

新疆塔城牧区原料乳中酵母菌的分离鉴定

芦文娟, 李宝坤*, 卢士玲, 李开雄, 王晓雯, 杜紫萱

(石河子大学 食品学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 为研究新疆塔城牧区原料乳中酵母菌的分布情况, 从该地区采集了7份原料乳样品, 通过传统培养方法, 采取形态学、生理生化特性鉴定、5.8S rDNA 序列同源性分析相结合的方法, 分离得到33株酵母菌, 共鉴定出6个属8个种, 其中20株库德毕赤酵母 *Pichia kudriavzevii* (61%) 为优势菌株; 2株发酵毕赤酵母 *Pichia fermentans* (6%); 3株美极梅奇酵母 *Metschnikowia pulcherrima* (9%); 2株乳酸克鲁维酵母 *Kluyveromyces lactis* (6%); 2株马克思克鲁维酵母 *Kluyveromyces marxianus* (6%); 2株胶红酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* (6%); 1株葡萄有孢汉逊酵母 *Hanseniaspora uvarum* (3%); 1株单孢酿酒酵母 *Kazachstania unispora* (3%)。研究表明, 该地区原料乳中的酵母菌多样性较好, 有其独特的酵母菌资源, 这为研究本地区的微生物资源提供了基础资料。

关键词: 原料乳; 酵母菌; 分离鉴定

中图分类号: TS 252.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)12-1284-08

Separation and Identification of Yeast from Raw Milk in Tacheng of Xinjiang

LU Wenjuan, LI Baokun*, LU Shiling, LI Kaixiong, WANG Xiaowen, DU Zixuan

(Food College, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: To study the distribution of yeast in raw milk in pastoral areas of Tacheng, Xinjiang. Seven samples of raw milk were collected from the areas. Using the traditional culture-dependent method, the isolation yeasts were identified according to the colonial morphology, biological properties and 5.8S rDNA sequence homology analysis. A total of 8 species belonging to 6 genera were identified from 33 strains isolated from the isolates, which were 20 strains of *Pichia kudriavzevii* (61%) were the dominant strains, 2 strains *Pichia fermentans* (6%); 3 strains *Metschnikowia pulcherrima* (9%); 2 strains *Kluyveromyces lactis* (6%); 2 strain *Kluyveromyces marxianus* (6%); 2 strains *Rhodotorula mucilaginosa* (6%); 1 strain *Hanseniaspora uvarum* (3%); 1 strain *Kazachstania unispora* (3%). The study showed that the yeast diversity of raw milk in this region was good, and has its unique yeast resources. This provides the basic datas for the study of the microbial resources in this area.

Keywords: raw milk, yeast, isolation and identification

收稿日期: 2016-01-11

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(31460007; 31560444); 国家自然科学基金青年基金项目(31201395); 兵团博士基金专项项目(2014BB005)。

* 通信作者: 李宝坤(1979—), 男, 江苏丰县人, 工学博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事食品生物技术方面的研究。

E-mail: libaokun1998@163.com

引用本文: 芦文娟, 李宝坤, 卢士玲, 等. 新疆塔城牧区原料乳中酵母菌的分离鉴定[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(12): 1284-1291.

原料乳营养丰富,适宜人类食用,但其较高的水分含量和接近中性的 pH 值也非常适合细菌、酵母菌、霉菌等各种微生物的生长和繁殖^[1]。这些菌群有的可以使乳及乳制品产生理想风味,有的则会引起乳及乳制品的腐败变质,甚至使人类产生疾病^[2]。其中当属乳源酵母菌最为典型。

原料乳中的酵母菌是乳制品中酵母菌的主要来源之一,很多乳制品均以原料乳为原料加工而成,其中的酵母菌赋予了产品特殊风味和提高了产品的营养价值^[3]。20 世纪初,研究学者认为酵母菌仅作为一种腐败菌存在于原料乳中,使乳制品品质下降如出现产气、酵母味或其他异味、变色和引起质构变化等^[4-6],故对原料乳中的酵母菌研究较少。近年来,全球乳业迅速发展,科研人员把重点集中在酵母菌在乳制品中的有益作用方面,不断发现酵母菌作为附属发酵剂对乳制品风味的影响、抑制有害菌及对人体的益生作用^[7-8],如:预防和治疗急性痢疾、降低胆固醇、抗辐射和抗氧化等^[9]。因此,从原料乳中筛选出有益酵母菌,并应用于乳制品中具有重要意义。

然而各种自然环境的差异使得微生物资源存在差异,作者将首次对塔城周边游牧地区原料乳中的酵母菌进行研究,运用传统培养方法分离筛选酵母菌,并进行生理生化鉴定和 5.8S rDNA-ITS 分子生物学鉴定,对原料乳中酵母菌的分布和种类的多样性进行分析,为后人研究本地区原料乳中微生物菌群提供基础资料,并对后续筛选具有潜在益生功能的酵母菌株奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品来源 新疆塔城地区原料乳:采自新疆塔城喀拉也木勒、乌宗布拉克、二道桥牧场等地。

1.1.2 培养基 菌种的分离使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),纯化和保存使用酵母膏葡萄糖琼脂(YEPD)平板和斜面培养基。

鉴定使用 Gorodkova 琼脂培养基、氮源基础培养基、碳源基础培养基、糖发酵基础培养基、产酸基础培养基、产酯培养基、产类淀粉培养基。

1.1.3 主要试剂和仪器 酵母菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型),2xTaq PCR MasterMix;均由天根生化科技有限公司提供;GoldView 核酸染色剂;

引物 ITS1 和 ITS4;由上海生工生物技术有限公司合成。

主要仪器:超净工作台、电热恒温培养箱(DNP-9272)、高速冷冻离心机(5417R)、立式电热压力蒸汽灭菌锅(LD2X-30KA)、普通光学显微镜(OLYMPUS COVER-015)、PCR 扩增仪(TC-512)。

1.2 实验方法

1.2.1 酵母菌的分离与纯化 取 1 g 样品,溶于 9 mL 无菌水中,充分振荡使其混匀后置于 25 °C 培养箱,培养 1 h 后吸取 1 mL 接种于酵母浸出粉葡萄糖培养基(YPD)中进行活化,25 °C 培养 36 h。活化后菌株采取稀释法涂于 PDA 培养基进行分离,平板置于 25 °C 培养箱中培养,观察并记录菌落特征并挑取不同形态单菌落,进行简单染色,观察细胞形态,将类似酵母菌菌株接种于 PDA 培养基中培养,重复几次纯化酵母菌,直至镜检结果为同一细胞形态后,将其接种于 YEPD 斜面培养基上,25 °C 培养 36 h 后,4 °C 保存备用。

1.2.2 酵母菌的形态结构观察 将上述纯培养菌株接种于 PDA 培养基,25 °C 培养 36 h 后,挑选单个菌落观察其形状、色泽、光滑度、透明度、边缘整齐度和隆起程度等特征;并选择具有代表性的菌株,置于显微镜下观察其菌体形态。

1.2.3 酵母菌的理化性质鉴定 酵母菌分离株的生理生化特征主要是对其繁殖方式、子囊孢子、掷孢子、菌丝等进行观察,并通过糖发酵实验、碳源同化实验、氮源同化实验、类淀粉化合物生成实验、产酯实验、产酸实验等生理生化实验进行鉴定^[10-11]。

1.2.4 酵母菌的 5.8S rDNA 分析

1)酵母菌基因组 DNA 的提取:将上述纯化的酵母菌接种于 YPD 液体培养基中 25 °C 培养 36 h,取 1 mL 活化菌悬液,按照酵母菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)说明书上方法进行操作,将所提取的 DNA 于-20 °C 保存。

2)PCR 扩增(5.8S rDNA-ITS 片段扩增):将上述制备的基因组 DNA 作为 PCR 扩增的模板,使用引物 ITS 1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG G-3')和 ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3')^[12]对 5.8S-ITS 区域酵母菌 DNA 进行扩增;采用 50 μL 反应体系:DNA 模板 2 μL,ITS 1(10 μmol/L) 2 μL,ITS 4 (10 μmol/L)2 μL,2xTaq PCR MasterMix 25 μL,加 ddH₂O 补至 50 μL。

PCR 反应循环条件:95 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 30 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min, 循环次数 35 次;72 ℃延伸 10 min。

PCR 产物经 1%的琼脂糖凝胶检测。电泳后,用 GoldView 染色 20 min,紫外灯下观察,拍照。

3)扩增产物测序及系统发育分析:PCR 产物经电泳检测合格后,送往上海生工生物工程技术有限公司进行测序,测得的序列在 NCBI 数据库中进行同源序列搜索,从数据库获得相关种属的 5.8S rDNA 基因序列,采用软件 Mega5.0 中的 Neighbor-Joining 方法与标准菌株基因序列进行比对,进行 1 000 次 Bootstrap 检验后构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 酵母菌的分离结果

采用传统分离培养的方法,从采集的 7 份原料乳样品中,共得到 33 株酵母菌,结果见表 1。

2.2 酵母菌的形态鉴定结果

酵母菌在经 YEPD 培养基活化后,观察菌落形

态和在普通光学显微镜下观察细胞形态。酵母菌菌落形态呈圆形或椭圆形,乳白色或淡黄色,表面光滑或干燥,边缘整齐,表面凸起,呈现半透明状或不透明。细胞形态为圆、椭圆、卵圆等,繁殖方式多为无性繁殖,且无菌丝或有假菌丝,细胞形态符合酵母菌特征。酵母菌的菌落形态结果见表 2,细胞形态和繁殖方式见表 3。

表 1 采样点及分离酵母菌株编号
Table 1 Sample and Isolation of yeasts number

序号	采样点	酵母菌编号
1	二支河四队	1-1、1-2、1-3、1-4
2	二道桥牧场	2-1、2-2、2-3、2-4
3	二道桥牧场(2)	3-1、3-2、3-3、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8
4	齐巴吉尔选	4-1、4-2、4-3
5	二道桥固定牧场(1)	5-1、5-2、5-3、5-4、5-5、5-6
6	二道桥固定牧场(4)	6-1、6-2、6-3、6-4、6-5
7	喀拉也木勒	7-1、7-2、7-3

表 2 酵母菌的菌落形态结果
Table 2 Yeast colony morphology results

编号	菌落形态					
	形状	颜色	光滑度	边缘	透明度	隆起形状
1-1	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	高凸
1-2	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	扁平
1-3	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	低凸
1-4	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
2-1	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	高凸
2-2	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
2-3	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	低凸
2-4	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
3-1	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	低凸
3-2	圆	乳白色	干燥	整齐	不透明	低凸
3-3	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
3-4	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸
3-5	圆	淡红色	光滑	整齐	半透明	低凸
3-6	圆	淡红色	光滑	整齐	半透明	低凸
3-7	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸
3-8	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
4-1	圆	淡红色	光滑	整齐	半透明	低凸
4-2	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸
4-3	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸
5-1	圆	淡黄色	光滑	整齐	半透明	低凸

续表 2

编号	菌落形态					
	形状	颜色	光滑度	边缘	透明度	隆起形状
5-2	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
5-3	圆	淡粉色	光滑	整齐	不透明	低凸
5-4	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	低凸
5-5	圆	乳黄色	光滑	整齐	半透明	低凸
5-6	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸
6-1	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	低凸
6-2	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
6-3	圆	乳白色	干燥	整齐	不透明	隆起
6-4	圆	淡红色	光滑	整齐	半透明	隆起
6-5	圆	粉白色	光滑	整齐	不透明	低凸
7-1	圆	乳白色	光滑	整齐	半透明	低凸
7-2	圆	淡红色	光滑	整齐	不透明	低凸
7-3	圆	乳白色	光滑	整齐	不透明	高凸

表 3 酵母菌细胞形态和繁殖方式

编号	细胞形态		繁殖方式		
	形状	菌丝	无性繁殖	子囊孢子	掷孢子
1-1	腊肠形	有	芽殖	无	无
1-2	圆筒形	无	芽殖	有	无
1-3	腊肠形	无	芽殖	无	无
1-4	椭圆形	有	芽殖	无	无
2-1	腊肠形	有	芽殖	无	无
2-2	圆筒形	无	芽殖	有	无
2-3	腊肠形	无	芽殖	无	无
2-4	腊肠形	无	芽殖	无	无
3-1	圆筒形	无	芽殖	无	无
3-2	椭圆形	有	芽殖	无	无
3-3	椭圆形	无	芽殖	无	无
3-4	腊肠形	无	芽殖	无	无
3-5	圆形	无	芽殖	有	无
3-6	圆形	无	芽殖	无	无
3-7	圆筒形	无	芽殖	无	无
3-8	圆形	无	芽殖	无	无
4-1	椭圆形	无	芽殖	无	无
4-2	腊肠形	有	芽殖	有	无
4-3	椭圆形	无	芽殖	无	无
5-1	圆形	有	芽殖	无	无
5-2	圆形	无	芽殖	无	无
5-3	圆形	无	芽殖	无	无
5-4	椭圆形	无	芽殖	无	无
5-5	圆形	有	芽殖	有	无
5-6	椭圆形	有	芽殖	无	无

编号	细胞形态		繁殖方式		
	形状	菌丝	无性繁殖	子囊孢子	掷孢子
6-1	椭圆形	无	芽殖	无	无
6-2	椭圆形	无	芽殖	无	无
6-3	椭圆形	无	芽殖	无	无
6-4	圆形	无	芽殖	无	无
6-5	圆形	无	芽殖	无	无
7-1	椭圆形	无	芽殖	有	无
7-2	腊肠形	无	芽殖	无	无
7-3	椭圆形	无	芽殖	无	无

2.3 酵母菌的理化性质鉴定结果

依据《酵母菌的特征与鉴定手册》,对酵母菌进行鉴定,结果发现,大多数分离株均为芽殖,有些有假菌丝,在发酵实验中除葡萄糖发酵外不发酵其他被检糖,在碳源同化实验中可同化乙醇和柠檬酸,氮源同化实验中不能同化硝酸盐,属于毕赤氏酵母属;部分分离株如分离株 5-3、5-4、6-5,葡萄糖发酵阳性,硝酸盐还原、类淀粉物质的生成试验阴性,归为梅奇酵母属;还有部分菌株仅依据生理生化鉴定结果,无法对其种属进行判断。酵母菌的理化性质鉴定结果见表 4,碳源、氮源同化鉴定结果见表 5。

2.4 酵母菌的 5.8S rDNA 鉴定

2.4.1 酵母菌株 5.8S rDNA 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增结果 对酵母菌菌株进行分子生物学鉴定,PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,在 450~750 bp 之间获得特异性扩增条带,符合酵母菌 5.8S rDNA 区理论预期值,检测结果见图 1。

表 4 酵母菌的理化性质鉴定结果

Table 4 Physiological and biochemical properties of yeasts

编号	糖 发 酵 实 验					其 他		
	葡萄糖	半乳糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	产酸	产酯	产类淀粉
1-1	+	-	-	-	-	-	+	-
1-2	+	-	-	-	-	-	+	-
1-3	+	-	-	-	-	-	+	-
1-4	+	+	-	+	-	-	+	-
2-1	+	-	-	-	-	-	+	-
2-2	+	-	-	-	-	-	+	-
2-3	+	-	-	-	-	-	+	-
2-4	+	-	-	-	-	-	+	-
3-1	+	-	-	-	-	-	+	-
3-2	+	-	-	-	-	-	+	-
3-3	+	-	-	-	-	-	+	-
3-4	+	-	-	-	-	-	+	-
3-5	+	+	+	+	+	-	+	-
3-6	+	+	+	+	+	-	+	-
3-7	+	-	-	-	-	-	+	-
3-8	+	+	+	+	+	-	+	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	+	+	+	-	-	-	-	-
4-3	+	-	-	-	-	-	+	-
5-1	+	-	-	-	-	-	+	-
5-2	+	-	-	-	-	-	+	-
5-3	+	+	-	-	-	-	-	-
5-4	+	+	-	-	-	-	-	-
5-5	+	-	-	-	-	-	+	-
5-6	+	-	-	-	-	-	-	-
6-1	+	-	-	-	-	-	+	-
6-2	-	-	-	-	-	-	-	-
6-3	+	-	-	-	-	-	+	-
6-4	+	-	-	-	-	-	+	-
6-5	+	+	-	-	-	-	-	-
7-1	+	+	+	+	+	-	+	-
7-2	+	-	-	-	-	-	+	-
7-3	+	-	-	-	-	-	+	-

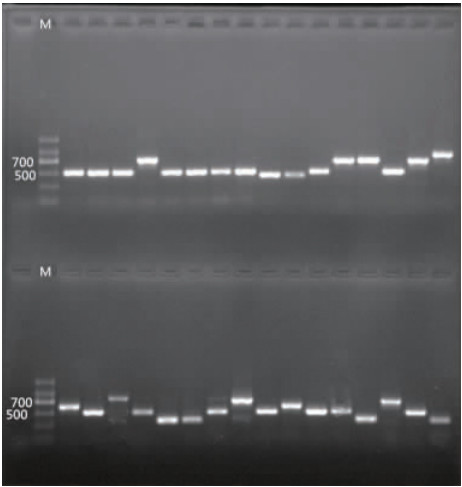
表 5 碳源、氮源同化鉴定结果

Table 5 Carbon assimilation and nitrogen assimilation experiment results

编号	碳 源 同 化					氮 源 同 化		
	半乳糖	蔗糖	可溶性淀粉	乙醇	柠檬酸	尿素	(NH ₄) ₂ SO ₄	KNO ₃
1-1	-	-	-	+	+	-	+	-
1-2	-	-	-	+	+	-	+	-
1-3	-	-	-	+	+	-	+	-
1-4	+	+	-	+	+	+	+	-
2-1	-	-	-	+	+	-	+	-
2-2	-	-	-	+	+	-	+	-
2-3	-	-	-	+	+	-	+	-
2-4	-	-	-	+	+	-	+	-
3-1	-	-	-	+	+	-	+	-
3-2	-	-	-	+	+	-	+	-
3-3	-	-	-	+	+	-	+	-
3-4	-	-	-	+	+	-	+	-

续表 5

编号	碳 源 同 化					氮 源 同 化		
	半乳糖	蔗糖	可溶性淀粉	乙醇	柠檬酸	尿素	(NH ₄) ₂ SO ₄	KNO ₃
3-5	+	+	-	+	-	-	+	-
3-6	+	+	-	+	-	-	+	-
3-7	-	-	-	+	+	-	+	-
3-8	+	+	-	+	+	-	+	-
4-1	-	+	-	+	+	+	+	-
4-2	+	-	-	-	-	-	+	-
4-3	-	-	-	+	+	-	+	-
5-1	-	-	-	+	+	-	+	-
5-2	-	-	-	+	+	-	+	-
5-3	+	+	-	+	+	-	+	-
5-4	+	+	-	+	+	-	+	-
5-5	-	-	-	+	+	-	+	-
5-6	-	-	-	-	-	-	+	-
6-1	-	-	-	+	+	-	+	-
6-2	-	+	-	+	+	+	+	-
6-3	-	-	-	+	+	-	+	-
6-4	-	-	-	+	+	-	+	-
6-5	+	+	-	+	+	-	+	-
7-1	+	+	-	+	+	-	+	-
7-2	-	-	-	+	+	-	+	-
7-3	-	-	-	+	+	-	+	-



注:M 为 Marker;第一排从左往右依次为 1-1~3-8,第二排从左往右依次为 4-1~7-3

图 1 酵母菌 PCR 产物电泳图

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of PCR products from yeasts

2.4.2 基于 5.8S rDNA 基因序列的酵母菌株系统发育分析 酵母菌序列经过在 NCBI 序列数据库中进行序列搜索,比较分离出的酵母菌菌株与已知酵母菌菌株相应序列的相似程度,总结 33 株分离酵母菌的分子生物学鉴定结果见表 6。

表 6 33 株酵母菌的 ITS 序列鉴定结果

Table 6 ITS sequence of 33 strains yeast identification results

属	菌株名称/种	株数	所占比例/%
毕赤酵母属	库德毕赤酵母	20	61
	发酵毕赤酵母	2	6
克鲁维酵母属	乳酸克鲁维酵母	2	6
	马克思克鲁维酵母	2	6
梅奇酵母属	美极梅奇酵母	3	9
红酵母属	胶红酵母	2	6
有孢汉逊酵母	葡萄有孢汉逊酵母	1	3
酿酒酵母属	单孢酿酒酵母	1	3

从中挑选出生长较为旺盛、生理生化特征典型、具有代表性的 17 个分离株的序列与标准菌株序列做系统发育进化树,基于 ITS 区序列构建的系统发育树,见图 2。

由图 2 可知,分离株 1-4 与标准菌株的同源性为 93%,根据酵母菌种类的划分依据,同源性低于 98%的,不能归为同一个种^[13],因此对于菌株 1-4 的种类有待进一步验证。其余所有分离菌株与之对应的标准菌株的同源性均在 98%及以上,并与之聚在一起,表明其具有较近的亲缘性。

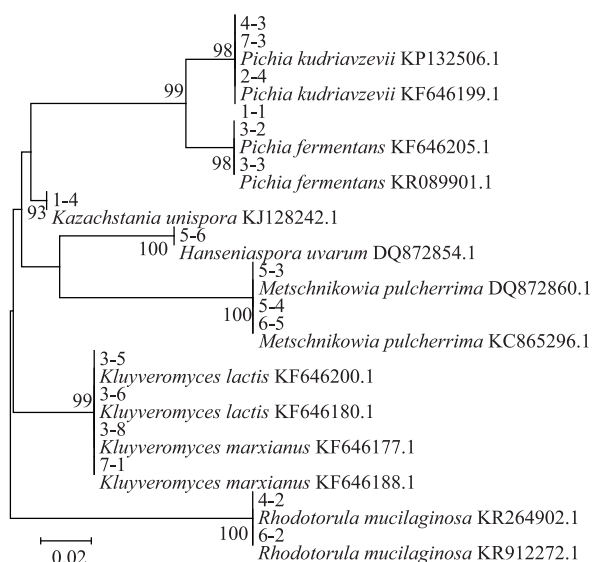


图2 系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree

3 结语

作者对新疆塔城地区原料乳中的酵母菌进行分离鉴定,从采集的7份样品中,经过菌种的分离纯化,共得到33株酵母菌,通过形态学观察、传统生理生化试验和对5.8S ITS区间进行PCR扩增相结合的方法成功的将其鉴定到种。其中,菌株1-4单孢酿酒酵母(*Kazachstania unispora*);菌株3-2、3-3为发酵毕赤酵母(*Pichia fermentans*);菌株3-5、3-6为乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*);菌株3-8、7-1为马克思克鲁维酵母(*Kluyveromyces*

marxianus);菌株4-2、6-2为胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*);菌株5-3、5-4、6-5为美极梅奇酵母(*Metschnikowia pulcherrima*);菌株5-6为葡萄有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*);其余全部为库德毕赤酵母(*Pichia kudriavzevii*)。

综上所述,同一牧区不同牧民家庭的原料乳中分离得到的酵母菌的种类和数量存在一定差异性,如2号样品和3号样品,这可能是因为原料乳存在的环境不同,因为乳源酵母大多数来自原料乳环境及加工设备与周围环境^[14]。但采集自不同牧区的原料乳样品中,所含的优势菌群是相同的,均为库德毕赤酵母(*Pichia kudriavzevii*),而根据他人研究,原料乳中的酵母菌主要是 *Candida catenulata*、*Candida pararugosa*、*Candida rugosa*^[15]等。王冠群^[16]等人对塔城部分地区传统发酵乳制品中酵母菌进行分离鉴定,结果表明, *Issatchenkia orientalis* 为第二优势菌群,而根据 Kurtzman 等人^[17]研究,已将 *Issatchenkia* 属归入 *Pichia* 属,由于 *P.orientalis* 已经存在, *Iss. orientalis* 在归入 *Pichia* 属中后要一个新的种名,所以使用 *P.kudriavzevii* 来代替它,由此本研究与前人研究结果相符。但从目前许多对乳制品中酵母菌的研究来看,尚未发现对乳制品中库德毕赤酵母(*Pichia kudriavzevii*)的详尽报道。并且本研究分离得到的酵母菌的种类和数量关系与其他研究存在较大差异,可能是由于不同地区环境、气候条件、温度、湿度等存在差异,因而引起原料乳中的酵母菌含量和种类的不同。

参考文献:

- [1] WANG Yinfeng, LI Supin, GAO Tengyun, et al. An overview of the relationship between quality index of raw milk[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010, 38(2): 332-333. (in Chinese)
- [2] TANG Ling, HU Ping, ZHOU Guojun, et al. Research progress on the detection of spoilage microorganisms in dairy products and the ways of pollution[J]. *China Brewing*, 2012, 31(4): 1-4. (in Chinese)
- [3] FREITAS I D, PINON N, MAUBOIS J L, et al. The addition of a cocktail of yeast species to cantalet cheese changes bacterial survival and enhances aroma compound formation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 129(1): 37-42.
- [4] FLEET G H. A review: yeasts in dairy products[J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 2010, 68(3): 199-211.
- [5] MOGENS J, NARVHUS J. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products[J]. *International Dairy Journal*, 1996, 6(8-9): 755-768.
- [6] BENNIE C V, THEUNIE G. Yeasts associated with cheddar and gouda making[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1995, 28(1): 79-88.
- [7] GORI K, MORTENSEN H D, ARNEBORG N, et al. Ammonia production and its possible role as a mediator of communication for *Debaryomyces hansenii* and other cheese-relevant yeast species[J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(11): 5032-5041.

- [8] MARTIN N, SAVONITTO S, MOLIMARD P, et al. Flavor generation in cheese curd by coculturing with selected yeast, mold, and bacteria[J]. **Journal of Dairy Science**, 1999, 82(6): 1072-1080.
- [9] 陈历水. 乳源潜在益生酵母菌的筛选鉴定及其对类 Camembert 干酪特性影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010.
- [10] BARNETT J. Yeasts Characteristics and Identification[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1990.
- [11] 郝林. 食品微生物实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [12] MU Z S, YANG X J. Detection and identification of wild yeast in Koumiss[J]. **Food Microbiology**, 2012, 31(2): 301-308.
- [13] KURTZMAN C P, ROBNETT C J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts for analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequence[J]. **Anton Leeuw Int J G**, 1998, 73(4): 331-371.
- [14] CHEN Lishui, MA Ying. Research progress on identification methods of yeast in raw milk[J]. **China Dairy**, 2009, 96(12): 142-147. (in Chinese)
- [15] COCOLIN L, AGGIO D, MANZANO M, et al. An application of PCR-DGGE analysis to profile the yeast populations in raw milk[J]. **International Dairy Journal**, 2002, 12(5): 407-411.
- [16] WANG Guanqun, HAN Peijie, YANG Wenju. Isolation and identification of yeasts from the traditional fermented dairy products and fermented flour starters in Xinjiang[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(7): 691-698. (in Chinese)
- [17] KURTZMAN C P, ROBNETT C J, BASEHOAR P E. Phylogenetic relationships among species of *Pichia*, *Issatchenkia* and *Williopsis* determined from multigene sequence analysis, and the proposal of *Barnettozyma* gen. nov., *Lindnera* gen. nov. and *Wickerhamomyces* gen. nov.[J]. **FEMS Yeast Research**, 2008, 8(6): 939-954.

会 议 消 息

第八届纳米材料国际研讨会(CN 2019)

会议时间: 2019-01-03 至 2019-01-05

会议地点: 海南海口 三亚

主办单位: Engineering Information Institute

联系人: 王老师

电话: 15172479625

Email: Jenny09157@163.com

官方网址: <http://www.engii.org/conference/CN2019/>

会议简介: 第八届纳米材料国际研讨会(CN 2019) 将于 2019 年 1 月 3~5 日在三亚举行。本届大会将继续遵循学术性、国际性的原则, 特邀国内外纳米材料领域内的学者专家前来参会, 并做出精彩的报告。本次大会旨在为行业内专家和学者分享技术进步和业务经验, 聚焦相关领域的前沿研究, 提供一个交流的平台。所有被会议录用的稿件将会发表在开源期刊“Journal of Materials Science and Chemical Engineering”(ISSN: 2327-6045), 被知网学术、谷歌学术等收录。