

嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌麦芽复合汁 增菌培养基的优化筛选*

万红兵 田洪涛 山丽杰 孙纪录 李英军 孙永强

(河北农业大学食品科技学院,保定,071000)

摘 要 研究了在麦芽汁中添加不同的营养因子对嗜热链球菌 *S.t-3* 的细胞生长量的影响,进一步采用正交试验优化筛选出 *S.t-3* 的麦芽复合汁增菌培养基,并对保加利亚乳杆菌 *L.b-DR* 和 *L.b-S1* 进行了验证性增菌试验。结果表明,*S.t-3*、*L.b-DR* 和 *L.b-S1* 在麦芽汁中能进行正常的产酸代谢,大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏可显著促进 *S.t-3* 的细胞生长 ($P < 0.05$); K_2HPO_4 不仅可以促进菌体增殖,而且还可缓冲基质 pH 值的变化,避免了低 pH 值对乳酸菌的伤害;利用 $L_9(3^3)$ 正交试验,筛选出 *S.t-3* 的麦芽复合汁增菌培养基最佳配比为:在 10% 的麦芽汁中添加 0.5% 大豆蛋白胨、0.5% 酵母膏、1% 牛肉膏、0.2% K_2HPO_4 ;在麦芽复合汁增菌培养基中,*S.t-3*、*L.b-DR* 和 *L.b-S1*, 37℃ 恒温培养 16 h,活菌数分别为 2.42×10^9 cfu/mL、 2.85×10^9 cfu/mL 和 4.81×10^9 cfu/mL,与液体 MRS 培养基的活菌数相当,成本较 MRS 培养基降低 1 000 元人民币。

关键词 嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,麦芽汁,促生长物质,增菌培养基,优化筛选

近年来,随着人民生活水平的提高和健康意识的增强,我国发酵乳制品工业迅猛发展。实践证明,传统人工型液态发酵剂由于存在种种弊端^[1~4],已远远不能满足发酵乳制品工业发展的要求。因此,积极研制并开发出具有我国自主知识产权的高效浓缩型直投式乳酸菌发酵剂势在必行。

高效浓缩型直投式乳酸菌发酵剂无论采用何种技术和方式生产,都必须首先获得使乳酸菌能够大量生长的增菌培养基。目前,实验室常用的乳酸菌培养基,如 MRS、M17 等,成分复杂,价格昂贵,制作繁琐。适合工业化生产浓缩型直投式发酵剂的乳酸菌培养基必须是原料易得、价格低廉、菌体产量高、容易浓缩分离细胞。因此,根据我国国情和资源优势,积极寻求来源广泛,经济易得的廉价原料,优化筛选适合乳酸菌大量生长的增殖培养基,是实现我国大规模工业化生产高效浓缩型直投式乳酸菌发酵剂的重要研究课题之一。

麦芽汁既是培养酵母菌常用的培养基,又是酿酒工业中常见的发酵培养基,不仅含有大量的糖类物质,还含有丰富的氨基酸、核酸及其它营养物质^[5]。虽然酵母菌和乳酸菌在分类学中的亲缘关系相距甚远,但在自然界中发现,在富含糖类物质和中性偏酸

的环境中,酵母菌和乳酸菌往往能够共同生存(如在面包和啤酒发酵液中)。所以麦芽汁能否作为乳酸菌的基础培养基或对其进行改良优化,有必要进行进一步的探明。目前,关于以麦芽汁或改良麦芽汁作为乳酸菌培养基的报道尚未见到。

文中选择 10% 麦芽汁为基础培养基,以嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) *S.t-3* 和保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*) *L.b-DR*、*L.b-S1* 为试验菌株,对乳酸菌在麦芽汁基础培养基中进行细胞生长试验,研究在麦芽汁基础培养基中添加不同营养物质对细胞生长量的影响,利用正交试验优化筛选适合乳酸菌大量生长的麦芽复合汁增菌培养基,以期工业化大规模培养乳酸菌并研制开发高效浓缩型直投式乳酸菌发酵剂提供经济廉价的增菌培养基。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌种:嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) *S.t-3*、保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*) *L.b-DR*、*L.b-S1*,由河北农业大学食品科技学院生物工程实验室自行分离选育。

脱脂乳粉:新西兰工业化无抗脱脂乳粉,用于菌种活化。复原脱脂乳培养基的制备:脱脂乳粉,加蒸馏水制成 14% 的复原脱脂乳液,调节 pH 值 6.5, 112℃ 灭菌 10 min,冷却后备用。

番茄:市售新鲜番茄。番茄汁制备工艺^[6]:新鲜

第一作者:硕士研究生,助理工程师(田洪涛教授为通讯作者)。

* 河北省“十五”科技攻关专项专题:优良菌种选育及高效发酵剂的研制(No. 03220171D)

收稿日期:2006-03-22,改回日期:2006-05-15

番茄→清洗→热烫(90~95℃, 3 min)→榨汁调配(pH值调至6.4)→灭菌(90~95℃ 20 min)→迅速降温备用。

菊芋: 采自保定市郊区。菊芋汁制作工艺如下: 菊芋→清洗称重→加水 [$m(\text{料}):m(\text{水})=1:1$]→加热灭酶(100℃, 5 min)→加水捣碎(补加适量80℃水)→过滤(100目滤布)→滤渣加水压榨→混合滤汁定容(1 kg 菊芋生产1 L 汁定义为100%的菊芋汁)→加热灭菌(121℃ 15 min)→冷却备用^[7]。

麦芽汁: 取自保定京苑啤酒有限公司头号原麦汁(糖度约为14°P), 加蒸馏水稀释至10°P, 过滤, 调pH值至7.2, 灭菌备用。用于乳酸菌增菌培养基优化筛选。

MRS 液体、固体培养基^[8]: 分别用于菌种活化及活菌计数。

主要化学试剂: 葡萄糖、牛肉膏、酵母膏、蛋白胨等, 分析纯。

1.2 试验方法

菌种活化: 菌种分别经14%复原脱脂乳液体培养基、液体MRS培养基活化, 备用。

活菌计数: MRS 固体培养基平皿菌落计数法^[8], 37℃恒温培养48 h。

统计分析方法: 首先对试验结果进行方差分析, 即F检验处理间差异显著性($F=MS_A/MS_e$), 然后在方差分析处理间差异显著性基础上, 用最小极差法即邓肯氏新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 S.t-3、L.b-S1、L.b-DR 在液体 MRS 及麦芽汁基础培养基中生长曲线的测定

为了提高可比性, 首先对S.t-3、L.b-S1、L.b-DR菌株在液体MRS及麦芽汁基础培养基中生长曲线进行测定, 以确定最佳细胞收获时间。乳酸菌种活化后, 分别以2% (1×10^6 cfu/mL) 接种于液体MRS培养基及麦芽汁基础培养基中, 37℃恒温培养24 h, 期间每隔4 h 取样, 检测活菌数及基质pH。结果见图1和图2。

由图1和图2可见, S.t-3、L.b-DR、L.b-S1菌株在液体MRS培养基及麦芽汁基础培养基中生长良好; 37℃培养16 h, 活菌数达到最高。其中, 3菌株在液体MRS培养基中收获期的活菌数分别为 3.01×10^9 、 1.62×10^9 和 2.29×10^9 cfu/mL, 在麦芽汁基础培养基中, 3菌株收获期的活菌数分别为 1.50×10^8 、

2.88×10^8 和 2.13×10^8 cfu/mL。结果表明, 麦芽汁中营养成分丰富, 适合乳酸菌生长, 可以作为乳酸菌生长的基础培养基。取样时间确定为16 h。

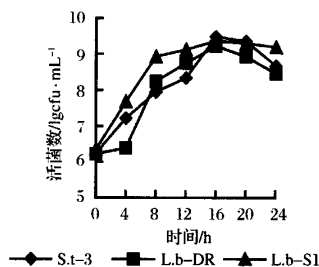


图1 不同菌株在液体MRS培养基中37℃培养活菌数变化曲线

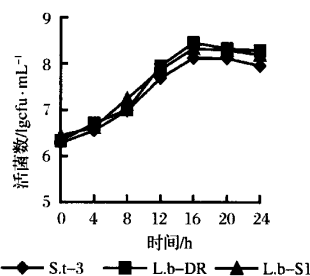


图2 不同菌株在液体麦芽汁基础培养基中37℃培养时活菌数变化曲线

2.2 在麦芽汁基础培养基中添加不同营养物质对S.t-3细胞生长量的影响

在浓度为10%的麦芽汁基础培养基中, 分别添加1%蛋白胨、1%大豆蛋白胨、1%胰蛋白胨、1%牛肉膏、0.5%酵母膏、0.5%玉米浆、10%番茄汁、10%菊芋汁, 配制多种培养基, 灭菌备用。嗜热链球菌S.t-3活化后, 以2% (约 1×10^6 cfu/mL) 接入上述培养基中, 37℃恒温培养16 h, 检测培养前后的活菌数和pH值。结果见表1。

由表1结果可知, 嗜热链球菌S.t-3在9种生长培养基中均可正常生长并进行产酸代谢。对S.t-3菌株经37℃培养16 h后的活菌数取对数值进行方差分析和邓肯氏新复极差测验(见表1中上标字母)。结果表明, 在10%麦芽汁基础培养基中分别添加大豆蛋白胨、牛肉膏、酵母膏可显著促进细胞生长 ($P < 0.01$), 活菌数较对照分别提高8.73、8.2和6.51倍, 增菌效果显著; 而添加番茄汁、菊芋汁的活菌指标与对照相比有所提高, 但差异不显著 ($P > 0.01$)。

上述结果表明, 在麦芽汁培养基中, 碳源含量充足, 氮源含量相对不足, 增加碳源含量, 不仅不会促进

细胞生长,反而会抑制菌体增殖;适当提高氮源含量,会显著提高嗜热链球菌的细胞生长量。牛肉膏、大豆蛋白胨中含有各种氨基酸、肽类、胨等可溶性含氮化合物,为乳酸菌生长提供氮源;酵母膏为乳酸菌生长提供氨基酸、维生素类 and 无机盐类等^[9]。研究表明,

乳酸菌对低 pH 值敏感,为了减少基质 pH 值的降低对乳酸菌的伤害,本试验在表 1 中所列的述 9 种培养基及以下试验培养基中分别添加了 0.2% K_2HPO_4 ,以延缓基质 pH 值的变化,促进细胞生长。

表 1 在麦芽汁基础培养基中添加不同营养物质对 S.t-3 细胞生长量的影响¹⁾

培养基	pH 值		活菌数/cfu·mL ⁻¹	
	0 h	16 h	0 h	16 h
(1)10%麦芽汁(ck)	6.81	3.97	1.26×10^6	$1.50 \times 10^{8\text{ b B}}$
(2)10%麦芽汁+1%蛋白胨	6.79	4.15	1.26×10^6	$7.48 \times 10^{8\text{ a A}}$
(3)10%麦芽汁+1%大豆蛋白胨	6.92	4.02	1.26×10^6	$1.31 \times 10^{9\text{ a A}}$
(4)10%麦芽汁+1%胰蛋白胨	6.84	4.14	1.26×10^6	$1.15 \times 10^{9\text{ a A}}$
(5)10%麦芽汁+1%牛肉膏	6.72	4.23	1.26×10^6	$1.23 \times 10^{9\text{ a A}}$
(6)10%麦芽汁+0.5%酵母膏	6.48	4.32	1.26×10^6	$9.76 \times 10^{8\text{ a A}}$
(7)10%麦芽汁+0.5%玉米浆	6.63	4.32	1.26×10^6	$7.52 \times 10^{8\text{ a A}}$
(8)10%麦芽汁+10%番茄汁	6.49	4.02	1.26×10^6	$2.12 \times 10^{8\text{ b B}}$
(9)10%麦芽汁+10%菊芋汁	6.78	3.96	1.26×10^6	$1.46 \times 10^{8\text{ b B}}$

1) 以上配方均添加 0.2% K_2HPO_4 。表中上标字母为邓肯氏新复极差测验结果(小写字母 $\alpha=0.05$;大写字母 $\alpha=0.01$)。

2.3 利用正交试验筛选嗜热链球菌 S.t-3 麦芽复合汁增菌培养基

根据 2.2 试验结果,以在麦芽汁基础培养基中添加大豆蛋白胨(A)、牛肉膏(B)、酵母膏(C)为 3 因素,每因素 3 个水平为:A(%):1(0.5)、2(1.0)、3(1.5);B(%):1(0.5)、2(1.0)、3(1.5);C(%):1(0.3)、2

(0.5)、3(0.7),采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计配制 9 种培养基,优化筛选菌株 S.t-3 麦芽汁复合增殖培养基。S.t-3 菌株活化后,以 2% (约 1×10^6 cfu/mL) 分别接种于上述生长培养基中,37℃ 恒温培养 16 h,检测培养前后的活菌数和 pH 值,结果见表 2。

表 2 嗜热链球菌 S.t-3 菌麦芽复合汁增殖培养基筛选的 $L_9(3^3)$ 正交试验结果¹⁾

序号	大豆蛋白胨(A)/%	牛肉膏(B)/%	酵母膏(C)/%	活菌数/cfu·mL ⁻¹	
				0 h	16 h
1 [#]	0.5	0.5	0.3	1.66×10^6	$1.15 \times 10^{9\text{ a A}}$
2 [#]	0.5	1.0	0.5	2.57×10^6	$1.09 \times 10^{9\text{ ab A}}$
3 [#]	0.5	1.5	0.7	1.17×10^6	$1.10 \times 10^{9\text{ ab A}}$
4 [#]	1.0	0.5	0.5	1.95×10^6	$6.17 \times 10^{8\text{ abc ABC}}$
5 [#]	1.0	1.0	0.7	2.69×10^6	$7.59 \times 10^{8\text{ ab ABC}}$
6 [#]	1.0	1.5	0.3	1.99×10^6	$1.02 \times 10^{9\text{ ab AB}}$
7 [#]	1.5	0.5	0.7	3.31×10^6	$3.24 \times 10^{8\text{ c BC}}$
8 [#]	1.5	1.0	0.3	4.26×10^6	$5.75 \times 10^{8\text{ bc ABC}}$
9 [#]	1.5	1.5	0.5	2.14×10^6	$2.82 \times 10^{8\text{ c C}}$
K_1	9.083	8.82	8.977		
K_2	8.893	8.893	8.76		
K_3	8.573	8.837	8.813		
极差 R	0.51	0.073	0.217		
较优水平	A_1	B_2	C_1		
主次因素	A	→C	→B		

1) 以上配方均添加 0.2% K_2HPO_4 。表中上标字母为邓肯氏新复极差测验结果(小写字母 $\alpha=0.05$;大写字母 $\alpha=0.01$)。

由表 2 可见,3 因素中,对 S.t-3 菌株细胞增殖量影响顺序为:大豆蛋白胨(A)>酵母膏(C)>牛肉膏(B),最佳培养基是 1[#] 号,其配比为: $A_1B_1C_1$,即在 10%的麦芽汁基础培养基中添加 0.5%大豆蛋白胨、0.5%牛肉膏和 0.3%酵母膏;嗜热链球菌 S.t-3 在

1[#]增殖培养基中,37℃ 恒温培养 16 h,活菌数达到 1.32×10^9 cfu/mL,较对照麦芽汁基础培养基(1.50×10^8 cfu/mL)提高了 8.79 倍。根据数据分析可知,大豆蛋白胨最佳添加量为 0.5%、牛肉膏最佳添加量为 1.0%,而酵母膏的添加量则无法确定,因此,须对

其添加量进行进一步优化筛选。

以 0.5% 大豆蛋白胨、1.0% 牛肉膏、0.2% K_2HPO_4 、10% 麦芽汁配制培养基作为基础培养基(简称 M),分别添加酵母膏 0%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%,组成复合培养基。S.t-3 菌株活化后,以 2% (约 1×10^6 cfu/mL)接种于上述培养基中,37℃ 恒温培养 16 h,检测其培养前后的活菌数,结果见表 3。

表 3 酵母膏添加量试验结果¹⁾

培养基	活菌数/cfu·mL ⁻¹	
	0 h	16 h
(1)M(ck)	1.63×10^6	1.80×10^9 ^{b A}
(2)M+0.3% 酵母膏	1.73×10^6	1.98×10^9 ^{ab A}
(3)M+0.5% 酵母膏	2.14×10^6	2.51×10^9 ^{a A}
(4)M+0.7% 酵母膏	2.25×10^6	1.09×10^9 ^{c B}
(5)M+0.9% 酵母膏	1.94×10^6	6.45×10^8 ^{d C}

1) 表中上标字母为邓肯氏新复极差测验结果(小写字母 $\alpha=0.05$;大写字母 $\alpha=0.01$)。

由表 3 可见,在麦芽汁培养基中,酵母膏的添加

表 4 在麦芽复合汁增菌培养基中,S.t-3 菌株最佳培养时间的确定及对 L.b-DR、L.b-S1 验证性增菌试验¹⁾

时间/h	S.t-3 活菌数/cfu·mL ⁻¹	L.b-DR 活菌数/cfu·mL ⁻¹	L.b-S1 活菌数/cfu·mL ⁻¹
14	1.05×10^9 ^{bb}	1.58×10^9 ^{bb}	2.12×10^9 ^{bb}
16	2.42×10^9 ^{aa}	2.85×10^9 ^{aa}	4.81×10^9 ^{aa}
18	2.39×10^9 ^{aa}	2.79×10^9 ^{aa}	4.82×10^9 ^{aa}
20	1.95×10^9 ^{aa}	2.45×10^9 ^{aa}	3.85×10^9 ^{aa}

1) 表中上标字母为邓肯氏新复极差测验结果(小写字母 $\alpha=0.05$;大写字母 $\alpha=0.01$)。

表 4 表明,S.t-3 菌株在麦芽复合汁增菌培养基中,37℃ 恒温培养 16 h,活菌数达到最高,为 2.42×10^9 cfu/mL,较麦芽汁基础培养基活菌数(1.50×10^8 cfu/mL)提高 16.13 倍,与液体 MRS 培养基活菌数(3.09×10^9 cfu/mL)彼此相当;L.b-DR、L.b-S1 菌株在麦芽复合汁增菌培养基中生长良好并能进行正常的产酸代谢。37℃ 恒温培养 16 h,活菌数达最高,分别为 2.85×10^9 cfu/mL 和 4.81×10^9 cfu/mL,分别较麦芽汁基础培养基活菌数(2.88×10^8 、 2.13×10^8 cfu/mL)提高 9.89 和 22.58 倍,与液体 MRS 培养基活菌数(2.04×10^9 cfu/mL、 1.41×10^9 cfu/mL)彼此相当,但成本较之降低 1 000 元人民币/t。

上述结果表明,本研究所筛选的麦芽复合汁增菌培养基具有通用性,不仅适合于嗜热链球菌的生长,而且也能促进保加利亚乳杆菌的增殖,其实际意义在于,在实际生产中,为了缩短生产周期,提高设备利用率,可采取混合培养方式进行菌体增殖。

3 讨 论

研究表明,乳酸菌对营养要求苛刻,其生长培养

量对 S.t-3 菌株细胞生长量的影响显著($P < 0.01$),其中,添加 0.5% 酵母膏的培养基,细胞生长量最大,在此培养基中,S.t-3 菌株 37℃ 恒温培养 16 h,活菌数达 2.51×10^9 cfu/mL,较对照提高了 1.4 倍,高于或低于此值,基质活菌含量均下降。另外,考虑到高效浓缩型酸乳发酵剂制备过程中,菌体需要经过冷冻干燥,因此在培养基中再加入 0.1% Tween80,以提高细胞在冷冻干燥过程中的存活率。因为 Tween80 可通过提高 C19 环丙烯脂肪酸在细胞脂质中的比值而增强细胞的抗冷冻干燥特性。

2.4 在麦芽复合汁增菌培养基中,S.t-3 最佳培养时间的确定及对 L.b-DR、L.b-S1 验证性增菌试验

根据 2.3 试验结果,配制增菌培养基,嗜热链球菌 S.t-3,保加利亚乳杆菌 L.b-DR、L.b-S1 菌株活化后,分别以 2% (约 1×10^6 cfu/mL)接种于上述培养基中,37℃ 恒温培养,分别于 14、16、18、20 h 取样,检测其活菌数。结果见表 4。

基除满足一般的碳源、氮源、无机盐等营养因子外,还需要有生长促进因子。实验室使用的乳酸菌培养基,一般成分复杂,价格昂贵,适合工业化生产浓缩型发酵剂的乳酸菌培养基必须基于原料易得、价格低廉、菌体产量高、容易浓缩分离细胞。

麦芽汁既是培养酵母菌常用的培养基,又是酿酒工业中常见的发酵培养基。大麦是制造麦芽汁的主要原料,它分布广,种植遍及全球,经济低廉,营养丰富。据测定,大麦仁中含有 66.3% 碳水化合物,10.5% 蛋白质,6.5% 粗纤维,2.2% 脂肪及一定量的维生素^[10],质量好的麦芽汁,麦芽内容物的浸出率可达到 80%,麦芽及其辅料通过糖化来实现麦芽汁的制备,在糖化过程中,淀粉酶将淀粉水解成麦芽糖、糊精、低聚糖和单糖,同时,半纤维素被 β -葡聚糖酶水解成 β -葡聚糖,然后进一步分解为葡萄糖、半乳糖、木糖等单糖;麦芽粒中的蛋白质经酶水解后变成胨、肽、氨基酸;糖化醪中的单糖和氨基酸受热发生反应生成类黑精^[10]。其中,糖类物质与胨、肽、氨基酸分别作为碳源、氮源,促进乳酸菌的生长;类黑精虽然使麦芽汁颜色加深,但具有还原性,可降低麦芽汁的氧化还原

电位,有利于乳酸菌的生长。

本研究表明,嗜热链球菌 *S.t-3*、保加利亚乳杆菌 *L.b-DR*、*L.b-S1* 在 10% 的麦芽汁基础培养基中均可生长并进行正常的产酸代谢,可作为乳酸菌生长的基础培养基。在此基础上,本试验研究了在麦芽汁中添加不同营养物质对细胞生长量的影响,对其进行改良,优化筛选出麦芽复合汁增菌培养基,其最佳配比为:在 10% 的麦芽汁中添加 0.5% 大豆蛋白胨、0.5% 酵母膏、1% 牛肉膏、0.2% K_2HPO_4 ;在麦芽复合汁增菌培养基中,*S.t-3*、*L.b-DR*、*L.b-S1*, 37℃ 恒温培养 16 h,活菌数分别为 2.42×10^9 cfu/mL、 2.85×10^9 cfu/mL、 4.81×10^9 cfu/mL,较麦芽汁基础培养基活菌数分别提高 16.13、9.89、22.58 倍,较液体 MRS 培养基的活菌数彼此相当,成本较 MRS 培养基降低 1 000 元人民币/t。

参 考 文 献

1 张兰威,鄂志强,万海峰,等. 乳酸菌增菌培养基的筛选及

- 干燥保护剂的选择[J]. 中国乳品工业,2000(2): 7~9
- 2 梁勇,杜敏,南庆贤,等. 浓缩型乳酸菌发酵剂的制备[J]. 中国乳品工业,1995(2):132~133
- 3 乔发东,吴秀芳,南庆贤,等. 浓缩乳酸菌发酵剂的现状[J]. 中国乳品工业,1998(1):22~23
- 4 贾士杰,生庆海. 发酵乳及新型发酵剂的研究概述[J]. 中国奶牛,2000(3):45~48
- 5 王福源. 现代食品发酵技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,40~43
- 6 杨洁彬,凌代文,郭兴华,等. 乳酸菌-生物学基础及应用[M]. 北京:中国轻工业出版社. 139~176,187~202
- 7 孙纪录,贾英民,田洪涛,等. 菊芋汁双歧杆菌培养基的筛选优化[J]. 食品科学,2003,24(11):76~79
- 8 国际乳品联合标准 IDF117:1983. 酸奶特征微生物的菌落计数[J]. 中国乳品工业,1990,18(4):179~182
- 9 诸葛健,王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994. 109~112
- 10 陈海华,董海洲. 大麦的营养价值及在食品业中的利用[J]. 西部粮油科技,2002,27(2):34~36

Screening and Optimizing of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* Wort Enrichment Medium

Wan Hongbing Tian Hongtao Shan Lijie Sun Jilu

Li Yingjun Sun Yongqiang

(Food Science and Technology College, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

ABSTRACT In this paper, effects of adding different nutriment in wort medium on the growth of *Streptococcus thermophilus* (*S.t-3*) were studied. Furthermore, the optimum enrichment medium of *S.t-3* were screened by orthogonality test, then the growth situation of *Lactobacillus bulgaricus* (*L.b-DR*, *L.b-S1*) in the optimum medium was tested. The results showed that *S.t-3*, *L.b-DR*, *L.b-S1* grew well in wort medium. Soya peptone, Beef Extract, Yeast Extract could promote the growth of *S.t-3* significantly. For K_2HPO_4 , it could not only promote bacteria's growth, but also protect lactobacillus from being damaged by low pH of medium. The optimum enrichment medium obtained by orthogonality test consist of adding 0.5% Soya peptone, 0.5% Yeast Extract, 1% Beef Extract, 0.2% K_2HPO_4 in the 10% wort medium. The living number of *S.t-3*, *L.b-DR*, *L.b-S1* cultivated for 16 hours in the optimum enrichment medium at 37℃ were 2.42×10^9 cfu/mL, 2.85×10^9 cfu/mL, 4.81×10^9 cfu/mL which was the same with the living number in the MRS used in lab, but the production cost was decreased 1 000 yuan/t compared with using MRS medium.

Key words *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, wort, growth-stimulated substance, enrichment medium, screening and optimizing