

王 英,周剑忠,施亚萍,等. 副干酪乳杆菌 FM-LP-4 菌株的高密度培养条件优化[J]. 江苏农业科学,2018,46(19):211-215.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.19.056

副干酪乳杆菌 FM-LP-4 菌株的高密度培养条件优化

王 英¹,周剑忠¹,施亚萍²,夏秀东¹,董 月¹,黄自苏¹

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014; 2. 南京市脆而爽蔬菜食品有限公司,江苏南京 211225)

摘要:为提高来源于新疆骆驼酸奶中具有较高抗氧化活性的副干酪乳杆菌 FM-LP-4 菌株在发酵培养液中的菌体密度。利用单因素试验、正交试验对 MRS(de Man,Rogosa and Sharpe)培养基的碳源、氮源、营养因子以及培养条件进行优化。结果表明,副干酪乳杆菌 FM-LP-4 菌株的最佳增殖培养条件是培养温度为 34 ℃、接种量为 3%,初始 pH 值为 6.8;最佳培养基配方为 30 g/L 葡萄糖、35 g/L 胰蛋白胨、60 g/L 番茄汁,其他成分与 MRS 培养基基本配方一致。在优化后的培养基和培养条件下培养 18 h,FM-LP-4 菌株菌体 $D_{600\text{ nm}}$ 提高 18.14%,为该菌株的投式发酵剂制备和产品开发提供了试验依据和技术支持。

关键词:副干酪乳杆菌 FM-LP-4 菌株;高密度培养;优化;单因素试验;正交试验

中图分类号:TS252.54 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)19-0211-05

细胞高密度培养(high-cell density cultivation,简称 HCDC)技术是直投式发酵剂产业发展中的一个关键技术。营养物质、生长因子、代谢产物、培养时间、培养温度、溶氧等环境因素都可能影响细胞的高密度培养。目前国内外对菌体的高密度培养有大量的研究,主要集中在培养基筛选、配方优化和培养条件优化等方面^[1-7]。

副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)是一种兼性厌氧、不运动、无芽孢的杆菌或长杆菌。研究表明,副干酪乳杆菌作为益生菌在增强人体免疫功能、调节人体肠道菌群平衡、预防疾病等方面有着广阔的发展前景^[8-10]。副干酪乳杆菌 FM-LP-4 来源于新疆骆驼酸奶,它具有较高的体内、体外抗氧化活性^[11],且具有较强的适应环境能力和较好的加工属性,这些特性使其具有良好的应用前景。若要实现副干酪乳杆菌的工业化应用,须将该菌株制备成直投式发酵剂,而直投式发酵剂制备的关键是保证并提高菌种的活力和活菌数。根据副干酪乳杆菌 FM-LP-4 的生长需求,本研究从增殖培养基筛选

和发酵条件 2 个方面进行研究,确定优化培养基配方和适宜的培养条件,为副干酪乳杆菌 FM-LP-4 直投式发酵剂的制备和产品开发提供试验依据,为其工业化应用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 菌株资源

副干酪乳杆菌 FM-LP-4 保存于江苏省农业科学院农产品加工研究所。

1.2 培养基

MRS(de Man,Rogosa and Sharpe)液体培养基:2.000% 葡萄糖、1.000% 蛋白胨、1.000% 牛肉膏、0.500% 酵母粉、0.500% 乙酸钠、0.200% 磷酸氢二钾、0.200% 柠檬酸氢二铵、0.058% 硫酸镁、0.020% 硫酸镁、0.100% 吐温-80。

UMRS(Unnormal de Man,Rogosa and Sharpe)液体培养基:MRS 液体培养基中不添加碳源和氮源,配方为 0.500% 乙酸钠、0.200% 磷酸氢二钾、0.200% 柠檬酸氢二铵、0.058% 硫酸镁、0.020% 硫酸镁、0.100% 吐温-80,以上培养基在温度为 121 ℃条件下、灭菌 20 min。

1.3 主要设备及其来源

1.3.1 主要试剂与设备 主要试剂有 1,1-二苯基-2-3-硝基苯肼自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,简称

and dose level on quality characteristics of processed meat products [J]. Radiation Physics and Chemistry,2017,130:259-264.

[30]王 宁,王晓拓,王志东,等. 电子束辐照剂量率对真空包装冷鲜肉肉品质的影响[J]. 现代食品科技,2015(7):241-247.

[31]Suklim K,Flick J,Vichitphan K. Effects of gamma irradiation on the physical and sensory quality and inactivation of *Listeria monocytogenes* in blue swimming crab meat (*Portunus pelagicus*) [J]. Radiation Physics and Chemistry,2014,103(5):22-26.

[32]Yoon K S. Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat [J]. Meat Science,2003,63(2):273-277.

收稿日期:2017-06-06

基金项目:中央财政农业技术推广项目(编号:31501460);南京市科技发展规划(编号:201608060)。

作者简介:王 英(1978—),女,安徽淮北人,博士,副研究员,主要从事食品生物技术研究。Tel:(025)84391571;E-mail:wyl16009@126.com。

[25]Al-Bachir M,Farah S,Othman Y. Influence of gamma irradiation and storage on the microbial load,chemical and sensory quality of chicken kebab[J]. Radiation Physics and Chemistry,2010,79(8):900-905.

[26]冯晓琳. 电子束辐照对真空包装的冷鲜猪肉品质的影响[D]. 北京:中国农业科学院,2014.

[27]张晓燕,云雪艳,梁 敏,等. 含有海藻糖的生物可降解薄膜对冷鲜肉的保鲜与护色作用[J]. 食品工业科技,2015(8):298-304.

[28]尚顾斌,王志东,高美须,等. 电子束辐照对冷鲜猪肉品质的影响[J]. 核农学报,2013,27(4):437-442.

[29]Ham Y K,Kim H W,Hwang K E,et al. Effects of irradiation source

DPPH),购自南京天为生物科技有限公司;吡咯烷二硫代氨基甲酸铵、邻菲罗啉,购自中国医药集团上海化学试剂公司;对氨基苯磺酸、盐酸奈乙二胺、亚硝酸钠及其他所用化学试剂均为分析纯级化学试剂,购自南京卓越生物工程有限公司。

主要设备有 UV-1600PC 紫外分光光度计,购自上海美普达仪器有限公司;YQX-11 厌氧培养箱,购自上海跃进医疗器械有限公司;SW-CJ-1C 型双人单面净化工作台,购自苏州净化设备有限公司;SIGMA3K-15 台式冷冻离心机,购自北京五洲东方科技发展有限公司;124S-CW 分析天平,购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;TOMY SX500 自动灭菌锅,购自日本 Tomy Digital Biology 公司。

1.4 试验方法

1.4.1 培养条件优化 温度对 FM-LP-4 菌株生长的影响。挑取 FM-LP-4 菌株单菌落接种于 MRS 液体试管中,在温度为 37 ℃ 条件下培养 20 h,然后 2% 接种量转接于新鲜的 MRS 液体培养基中,分别于温度为 15、20、25、30、35、40 ℃ 下培养 20 h,测定菌液的 $D_{600\text{ nm}}$,每组 3 个平行试验。

pH 值对 FM-LP-4 菌株生长的影响。以 1 mol/LHCL 和 NaOH 调解 MRS 液体培养基 pH 值分别为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5,按 2% 接种量接种 FM-LP-4 菌株的新鲜菌液,于温度为 37 ℃ 下培养 20 h,测定菌液的 $D_{600\text{ nm}}$,每组 3 个平行试验。

装液量对 FM-LP-4 生长的影响。50 mL 三角瓶中培养基装液量分别为 10、20、30、40、50 mL,按 2% 接种量接种 FM-LP-4 菌株的新鲜菌液,于温度为 37 ℃ 条件下培养 20 h,测定菌液的 $D_{600\text{ nm}}$,每组 3 个平行试验。

接种量对 FM-LP-4 菌株生长的影响。接种量分别为 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%,接种于 MRS 液体培养基中,于 37 ℃ 条件下培养 20 h,测定菌液的 $D_{600\text{ nm}}$,每组 3 个平行试验。

培养条件正交优化。考虑到几种增殖因素之间可能存在联合协同作用,选定在单因素试验中以培养温度、接种量、初始 pH 值为重要的培养环境因素,利用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化 FM-LP-4 菌株的培养条件。

表 1 单因素试验的因素水平			
水平	A:培养温度(℃)	B:接种量(%)	C:初始 pH 值
1	32	3	6.2
2	34	4	6.5
3	36	5	6.8

1.4.2 培养基配方优化 碳源对 FM-LP-4 菌株生长的影响。在 UMRS 液体培养基上,分别以葡萄糖、果糖、蔗糖、半乳糖、麦芽糖、甘露糖为碳源,添加量为 2%;氮源按照 MRS 培养基中的配方添加。按照 2% 接种量接种于液体培养基中,在 34 ℃ 条件下培养 20 h,每组 3 个平行试验,测定发酵液体的 $D_{600\text{ nm}}$ 。

碳源含量对 FM-LP-4 菌株生长的影响。在研究碳源影响的基础上,对所选碳源的浓度进行单因素试验,按照浓度分别为 1%、2%、3%、4%、5%、6% 配制 MRS 培养基,其他成分不变。按照 2% 接种量接种于液体培养基中,在 34 ℃ 条件下静止培养 20 h,每组 3 个平行试验,测定发酵液体的 $D_{600\text{ nm}}$ 。

氮源对 FM-LP-4 菌株生长的影响。在 UMRS 液体培

养基上,选择蛋白胨、胰蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、酪蛋白胨、鱼蛋白胨、硫酸铵、硝酸钠作为氮源,添加量为 2%,碳源按照 MRS 培养基中的配方添加。按 2% 接种量接于 UMRS 液体培养基中,在 34 ℃ 条件下静止培养 20 h,每组 3 个平行试验,测定发酵液体的 $D_{600\text{ nm}}$ 。

氮源含量对 FM-LP-4 菌株生长的影响。在研究氮源影响的基础上,对所选氮源的浓度进行单因素试验,按照浓度分别为 1%、2%、3%、4%、5%、6% 配制 MRS 培养基,其他成分不变。按照 2% 接种量接种于液体培养基中,在 34 ℃ 条件下静止培养 20 h,每组 3 个平行试验,测定发酵液体的 $D_{600\text{ nm}}$ 。

不同营养因子对 FM-LP-4 菌株生长的影响。选择包菜汁、番茄汁、胡萝卜汁、青辣椒汁、白菜汁、黄瓜汁作为营养因子,以不添加任何生长因子的 MRS 为空白对照,质量分数均为 5%。按照 2% 接种量接种于液体培养基中,在 34 ℃ 条件下静止培养 20 h,每组 3 个平行试验,测定发酵液体的 $D_{600\text{ nm}}$ 。以 MRS 液体培养基作为对照组。

培养基正交优化。考虑到几种增殖因素之间可能存在联合协同的交互作用,选定在单因素试验中增殖效果较明显的几种增殖因素(葡萄糖、胰蛋白胨、番茄汁)进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,其他成分按照 MRS 培养基中的含量进行配比。优化 FM-LP-4 菌株的增殖培养基。

表 2 因素水平			
水平	A:葡萄糖含量(g/L)	B:胰蛋白胨含量(g/L)	C:番茄汁含量(g/L)
1	25	25	50
2	30	30	60
3	35	35	70

1.5 验证试验

按照正交试验结果配制优化的培养基,进行接种 FM-LP-4 菌株培养,测定 $D_{600\text{ nm}}$,重复 3 次。

1.6 数据统计分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析;数据间差异比较采用 t 检验,差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 温度对 FM-LP-4 菌株生长的影响

由图 1 可以看出,随着温度的升高,FM-LP-4 菌株的菌体密度呈先升高后降低的趋势,在温度为 34 ℃ 时,菌体密度最高,因此,FM-LP-4 菌株的适宜生长温度在 34 ℃ 左右。

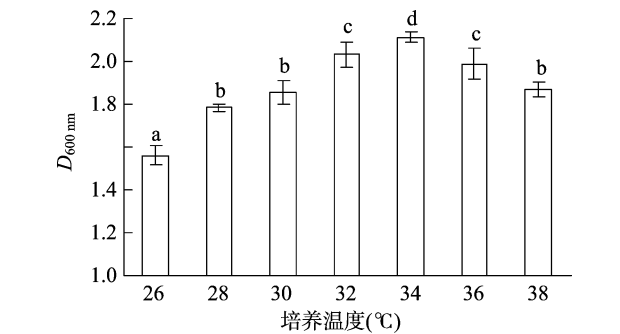


图1 温度值对 FM-LP-4 菌株生长动态的影响

2.2 初始 pH 值对 FM-LP-4 菌株生长的影响

培养基的初始 pH 值对菌体的生长也有重要的影响,合适的 pH 值能缩短菌体的延滞期,较快地进入菌株对数生长期。由图 2 可知,MRS 的初始 pH 值为 6.5 时,在相同的生长时间,菌体密度最高。因此,最适的初始 pH 值为 6.5。

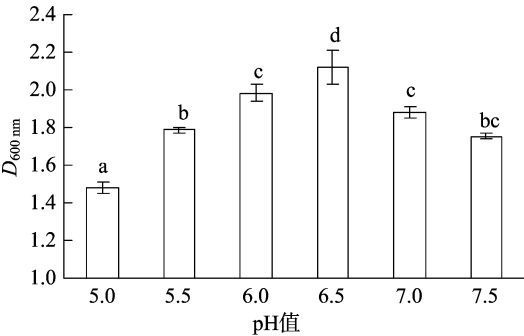


图2 初始 pH 值对 FM-LP-4 菌株生长动态的影响

2.3 接种量对 FM-LP-4 菌株生长的影响

接种量较低会延长菌体的延滞期,接种量较高菌体会较快进入对数生长期,进而较快进入菌体稳定期,在稳定期菌体容易发生自溶现象,进而降低菌体密度。因此,合适的接种量也是菌体高密度培养的一个重要条件。由图 3 可以看出,随着接种量的增加,菌体密度呈现先增加后缓慢降低的趋势,接种量为 4% 时菌体密度达到最大值,但接种量为 3%~5% 时,菌体密度没有显著 ($P > 0.05$) 区别,因此选择 4% 为最适接种量。

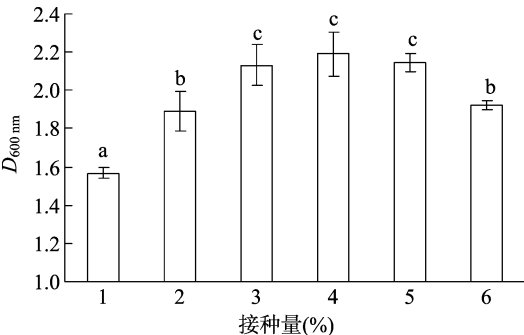


图3 接种量对 FM-LP-4 菌株生长动态的影响

2.4 装液量对 FM-LP-4 菌株生长的影响

一般乳酸菌均是兼性厌氧型,环境的氧含量对菌株的生长有明显的影 响。本研究利用 50 mL 三角瓶,装不同含量的 MRS 液体培养基,在相同条件下培养相同时间,检测 FM-LP-4 菌株的菌体密度。由图 4 可以看出,随着装液量的增加,FM-LP-4 菌株密度升高,在装液量为 40 mL 条件下,菌体密度达到最高,但与装液量为 50 mL 的三角瓶中的菌体密度没有显著差异 ($P > 0.05$),为操作方便,选择 80% 为最适装液量。

2.5 FM-LP-4 菌株培养条件正交优化

考虑到因素之间可能存在联合协同的交互作用,选定在单因素试验中培养温度、接种量、初始 pH 值为 3 个主要因素,利用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化 FM-LP-4 菌株的培养条件。由表 3 可以看出,3 个因素对 FM-LP-4 菌株活菌增殖量的影响顺序为 $A > C > B$,即影响 FM-LP-4 菌株生长发育的最

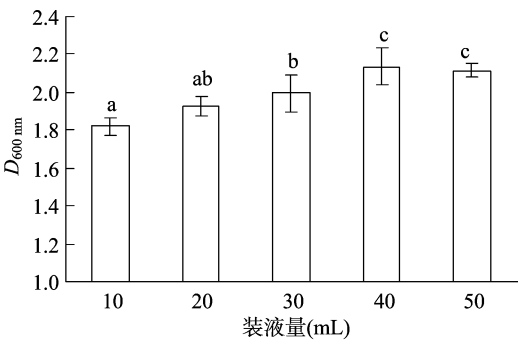


图4 装液量对 FM-LP-4 菌株生长动态的影响

主要环境因素是培养温度,其次是初始 pH 值。确定最佳增殖培养条件为 $A_2B_1C_3$,即培养温度为 34 ℃、接种量为 3%、初始 pH 值为 6.8。

2.6 不同碳源对 FM-LP-4 菌株生长的影响

培养基中碳源和氮源成分及其适宜添加量的选择一直是改善乳酸菌生长的手段^[12-13],经常使用增菌培养基包括配制培养基(如 MRS、M17 等)、乳基质培养基、乳清基质培养基等,其中,乳基质培养基、乳清基质培养基比较适合乳酸菌的生长,生长达到稳定期的乳酸菌的菌体密度较高,但因其增殖慢或不易分离菌体而不宜采用。乳酸菌增殖培养基应具有以下 2 个特点:(1)适合菌体生长、繁殖速度快,在较短时间内可以得到大量高活力细胞;(2)菌体与培养基易分离、成本低廉^[14-15]。因此,研究选择以 MRS 为基本培养基,在此基础上改变碳源、氮源,进而筛选合适的碳源和氮源。另外有研究报道,在 MRS 培养基中添加蔬菜汁能够改善乳酸菌的生长,增加菌体密度,因此,本研究选择一些常见蔬菜汁进行试验,目的是能够增加 FM-LP-4 菌株的菌体密度,为 FM-LP-4 菌株直投发酵剂的开发提供理论依据和技术支持。

表 3 FM-LP-4 菌株培养基条件优化正交试验结果

试验号	A:培养温度 (℃)	B:接种量 (%)	C:初始 pH 值	空列	D _{600 nm}
1	1(32℃)	1(3%)	1(6.2)	1	1.98
2	1	2(4%)	2(6.5)	2	2.01
3	1	3(5%)	3(6.8)	3	1.95
4	2(34℃)	1	2	3	2.18
5	2	2	3	1	2.21
6	2	3	1	2	2.29
7	3(36℃)	1	3	2	2.14
8	3	2	1	3	1.99
9	3	3	2	1	2.03
k ₁	1.98	2.10	2.09		
k ₂	2.23	2.07	2.07		
k ₃	2.05	2.09	2.11		
极差	0.25	0.03	0.04		
较优水平	A ₂	B ₁	C ₃		

本研究选择乳酸杆菌属生长比较容易利用的葡萄糖、果糖、蔗糖、半乳糖、麦芽糖、甘露糖为碳源,这些碳源在市场上容易买到。由图 5 可知,不同碳源对 FM-LP-4 菌株生长的影响差别很大,其中以葡萄糖为碳源的培养基中 FM-LP-4 菌株的菌体密度最高,生长 20 h 时, $D_{600 nm}$ 值达到 2.14,其次是果糖, $D_{600 nm}$ 值为 2.09,以甘露糖为碳源的培养基中

FM-LP-4 菌株菌体密度最低, $D_{600\text{ nm}}$ 仅为 1.70, 比以葡萄糖为碳源的培养基菌体 $D_{600\text{ nm}}$ 值低 0.44, 因此, 选择葡萄糖为 FM-LP-4 菌株适宜生长碳源。

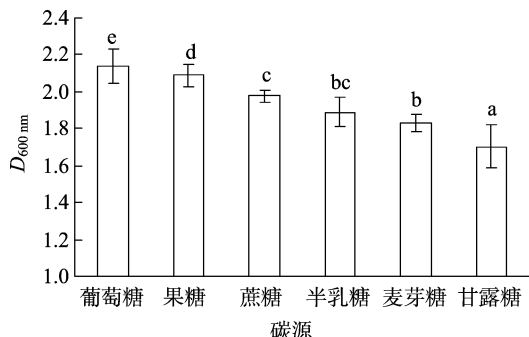


图5 不同碳源对 FM-LP-4 菌株发酵液菌体密度的影响

2.7 葡萄糖不同含量对 FM-LP-4 菌株生长的影响

添加适量的碳源对菌体生长有很大的影响, 较低的碳源含量不足以支持菌体的生长, 高含量的碳源会增加培养液的渗透压, 不利于菌体的生长。由图 6 可知, 随着碳源含量的增加, 菌体密度开始呈现增长趋势, 当葡萄糖含量为 3% 时, 菌体密度达到最高, 但与 4% 葡萄糖含量的菌体密度差异不显著 ($P > 0.05$), 随着碳源含量的继续增加, 菌体密度又呈下降趋势, 因此, 葡萄糖最适的添加量为 3%。

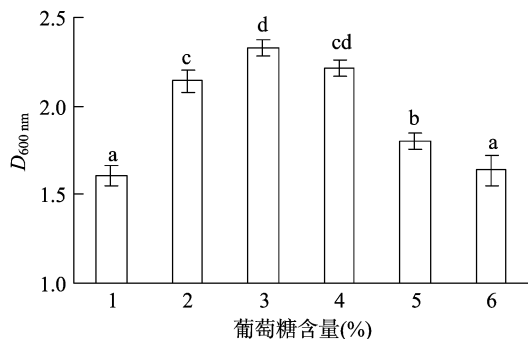


图6 葡萄糖含量对 FM-LP-4 菌株发酵液菌体密度的影响

2.8 不同氮源对 FM-LP-4 菌株生长的影响

选择蛋白胨、胰蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、鱼蛋白胨、硫酸铵、硝酸钠等氮源作为筛选适合 FM-LP-4 生长的氮源。由图 7 可知, 有机氮源更适合 FM-LP-4 菌株的生长, 在有机氮源中, 以胰蛋白胨的促生长效果最明显, 牛肉膏次之。因为牛肉膏中含有肌酸、肌酸酐、氨基酸类、核苷酸类、有机酸类、矿物质类及维生素类的水溶性物质, 能够为乳酸菌生长提供多种营养物质, 因此, 对于氮源来说, 选择胰蛋白胨和牛肉膏为复合氮源, 其中, 添加牛肉膏的含量按照 MRS 基本培养基的添加量进行, 因为其除了作为氮源来源, 还提供其他的营养成分。

2.9 胰蛋白胨不同含量对 FM-LP-4 菌株菌体密度的影响

添加适量的氮源对菌体生长有很大的影响, 较低的氮源含量不足以支持菌体的生长, 高含量的氮源会增加培养液的渗透压, 不利于菌体的生长。由图 8 可知, 随着胰蛋白胨含量的增加, 菌体密度先呈上升趋势, 当胰蛋白胨含量为 3% 时, 菌体密度达到最高, 随着胰蛋白胨含量的进一步增加, 菌体密度呈下降趋势, 因此, 胰蛋白胨最适的添加量为 3%。

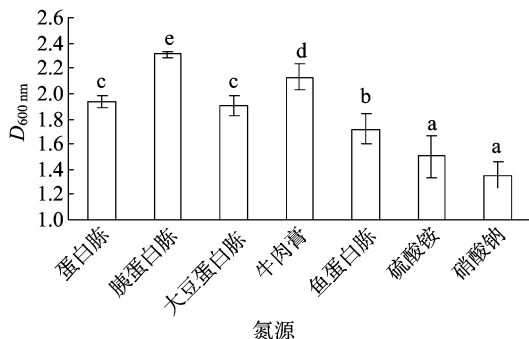


图7 不同氮源对 FM-LP-4 菌株发酵液菌体密度的影响

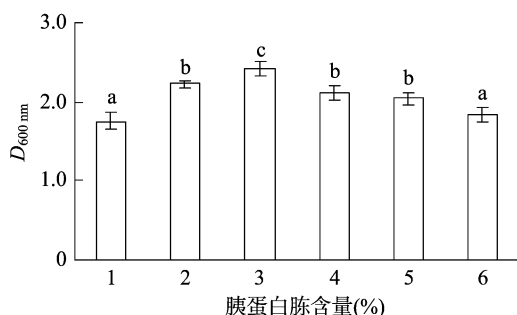


图8 胰蛋白胨含量对 FM-LP-4 菌株发酵液菌体密度的影响

2.10 不同蔬菜汁对 FM-LP-4 菌株生长的影响

在乳酸菌高密度培养基的筛选和优化研究中, 除了对氮源和碳源进行优化研究外, 蔬菜汁对乳酸菌增殖的影响也有大量研究, 葛宗昌等研究发现, 马铃薯汁能促进干酪乳杆菌的生长^[16]。本研究选择包菜汁、番茄汁、胡萝卜汁、青辣椒汁、白菜汁、黄瓜汁作为营养因子, 检测不同的蔬菜汁对 FM-LP-4 菌株生长的影响。由图 9 可知, 在 MRS 基础培养基中, 添加不同的蔬菜汁, 菌体密度呈不同的变化, 其中, 番茄汁对 FM-LP-4 菌株的增殖效果最好, MRS 基本培养基中 FM-LP-4 菌株的 $D_{600\text{ nm}}$ 为 1.992, 含有番茄汁的 FM-LP-4 菌株的 $D_{600\text{ nm}}$ 高达 2.213; 其次是胡萝卜汁, $D_{600\text{ nm}}$ 高达 2.194, 可见不同的菌株对蔬菜汁的响应是不同的, 因此, 选择番茄汁为最适的营养增殖因子。

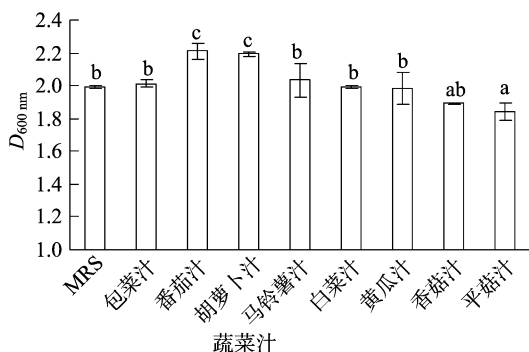


图9 不同蔬菜汁对 FM-LP-4 发酵液菌体密度的影响

2.11 番茄汁不同添加量对 FM-LP-4 菌株生长的影响

由图 10 可知, 随着番茄汁添加量的增加, 菌体密度开始逐渐增加, 但增加到一定程度, 增加效果不再明显, 考虑到经济成本, 选择合适的添加量为 6%。

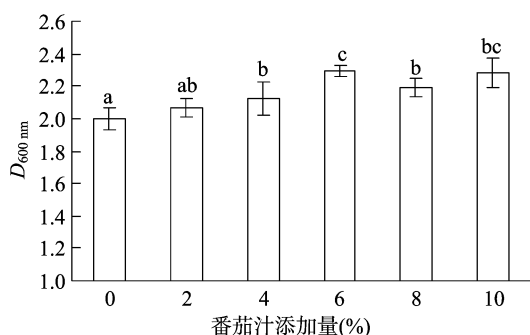


图10 不同番茄汁含量对 FM-LP-4 菌株发酵液菌体密度的影响

2.12 FM-LP-4 菌株增殖培养基正交优化

几种增殖因素之间可能存在联合协同作用,选定在单因素试验中增殖效果较明显的几种增殖因素(葡萄糖、胰蛋白胨和番茄汁)进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,其他营养成分按照 MRS 配方进行配制,以优化 FM-LP-4 菌株的最佳增殖培养基。由表 4 可知,3 个因素对 FM-LP-4 菌株活菌增殖量的影响顺序为 $B > C > A$,即影响 FM-LP-4 菌株生长发育的最主要因素是胰蛋白胨,其次是番茄汁。确定最佳增殖培养基配方为 $A_2B_3C_2$,即 30 g/L 的葡萄糖、35 g/L 的胰蛋白胨、60 g/L 番茄汁。

表 4 FM-LP-4 菌株培养基成分优化正交试验结果

试验号	A:葡萄糖 (g/L)	B:胰蛋白胨 (g/L)	C:番茄汁 (g/L)	空列	$D_{600\text{nm}}$
1	1(25)	1(25)	1(50)	1	2.01
2	1	2(30)	2(60)	2	2.24
3	1	3(35)	3(70)	3	2.33
4	2(30)	1	2	3	2.38
5	2	2	3	1	2.51
6	2	3	1	2	2.56
7	3(35)	1	3	2	2.21
8	3	2	1	3	1.99
9	3	3	2	1	2.66
k_1	2.19	2.20	2.19		
k_2	2.48	2.25	2.43		
k_3	2.29	2.52	2.35		
极差	0.29	0.32	0.24		
较优水平	A2	B3	C2		

2.13 验证试验

按照确定的培养基配方配制培养基,以原始 MRS 培养基为对照,装液量均为 80%,以 3% 的接种量接种,在温度为 34 ℃ 条件下培养 24 h,重复 3 次。原始培养基的 FM-LP-4 的 $D_{600\text{nm}}$ 平均值为 2.15,优化培养中 FM-LP-4 的 $D_{600\text{nm}}$ 平均值为 2.54,优化后的菌体 $D_{600\text{nm}}$ 提高 18.14%。

3 结论

通过对 FM-LP-4 菌株的培养条件和培养基进行研究,为 FM-LP-4 菌株作为功能型高密度发酵剂的制备提供技术支持。结果表明,FM-LP-4 菌株培养条件的优化结果确

定 FM-LP-4 菌株的最佳增殖培养条件是培养温度为 34 ℃、接种量为 3%、初始 pH 值为 6.8。FM-LP-4 菌株培养基配方的优化确定为 30 g/L 葡萄糖、35 g/L 胰蛋白胨、60 g/L 番茄汁,其他成分与 MRS 培养基基本配方一致。在优化后的培养条件下培养 18 h,FM-LP-4 菌体 $D_{600\text{nm}}$ 提高 18.14%。

参考文献:

- [1] Xiong T, Huang X H, Huang J Q, et al. High-density cultivation of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in an ammonium and glucose fed-batch system[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(38): 7518-7525.
- [2] Hsieh C M, Yang F C, Iannotti E L. The effect of soy protein hydrolyzates on fermentation by *Lactobacillus amylovorus*[J]. Process Biochemistry, 1999, 34(2): 173-179.
- [3] 白凤翎, 曲玲童, 张柏林, 等. 大豆蛋白水解物促乳酸菌增殖发酵的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 209-212.
- [4] 任亚妮, 车振明, 黄莉. 乳酸菌发酵剂中的细胞高密度培养条件及最佳离心条件探索[J]. 中国调味品, 2011, 36(5): 36-39.
- [5] 熊涛, 徐立荣, 范镭, 等. 蔬菜发酵专用乳酸菌的菌体高密度培养[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 345-350.
- [6] 任亚妮, 车振明, 金建, 等. 短乳杆菌的培养条件及高密度培养研究[J]. 中国调味品, 2011, 36(6): 48-53.
- [7] 熊晓辉, 于修, 熊强, 等. 乳酸菌发酵剂高密度培养的研究[J]. 中国调味品, 2004, 39(5): 17-21.
- [8] Nocerino R, Corsello G, Carta M, et al. Effect of fermented milk with *Lactobacillus paracasei* CBA L74 on gastrointestinal and respiratory infections in children: multicenter randomized controlled trial[J]. Digestive and Liver Disease, 2016, 71(12, S1): 425.
- [9] Teanpaisan R, Piwat S. *Lactobacillus paracasei* SD1, a novel probiotic, reduces mutans streptococci in human volunteers: a randomized placebo-controlled trial[J]. Clinical Oral Investigations, 2014, 18(3): 857-862.
- [10] Franko B, Vaillant M, Recule C, et al. *Lactobacillus paracasei* endocarditis in a consumer of probiotics[J]. Medecine et Maladies Infectieuses, 2013, 43(4): 171-173.
- [11] Wang Y, Zhou J Z, Xia X D, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus paracasei* FM-LP-4 isolated from Xinjiang camel milk yoghurt[J]. International Dairy Journal, 2016, 62: 28-34.
- [12] 钟正丹, 何义国, 赵兴秀, 等. 白酒酒糟中抗氧化乳酸菌的筛选及培养基优化[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 533-536.
- [13] 姚芳, 肖香, 董英. 响应面法优化具有抑菌活性的大麦乳酸菌发酵工艺[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(11): 296-301.
- [14] Stadhouders J, Jansen L A, Hup G, et al. Preservation of starters and mass production of starter bacteria[J]. Netherlands Milk and Dairy Journal, 1969, 23: 182-199.
- [15] Stanley G. Manufacture of starters; the manufacture of starters by batch fermentation and centrifugation to produce concentrates[J]. International Journal of Dairy Technology, 1977, 30(1): 36-39.
- [16] 葛宗昌, 孟宪刚. 西北酸菜直投式发酵剂菌株高密度培养的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(27): 13566-13569.