

利用深黄被孢霉发酵生产油脂的初步研究

耿青伟^{1,2}, 吴开云^{1*}, 吴小芹², 李纪元¹, 刘明靖¹, 平秀敏³

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037; 3. 云南农业大学农业与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 为提高微生物油脂产量, 以产油微生物深黄被孢霉为试验菌株, 采用单因素试验设计, 通过摇瓶培养, 研究了产脂培养基中碳源、氮源种类及其浓度、接种量、初始 pH 值、无机盐离子对菌体生长和油脂积累的影响, 确定了深黄被孢霉摇瓶发酵产油脂的优化培养条件为: 葡萄糖 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 酵母粉 $3.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 接种量为 20%, pH 值为 5.0 ~ 6.0, 硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在优化培养条件下菌体生物量为 $20.62 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 油脂含量为 43.02%, 油脂产量为 $8.87 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关键词: 深黄被孢霉; 发酵; 油脂

中图分类号: Q939.9

文献标识码: A

Preliminary Study on the *Mortierella isabellina* Fermentating to Produce Lipid

GENG Qing-wei^{1,2}, WU Kai-yun¹, WU Xiao-qin², LI Ji-yuan¹, LIU Ming-jing¹, PING Xiu-min³

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;
2. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China;
3. Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China)

Abstract: To improve the yield of microbial lipids, the lipids production was studied by using the fungus *Mortierella isabellina*. On the basis of the single factor experiment, the effect of various carbon and nitrogen sources and their concentrations, inoculum size, initial pH and inorganic ions on mycelium growth and accumulation of lipid yield in shaker culture was studied. The results showed that the optimal culture condition were as follows: glucose $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, yeast extract $3.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, inoculum size 20%, initial pH 5.0 ~ 6.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Under the optimum culture condition, the biomass yield was $20.62 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, lipid content was 43.02%, the lipid yield was $8.87 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: *Mortierella isabellina*; ferment; lipid

微生物油脂是人类继植物油脂、动物油脂之后开发出的又一食用油脂新资源。近半个世纪以来, 世界上许多国家和地区如美国、英国和荷兰等都在这方面取得了较大成果^[1-3]。在欧洲、中东、南亚和澳洲等地已允许将某些微生物油脂添加到保健食品中^[4]。而日本、德国、美国等目前已有商品菌油面

市, 其中日本 O. Hiruta 等利用拉曼被孢霉 (*Mortierella ramanniana* (Müller) Linnem.) IFO (NBRC) 8187 的诱变株, -亚麻酸 (GLA) 的终产量能达 $5.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[5-6]。S. Papanikolaou 等^[3]利用深黄被孢霉 (*Mortierella isabellina* Oudem. et Koning) 在以葡萄糖为碳源的培养基中生产单细胞油脂, 油脂

收稿日期: 2009-01-09

基金项目: 浙江省科技计划重大项目 (2006C12030)

作者简介: 耿青伟 (1984—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事产油微生物方面研究。

* 通讯作者: 吴开云 (1963—), 男, 副研究员, 主要从事微生物学方面研究. E-mail: wukaiyun@yahoo.com

得率和生物量得率分别为 17% 和 34%, 油脂含量为 50%。在国内, 深黄被孢霉是发酵生产 GLA 的主要菌株, 且 *M. isabellina* AS3. 3410 作为最适宜工业化生产的出发菌株^[7-8]; 吴思国等^[9] 在利用甲壳素解聚产物 N-乙酰-D-葡萄糖胺 (NAG) 为碳源的培养基中, 浅白隐球酵母 (*Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner) ATCC56298 和发酵性丝孢酵母 (*Trichosporon fermentans* Diddens & Lodder.) CICC1368 的菌体油脂含量可达 67% 和 48%。随着石油资源日趋紧缺, 石油价格不断上涨, 微生物油脂已被作为生物柴油的重要资源^[10-12]。

由于产油微生物资源丰富、油脂含量高、能在多种培养条件下生长的特点, 可利用和转化废弃木质纤维素资源, 进行工业化规模生产和开发有着巨大的潜力^[13]。我国林业生物质资源总量巨大, 若利用微生物转化技术, 木质原料经水解获得廉价的碳源, 利用纤维素发酵得到微生物油脂, 再经酯化可用于制备生物柴油, 产量十分可观。目前国内有关产油微生物的研究主要是从生物化工的角度考察一些生产多不饱和脂肪酸的产油霉菌^[14]。国际上对产油微生物甘油三酯生物合成和代谢调控机制的研究已取得重要进展, 如已初步阐明了 AMP 脱氨酶、柠檬酸裂解酶、苹果酸酶等的活性变化与甘油三酯积累活动的关系^[15], 但尚未见通过基因调控手段增加细胞内油脂贮存含量成功的例子。随着微生物基因工程改造技术不断进步, 以及林产化工上木质纤维素降解技术的成熟, 发酵成本会不断下降, 将加速微生物油脂规模化生产进程, 有利于更好地开发和利用林业生物质能源。

据文献报道, 在氮源限制型培养基中, 深黄被孢霉在表现正常生长活性的同时也表现出了显著的高糖摄入量, 即使培养基的初始浓度很高也如此。待氮源耗尽后, 真菌菌体中将会继续积累脂肪, 从而获得可观的油脂产量^[3]。由于深黄被孢霉具有较高的产油潜力, 为进一步提高其油脂产量, 本研究以深黄被孢霉为出发菌株, 在摇瓶培养条件下通过单因素试验初步考察了碳源、氮源、碳氮比 (C/N)、接种量、pH 值以及无机盐离子等对菌株生物量及油脂产量的影响, 从而为获得较好的可以规模化生产的培养条件打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株深黄被孢霉 (*M. isabellina*), 由中国科

学院微生物研究所菌种保藏中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株培养

斜面培养: 深黄被孢霉通过 PDA 斜面培养 3 ~ 5 天, 直至菌丝长出大量孢子。

种子液培养: 用无菌水冲洗斜面上的孢子, 移液枪吸取 50 μL 接种于 20 mL 液体种子培养基 (YEED) 培养 24 h。

YEED 配方: 葡萄糖 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 酵母粉 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蛋白胨 10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 6.0。

发酵培养: 菌株按 20% 接种比例接种到限氮发酵培养基, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 、160 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 7 天。

初始发酵培养基配方: 葡萄糖 80 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 硫酸铵 ((NH_4)₂ SO_4) 3.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 硫酸镁 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 6.0, 1×10^5 Pa 灭菌 25 min。

1.2.2 脂肪颗粒染色 染色方法: 苏丹黑染色法^[16]。培养好的菌体按常规方法涂片, 热固定, 用苏丹黑 B 染色 15 min。倾去染料, 二甲苯脱色至载玻片透明, 自然干燥后用显微镜观察, 脂肪粒呈蓝黑色。

1.2.3 菌体生物量的测定 细胞干质量法^[17]: 发酵液离心集菌, 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒质量, 测定生物量。

$$\text{生物量} (\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = \frac{\text{干菌体} (\text{g})}{\text{发酵液} (\text{L})}$$

1.2.4 菌体油脂含量测定 油脂提取方法: 酸热法提取油脂^[18]。发酵液离心集菌, 菌体沉淀按每克菌 6 mL 的比例加入 4 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸, 振荡混匀, 室温放置 30 min 后, 沸水浴 10 min, -20 $^{\circ}\text{C}$ 速冷, 加入 2 倍体积氯仿 甲醇 (1:1) 提取液, 充分振荡后, 6 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取氯仿层, 加等体积 0.1% 氯化钠溶液, 混匀, 6 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取氯仿层, 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 真空旋转蒸发, 除去氯仿即得油脂。

$$\text{菌株油脂含量} = \frac{\text{菌株油脂产量} (\text{g})}{\text{菌体干质量} (\text{g})} \times 100\%$$

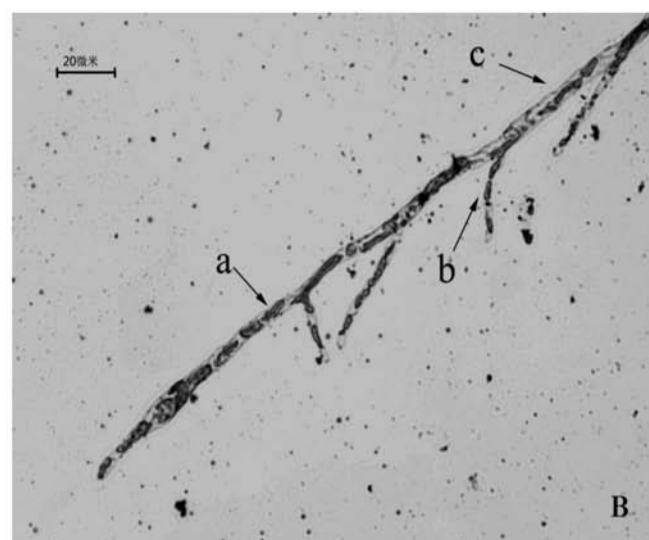
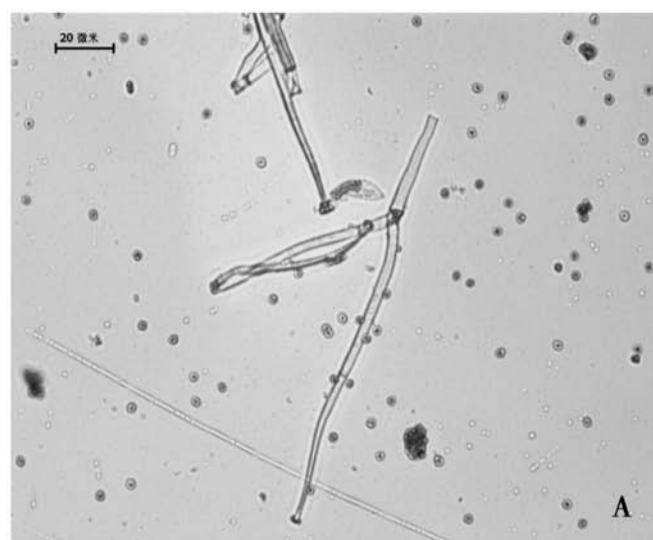
1.2.5 油脂脂肪酸组成及含量的测定 气相色谱法测定^[19]。

2 结果与分析

2.1 深黄被孢霉菌体细胞脂肪颗粒的观察

采用苏丹黑染色法对发酵前后的深黄被孢霉菌体进行染色观察。苏丹黑为脂溶性染色剂, 对菌体染色后, 脂肪粒呈蓝紫色或蓝灰色。根据脂肪粒的大小可以初步判断脂肪含量的多少。图 1-A 为摇瓶

发酵前菌体形态,几乎观察不到脂肪颗粒。从图 1-B 可以看出,经过摇瓶发酵后深黄被孢霉菌体内已



A: 发酵前菌体形态; B: 发酵后菌体形态; a, b, c: 脂肪颗粒

图 1 发酵前后深黄被孢霉菌体形态(10 ×40, 苏丹黑染色)

2.2 不同碳源对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

在基础限氮培养基中分别以 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖作为碳源,其他条件不变,摇瓶发酵结果如图 2 所示。结果表明,以葡萄糖为碳源时,菌体生物量最大,与蔗糖、麦芽糖两个处理间差异达显著水平;碳源为葡萄糖、蔗糖的两个处理间菌体油脂产量差异不显著,但显著高于麦芽糖、乳糖两个处理,且以葡萄糖为碳源时深黄被孢霉的油脂产量、油脂含量及脂肪系数均高于其他处理,可见该菌株对葡萄糖的利用率最高。

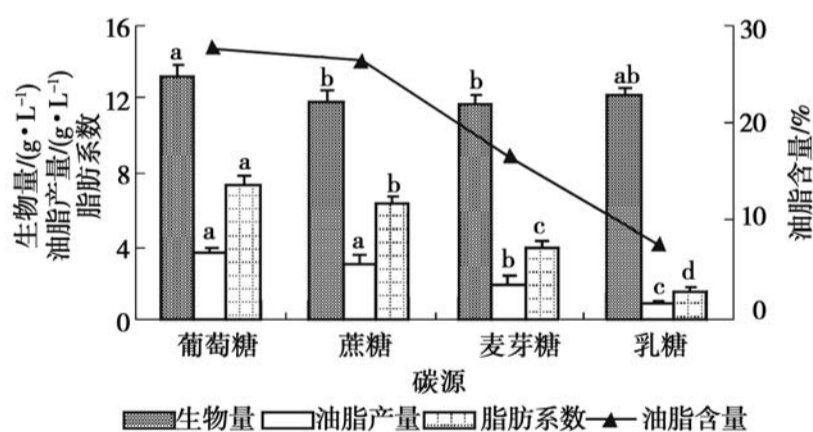


图 2 不同碳源对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

2.3 不同氮源对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

以葡萄糖为碳源,分别以 $3.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铵 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)、硝酸铵 (NH_4NO_3)、尿素、酵母粉、蛋白胨作为氮源,其他条件不变,摇瓶发酵结果如图 3 所示。由图可知,以酵母粉为氮源时,深黄被孢霉的生物量、油脂产量、脂肪系数均高于其他几种氮源,油脂含量最高可达 41.27%。而以尿素为氮源的发酵液中菌株的油脂产量仅为 $0.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,明显低于其他氮源。因此选择以酵母粉为该菌株摇瓶发酵培养的氮源。

积累了丰富的油脂,图中菌体着色部位均为脂肪颗粒(如图中 a、b、c 所示),且分布均匀。

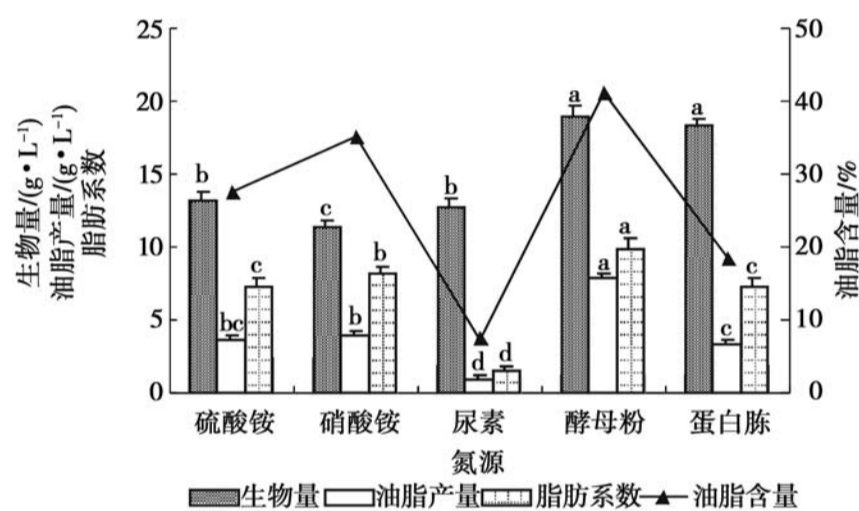


图 3 不同氮源对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

2.4 碳氮比(C/N)对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

据文献报道^[20],适当提高碳氮比(C/N)则有利于提高微生物的油脂产量。一般而言,细胞生长需要充足的氮源,而油脂合成一般是在氮源匮乏的条件下才开始,且油脂积累的最适碳氮比(C/N)会随着菌株的不同而有所不同^[21]。因此,需要在基础培养基的基础上系统调整氮源浓度以改变碳氮比(C/N),考察菌体内油脂积累情况。

试验分别以碳氮比(C/N)为 95、120、160、200、240 进行摇瓶发酵培养,结果见图 4。由图 4 可知,不同碳氮比(C/N)处理间,菌体生物量差异显著,随着碳氮比的升高,氮源浓度降低,菌体生物量也降低,由此也表明氮源浓度对菌体生物量的显著影响。油脂产量则在碳氮比(C/N)为 160 时达到最大,且较其他处理差异显著。因此,确定发酵培养基的碳氮比(C/N)以 160 为宜。

2.5 碳源浓度对深黄被孢霉生长及油脂合成的影响

在优化条件下,以碳氮比(C/N)为 160,选取培养

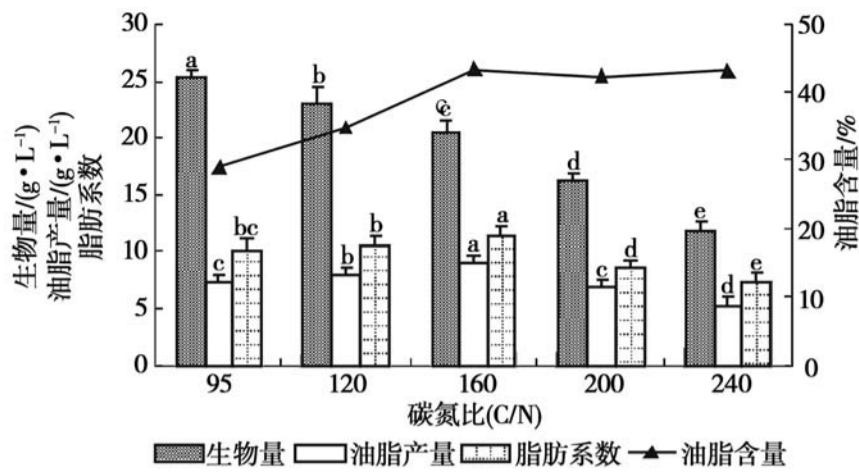


图4 碳氮比(C/N)对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

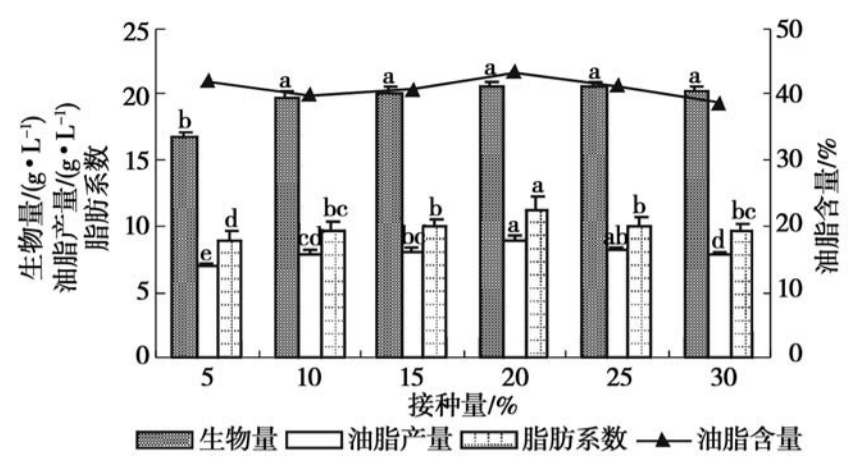


图6 接种量对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

基在葡萄糖浓度分别为 40、60、80、100、120、140 g·L⁻¹ 下摇瓶发酵, 考察不同葡萄糖浓度对菌株产油量的影响, 试验结果如图 5 所示。微生物合成油脂过程中需要充足的碳源, 图中显示, 由于葡萄糖浓度较低, 直接影响油脂的积累, 致使油脂产量较低。随碳源浓度的升高, 菌体的生物量、油脂产量以及油脂含量都随糖浓度的增加而增加。但过高的糖浓度又会影响菌体的生长和油脂的积累, 底物利用率降低。当葡萄糖浓度为 100 g·L⁻¹ 时, 菌体生物量及油脂产量均达最高水平, 脂肪系数较高, 为培养基的最适添加浓度。

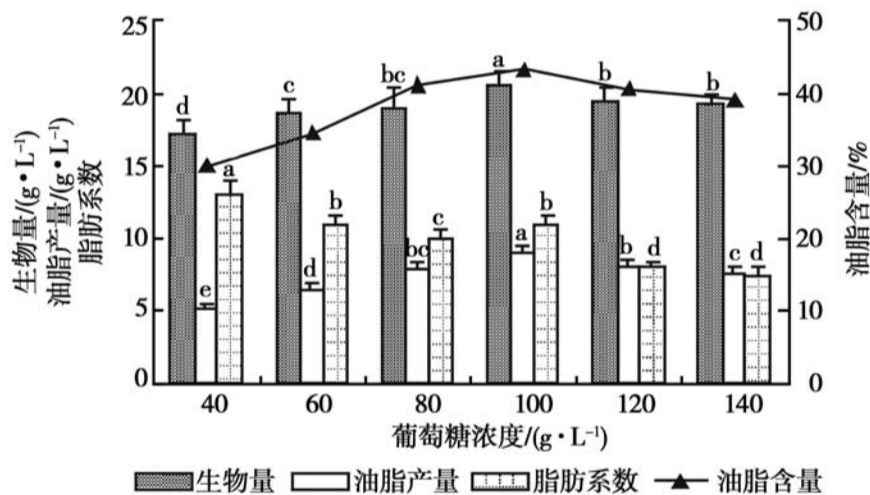


图5 不同葡萄糖浓度对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

2.6 接种量对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

菌株于斜面培养后, 将孢子用无菌水洗脱并接种于种子培养基培养 24 h, 分别按 5%、10%、15%、20%、25%、30% 接种量接种到发酵培养基中, 7 天后测定其生物量和油脂含量, 试验结果如图 6 所示。

图中表明, 接种量 10% ~ 30% 各处理间生物量差异均未达显著水平, 油脂产量以接种量为 20% 时最高, 其次为 25%, 脂肪系数则以接种量为 20% 时最高。由于培养基中营养成分一定, 高接种量并不能有效提高深黄被孢霉的生物量及油脂产量, 反而由于接种量过高, 导致培养基中营养匮乏, 使菌体细胞增殖受到限制, 从而直接影响到油脂的积累。因此以接种量为 20% 作为摇瓶发酵的最佳接种浓度。

2.7 pH 值对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

优化条件下, 设定发酵培养基不同 pH 值梯度 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 进行摇瓶发酵培养, 结果如图 7 所示。分析表明, 深黄被孢霉可以在一个较广泛的范围内生长和积累油脂, 生物量及油脂产量在 pH 值 5.0 ~ 6.0 之间均较高。由于发酵过程中菌体代谢旺盛, 会产生大量的有机酸, 使 pH 值下降, 影响油脂产量^[22]。试验发现培养基中 pH 值最终会降至 2.5 左右, 因此可以通过后期调节 pH 值以增加油脂的产量。

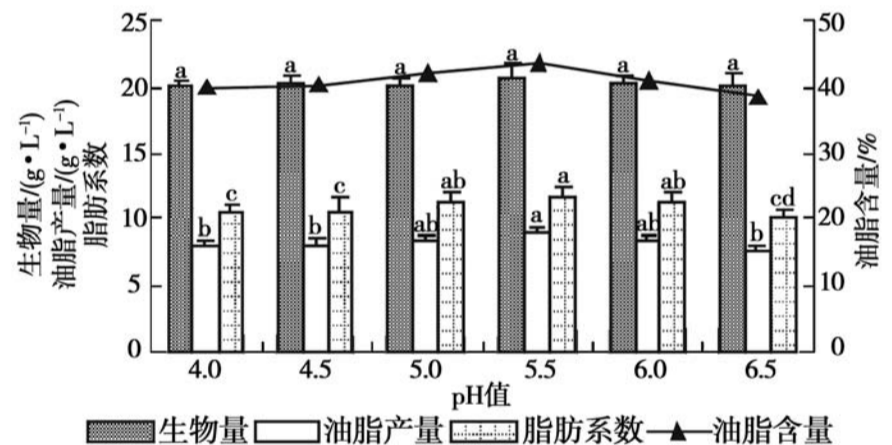


图7 pH 值对菌株发酵产油脂的影响

2.8 无机盐离子对深黄被孢霉生长及油脂合成的影响

考虑到深黄被孢霉发酵产油脂过程中菌体生长繁殖和代谢可能会需要无机盐离子的参与, 本试验过程中适量添加硫酸镁 (MgSO₄ · 7H₂O)、磷酸二氢钾 (KH₂PO₄), 以促进菌体生长及油脂的合成, 试验结果如表 1、2 所示。

表1 硫酸镁不同添加浓度对深黄被孢霉发酵产油脂的影响

硫酸镁 / (g·L ⁻¹)	生物量 / (g·L ⁻¹)	油脂产量 / (g·L ⁻¹)	油脂含量 / %	脂肪系数
0	18.35b	7.13c	38.86	9.38b
0.5	20.62a	8.87a	43.02	11.08a
1.0	18.64b	7.63b	40.93	9.65b
1.5	18.49b	7.17c	38.78	9.41b
2.0	18.15b	7.24c	39.89	9.66b

注: 同一列数据中字母不同表示差异显著 ($p < 0.05$), 下同。

表 2 磷酸二氢钾不同添加浓度对深黄被孢霉
发酵产油脂的影响

磷酸二氢钾 / (g · L ⁻¹)	生物量 / (g · L ⁻¹)	油脂产量 / (g · L ⁻¹)	油脂 含量 / %	脂肪系数
0	17.39d	7.21c	41.46	10.35b
1.0	18.88c	8.24b	43.64	10.86a
2.0	20.62b	8.87a	43.06	11.08a
3.0	21.32a	8.44ab	39.59	10.49ab
4.0	20.44b	7.48bc	36.59	10.33b

单因素试验表明, Mg²⁺ 对油脂产量影响较大, 而 K⁺ 对油脂产量影响不明显, 但适当添加对菌体生物量增加有明显影响, 同时由于发酵过程中会产生大量有机酸, 磷酸二氢钾 (KH₂PO₄) 可以作为缓冲剂, 有利菌体生长及油脂合成。由表 1、2 可知, 为获得较高的油脂产量, 本试验可采用的无机盐浓度分别为硫酸镁 (MgSO₄ · 7H₂O) 0.5 g · L⁻¹, 磷酸二氢钾 (KH₂PO₄) 2.0 g · L⁻¹。

2.9 油脂脂肪酸组成分析

生物柴油的主要成分是软脂酸、硬脂酸、油酸、亚油酸等长链饱和与不饱和脂及酸同甲醇或乙醇所形成的酯类化合物^[23]。酸热法提取的油脂经甲酯化后通过气相色谱对其脂肪酸成分进行分析, 其主要脂肪酸成分及含量如表 3 所示。

结果显示, 深黄被孢霉产油脂中 C16 ~ C18 的脂肪酸含量约为 95.23%, 其中饱和脂肪酸的含量约为 21.43%, 不饱和脂肪酸含量约为 73.79%。

表 3 深黄被孢霉主要脂肪酸组分及含量

脂肪酸	含量 / %
十四酸 C14 0	1.588 75
十五酸 C15 0	0.106 28
软脂酸 C16 0	20.311 60
棕榈烯酸 C16 1w9, 顺式	4.233 29
十七酸 C17 0	0.070 66
硬脂酸 C18 0	1.049 38
油酸 C18 1w9	61.447 55
亚油酸 C18 2w9, 12, 顺式	8.110 40
花生酸 C20 0	0.114 11
顺-11-二十碳烯酸 C20 1w11, 顺式	0.509 1

3 讨论

为提高微生物油脂产量, 本试验以深黄被孢霉为出发菌株, 采用单因素方法分别从培养基的组成及培养条件对菌株的发酵条件进行了优化, 优化条件为: 葡萄糖 100 g · L⁻¹, 酵母粉 3.0 g · L⁻¹, 接种量为 20%, 初始 pH 值为 5.0 ~ 6.0, 硫酸镁 (MgSO₄

· 7H₂O) 0.5 g · L⁻¹, 磷酸二氢钾 (KH₂PO₄) 2.0 g · L⁻¹。优化条件下深黄被孢霉菌体生物量为 20.62 g · L⁻¹, 油脂含量为 43.02%, 油脂产量为 8.87 g · L⁻¹, 较优化前生物量提高了 55.98%, 油脂产量提高了 143.68%, 表现出较高的产油潜力。气相色谱分析表明, 深黄被孢霉油脂的脂肪酸组成与植物油脂的组成相似, 可用作生物柴油行业的新油源。

据新近文献报道^[24], 在深黄被孢霉突变菌株的优化培养过程中, 发酵生物量为 51.308 g · L⁻¹, 产油量最高可达 20.291 g · L⁻¹。由于本试验所用菌株为野生型菌株, 并且采用的是合成培养基, 试验结果与文献报道仍有一定差距。因此, 通过筛选诱变菌株和构建基因工程菌株以提高油脂产量和特定脂肪酸组分的含量则显得尤为重要, 目前本课题组正在从事这方面的研究。同时, 结合林业上木质纤维素水解技术, 合理利用农林废弃物等可再生资源, 可为微生物提供丰富的碳源, 可以有效降低发酵成本, 具有广阔的工业化应用前景。

参考文献:

- [1] Passan M, Philippe J B, Granger L M, et al. Influence of nitrogen and ion limitation on lipid production by *Cryptococcus curvatus* grown in batch and fed-batch culture [J]. *Process Biochemistry*, 1996, 31 (4): 355 - 361
- [2] Manirakiza P, Covaco A, Sehepans P. Comparative study on total lipid determination using aoxhlet, rcese-cottlieb, bli&dye, and modified bligh&dye extraction methods [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2001, 14: 93 - 100
- [3] Papanikolaus S, Komaitis M, Aggelis G. Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media [J]. *Bioresource Technology*, 2004, 95: 287 - 291
- [4] 余 华. 微生物油脂开发利用的研究 [J]. *粮油食品*, 2001, (3): 44 - 45
- [5] Hiruta O, Kamisaka Y, Yokochi T, 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
- [6] Hiruta O, Kamisaka Y, Takebe H, 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
- [7] 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
- [8] 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
- [9] 吴思国, 赵 鑫, 胡翠敏, 等. 转化 N-乙酰-D-葡萄糖胺产油真菌的筛选 [J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28 (11): 58 - 62
- [10] 陈英明, 陆继东, 肖 波, 等. 生物柴油原料资源利用与开发 [J]. *能源工程*, 2007 (1): 33 - 37

- [11] 宋安东, 冯冲, 谢慧, 等. 微生物技术在生物柴油开发与应用中的作用[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(10): 93 - 97
- [12] 陶杰, 戴传超, 戴群, 等. 微生物能源的转化效率和经济可行性研究[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(6): 48 - 54
- [13] 李永红, 刘波, 孙艳, 等. 广谱碳源产油酵母的筛选[J]. 中国生物工程杂志, 2005, 25(12): 39 - 44
- [14] 赵宗宝. 加快微生物油脂研究为生物柴油产业提供廉价原料[J]. 中国生物工程杂志, 2005, 25(2): 8 - 11.
- [15] Ratledge C. Regulation of lipid accumulation in oleaginous microorganisms[J]. Biochem Soc Trans, 2002, 30: 1047 - 1050
- [16] 郝林. 食品微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 138 - 139
- [17] 刘淑君, 杨文博, 施安辉. 高产油脂酵母选育及摇瓶发酵条件的研究[J]. 微生物学通报, 2000, 27(2): 93 - 97
- [18] 李植峰, 张玲, 沈晓京, 等. 四种真菌油脂提取方法的比较研究[J]. 微生物学通报, 2001, 28(6): 72 - 76
- [19] 楼献文. 油脂中脂肪酸的气相毛细管色谱法分析[J]. 色谱, 1993, 11(6): 346 - 347
- [20] 徐润娴, 张琦, 吕宪禹. 培养条件对少根根霉发酵生产 - 亚麻酸的影响[J]. 天津药学, 2006, 18(2): 13 - 15
- [21] Ratledge C, Jame P W. The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms[J]. Adv Appl Microbiol, 2002, 51: 1 - 51
- [22] 姚汝华. 微生物工程工艺原理[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1996: 194 - 195
- [23] Schafer A. Vegetable oil fatty acid methyl esters as alternative diesel fuels for commercial vehicles engines [J]. Plant Oil Fuel Proc Symp, 1987, 17(4): 29 - 46
- [24] 汤世华, 陈明锴, 杨建斌, 等. 深黄被孢霉高产多不饱和脂肪酸优化培养的研究[J]. 中国油脂, 2008, 33(5): 37 - 39