微生物学报 Acta Microbiologica Sinica 48(6): 818~823; 4 June 2008 ISSN 0001-6209; CN11-1995/Q http://journals.im.ac.cn

植物乳杆菌 ZJ316 生产细菌素

李景良,宋达峰,顾青*

(浙江工商大学食品与生物工程学院,杭州 310035)

摘要:【目的】研究植物乳杆菌 ZJ316 生长和产细菌素的最佳培养基成分和发酵条件,以提高该菌产 plantaricin ZJ316 的能力。【方法】 改变培养基成份和发酵条件,考察不同氮源、碳源等培养基成分和不同的发酵温度等条件对 ZJ316 生长和产细菌素的影响。【结果】最佳培养基为 MRS 培养基 ;优化后的培养基配方为葡萄糖 10~g/L ,麦芽糖 10~g/L ,酵母提取物 10~g/L ,蛋白胨 10~g/L , 柠檬酸三铵 2~g/L , 吐温 80~为 1~mL/L , $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 6~g/L , 乙酸钠 5~g/L , 硫酸镁 0.2~g/L , 硫酸锰 0.05~g/L。培养基初始 pH6.5 , 30~静置培养 24~h。【结论】通过培养基成分和发酵条件的优化,细菌素产量提高了 2.3~倍,为进一步研究和规模化生产奠定基础。

关键词:细菌素; plantaricin ZJ316; 培养条件

中图分类号:Q939.9 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2008)06-0818-07

细菌素是由某些细菌在代谢过程中通过核糖体合成的一类具有抑菌生物活性的蛋白质或多肽,能抑制许多革兰氏阳性细菌,包括食品病原菌和腐败菌的生长。由于这一特性使得细菌素具有潜在的作为食品生物防腐剂的前景而受到广泛关注。清楚地了解产细菌素菌株的生长和细菌素产量的关系,对于提高细菌素的产量至关重要。并对今后开发应用细菌素具有指导意义。

一般而言,细菌素生产与细菌生长同步,细菌素只在菌体生长时合成;生长后期,细菌素活性或多或少有所下降。细菌素产量也受培养基成份和培养条件的影响,如pH、温度和刺激因子等。因此,培养条件的优化对于细菌素产量的提高有非常重要的影响。培养基成份和培养条件对细菌素产量影响的研究由来已久[1~3,8~15],是菌体生长和细菌素合成的重要因素。

本实验室分离得到一株产细菌素的植物乳杆菌菌株 Lactobacillus plantarum ZJ316 (经 16S rDNA 鉴定)。其细菌素对藤黄微球菌、枯草芽孢杆菌、柠檬

色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、铜绿假单胞菌、恶臭假单胞菌、干酪乳杆菌、单增李斯特氏菌等菌株都具有抑制或杀灭作用,并在 121处理 30 min 后仍有抑菌活性 经分离纯化 质谱(MS)分析该细菌素分子量为 2366 Da,是一类小分子的热稳定多肽。本文就影响 ZJ316 菌株产细菌素的培养基成份和发酵条件进行了研究,以期为该细菌素的进一步研究和应用打下扎实基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株:植物乳杆菌 (Lactobacillus plantarum) ZJ316 为本实验室分离所得。指示菌:藤黄微球菌 (Micrococcus luteus) 10209 购自中国工业微生物菌种保藏中心,菌种保藏于-70 下。

1.1.2 主要试剂和仪器:蛋白胨、胰蛋白胨购自上海 生工生物工程技术服务有限公司,牛肉膏、葡萄糖及 各种无机盐均为国产试剂,购自杭州汇普化工仪器有

基金项目: 浙江省自然科学基金杰出青年团队项目(R306425)

*通讯作者。Tel: +86-571-88071024-8599; E-mail: guqing2002@hotmail.com

作者简介:李景良(1982-),男,安徽涡阳人,硕士研究生,主要从事乳酸菌素的相关研究。E-mail: lijingliang000@msn.com

收稿日期: 2007-11-30; 修回日期: 2008-01-24

限公司, $Nisin(10^6 IU/g)$ 和 Sigma-3K30 型冷冻离心 机购自美国 Sigma 公司, 生化培养箱是广东省医疗器械厂产品。

1.2 培养基和培养条件

Lactobacillus plantarum ZJ316 的培养用 MRS 培养基。指示菌的培养用牛肉膏蛋白胨培养基。指示菌的培养:1%接种量,37 培养至 OD₆₀₀在 0.6 左右,4 保存。Lactobacillus plantarum ZJ316 培养:1%接种量,37 厌氧条件下培养到指数生长期后期,4 保存。

1.3 培养基成份的设计

1.3.1 培养基的选择:分别配置 4 种不同培养基,改良的 MRS、CMB、APT 和 GM17。 MRS 培养基:每升合蛋白胨 10~g,牛肉膏 10~g,酵母提取物 6~g,磷酸氢二钾 2~g,柠檬酸三胺 2~g,乙酸钠 5~g,葡萄糖 20~g,硫酸镁 0.2~g 疏酸锰 0.05~g 吐温 80~1~mL pH6.2~6.4。

CMB 培养基:每升合蛋白胨 $10\,g$,蔗糖 $10\,g$,酵母粉 $10\,g$,NaCl $2\,g$,KH $_2$ PO $_4$ $10\,g$,硫酸镁 $0.2\,g$,pH6.2~6.4。 APT 培养基:每升合酵母提取物 $7.5\,g$,胰蛋白胨 $12.5\,g$,葡萄糖 $10\,g$,柠檬酸钠 $5\,g$,维生素B12 $1.0\,mg$,NaCl $5\,g$,磷酸氢二钾 $5\,g$,二氯化锰 $0.14\,g$,硫酸镁 $0.04\,g$,吐温 $80\,0.2\,mL$,pH6.2~6.4。 GM17 培养基:每升合胰蛋白胨 $5\,g$,大豆蛋白胨 $5\,g$,牛肉膏 $2.5\,g$,酵母粉 $2.5\,g$,乳糖 $10\,g$,甘油 $10\,mL$,磷酸二氢钾 $5\,g$,抗坏血酸 $0.5\,g$,葡萄糖 $5\,g$,硫酸镁 $0.25\,g$,pH6.2~6.4。

- 1.3.2 氮源的影响:以一种修正的 MRS 培养基作为基础培养基,这种培养基中去掉了原 MRS 中的酵母提取物、牛肉提取物、蛋白胨和柠檬酸铵。基础培养基分别补充不同的氮源或混合氮源。
- 1.3.3 碳源的影响:每种碳源以20 g/L的量加入MRS培养基中,替换原 MRS培养基中的葡萄糖。
- **1.3.4** 磷酸盐的影响:以不含 K_2HPO_4 的 MRS 培养基为基础培养基,分别加入不同浓度的 K_2HPO_4 加入到上述的培养基中。
- 1.3.5 乳化剂吐温 80 的影响:分别配置 6 种不同 MRS 培养基 吐温 80 的含量分别为 0 mL /L、1 mL/L、2 mL/L、3 mL/L、4 mL/L、5 mL/L、8 mL/L、15 mL/L、30 mL/L、50 mL/L。

1.4 培养条件的设计

1.4.1 pH:用 5 mol/L 的 HCl 和 5 mol/L 的 NaOH 分

别调 pH 分别为 4.0、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、9.0。

1.4.2 温度:分别于 25 、30 、37 和 45 培养。 1.5 植物乳杆菌素 **ZJ316** 的活性分析

将发酵液于 15000×g 4 冷冻离心 20 min, 取上清液,并用 5 mol/L HCl 溶液调 pH 为 2.0,4 保藏待用。发酵上清液活性效价的分析中活性测定采用牛津杯双层平板法^[4,5]。为消除干扰因素的影响,使用Nisin 标准液和未知样液在同一平板扩散,并由他们的抑菌圈直径及标准效价计算效价。由于 Nisin 的扩散性能差,故常在检测培养基中加入 1 mL/L Tween80以促进 Nisin 在琼脂中扩散,所有实验均重复 2 次,并以空白培养基作为对照。

2 结果和讨论

2.1 培养基成分对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产 细菌素的影响

这些培养基的共同特点是有机氮源含量较高,可满足细菌生长及中和代谢抑制物乳酸而产生细菌素^[6]。结果显示(图 1),4 种培养基都比较有利于菌体的生长,发酵液的 pH 值也无显著差别,但 MRS 培养基更有利于细菌素的合成,为最佳培养基,因此,采用 MRS 培养基为基础培养基来考察影响细菌素产量的因素。

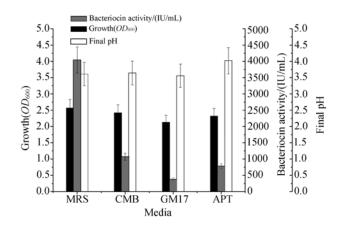


图 1 不同培养基对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产细菌素的影响

Fig. 1 Influence of different media on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

2.2 氮源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素 的影响

图 2 显示不同单一氮源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长和产细菌素的影响。在缺少氮源的情

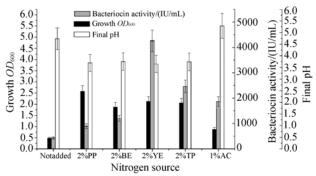


图 2 不同氮源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及 产细菌素的影响

Fig. 2 Influence of nitrogen source on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316. YE: yeast extract; AC: tri-ammonium citrate; TP: tryptone; PP: peptone; BE; beef extract.

况下,菌体生长不良,细菌素合成受限。只加入单一氮源时,酵母提取物既有利于细菌生长,又有利于细菌素的产生,是最佳氮源,胰蛋白胨其次。柠檬酸三铵为10~g/L 的培养基细菌生长状况不好,发酵液的 pH 较高,说明柠檬酸三铵有缓冲发酵液 pH 的作用,作为单一氮源不利于菌体生长。

为进一步优化氮源,本文探讨了混合氮源对细菌生长及产细菌素的影响,以获得最佳氮源。由于酵母提取物是最有利于 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长和产细菌素的最佳氮源,因此混合氮源都以酵母提取物搭配其它不同氮源(表1)。

表 1 混合碳源 Table 1 Combination of multiple nitrogen sources

1	2	3	4	5	6	7	8	9
YE10 g/L	YE10g/L AC2g/L	YE10g/L TP10g/L	YE10g/L TP10g/L	YE10g/L TP10g/L	YE10g/L TP10g/L	YE10g/L PP10g/L	YE10g/L BE10g/L	MRS
			AC2g/L	AC5g/L	PP5g/L AC2g/L	AC2g/L	AC10g/L	

YE: yeast extract; AC: tri-ammonium citrate; TP: tryptone; PP: peptone; BE: beef extract.

图 3 显示了混合氮源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产细菌素的影响。由图中可看出 Lactobacillus plantarum ZJ316 在各种混合氮源下都 生长良好,细菌素合成比使用单一氮源有了很大的提高,加入柠檬酸三铵可以使发酵液的 pH 升高,进一步说明了柠檬酸三铵缓冲发酵液 pH 的作用,但对提高细菌素活性却没有显著影响。作为单一氮源时酵母提取物和胰蛋白胨都比较有利于细菌素的合成,但混合后产细菌素能力反而有所降低。最有利于细菌素生

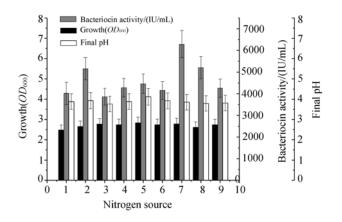


图 3 混合碳源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产细菌素的影响

Fig. 3 Effect of the combination of multiple nitrogen sources on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

产的氮源组合是酵母提取物 10 g/L,蛋白胨 10 g/L,柠檬酸三铵 2 g/L。

2.3 碳源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素 的影响

糖类是细菌生长的主要碳源,原 MRS 培养基中,含量为 20 g/L 的葡萄糖是主要碳源。试验考察了以葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖等作为碳源对细菌生长及产细菌素的影响。

图 4 显示了碳源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长和产细菌素的影响。从图中看出,葡萄糖、蔗糖和麦芽糖都比较有利于细菌生长,其中麦芽糖最有利于生长。而使用乳糖作为单一碳源时会导致细菌菌体生长不良,细菌素合成受限。这与 Mi-Hee Kim 等 l0 发现相反,Mi-Hee Kim 等发现 20 g/L 的乳糖最适合菌体的生长也最有利于细菌素的产生。混合碳源中,含 10 g/L 的葡萄糖和 10 g/L 的麦芽糖的培养基最有利于产细菌素,活性为 7629 IU/mL 大于含 20 g/L 葡萄糖的培养基(5727 IU/mL),与 Nisin Z Streptococcin AFF22 等细菌素比较相似,Matsusaki等 l8 研究发现,葡萄糖和蔗糖最适合 Nisin Z类乳酸菌素的生产。John等 l9 的早期研究也表明葡萄糖最适合 Streptococcin AFF22 的生产。而本文却发现 10 g/L 的葡萄糖搭配上 10 g/L 的麦芽糖可以使细菌素产量显著提高。主要原

因可能是葡萄糖虽最有利于产细菌素,但产酸较严重,因此选 10~g/L 的葡萄糖和 10~g/L 的麦芽糖作为培养基的碳源。

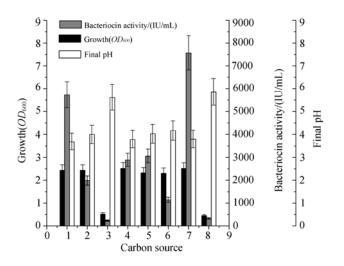


图 4 不同碳源对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及 产细菌素的影响

Fig. 4 Influence of carbon source on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

1: 20 g/L glucose; 2: 20g/L sucrose; 3: 20 g/L lactose; 4: 20g/L maltose; 5: 10 g/L glucose and 10 g/L sucrose; 6: 10 g/L glucose and 10 g/L lactose; 7: 10 g/L glucose ans 10 g/L maltose; 8: not added.

2.4 磷酸盐对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素的影响

磷酸盐不仅是细菌生长的磷源,而且对培养基 pH 稳定也起到缓冲作用。研究表明,磷酸盐的浓度 对细菌素产量的有着显著的影响 $^{[10~11]}$ 。图 5 显示当 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 浓度为 2 g/L 时,最有利于细菌生长。

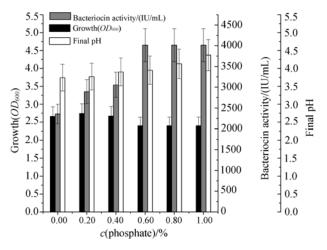


图 5 K₂HPO₄ • 3H₂O 对 *Lactobacillus plantarum* ZJ316 生长及产细菌素的影响

Fig. 5 Effect of K₂HPO₄ ·3H₂O concentration on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

而发酵上清液 pH 随 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 浓度上升而升高,说明 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 有缓冲发酵产酸的情况。随着 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 浓度增大细菌素的活性也增大,当 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 浓度达到 6 g/L 时细菌素活性达到最高, $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 的浓度再增加对细菌素的活性就没有影响。因此选择 6 g/L 浓度 $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$ 为最佳选择。

2.5 乳化剂吐温 80 对 *Lactobacillus plantarum* **ZJ316** 产细菌素的影响

吐温 80 作为一种乳化剂,它可以降低细菌菌体与培养基接触面之间的表面张力,从而改善微生物细胞膜的通透性,促进营养物质进入细胞及代谢产物排出体外,进一步促进细菌素的产生和活力的增强。除此之外,吐温 80 可能为产细菌素菌株的生长提供脂肪酸,也可能是作为一种类似维生素的物质,有助于细菌素的产生。但在细菌素的纯化过程中,过量的Tween80 会和硫酸铵反应形成沉淀,使纯化工艺的难度加大^[6]。 因此选择合适浓度的吐温 80 对细菌素的产生和后面的纯化工作都至关重要。

图 6 显示吐温 80 含量从 0~50 mL/L 时,细菌生长最后的 OD_{600} 值都在 2.5 左右,因此吐温对细菌生长影响不大。并且随着吐温 80 的增加发酵液上清 pH 也没有明显的变化,当培养基中不含吐温 80 时,细菌素活性为 2697 IU/mL,表明吐温 80 对产细菌素不是必须的,吐温含量从 10~30 mL/L 时,细菌素活性先降低后又升高然后又开始下降。当土温 80 的含量达到 50 mL/L 时,细菌的生长也并没有受到明显的影响,但细菌素的合成却受阻。由于高吐温含量不利于细菌素的分离纯化,因此选择 1 mL/L 吐温 80 含量为最佳条件。

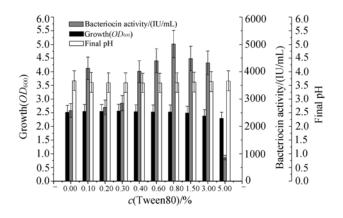


图 6 吐温 80 对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产 细菌素的影响

Fig. 6 Influence of Tween80 on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

2.6 pH 对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素的 影响

培养基中的 pH 情况,对任何菌种的生长都有影响。研究发现,培养基 pH 对产细菌素细菌的生长和产细菌素都有很大的影响,一般低 pH 不利于菌体生长和产细菌素。

图 7 显示 Lactobacillus plantarum ZJ316 对 pH 有很好的耐受性,初始 pH 由 $4.0 \sim 9.0$,对菌体生长的影响都不大,发酵液 OD_{600} 值都在 2 以上。pH 在 $5.0 \sim 6.0$ 时最适合菌体生长。当 pH 位于 $6.0 \sim 7.0$ 之间时,细菌素活性最高,和植物乳杆菌 R260 产细菌素的情况类似。石金舟[12]等研究表明,植物乳杆菌 R260 产细菌素活性随着 pH 的升高呈先上升后下降趋势,pH 为 6.5 时细菌素活性最高。

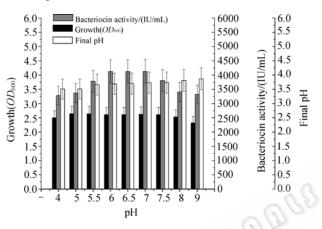


图 7 初始 pH 对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产细菌素的影响

Fig. 7 Influence of initial pH on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

2.7 温度对 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素 的影响

图 8 表明,培养温度从 25 到 37 时菌体都生长良好,随着培养温度的升高,发酵液的 pH 略有降低,表明高温更有利于细菌产酸。当温度为 30 时,Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素活性最高。但菌体在 37 时生长最好。这表明细菌生长最旺时期并不是产细菌素最多时期。当温度达到 45 时,菌体几乎停止了生长,细菌素的合成也受到了限制。Lactobacillus plantarum 17.2b 具有相似的情况,Delgado^[13]等人研究发现 Lactobacillus plantarum 17.2b 在 32 时菌体生长最快,活性最高出现在 24 。Lactobacillus brevis OG1^[14]在 30 时最有利于产细菌素,菌体生长也最好,到 45 菌体就停止生长和合成细菌素了。Lactobacillus plantarum BF001^[15]在 37 时菌体生长最好,活性也最高。

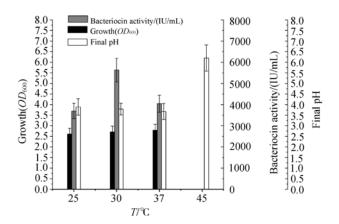


图 8 温度对 Lactobacillus plantarum ZJ316 生长及产细菌素的影响

Fig. 8 Effect of temperature on cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ZJ316.

3 结论和讨论

利用乳酸菌发酵来保存食品和饮料有着悠久的历史,但细菌素的发现和应用却只有几十年。迄今为止,只有 Nisin 在食品行业得到了广泛的应用,细菌素产量的低下成为限制细菌素生产和应用的关键因素。细菌素的产量主要取决于细菌的遗传特性,但发酵条件对细菌素的产量亦有着很大的影响,如培养基成份、培养温度、起始 pH 等因素。

本研究表明 ,影响 Lactobacillus plantarum ZJ316 产细菌素的最重要的因素是氮源,酵母提取物明显优 于其他氮源。乳糖会使 Lactobacillus plantarum ZJ316 的生长不良,细菌素合成受抑制。以单一的麦芽糖作 为碳源时细菌素的活性不高,麦芽糖和葡萄糖结合作 为碳源时却表现出很高的活性,但对于细菌菌体的生 长和发酵液的 pH 值并没有显著的影响。随着磷酸氢 二钾浓度的提高,菌体生长受到抑制,发酵液的 pH 值也升高。但细菌素活性却增强, 当磷酸氢二钾的浓 度超过 6 g/L 时,增加磷酸氢二钾的浓度对细菌素的 效价的提高没有明显影响。吐温 80 对于 plantaricin ZJ316 的合成不是必须的 ,对菌体生长和发酵液的 pH 也没有明显的影响,较高浓度的吐温 80 有利于细菌 素的合成。但含量高过 8 mL/L 时浓度继续增大则细 菌素合成有一定程度的下降。一定范围内 pH 对 Lactobacillus plantarum ZJ316 的生长与 plantaricin ZJ316 的合成并无明显影响。菌体的最佳生长温度和 产细菌素的最佳温度条件并不一致,这一现象产生的 原因还有待于近一步的研究。

MRS 培养基比其他培养基更适合本细菌的生长

和产细菌素;以 10~g/L 的葡萄糖和 10~g/L 的麦芽糖作为碳源,以 10~g/L 酵母提取物、 10~g/L 蛋白胨和 2~g/L 柠檬酸三铵的氮源组合最有利于产细菌素;吐温 80 的含量以 1~mL/L 为宜; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 的含量为 6~g/L 时细菌素活性达到最高;产细菌素最佳 pH 为 6.0~7.0;最佳生长温度 37~;最佳产细菌素温度 30~。最后确定 Lactobacillus~plantarum~ZJ316 菌产细菌素的优化条件,培养基:碳源为 <math>10~g/L 葡萄糖、 10~g/L 麦芽糖;氮源为 10~g/L 酵母提取物、 10~g/L 蛋白胨和 2~g/L 柠檬酸三铵;吐温 80~为 1~mL/L, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 浓度 6~g/L,乙酸钠 5~g/L,硫酸镁 0.2~g/L,硫酸锰 0.05~g/L。培养基初始 pH6.5,30~静置培养 24~h。优化前细菌素活性 4044~IU/mL,优化后活性为 9322~IU/mL。优化结果使细菌素产量提高了 2.3~倍。

参考文献

- [1] Biswas SR, Ray P, Johnson MC, et al. Influence of growth conditions on the production of bacteriocin Pediocin AcH, by Pediococcus acidilactici H. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(4): 1265 –1267.
- [2] Cheigh CI, Choi HJ, Park H, et al. Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by Lactococcus lactis subsp. Lactis A164 isolated from kimchi. J Biotechnol, 2002, 95(3): 225–235.
- [3] Mataragasa M, Metaxopoulosa J, Galiotoub M, et al. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by Leuconostoc mesenteroides L124 and Lactobacillus curvatus L442. Meat Sci, 2003, 64(3): 265–271.
- [4] 焦世耀, 张兰威, 李春. 管碟法测定 nisin 效价的改进, 食品科学(Food Science), 2005, 26(7): 175–176.

- [5] 李秀凉, 雷虹, 孟博, 等. 肽类抑菌物质效价的测定. 食品科技(Food Science and Technology), 2006, 31(3): 113-116.
- [6] 石金舟, 陈丽园, 陈晓琳, 等. 细菌素发酵条件的研究进展. 中国微生态学杂志(*Chinese Journal of Microecology*), 2005, 17(5): 390-391.
- [7] Kim MH, Kong YJ, Baek H, et al. Optimization of culture conditions and medium composition for the production of micrococcin GO5 by Micrococcus sp. GO5 . J Biotechnol, 2006, 121(1): 54–61.
- [8] Matsusaki H, Endo N, Sonomoto K, et al. Lantibiotic nisin Z fermentative production by Lactococcus lactis IO-1: relationship between production of the lantibiotic and lactate and cell growth. Appl Microbio Biot, 1996, 45(1): 36–40.
- [9] Mulders JW, Boerrigter IJ, Rollema HS, et al. Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z, a natural nisin variant. Eur J Biochem, 1991, 201(3): 581–584.
- [10] Todorov SD, Dicks LM. Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolated from boza. *Braz J Microbiol*, 2007, 38(1): 166–172.
- [11] Todorov SD, Dicks LM. Effect of medium components on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* strains ST23LD and ST341LD, isolated from spoiled olive brine. *Microbiol Res*, 2006, 161(2): 102–108.
- [12] 石金舟, 陈丽园, 张明. 植物乳杆菌 R260 产细菌素发酵条件 的研究. 中国微生态学杂志(Chinese Journal of Microecology), 2006, 18(5): 341-342.
- [13] Delgado A, Arroyo López FN, Brito D, et al. Optimum bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* 17.2b requires absence of NaCl and apparently follows a mixed metabolite kinetics. *J Biotechnol*, 2007, 130(2): 193–201.
- [14] Ogunbanwo ST, Sanni AI, Onilude AA. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus bre*vis OG1. Afr J Biotechnol, 2003, 2 (7): 179–184.
- [15] Paynter MJ, Brown KA, Hayasaka SS. Factors affecting the production of an antimicrobial agent plantaricin F,by *Lactobacillus plantarum* BF001. *Lett Appl Microbiol*, 1997, 24(3): 159–165.

Optimization of plantaricin production by Lactobacillus plantarum ZJ316

Jingliang Li, Dafeng Song, Qing Gu*

(College of Food & Biotechnology Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: [Objective] To enhance the production of plantaricin by *Lactobacillus plantarum* ZJ316 isolated from infant feces. [Methods] We analyzed fermentation parameters influencing cell growth and plantaricin production with different medium composition and under different cultivation conditions. [Results] MRS (DE MAN, ROGOSA, SHARPE) medium was more suitable for producing bacteriocin than other media. The maximum plantaricin production was obtained in modified MRS medium containing 10 g/L maltose and 10 g/L glucose, 10 g/L yeast extract, 10 g/L tryptone and 2g/L tri-ammonium citrate, 1 mL/L Tween80, 6 g/L K₂HPO₄ • 3H₂O, 5 g/L sodium acetate, 0.2 g/L magnesium sulfate and 0.05 g/L manganese sulfate. The optimal initial pH and temperature for plantaricin production were 6.5 and 30 for 24 h. [Conclusion] After optimizing, the production of plantaricin was increased 2.3-fold using the optimized medium, compared with in the basic MRS medium.

Keywords: plantaricin; cultivation conditions; optimization

Supported by the Innovative Youth Team of Natural Science Foundation of Zhejiang Province(R306425)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88071024 exe 8599; E-mail: guqing2002@hotmail.com

Received: 30 November 2007/ Revised: 24 January 2008