抗坏血酸 0.5,硫酸镁 0.25,甘油 10,磷酸二氢钾 5,乳糖 3;pH 7.0。详见文献[12]。

1.2 方法

1.2.1 菌种母液的制备 取 5 支处于对数生长期的嗜热链球菌斜面,用 M17 培养基洗下,调节 A_{600}=1.000±0.050,待用。

1.2.2 低聚糖替代 M17 培养基的乳糖对 *S. thermophilus* 生长影响的测定 低聚糖分别按照 25%、50%、100%的替换量部分或完全替代基础培养基中的乳糖,制成替代培养基 A_1。取菌种母液(A_{600}=1.000±0.05)按体积分数 1%的接种量接种于培养基 A_1,42 ℃静置培养,分别取培养 4、12、24、36、48 h 菌液,测定各菌液中嗜热链球菌 A_{600} 值和 pH 值,每个处理设 3 个重复,并以接种于 M17 培养基和接种于不含乳糖组分的 M17 培养基的菌液为对照组。

1.2.3 M17 培养基中添加低聚糖对 *S. thermophilus* 生长影响的测定 低聚糖按照 0.05、0.1、0.25 g/dL 和 0.5 g/dL 4 种不同质量浓度添加到 M17 培养基中,制成添加培养基 A_2。取菌种母液(A_{600}=1.000±0.05)按体积分数 1%的接种量接种于培养基 A_2,42 ℃静置培养,分别取培养 4、12、24、36、48 h 菌液,测定各菌液中嗜热链球菌 A_{600} 值和 pH 值,每个处理设 3 个重复,并以接种于 M17 培养基的为对照组。

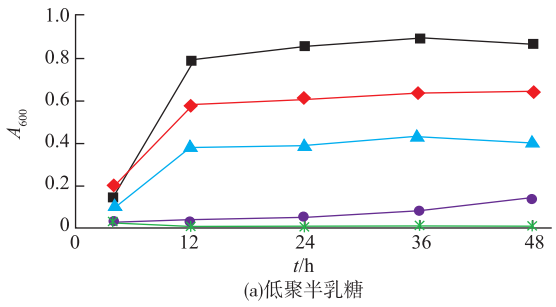
1.2.4 高效液相色谱法测定菌液中乳酸和乙酸含量 菌液前处理:取由实验 1.2.2 和 1.2.3 确定的对嗜热链球菌生长促进作用较好的最适低聚糖添加量,42 ℃静置培养,分别取培养 0、4、12、24、36、48 h 的菌液,离心,取上清液,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤两次,稀释 2.5 倍,待测。色谱条件:色谱柱 Aminex Hpx-87H 柱,流动相 0.002 mol/L H_2SO_4,体积流量 0.6 mL/min,柱温 35 ℃,检测波长 210 nm,进样量 15 μL。

2 结果与分析

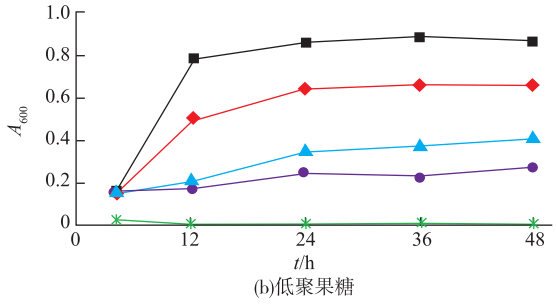
2.1 低聚糖替代 M17 培养基的乳糖组分对 *S. thermophilus* 生长的影响

2.1.1 6 种低聚糖对 *S. thermophilus* 生长量的影响 按照 1.2.2 研究低聚糖替代 M17 培养基的乳糖对 *S. thermophilus* 生长的影响,结果如图 1 所示:6 种低聚糖部分或完全取代乳糖时,*S. thermophiluss* 的生长量均有不同程度的降低,且均随着低聚糖替代乳糖比例的增大,生长量降低的幅度越大。其中低聚乳糖完全替代乳糖(100%替代乳糖)时,该菌生长量在整个生长过程中(0~48 h)没有变化,说明其生长被抑制,而低聚果糖、低聚半乳糖与低聚木糖完全

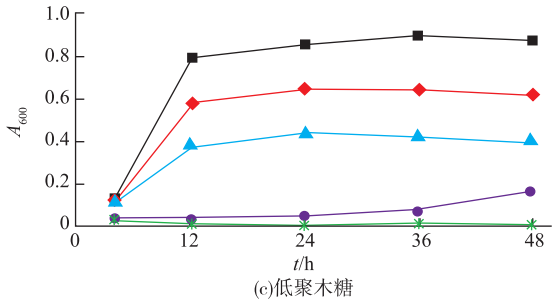
替代乳糖时,生长量变化迟缓,菌株生长缓慢。无糖组嗜热链球菌在整个培养过程中完全不生长。



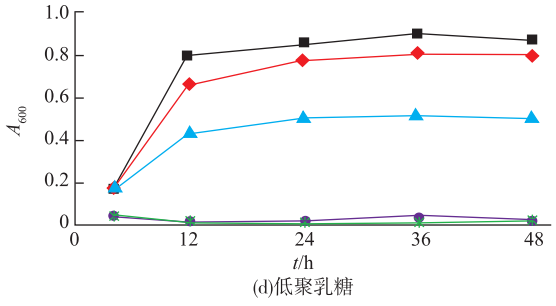
(a)低聚半乳糖



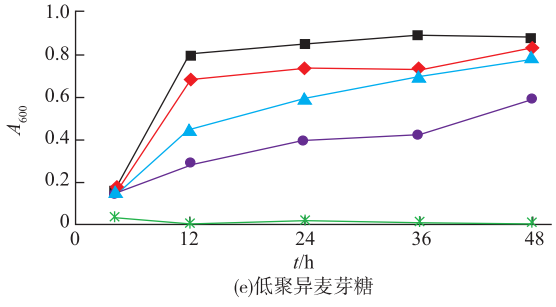
(b)低聚果糖



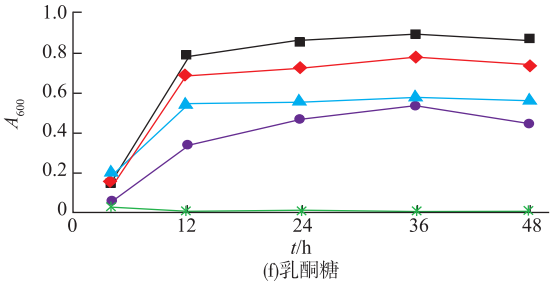
(c)低聚木糖



(d)低聚乳糖



(e)低聚异麦芽糖



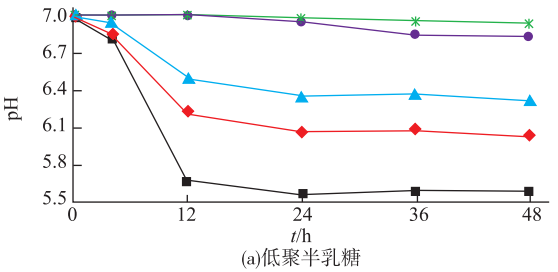
(f)乳酮糖

替换量:—■—0%,—◆—25%,—▲—50%,—●—100%,—✳—无糖组。

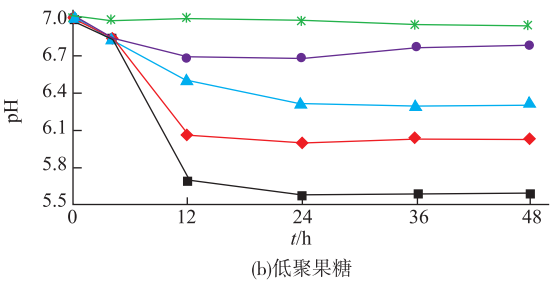
图 1　6 种低聚糖对嗜热链球菌菌液 A_{600} 值的影响（替代实验）

Fig. 1　Effects of six oligosaccharides on growth of *S. thermophiluss* (replacement test)

2.1.2　低聚糖替代 M17 培养基乳糖组分对 *S. thermophiluss* 发酵液 pH 值的影响　按照 1.2.2 测定培养 0、4、12、24、36、48 h 菌液的 pH 值，设置 M17 培养基的发酵液为对照组,见图 2。结果表明,低聚糖替代乳糖的比例越大，随培养时间的延长,发酵液 pH 下降幅度越小;尤其低聚乳糖、低聚半乳糖、低聚果糖以及低聚木糖在完全替代乳糖时,与初始 pH 值比较,培养 48 h 后 pH 下降幅度不明显。图 2 显示,发酵液 pH 值均在培养 12 h 时有一个转折点。培养 0~12 h 时,pH 值下降幅度较大,12 h 以后下降幅度减缓,pH 值变化不明显。与图 1 相比较，发酵液 pH 值的变化规律与菌量的变化规律存在相关性,表明菌量大小影响发酵液产酸量,从而影响 pH 值的变化。无糖组嗜热链球菌发酵液 pH 在整个培养过程中与初始 pH 相比几乎无变化。



(a)低聚半乳糖



(b)低聚果糖

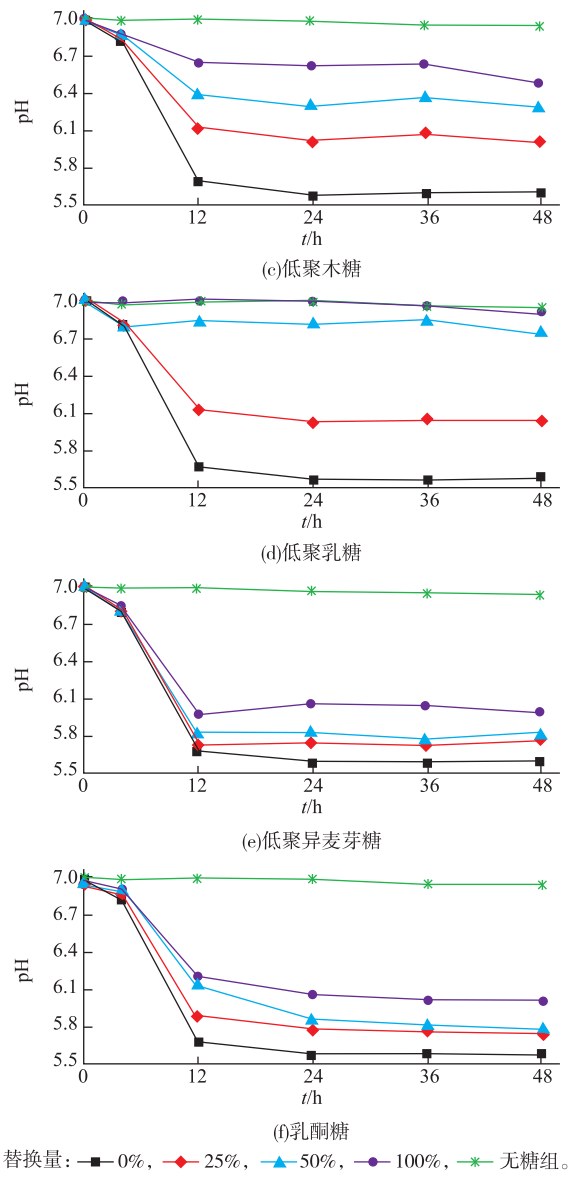
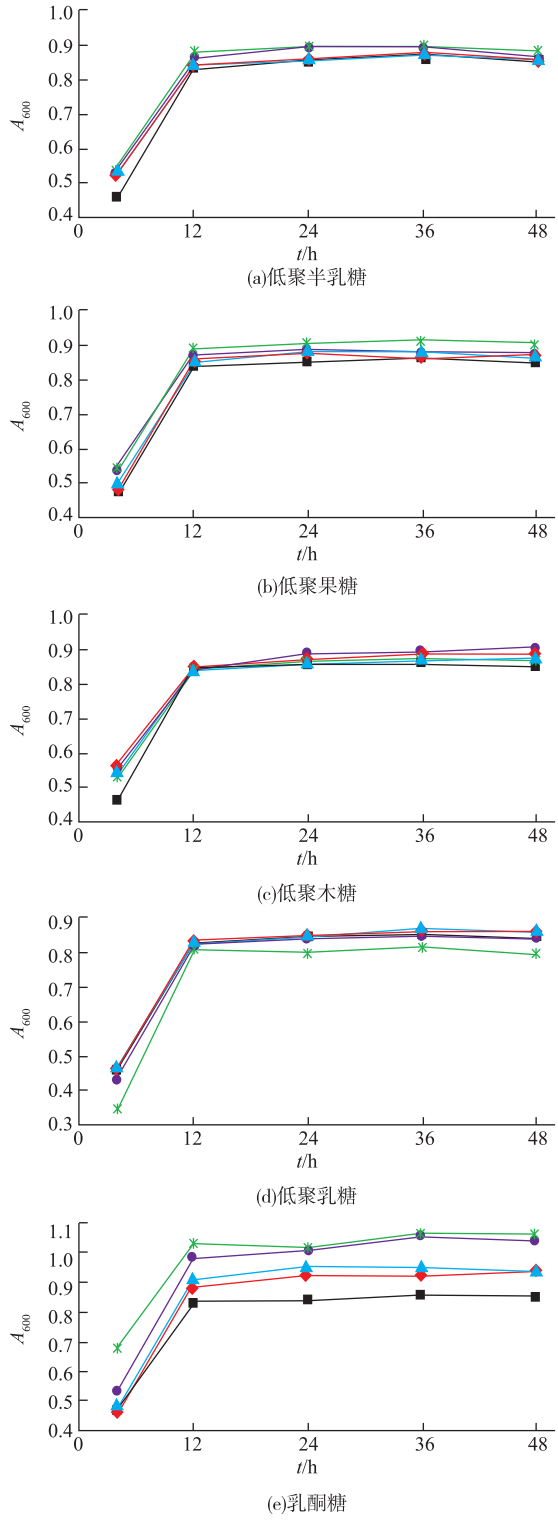


图 2　6 种低聚糖对嗜热链球菌菌液 pH 的影响(替代实验)

Fig. 2　Effects of six oligosaccharides on solution pH of *S. thermophiluss* (replacement test)

2.2　M17 培养基中添加低聚糖对 *S. thermophilus* 生长的影响

2.2.1　*低聚糖不同添加量对 S. thermophilus 生长量的影响*　按照 1.2.3，M17 培养基中添加低聚糖对 *S. thermophilus* 生长的影响如图 3 所示，结果表明，6 种低聚糖作为添加因子按照不同质量浓度添加到 M17 培养基时，*S. thermophilus* 的生长量均有不同程度的增加。其中，与对照组相比，低聚异麦芽糖、低聚果糖、低聚半乳糖和乳酮糖的添加量为 0.5 g/dL 时，*S. thermophilus* 的生长量增加幅度最大。而低聚乳糖和低聚木糖则分别在 0~0.1 g/dL 和 0~0.25 g/dL 内随着添加量的增大，*S. thermophilus* 的生长量增大，超过这个范围则生长迟缓。低聚乳糖最佳添加量为 0.1 g/dL，低聚木糖为 0.25 g/dL。



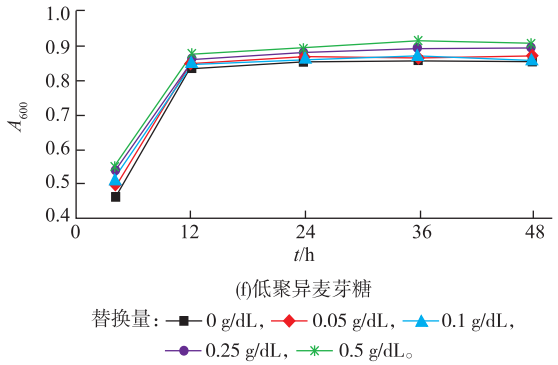
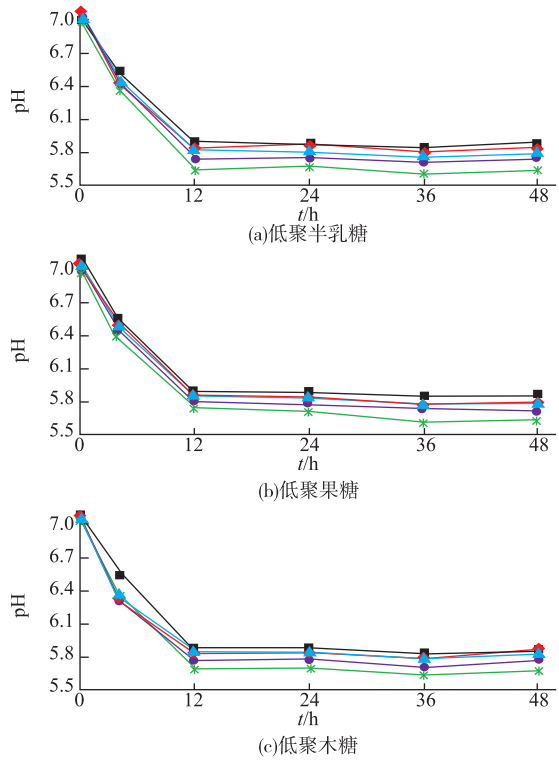


图 3　6 种低聚糖对嗜热链球菌菌液 A_{600} 值的影响(添加实验)

Fig. 3　Effects of six oligosaccharides on growth of *S. thermophiluss* (adding test)

2.2.2　低聚糖不同添加量对发酵液 pH 值的影响

按照 1.2.3 测定培养 0、4、12、24、36、48 h 菌液的 pH 值，设置 M17 培养基的发酵液为对照组，见图 4。结果表明，与对照组相比，实验组随着培养时间的延长，发酵液 pH 下降幅度增大。当低聚异麦芽糖、低聚果糖、低聚半乳糖和乳酮糖的添加量为 0.5 g/dL 时，*S. thermophilus* 的发酵液 pH 与初始 pH 相比有较大幅度下降。而低聚乳糖和低聚木糖则分别在 0~0.1 g/dL 和 0~0.25 g/dL 范围内随着添加量的增大，发酵液 pH 下降，这与图 3 菌量的变化规律一致。由图 4 可以看出，培养 12 h 以后 pH 变化不明显。



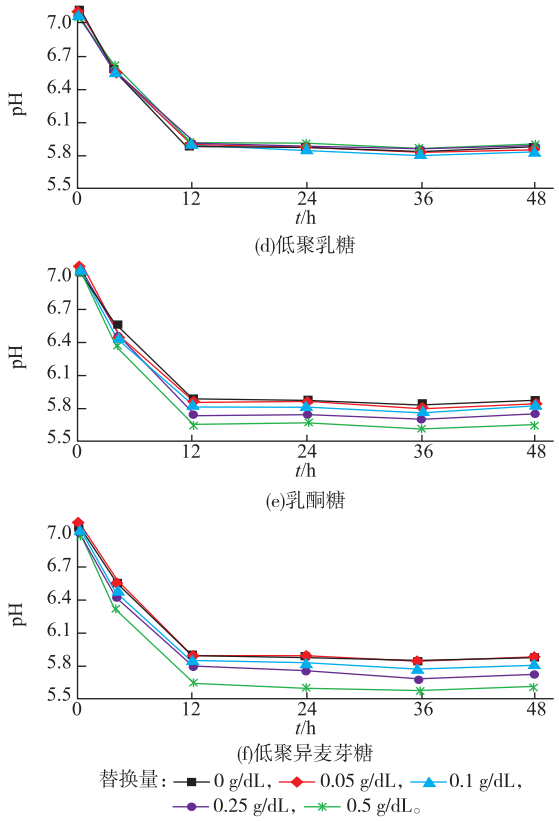


图 4　6 种低聚糖对嗜热链球菌菌液 pH 的影响(添加实验)

Fig. 4　Effects of six oligosaccharides on solution pH of S. thermophiluss (adding test)

2.3　添加低聚异麦芽糖和乳酮糖对发酵液乳酸和乙酸生成量的影响

革兰氏阳性乳酸菌不能合成细胞色素及卟啉，因而不能由电子传递链产生能量，只能通过两个主要发酵途径产生 ATP。在标准状态下为同型乳酸发酵，经 EMP 途径发酵己糖产生乳酸，同时也可进行异型乳酸发酵由 PK 途径形成乳酸、甲酸、乙酸(或乙醇)等产物[13]。由 2.1 和 2.2 试验可知，与其他低聚糖比较，添加量为 0.5 g/dL 的低聚异麦芽糖和乳酮糖对嗜热链球菌生长的促进最强，发酵液 pH 与初始 pH 相比有较大幅度下降。推测添加异麦芽糖及乳酮糖增强了其总体产乳酸及其他有机酸的能力。因此选用添加量 0.5 g/dL 的这两种低聚糖测定不同培养时间发酵液中乳酸和乙酸的生成量，比较低聚糖对菌株产乳酸及乙酸性能的影响，其测定结果见图 5、6。

在 M17 培养基中添加低聚异麦芽糖和乳酮糖后，菌株产乳酸和乙酸的能力均较对照组有不同程度的提高。其中添加低聚异麦芽糖的发酵液乳酸和

乙酸含量高于添加乳酮糖的。菌株产乳酸水平在 0~12 h 内呈直线上升,培养 12 h 达最大值,以后趋于稳定;而乙酸含量则在 0~36 h 时呈上升趋势,36 h 达最大值,之后,乙酸含量不断下降;且 3 个处理组均显示乙酸含量远低于乳酸含量,说明菌株主要通过同型乳酸发酵产生乳酸,使发酵液 pH 值下降。将图 5(a)与菌株生长量的增长及发酵液 pH 值变化趋势(图 3(e)(f);图 4(e)(f))相比较,其变化趋势相似度极高,均在 12 h 达到最大值,以后趋于稳定。推测菌株生长量的提高,造成发酵产乳酸总体能力增强,造成发酵液 pH 值下降。

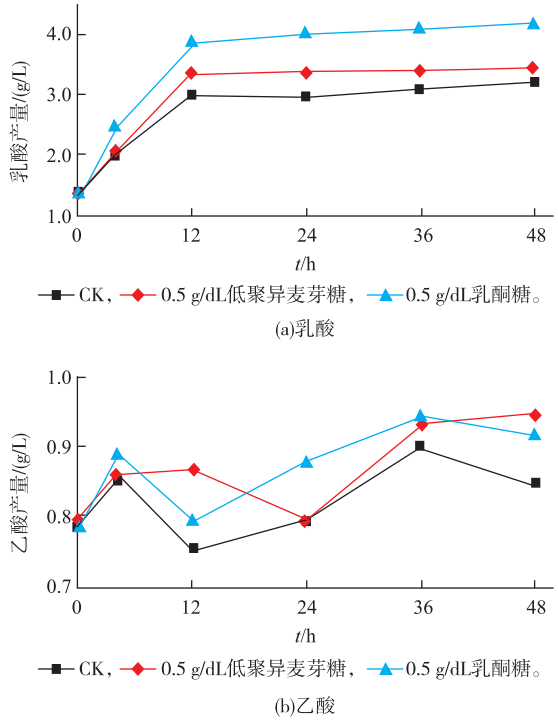
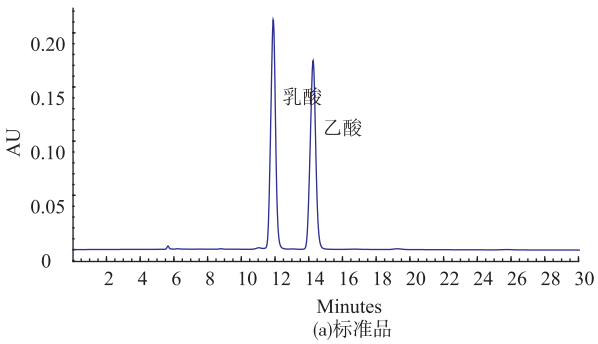


图 5　不同培养时间发酵液中乳酸和乙酸产量变化

Fig. 5　Changes of lactic acid and acetic acid content in the fermented solution within different culture time



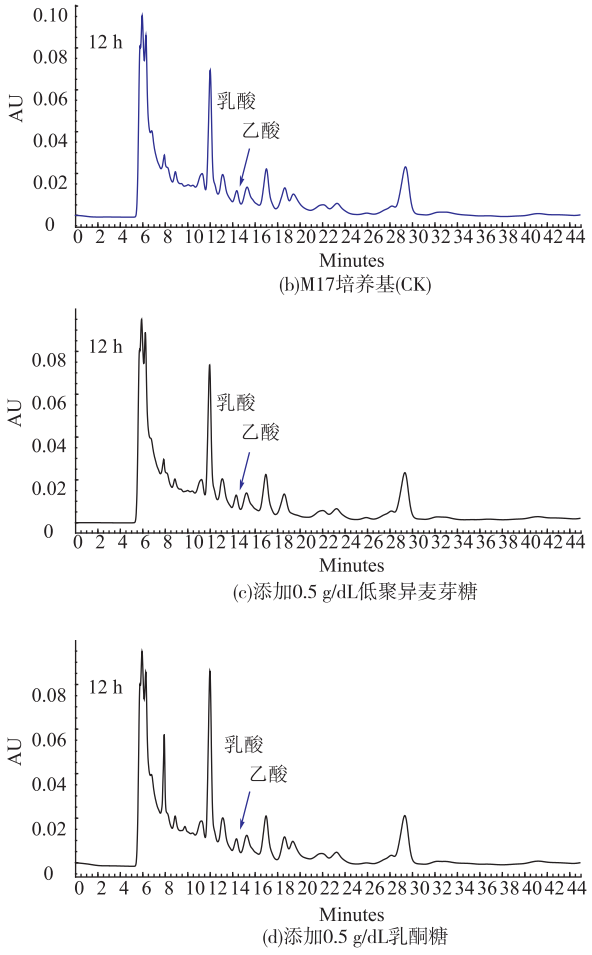


图 6　嗜热链球菌培养 12 h 发酵液的乳酸和乙酸色谱图

Fig. 6　Chromatogram of lactic acid and acetic acid from broth fermented for 12 h by *S.thermophilus*

3 讨　论

低聚糖又称寡糖,是由 2~10 个相同的或不同的单糖单位通过糖苷键聚合而成的直链或分支的一类低度聚合糖,其相对分子质量约为 300~2 000,分为普通低聚糖和功能性低聚糖两大类[14-16]。普通低聚糖(如蔗糖、麦芽糖、麦芽三糖、乳糖等)可以被机体消化吸收[17-18]。功能性低聚糖[19](如水苏糖、棉子糖、异麦芽酮糖、乳酮糖、低聚果糖、低聚木糖、低聚半乳糖、低聚乳果糖、低聚异麦芽糖和低聚异麦芽酮糖等)因在动物胃肠道没有水解这些糖类(除异麦芽酮糖之外)的酶系统,不被消化吸收而直接为益生菌所利用,因此可以作为益生菌的增殖因子[9,18,20-21]。

本课题的替代实验结果显示,当 M17 培养基中不含乳糖成分时,嗜热链球菌生长量及 pH 值变化趋于零,说明尽管培养基中存在其他可用碳源物

质,但该菌株在无乳糖条件下几乎不生长。当6种低聚糖(低聚异麦芽糖、低聚果糖、低聚乳糖、低聚半乳糖、低聚木糖和乳酮糖)以不同比率替代乳糖作为碳源时,随着替代量的增大,嗜热链球菌的生长量降低、产酸能力减弱,且均低于乳糖为碳源时;当完全替代乳糖,替代糖为低聚乳糖、低聚半乳糖以及低聚木糖时,菌株几乎不生长或生长极其缓慢。表明以上述6种低聚糖为碳源,不利于 *S. thermophilus* 的生长与产酸。由添加实验可以看出,6种低聚糖中低乳酮糖作为促生因子,可以有效促进嗜热链球菌的生长、增强产酸能力;其次为低聚异麦芽糖、低聚半乳糖及低聚果糖,而低聚木糖、低聚乳糖的促生长作用效果不明显。通过高效液相色谱测定发酵液中乳酸和乙酸含量进一步证实:伴随 *S. thermophilus* 生长量增加,其产乳酸能力提高,引起发酵液pH值下降,且发酵液乳酸含量在菌量达到最大值(发酵培养12 h)时也同时达到最大值并趋于稳定。

据资料显示,大部分 *S. thermophilus* 菌株没有分解淀粉和大分子碳水化合物的酶系,不能利用大分子物质作碳源,仅能利用葡萄糖、乳糖、蔗糖等单糖和一些寡糖为碳源[4,22]。其中乳糖作为碳源生长率最高,其次为蔗糖,再次为葡萄糖与果糖,且菌株生长率低至易被代谢的乳糖、蔗糖的数分之一[23-24]。菌株在对糖类的吸收利用过程中,磷酸烯醇式丙酮酸-糖磷酸转移酶系统(phosphoenolpyruvate-dependent sugar phosphotransferase system,简称PTS)是乳酸菌及其他细菌的主要糖吸收系统。但对于 *S. thermophilus*,蔗糖和果糖是唯一可以由PTS吸收利用的糖[25-26]。乳糖则通过专用渗透酶LacS(Lactose/H+同向转移或lactose / galactosetang交换)被吸收利用[27]。

4 结 语

根据本课题的实验结果,6种低聚糖替代乳糖作为碳源,不利于 *S. thermophilus* 的生长与产酸,而在培养基中添加少量低聚糖(0.05~0.5 g/dL),如乳酮糖、低聚异麦芽糖、低聚半乳糖等,对其生长与产酸有明显或少量促进作用,推测该特性与 *S. thermophilus* 吸收、转化、利用低聚糖的能力有关,其受制于低聚糖的结构特征。有关低聚糖结构与 *S. thermophilus* 吸收利用的关系,有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] Arioli S,Monnet C,Guglielmetti S,et al. Aspartate biosynthesis is essential for the growth of *Streptococcus thermophilus* in milk, and aspartate availability modulates the level of urease activity [J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2007,73(18):5789-5796.

[2] 康欢,郑遂,王伟,等. 4株嗜热链球菌产酸和产香力的比较与分析[J]. 食品科技,2013(1):13-17.
KANG Huan,ZHENG Sui,WANG Wei,et al. Comparison and analysis of ability to produce acid and aroma byfour *Streptococcus thermophilus*[J]. **Food Science and Technology**,2013(1):13-17.(in Chinese)

[3] 叶淑红,何连芳,张彧,等. 乳酸菌的发酵条件及其对发酵胡萝卜汁风味的影响[J]. 食品科学,2005,26(5):127-130.
YE Shuhong,HE Lianfang,Zhang Yu,et al. Study on lactobacillus fermentation conditions and effects on flavor of fermented carrot juice[J]. **Food Science**,2005,26(5):127-130.(in Chinese)

[4] 陈芳,靳亚平. 嗜热链球菌部分生物学特性研究[J]. 中国奶牛,2007(8):42-44.
CHEN Fang,JIN Yaping. Some biological characteristics study of Streptococcus thermophilus [J]. **China Dairy Cattle**,2007(8):42-44.(in Chinese)

[5] Ramya Iyer,Tomar S K,Uma Maheswari T. Streptococcus thermophilus strains:Multifunctional lactic acid bacteria [J]. **International Dairy Journal**,2010,20:133-141.

[6] 刘福柱,牛竹叶. 日粮中添加乳酸菌剂对雏鸡生长发育的影响[J]. 畜牧兽医杂志,1995,14(1):9-10.
LIU Fuzhu,NIU Zhuye. Effect of supplementing lactobacillus additives acid in diet on grouth and development of chick [J]. **Journal of Animal Science and Veterinary Medicine**,1995,14(1):9-10.(in Chinese)

[7] 穆新元,孙春秋. 新生仔猪口服乳酸菌效果观察[J]. 辽宁畜牧兽医,1999(6):8-9.
MU Xinyuan,SUN Chunqiu. Roles of lactic acid bacterium in newborn piglets by oral administration [J]. **Liaoning Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine**,1999(6):8-9.(in Chinese)

[8] Akalin A S,Gone S. Influence of yegurl and acidephilus yegurt on serum cholesteml levels in mice [J]. **J Dairy Sci**,1997,80:2721-2725.

[9] 安丽娜，周庆民，冯万宇，等. 低聚糖的生理作用及其在家畜生产中的应用[J]. 畜牧兽医科技信息，2011(6)：123.
AN Lina，ZHOU Qingmin，FENG Wanyu et al. Physiological functions of functional oligosaccharide application in livestock and poultry[J]. **Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine**，2011(6)：123.(in Chinese)
[10] 滕超，查沛娜，曲玲玉，等. 功能性寡糖研究及其在食品中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报，2014(1)：1.
TENG Chao，ZHA Peina，QU Lingyu，et al. Progress of research and application in food industry of functional oligosaccharides [J]. **Journal of Food Safety and Quality**，2014(1)：1.（in Chinese）
[11] 李丽丽，刘蕾，云婷婷，等. 低聚糖对双歧杆菌的增殖研究[J]. 广州化工，2013，41(5)：66-67.
LI Lili，LIU Lei，YUN Ting ting，et al. The research of proliferation on bifidobacterium byoligosaccharides [J]. **Guangzhou Chemical Industry**，2013，41(5)：66-67.(in Chinese)
[12] 曹文海，任国谱. 嗜热链球菌的检验培养基(M17)的改良[J]. 乳品加工，2006(1)：46-48.
CAO Wenhai，REN Guopu. Improvement of test medium（M17）for *Streptococcus thermophiles* [J]. **Dariy Industry**，2006(1)：46-48.(in Chinese)
[13] Khalid K. An overview of lactic acid bacteria[J]. **Int J Biosci**，2011，1(3)：1-13.
[14] 胥九兵，刘海玉，李克文，等. 高纯度功能性低聚糖的生产及应用[J]. 精细与专用化学品，2013(4)：7.
XU Jiubing，LIU Haiyu，LI Kewen，et al. Production and application of high purity functional oligosaccharides [J]. **Fine and Specialty Chemicals**，2013(4)：7.(in Chinese)
[15] 庞明利，琚争艳，杨海军. 功能性低聚糖在乳品行业中的应用进展[J]. 中国乳业，2010(12)：48-50.
PANG Mingli，JU Zhhengyan，YANG Haijun. The application of functional oligosaccharides on dairy industry[J]. **China Dairy**，2010(12)：48-50.(in Chinese)
[16] 单黎然，龚月桦，贾建光，等. 4 种重要功能性低聚糖的研究进展[J]. 西北农林科技大学学报：自然科学版，2006，34(7)：1.
SHAN Liran，GONG Yuehua，JIA Jianguang，et al. Research progress in 4 key functional oligosaccharides [J]. **Jour. of Northwest Sci-Tech Univ. of Agri. and For.：Nat. Sci. Ed.**，2006，34(7)：1.(in Chinese)
[17] 刘红梅，刘聚胜. 功能性低聚糖的研究及在食品中的应用现状[J]. 轻工科技，2012(4)：15-16.
LIU Hongmei，LIU Jusheng. Research progress and application in food of functional oligosaccharides [J]. **Light Industrial Science and Technology**，2012(4)：15-16.(in Chinese)
[18] 李金敏，张菊，张志焱，等. 功能性低聚糖对双歧杆菌的增殖作用研究现状及前景[J]. 饲料广角，2012(21)：19-20.
LI Jinmin，ZHANG ju，zhang Zhiyan，et al. Prospects and advanced study on proliferative effect of functional oligosaccharides on bifidobacteria[J]. **Feed China**，2012(21)：19-20.(in Chinese)
[19] 闵力，刘立恒，许兰娇，等. 功能性寡糖的研究进展[J]. 饲料研究，2012(9)：18-22.
MIN Li，LIU Liheng，XU Lanjiao，et al. Progress of study on functional oligosaccharides[J]. **Feed Research**，2012(9)：18-22.(in Chinese)
[20] 姜竹茂. 功能性低聚糖的发展及应用[J]. 食品安全导刊，2010(9)：58-60.
JIANG Maoheng. Development and applications of functional oligosaccharides [J]. **China Food Safety Magazine**，2010(9)：58-60.(in Chinese)
[21] 魏红军. 功能性低聚糖的生理功能及其在食品中的应用[J]. 农产品加工学刊，2011(9)：126-128.
WEI Hongjun. Physiologic functions and application in food of functional oligosaccharides [J]. **Academic Periodical of Farm Products Processing**，2011(9)：126-128.(in Chinese)
[22] 张兴昌. 嗜热链球菌高密度培养及冷冻保护的研究[D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学，2011.
[23] Poolman B，Royer T J，Mainzer S E，et al. Carbohydrate utilization in *Streptococcus thermophilus*：characterization of the genes for aldose 1-epimerase(mutarotase) and UDPglucose 4-epimerase[J]. **Journal of bacteriology**，1990，172(7)：4037-4047.
[24] van den Bogaard P T C，Kleerebezem M，Kuipers O P，et al. Control of lactose transport，β -galactosidase activity，and glycolysis by CcpA in Streptococcus thermophilus：evidence for carbon catabolite repression by a non-phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system sugar[J]. **Journal of Bacteriology**，2000，182(21)：5982-5989.
[25] de Vos W M，Vaughan E E. Genetics of lactose utilization in lactic acid bacteria [J]. **FEMS Microbiology Reviews**，1994，15(2)：217-237.
[26] Postma P W，Lengeler J W，Jacobson G R. Phosphoenolpyruvate：carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria [J]. **Microbiological Reviews**，1993，57(3)：543.
[27] Gunnewijk M G W，Poolman B. Phosphorylation state of HPr determines the level of expression and the extent of phosphorylation of the lactose transport protein of *Streptococcus thermophilus* [J]. **Journal of Biological Chemistry**，2000，275 (44)：34073-34079.