

深黄被孢霉和拉曼被孢霉 多不饱和脂肪酸代谢的研究

李莉莉,潘力*,罗立新,林影

(华南理工大学生物科学与工程学院,广东广州 510640)

摘要:应用气相色谱-质谱联用技术对国内和国外两株 γ -亚麻酸(CLA)的主要生产菌(深黄被孢霉和拉曼被孢霉)的脂肪酸成分进行分析,然后从不饱和脂肪酸的代谢途径和菌体的生理特性对两株菌进行比较。从代谢途径看,两株菌的不饱和脂肪酸代谢有一定的差异,其中 $\Delta 6$ -和 $\Delta 12$ -脂肪酸脱氢酶均为阻碍两株菌高产 CLA 的关键所在,再结合两株菌的生理特性,发现拉曼被孢霉较深黄被孢霉更适合工业化生产。

关键词:被孢霉, γ -亚麻酸,气相色谱-质谱联用(GC-MS)

Abstract: The compositions of fatty acids of two main γ -linolenic acid produced strains, which were chosen from domestic and foreign respectively, were analyzed by Gas Chromatography - Mass Spectrography (GC-MS). It was found that there were some differences between two strains, meanwhile, $\Delta 6$ - and $\Delta 12$ -desaturases played the important roles in restraining the high yield of GLA. Combined with physiological characteristic of strains, it was found that *Mortierella ramanniana* was much more fit for industrial production.

Key words: *Mortierella*; γ -linolenic acid; GC-MS

中图分类号:TS201.3 文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2007)12-104-04

γ -亚麻酸(CLA)是人体必须脂肪酸之一,随着 CLA 在药品、食品添加、保健品及美容化妆品等各方面的广泛应用,全球市场的需求迅速增大(至1998年全球需求量就高达2000t),微生物发酵生产 CLA 越来越受到人们的重视^[1-3]。CLA 存在于细菌、真菌及藻类等微生物中,与真菌相比,细菌及藻类工业化生产 CLA 没有优势。在国内,深黄被孢霉是发酵生产 CLA 的主要菌株,且把深黄被孢霉 AS3.3410 作为

收稿日期:2007-05-11 * 通讯联系人

作者简介:李莉莉(1982-),女,博士研究生,主要从事工业微生物生产不饱和脂肪酸的研究。

基金项目:广东省科技攻关项目(2006B13001006)。

最适宜工业化生产的出发菌株^[4,5],但至今国内仍未实现微生物生产的工业化;而日本、德国、美国等目前已有商品菌油面市,其中日本 OSAMU HIRUTA 等利用拉曼被孢霉 IFO(NBRC)8187 的诱变株,CLA 的终产量能够达到 5.1g/L 发酵液^[6,7]。本文选择了这两株 CLA 主要生产菌对其脂肪酸的成分进行分析,以期找到阻碍被孢霉高产 CLA 的瓶颈点和更适合工业生产的菌株,同时为进一步对菌株进行代谢途径的改造提供科学的依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

深黄被孢霉(*Mortierella isabellina*) AS3.3410 购于中国科学院微生物研究所;拉曼被孢霉(*Mortierella ramanniana*) NBRC8187 购于日本生物技术研究所微生物菌种保藏中心; γ -亚麻酸甲酯、十七烷酸甲酯、14% BF₃-CH₂OH 溶液 均购于 Sigma 公司;其他试剂 均为色谱纯或分析纯。

电子分析天平 德国 Statorious 公司;旋转蒸发仪 杭州托普仪器有限公司;HP6890/HP5973 气相色谱-质谱联用仪。

1.2 仪器测试条件^[8]

1.2.1 气相色谱条件 HP-FFAP 强极性色谱柱(30m × 0.25mm × 0.25μm),初始柱温 150℃,保留时间 2min,以 5℃/min 升至 225℃,恒温 15min;载气采用高纯 He;柱前压力 88.25kPa;载气流速 1.0mL/min;进样口温度 250℃;进样量 1μL;分流比 10:1。

1.2.2 质谱条件 离子源为 EI 源;离子源温度 230℃;四极杆温度 150℃;电子能量 70eV;发射电流 34.6μA;倍增器电压 1282.4V;接口温度 280℃;溶剂延迟 2.5min;质量范围 33~400u。

1.3 培养基与培养条件

M. ramanniana 斜面扩培培养基(g/L):葡萄糖 20.0,酵母膏 4.0,蛋白胨 7.0,琼脂 20.0, pH 自然。摇瓶培养基(g/L):葡萄糖 100.0,酵母膏 0.4,蛋白胨 0.4,(NH)₄SO₄ 2.0,尿素 2.0, KH₂PO₄ 1.5, K₂HPO₄ 3H₂O 4.0, MgSO₄ 7H₂O 4.0, NaAC 3.0, NaCl 2.0,微量元素液 1mL。接种量为 10³ 个孢子/mL,装液量 20%, 28℃,

200r/min, 培养 5d。微量元素液的成分为(g/L): $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.0, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.2, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.0, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.0。

M. ramanniana 斜面扩培培养基, 摆瓶培养基和培养条件见参考文献[6]。

1.4 样品的预处理^[9]

将摇瓶发酵液真空抽滤, 并用蒸馏水洗涤三次, 抽干后放于烘箱(一定温度)烘至恒重, 或真空冷冻干燥16h。干菌丝体用研钵(或球磨机)磨成粉末, 按菌粉:石油醚(30~60)=1:20(W/V)的比例, 放于索氏抽提器, 抽提24h(每小时4~6个循环), 然后真空旋转蒸发去除石油醚。取准确称量的样品于10mL具塞试管中, 加0.5mol/L KOH-CH₃OH溶液2mL, 在65℃水浴中皂化15min, 待油脂溶解, 冷至室温, 加14% BF₃-CH₂OH溶液2mL, 65℃水浴甲酯化2min, 冷却至室温, 加入正己烷2mL, 振摇, 加入饱和NaCl溶液2mL, 取上层清液分析。

2 结果与分析

2.1 实验结果

用气相色谱-质谱联用仪对菌丝体中的脂肪酸进行分析, 通过HP MSD化学工作站检索NIST05标准质谱图库分析, 并结合人工解析得到菌体中各脂肪酸的成分, 然后根据面积归一化法求得各脂肪酸在菌丝体油脂中的相对含量。其中人工解析遵循以下几点原则: 根据GC-MS推测出的分子量; 基于要分析的菌丝体的遗传特性排除某些物质, 以缩小目标范围; 对照文献报道的相关色谱数据, 进行综合分析; 根据所用分析色谱柱的特性(如极性柱的出峰规律)。*M. ramanniana* 和 *M. ramanniana* 脂肪酸成分及含量的解析结果分别见表1和表2, 菌丝体脂肪酸甲酯的总离子流图分别见图1和图2。

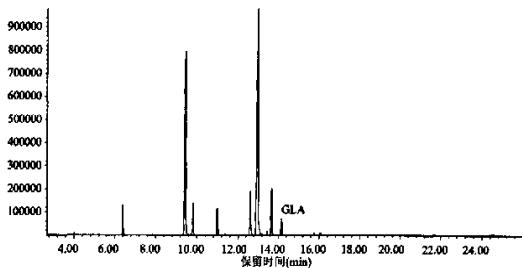


图1 深黄被孢霉菌丝体脂肪酸甲酯的总离子流图

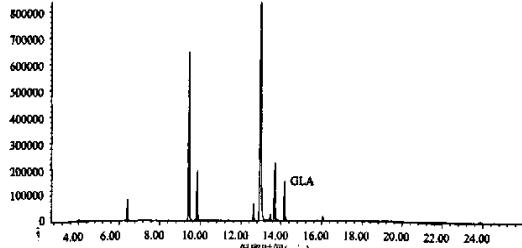


图2 拉曼被孢霉菌丝体脂肪酸甲酯的总离子流图

2.2 结果分析

2.2.1 从多不饱和脂肪酸代谢途径的角度分析^[10]

多不饱和脂肪酸是指含有2个和2个以上双键, 碳原子数在16~22的直链脂肪酸。多不饱和脂肪酸的代谢从油酸(Oleic acid, OA)开始(图3), 油酸在 $\Delta 12$ -脂肪酸脱氢酶的催化下形成亚油酸(Linoleic acid, LA), 亚油酸可以在 $\Delta 15$ -脂肪酸脱氢酶催化下形成 α -亚麻酸(α -linolenic acid, ALA), 从而进入多不饱和脂肪酸代谢的n-3途径, 也可以直接进入n-6途径。此时, 两条途径中的LA和ALA再经 $\Delta 6$ -脂肪酸脱氢酶分别转化成 γ -亚麻酸(γ -linolenic acid, GLA)和十八碳四烯酸(Stearidonic acid, STA)。GLA和STA在其它酶的催化下经过一系列延长和脱氢, 可进一步转化成n-3和n-6途径中诸如AA、DHA等长链多不饱和脂肪酸(Long-chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFAs)。

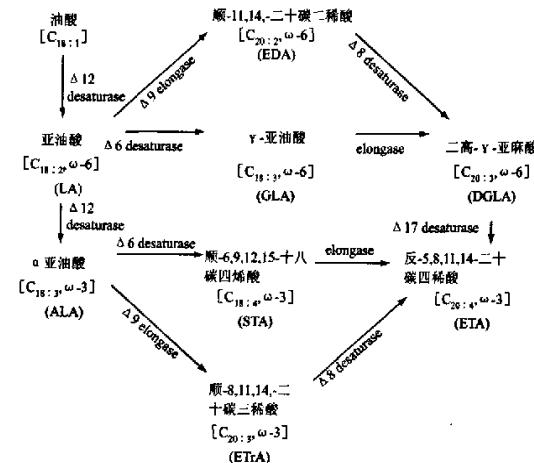


图3 部分多不饱和脂肪酸的代谢途径

比较表1和表2, *M. ramanniana* 和 *M. ramanniana* 在脂肪酸的数量和种类上都有一定的差别, 很容易看出 *M. ramanniana* 中 GLA 的相对含量明显要比 *M. ramanniana* 高。尽管油酸在两株菌中的含量有差异, 但都是过量积累的, 分别为47.58%和43.30%, 由于油酸的过量, 可以通过 $\Delta 12$ -脂肪酸脱氢酶的过量表达来提高亚油酸(LA)的含量以有利于下一步GLA的积累。两株菌均没有EDA($C_{20:2}, \omega 6$), 即GLA没有被 $\Delta 9$ 脂肪酸延长酶消耗。两株菌的区别还在于 *M. ramanniana* 没有ALA产生, 而 *M. ramanniana* 则有很少量的ALA被检出(0.05%), 这说明两者的n-3途径都比较弱或根本不表达。从代谢途径上看, 从LA到GLA的其他平行的途径都是自身阻断的或者是很微弱的。从不饱和脂肪酸的相对含量上来看, *M. ramanniana* 更具高产GLA的能力, $\Delta 6$ -和 $\Delta 12$ -脂肪酸脱氢酶均为阻碍两株菌高产GLA的关键所在。

2.2.2 从菌体生理特性的角度分析 *M. ramanniana* 的干菌体得率较高(31.20g/L), 总油脂含量较高(40.35%), GLA在油脂中的相对含量较低(2.03%);

表1 深黄孢霉菌丝体脂肪酸成分的组成

序号	保留时间 (min)	分子质量分数	成分名称	相对百分含量(%)	相关度
1	4.029	200	十二烷酸(Dodecanoic acid)	0.15	93
2	6.400	228	十四烷酸,肉豆蔻酸(Tridecanoic acid)	2.82	95
3	7.837	242	十五烷酸(Pentadecanoic acid)	0.07	96
4	9.438	256	十六烷酸,棕榈酸(Hexadecanoic acid)	28.00	98
5	9.705	254	顺-7-十六碳烯酸((Z)-7-Hexadecenoic acid)	0.10	93
6	9.812	254	顺-9-十六碳烯酸((Z)-9-Hexadecenoic acid)	3.32	99
7	11.348	268	2-己基-环丙烷-辛酸((Z)-2-hexyl-Cyclopropaneoctanoic acid)	0.08	96
8	12.618	284	硬脂酸(Octadecanoic acid)	6.64	96
9	13.001	282	顺-9-十八碳烯酸,油酸((Z)-9-Octadecenoic acid)	47.88	95
10	13.053	282	反-9-十八碳烯酸,反油酸((E)-9-Octadecenoic acid)	1.61	94
11	13.457	280	顺,顺-6-9-十八碳二烯酸((Z,Z)-6,9-Octadecadienoic acid)	0.52	95
12	13.672	280	顺,顺-9-12-十八碳二烯酸,亚油酸((Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid, LA, ω6)	5.65	97
13	14.158	278	全顺式-6,9,12-十八碳三烯酸,γ-亚麻酸 ((all-E)-6,9,12-Octadecatrienoic acid, GLA, ω6)	2.03	92
14	15.751	312	二十烷酸(Eicosanoic acid)	0.21	99
15	16.061	310	11-二十碳烯酸(11-Eicosenoic acid)	0.31	99
16	20.415	340	二十二烷酸,山嵛酸(Doccanoic acid)	0.11	95
17	24.375	356	反式角鲨烯全反-2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯 ((all-E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-,2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene)	0.17	90
18	24.538	366	15-二十四烷酸(15-Tetracosanoic acid)	0.31	91

表2 拉曼孢霉菌丝体脂肪酸成分的组成

序号	保留时间 (min)	分子质量分数	成分名称	相对百分含量(%)	相关度
1	4.041	200	十二烷酸(Dodecanoic acid)	0.14	96
2	6.412	228	十四烷酸,肉豆蔻酸(Tridecanoic acid)	2.25	96
3	7.854	242	十五烷酸(Pentadecanoic acid)	0.03	91
4	9.438	256	十六烷酸,棕榈酸(Hexadecanoic acid)	25.60	98
5	9.717	254	顺-7-十六碳烯酸((Z)-9-Hexadecenoic acid)	0.14	92
6	9.829	254	顺-9-十六碳烯酸((Z)-9-Hexadecenoic acid)	6.26	99
7	11.361	268	2-己基-环丙烷-辛酸((Z)-2-hexyl-Cyclopropaneoctanoic acid)	0.06	93
8	12.622	284	硬脂酸(Octadecanoic acid)	2.65	99
9	12.992	282	顺-9-十八碳烯酸,油酸((E)-9-Octadecenoic acid)	43.30	99
10	13.065	282	反-9-十八碳烯酸,反油酸((E)-9-Octadecenoic acid)	4.35	99
11	13.466	280	顺,顺-7-10-十八碳二烯酸(7,10-Octadecadienoic acid)	0.86	97
12	13.685	280	顺,顺-9-12-十八碳二烯酸,亚油酸(9,12-Octadecadienoic acid, LA, ω6)	7.99	99
13	14.176	278	全顺式-6,9,12-十八碳三烯酸(6,9,12-Octadecatrienoic acid, GLA, ω6)	5.25	91
14	14.287	278	全顺式-9,12,15-十八碳三烯酸 ((Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid, ALA, ω3)	0.05	91
15	15.763	312	二十烷酸(Eicosanoic acid)	0.14	97
16	16.073	310	11-二十碳烯酸(11-Eicosenoic acid)	0.59	99
17	20.425	340	二十二烷酸,山嵛酸(Doccanoic acid)	0.07	95
18	24.548	368	二十四烷酸(Tetracosanoic acid)	0.29	96

M. ramanniana 的干菌体得率较低(24.78g/L), 总油脂含量较低(33.42%), GLA 在油脂中的相对含量较高(5.25%)。从 GLA 在单位体积发酵液中的含量可以看出, *M. ramanniana* 要略有优势, 同时可以看到干菌体得率和总油脂含量高的 GLA 在油脂中的相对含量低; 干菌体和总油脂含量低的 GLA 在油脂中的相对含量反而高。这也验证了 Stylianatos Fakas 等报道的油脂的积累是与次级代谢密切相关的, 但是 GLA 的合成却是与新生物量的生成紧密相关的, 这就使

得利于油脂生产的培养基不利于 GLA 的积累^[1]。OSAMU HIRUTA 等用 *M. ramanniana* 进行低温的诱变, 最终得到 GLA 的高产菌株, 同时诱变株的性能在工业化规模的实验中也是稳定的, 再加上 *M. ramanniana* 比 *M. ramanniana* 的长势较快的特点也说明 *M. ramanniana* 更适合作为较优的菌株进行工业化的研究。

3 讨论^[12,13]

微生物发酵生产 GLA 的最大障碍就是对高产菌

株选育困难,不能从根本上解决菌种发酵周期长、产率低的问题。而利用基因工程技术,可以通过增加编码脱饱和酶的基因的拷贝数,来提高微生物生产酶的数量,以提高微生物合成 GLA 的能力;或者可以将原来生长缓慢的、但具有合成 GLA 能力菌株的基因克隆到生长迅速的、但不具合成 CLA 能力的菌株内,以得到理想的基因工程菌株。目前 $\Delta 6$ -脂肪酸脱氢酶基因在真菌细胞中的表达最常用的宿主是酿酒酵母,但是酿酒酵母本身只能合成油酸,只有外源性添加 LA,转基因酵母细胞才能合成 GLA,这无疑增加了生产成本。有人尝试将 $\Delta 12$ -和 $\Delta 6$ -脱氢酶在酿酒酵母中共同表达,不需添加亚油酸,直接将油酸转化成 GLA,但是转化率很低,而且酿酒酵母本身油酸含量也低,还有很多类似的努力都因低油含量以及复杂组分而难以推广。利用基因工程手段使含油种子作物合成 GLA 是另一种重要潜在来源,含油种子作物产油量高,商业化农艺生产方法和油的回收处理技术比较成熟。将所克隆到的酶基因构建合适的表达载体,转入油菜、大豆和烟草等含油种子作物中,已经获得功能性表达。同时越来越多的研究表明对单一酶的调控是有限的,应该从整个代谢流进行分析和控制,从传统的单一酶的分析向相互作用的整个生化反应系统转移,关注整体 GLA 代谢途径的最优化,同时可以结合基因工程的手段,对整个代谢网络进行改造以加强 GLA 分支的代谢通量。

参考文献:

- [1] Ristic V, Ristic C. Role and importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the prevention and therapy of atherosclerosis [J]. Med Pregl, 2003, 56: 50~53.
- [2] Grynberg A. Heart and nutrition: which fatty acids for which cardiac function? [J]. Arch Mal Coeur Vlaiss, 2003, 96: 7~12.
- [3] Gunstone F D. Movements towards tailor-made fats [J]. Prog Lipid Res, 1998, 37: 277~305.

(上接第 103 页)

参考文献:

- [1] 郭本恒. 乳品化学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001. 131.
- [2] Park O, Swaisgood H E, Allen J C. Calcium binding of phosphopeptides derived from hydrolysis of α_s -casein and β -casein using immobilized trypsin [J]. Dairy Sci, 1998, 81: 2850~2857.
- [3] 金世琳. 乳品生物化学(下) [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1988. 30~38.
- [4] Gobbiatti, Stepaniak M, De Angelis M, et al. Latent bioactive peptides in milk protein: Proteolytic activation and significance in dairy processing [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2002, 42(3): 223~239.
- [5] Meisel H, Schlimme E. Milk protein precursors of bioactive

- [4] 张鹏, 杨培林, 戴美学. 微生物多不饱和脂肪酸的研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2006, 26(1): 101~104.
- [5] 黄亚东. γ -亚麻酸生产技术 [J]. 广州食品工业科技, 2002, 18(1): 28~29.
- [6] Osamu Hiruta, Yasushi Kamisaka, Toshihiro Yokochi, et al. γ -linolenic acid production by a low temperature-resistant of *Mortierella ramanniana* [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(2): 119~123.
- [7] Osamu Hiruta, Yasushi Kamisaka, Hidehi Takebe, et al. Optimization and scale-up of γ -linolenic acid production by *Mortierella ramanniana* MM 15-1 a high γ -linolenic acid producing mutant [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(4): 366~370.
- [8] Rui L Mendes, Alberto D Reisb, Ana P Pereira, et al. Supercritical CO₂ extraction of γ -linolenic acid (GLA) from the cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) maxima*: experiments and modeling [J]. Chemical Engineering Journal, 2005, 105: 147~152.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [10] Quinn Qun Zhu, Dana M Wallters Pollak. Production of gamma-linolenic acid in oleaginous yeast [P]. US: 20060035351, 2006-02-16.
- [11] Fakas S, Maria Galiotou - Panayotou, Seraphim Papanikolaou, et al. Compositional shifts in lipid fractions during lipid turnover in *Cunninghamella echinulata* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 10(5): 1~7.
- [12] E I dupont de nemours, company. Delta 12 desaturases suitable for altering levels of PUFA in oleaginous yeast [P]. US: 2005047485, 2005-05-26.
- [13] Xue - Rong Zhou, Stanley Robert, Surinder Singh, et al. Heterologous production of GLA and SDA by expression of an *Echium plantagineum* $\Delta 6$ -desaturase gene [J]. Plant Science, 2006, 170: 665~673.
- [14] Adamson N J, Reynolds E C. Characterization of casein phosphopeptides prepared using alcalase: determination of enzyme specificity [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19: 202~209.
- [15] Fitzgerald R J. Potential uses of caseinophosphopeptides [J]. Int Dairy Journal, 1998(8): 451~457.
- [16] W R Morrison. A fast and reliable method for the microdetermination of phosphorus in biological materials [J]. Analytical Biochemistry, 1964(7): 218~224.
- [17] 王璋, 许时婴, 江波, 等译. 食品化学(第三版) [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003. 379.

深黄被孢霉和拉曼被孢霉多不饱和脂肪酸代谢的研究

作者: 李莉莉, 潘力, 罗立新, 林影
作者单位: 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州, 510640
刊名: 食品工业科技 [ISTIC PKU]
英文刊名: SCIENCE AND TECHNOLOGY OF FOOD INDUSTRY
年, 卷(期): 2007(12)

参考文献(13条)

1. Ristic V;Ristic C Role and importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the prevention and therapy of atherosclerosis 2003
2. Grynperry A Heart and nutrition:which fatty acids for which cardiac function? 2003
3. Gunstone F D Movements towards tailor-made fats[外文期刊] 1998(5)
4. 张鹏;杨培林;戴美学 微生物多不饱和脂肪酸的研究进展[期刊论文]-微生物学杂志 2006(01)
5. 黄亚东 γ-亚麻酸生产技术[期刊论文]-广州食品工业科技 2002(01)
6. Osamu Hiruta;Yasushi Kamisaka;Toshihiro Yokochi γ-linolenic acid production by a low temperature-resistant of Mortierella ramanniana 1996(02)
7. Osamu Hiruta;Yasushi Kamisaka;Hidehi Takebe Optimization and scale-up of γ-linolenic acid production by Mortierella ramanniana MM 15-1 a high γ-linolenic acid producing mutant 1996(04)
8. Rui L Mendesa;Alberto D Reisb;Ana P Pereira Supercritical CO₂ extraction of γ-linolenic acid (GLA) from the cyanobacterium Arthrospira (Spirulina) maxima:experiments and modeling[外文期刊] 2005(3)
9. 国家药典委员会 中国药典 2000
10. Quinn Qun Zhu;Dana M Wallters Pollak Production of gamma-linolenic acid in oleaginous yeast 2006
11. Fakas S;Maria Galiotou-Panayotou;Seraphim Papanikolaou Compositional shifts in lipid fractions during lipid turnover in Cunninghamella echinulata 2006(05)
12. E I dupont de nemours company Delta 12 desaturases suitable for altering levels of PUFAs in oleaginous yeast 2005
13. Xue-Rong Zhou;Stanley Robert;Surinder Singh Heterologous production of GLA and SDA by expression of an Echium plantagineum Δ6-desaturase gene[外文期刊] 2006(3)

本文读者也读过(10条)

1. 王同生 深黄被孢霉△'6)-脂肪酸脱氢酶基因探针的制备[学位论文]1999
2. 卜云萍, 王广科, 胡国武, 孙红妍, 任勇, 李航, 李明春, 邢来君 根瘤农杆菌介导深黄被孢霉△6-脂肪酸脱氢酶基因转化大豆及其转基因植株再生[期刊论文]-药物生物技术2003, 10(5)
3. 王广科, 李明春, 李晋川, 刑来君, WANG Guang-ke, LI Ming-chun, LI Jin-chuan, XING Lai-jun 深黄被孢霉△6-脂肪酸脱氢酶基因的原核表达和转基因植株再生研究[期刊论文]-成都医学院学报2009, 4(1)
4. 汤世华, 陈明楷, 杨建斌, 倪倩, 何东平, 陈涛, TANG Shihua, CHEN Mingkai, YANG Jianbin, NI Qian, HE Dongping, CHEN Tao 深黄被孢霉高产多不饱和脂肪酸优化培养的研究[期刊论文]-中国油脂2008, 33(5)
5. 张学炜 深黄被孢霉△'6)-脂肪酸脱氢酶基因缺失突变株构建与分析[学位论文]2007
6. 王啸, 邱树毅, 何腊平 UV、LiCl复合诱变深黄被孢霉选育多不饱和脂肪酸高产菌株[期刊论文]-食品科学 2004, 25(4)

7. 李莉莉. 潘力. 罗立新. Li Lili. Pan Li. Luo Lixin 拉曼被孢霉产 γ -亚麻酸后处理工艺的研究[期刊论文]-食品与发酵工业2007, 33(7)
8. 咸漠. 杨丽. 孙燕. 管新征. 刘延. 毕颖丽. 颜开吉 深黄被孢霉催化转化高碳醇合成不饱和脂肪酸的研究[会议论文]-2000
9. 史福胜. 黑占才. 安永尉. SHI Fu-sheng. HEI Zhan-cai. AN Yong-wei 不同海拔地区牦牛组织线粒体丙二醛含量的测定[期刊论文]-中国兽医杂志2008, 44(10)
10. 咸漠. 康亦兼. 周广栋. 王君霞. 李文兴. 毕颖丽. 颜开吉 不饱和脂肪酸合成中的催化反应特性[会议论文]-2001

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_spgykj200712028.aspx