

以葵花籽油为底物生物转化共轭亚油酸 双歧杆菌的筛选

陈科学,王欣,夏嘉祎,沈慧敏,嵇熠彬,张灏,杨波,陈卫

(江南大学食品学院,江苏无锡214122)

摘要:运用快速扫描法,筛选了10株可利用游离态亚油酸为底物高产共轭亚油酸的双歧杆菌菌株;然后以富含非游离态亚油酸的葵花籽油为底物,与初筛得到的高产菌株共培养后检测反应体系中共轭亚油酸的含量。结果表明,部分短双歧杆菌可将葵花籽油转化为共轭亚油酸,其中短双歧杆菌FFJND12M6的转化率最高,可达14.35%。

关键词:共轭亚油酸;双歧杆菌;葵花籽油;亚油酸;快速扫描

中图分类号:Q815;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)01-0128-05

Screening of conjugated linoleic acid producing bifidobacteria with sunflower seed oil as substrate

CHEN Kexue, WANG Xin, XIA Jiayi, SHEN Huimin, JI Yibin, ZHANG Hao, YANG Bo, CHEN Wei

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: Ten bifidobacteria strains with high yield of conjugated linoleic acid using free linoleic acid as substrate was screened via rapid scanning approach. Then, using sunflower seed oil rich in non-free linoleic acid as substrate, the high-yield strains obtained from the initial screening was cultured and the content of conjugated linoleic acid in the reaction system was detected. The results showed that *Bifidobacterium breve* could generally convert sunflower seed oil to conjugated linoleic acid, and *Bifidobacterium breve* FFJND12M6 showed the highest conversion rate, up to 14.35%.

Key words: conjugated linoleic acid; bifidobacteria; sunflower seed oil; linoleic acid; rapid screening

共轭亚油酸(Conjugated linoleic acid, CLA)是含有共轭双键十八碳二烯酸的总称,由亚油酸(Linoleic acid, LA)衍生所得,具有抗癌、抗炎、抗糖尿病、减肥、增强免疫力等功能^[1-3]。近年来,生物转化CLA已成为该领域的研究热点,其中乳酸菌具有较大的优势。目前已知的高产CLA的乳酸菌仅可利用游离亚油酸为底物,但游离脂肪酸对细菌具

有一定毒性^[4],不适合大量发酵。张绍绍等^[5]应用碱异构化法由葵花籽油制备了CLA,转化率高达94.65%。但碱异构化法所产CLA为多种异构体的混合物,且含有杂环产物,其分离与提纯困难^[6-7]。

乳酸菌生物转化CLA的转化率较高,培养条件易于控制、稳定安全,可进行大规模培养;同时乳酸菌所含有的亚油酸异构酶对作用底物具有很强的专一性,产物结构单一,也利于实现分离纯化。目前,可生物转化CLA的乳酸菌有乳杆菌、双歧杆菌等,其中高产CLA的双歧杆菌主要有短双歧杆菌(*B. breve*)、长双歧杆菌(*B. longum*)、假小链双歧杆菌(*B. pseudocatenulatum*)和齿双歧杆菌(*B. dentium*)。不同双歧杆菌生物转化CLA的能力有显著差异,其中短双歧杆菌产CLA的能力最强,但当游离脂肪酸

收稿日期:2020-03-19;修回日期:2020-08-26

基金项目:国家自然科学基金(31801521);江苏高校品牌专业建设工程项目(PPZY2015A052)

作者简介:陈科学(1999),男,在读本科,专业为食品科学与工程(E-mail)464595945@qq.com。

通信作者:杨波,副研究员(E-mail)bo.yang@jiangnan.edu.cn。

达到一定浓度时,双歧杆菌的生长同样会被抑制^[8-11]。因此,结合已有报道^[12],本研究拟对一批双歧杆菌评估其以游离态亚油酸为底物生物转化CLA的能力,筛选高产CLA的菌株,并在此基础上,以葵花籽油为底物,对高产菌株进一步分析,以期筛选可利用非游离态底物产CLA的菌株。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验菌种及培养基

本研究中所使用的菌株均由江南大学食品生物技术中心菌种库保存。

mMRS 液体培养基:蛋白胨(10 g),牛肉膏(10 g),酵母粉(5 g),无水葡萄糖(20 g),无水乙酸钠(2 g), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.5 g), $MnSO_4 \cdot H_2O$ (0.25 g),柠檬酸氢二铵(2 g), $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (2.6 g),水(1 L),吐温80(1 mL),半胱氨酸盐酸盐(5 g),pH 6.5。

mMRS 固体培养基:在1 L mMRS 液体培养基中添加2%琼脂。

1.1.2 实验原料

亚油酸(LA),购自Nu - Chek;葵花籽油,购自山东鲁花集团有限公司。

1.1.3 仪器与设备

DG250 厌氧工作站(英国 Don Whitley Scientific),Multiscan GO1510 全波长酶标仪(Thermo Fisher),Sorvall Legend Micro 17 微型离心机(Thermo Fisher),GCMS - QP2010 Ultra 气质联用仪(岛津),QGC - 24T 氮吹仪(上海泉岛公司),MS 3 basic 漩涡振荡混合器(IKA 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株活化

将双歧杆菌划线于 mMRS 固体培养基,37℃厌氧培养48 h;挑取单菌落接种至 mMRS 液体培养基中,37℃厌氧培养48 h,连续转接活化2代。

1.2.2 亚油酸样品处理及菌株培养

亚油酸母液的配制:称取300 mg 亚油酸和200 mg 吐温80溶于水并定容至10 mL,充分搅拌乳化后,经0.45 μm 无菌滤膜过滤除菌后于-20℃避光保存。

将1.2.1中活化好的菌液接种(2%接种量)至含50 μL 亚油酸母液的3 mL mMRS 液体培养基(亚油酸含量0.5 mg/mL)的试管中,37℃厌氧培养48 h,同时以添加50 μL 亚油酸母液的3 mL mMRS 液体培养基(亚油酸含量0.5 mg/mL)为阴性空白对照。

1.2.3 脂肪酸快速扫描

将1.2.2中培养后的菌液移至离心管中,5 000 r/min 离心5 min,取1 mL 发酵液,加入1 mL 异丙醇、2 mL 正己烷,充分振荡30 s,静置2 min;移取上层有机相至干净 Ep 管,待检测。阴性空白对照样品同样处理。吸取所得有机相至96孔板,每个孔300 μL,每个样品做2个孔平行,测定233 nm 下的吸光值^[13]。所有实验重复2遍。

1.2.4 葵花籽油样品处理及菌株培养

葵花籽油母液的配制:称取300 mg 葵花籽油和200 mg 吐温80溶于水并定容至10 mL,充分搅拌乳化后,经0.45 μm 无菌滤膜过滤除菌后于-20℃避光保存。

将1.2.1中活化好的菌液接种(2%接种量)至含0.5 mg/mL 葵花籽油(通过添加葵花籽油母液实现)的10 mL mMRS 液体培养基的试管中,37℃厌氧培养48 h,同时以含0.5 mg/mL 葵花籽油的10 mL mMRS 液体培养基为空白对照组,以不添加底物、仅接种菌液(2%接种量)的10 mL mMRS 液体培养基为对照组。所有实验重复2遍。

1.2.5 脂肪酸组成分析

按文献[13]对发酵液脂肪酸进行提取,按文献[14]对脂肪酸进行甲酯化,采用GC - MS 分析脂肪酸组成^[13]。

2 结果与讨论

2.1 以游离态亚油酸为底物转化CLA的双歧杆菌筛选

实验发现,在添加游离态亚油酸的培养基中,菌株的生长状况较未添加游离亚油酸时略下降,这与Coakley等^[10]发现某些菌株生长会受到游离态亚油酸抑制的结论相一致。

按1.2.3方法对38株双歧杆菌菌株的发酵液进行扫描,结果见表1。

由表1可知,与阴性空白对照相比,所有双歧杆菌组的吸光值均增加。结合文献报道^[13],233 nm 下的平均吸光值大于2的菌株为CLA 高产菌株(CLA 转化率>10%),本研究所有菌株中仅有5株的平均吸光值大于2,且均为短双歧杆菌(JSWX5M4, R2, CJ - 9 - 5 - 1, FFJND12M6, FZJHZD20 M12),另外,还有2株短双歧杆菌(JSWX25M8, SXR13)、3株长双歧杆菌(S3, FSDLZ51M1, FGDZL8M1)和1株假小链双歧杆菌(FJSNT37M5)在实验中吸光值大于2,而本研究中所有双歧杆菌均非高产菌株。

双歧杆菌转化CLA的能力有较显著的种间差异性,同种不同菌株转化CLA的能力也有较大的差异。

在所分析的菌株中,相比于齿双歧杆菌、假小链双歧杆菌和长双歧杆菌,短双歧杆菌普遍拥有高产 CLA 的能力,特别是有 4 株菌的平均吸光值大于 3,分别为 R2、CJ-9-5-1、FFJND12M6 和 FZJHZD20M12。但

短双歧杆菌自身也存在较大差异,如短双歧杆菌 FFJND2M11 和短双歧杆菌 CJ-6-5-3 几乎不产 CLA,相似的情况在长双歧杆菌和假小链双歧杆菌中也存在。

表 1 双歧杆菌在添加亚油酸的 mMRS 培养基中培养后发酵液脂肪酸扫描结果

菌株	平均吸光值	菌株	平均吸光值
齿双歧杆菌 FHuNMY10M2	1.356 ± 0.077	短双歧杆菌 FFJND12M6	3.100 ± 0.012
齿双歧杆菌 FYNLJ19M2	1.391 ± 0.106	短双歧杆菌 FZJHZD20M12	3.127 ± 0.005
齿双歧杆菌 FGSYC1M4	1.358 ± 0.082	短双歧杆菌 FFJND2M11	1.109 ± 0.091
齿双歧杆菌 FGDZL36M8	1.413 ± 0.092	短双歧杆菌 CJ-6-5-3	1.224 ± 0.144
齿双歧杆菌 FGZ8H1M1	1.445 ± 0.117	假小链双歧杆菌 FGSYC4M2	1.086 ± 0.070
齿双歧杆菌 ZJHZD11M8	1.304 ± 0.062	假小链双歧杆菌 FGSYC7M5	0.985 ± 0.101
齿双歧杆菌 FZJHZ11M1	1.755 ± 0.166	假小链双歧杆菌 FGSYC5M4	1.194 ± 0.100
齿双歧杆菌 FYNLJ23M5	1.528 ± 0.138	假小链双歧杆菌 FQHYN112M3	1.606 ± 0.112
齿双歧杆菌 FNXLH9M3	1.380 ± 0.123	假小链双歧杆菌 FJSNT37M5	1.896 ± 0.173
齿双歧杆菌 FNMHLBE1M2	1.515 ± 0.084	假小链双歧杆菌 FQHYN8M3	1.500 ± 0.094
齿双歧杆菌 FHuBCZ5M2	1.501 ± 0.100	假小链双歧杆菌 FGZ16H1M3	1.298 ± 0.091
短双歧杆菌 JSWX23M8	1.449 ± 0.126	假小链双歧杆菌 FGSYC3M2	1.377 ± 0.122
短双歧杆菌 FFJXM1M3	1.531 ± 0.154	假小链双歧杆菌 FGZ16H1M1	1.130 ± 0.105
短双歧杆菌 JSWX25M8	1.909 ± 0.164	假小链双歧杆菌 FXJWS24M3	1.533 ± 0.088
短双歧杆菌 JSWX5M4	2.054 ± 0.238	长双歧杆菌 S3	1.944 ± 0.257
短双歧杆菌 SXR13	1.994 ± 0.107	长双歧杆菌 FSDLZ57M1	1.501 ± 0.162
短双歧杆菌 FSHMX3M8	1.289 ± 0.078	长双歧杆菌 FSDLZ51M1	1.909 ± 0.137
短双歧杆菌 R2	3.128 ± 0.009	长双歧杆菌 FGDZL19M5	1.671 ± 0.165
短双歧杆菌 CJ-9-5-1	3.117 ± 0.001	长双歧杆菌 FGDZL8M1	1.864 ± 0.190

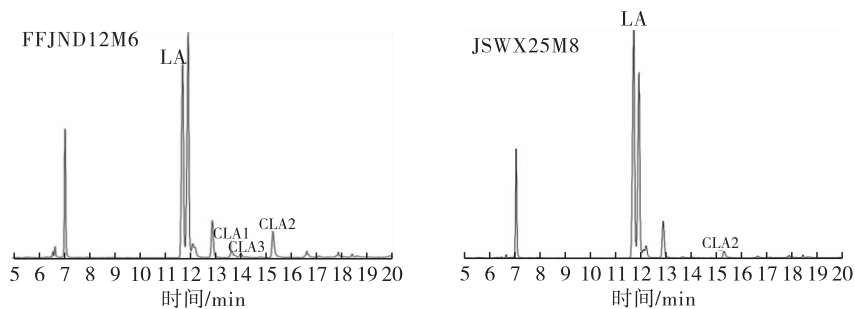
注:阴性空白对照组的平均吸光值为 0.86。

2.2 以葵花籽油为底物筛选产 CLA 的双歧杆菌

10 株高产 CLA 的双歧杆菌在添加葵花籽油的培养基中均生长良好,且较培养基中添加游离态亚油酸时均有显著提升,进一步反映了以非游离态脂

肪酸为底物的应用优势。

FFJND12M6 和 JSWX25M8 菌株在含葵花籽油的 mMRS 培养基中培养后发酵液的脂肪酸组分气相色谱图如图 1 所示。



注:CLA1 为 *c9,t11*-CLA,CLA2 为 *t9,t11*-CLA,CLA3 为 *t10,c12*-CLA。

图 1 FFJND12M6 和 JSWX25M8 在含葵花籽油的 mMRS 培养基中培养后发酵液的脂肪酸组分气相色谱图

从图 1 可以看出,本研究中双歧杆菌共积累 3 种异构体,即 *c9,t11*-CLA (CLA1)、*t9,t11*-CLA (CLA2) 和 *t10,c12*-CLA (CLA3)。*c9,t11*-CLA 和 *t10,c12*-CLA 是最具生理活性的 CLA 异构体^[15-16],而本研究中双歧杆菌所产 CLA 以 *t9,t11*-CLA 为主,这与 Kishino 等^[17]在植物乳杆菌 AKU1009a 中结果一致。

按 1.2.5 方法计算出只添加葵花籽油的空白对照组中亚油酸的质量浓度为 0.189 7 mg/mL,以此作为计算 CLA 转化率时的底物质量浓度。结合葵花籽油为底物的空白对照组和不含底物的双歧杆菌菌株的对照组,对 3 种异构体 CLA1、CLA2、CLA3 的含量以及转化率进行了计算^[13],公式为 $y = x / 0.189 7 \times 100\%$,式中: x 为 CLA 含量; y 为转化率。结果见表 2。

表2 双歧杆菌在添加葵花籽油的 mMRS 培养基中培养后发酵液的 CLA 含量及转化率

菌株	CLA1		CLA2		CLA3		总转化率/%
	含量/(mg/mL)	转化率/%	含量/(mg/mL)	转化率/%	含量/(mg/mL)	转化率/%	
假小链双歧杆菌 FJSNT37M5	0.001 182	0.62	0.007 414	3.91	0.001 429	0.75	5.28
短双歧杆菌 SXR13	0.002 086	1.10	0.006 939	3.66	0.001 092	0.58	5.34
短双歧杆菌 FFJND12M6	0.007 407	3.90	0.016 576	8.74	0.003 236	1.71	14.35
短双歧杆菌 FZJHZD20M12	0.004 112	2.17	0.014 739	7.77	0.003 852	2.03	11.97
短双歧杆菌 R2	0.004 223	2.23	0.010 113	5.33	0.001 430	0.75	8.31
短双歧杆菌 CJ-9-5-1	0.008 942	4.71	0.013 274	7.00	0.003 111	1.64	13.35
短双歧杆菌 JSWX25M8	ND		0.000 163	0.09	ND		0.09
长双歧杆菌 FSDLZ51M1	0.001 891	1.00	ND		0.002 694	1.42	2.42
长双歧杆菌 S3	ND		ND		0.000 275	0.14	0.14
长双歧杆菌 FGDZL8M1	0.002 896	1.53	0.007 959	4.20	0.001 539	0.81	6.54

注:ND表示未检出。

由表2可知,在所分析的10株双歧杆菌中,有3株短双歧杆菌可将转化率超过10%的葵花籽油转化为CLA,分别为短双歧杆菌FFJND12M6(14.35%)、短双歧杆菌FZJHZD20M12(11.97%)和短双歧杆菌CJ-9-5-1(13.35%),可认为具有较好的以葵花籽油为底物产CLA的能力^[18]。此外,短双歧杆菌R2(8.31%)和长双歧杆菌FGDLZ8M1(6.54%)也具有一定的将葵花籽油转化为CLA的能力,但长双歧杆菌FSDLZ51M1、短双歧杆菌JSWX25M8、长双歧杆菌S3以葵花籽油为底物时CLA的含量极低甚至未检出,表明这些菌不可利用非游离态亚油酸为底物产CLA。

结合表1和表2可知,双歧杆菌中存在可利用非游离态亚油酸为底物产CLA的菌株,而这些菌株在以游离态亚油酸为底物时,均为高产菌株,但可利用游离态亚油酸为底物高产CLA的菌株却未必可利用非游离态亚油酸为底物高产CLA。

3 结论

基于游离态亚油酸对细菌有一定毒害和抑制作用,本研究探究了具备CLA转化能力的菌株是否拥有转化非游离态亚油酸的潜力。首先通过快速筛选初步筛选10株可将游离态亚油酸转化为CLA的高产菌株,而后采用富含非游离态亚油酸的葵花籽油为底物,发现短双歧杆菌FFJND12M6、短双歧杆菌FZJHZD20M12和短双歧杆菌CJ-9-5-1具备将非游离态亚油酸转化为CLA的能力,总转化率分别为14.35%、11.97%和13.35%,具有一定的应用前景。可进一步检测其酶系,并比较其与仅可转化亚油酸的细菌酶系的差别,构建转化非游离态亚油酸的酶系,并通过工艺条件的优化获得最适宜工业化生产的条件,最大限度利用生物转化合成CLA易于

控制、稳定安全、可大规模生产的优势,实现CLA的生物合成。

参考文献:

- [1] 李春,刘丽波,张兰威. 共轭亚油酸生理功能及其应用[J]. 粮食与油脂, 2004(7):15-17.
- [2] 郭秀兰,王卫,唐仁勇,等. 共轭亚油酸对脂肪代谢的影响及其应用前景[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2009, 28(4):283-286.
- [3] YANG B, CHEN H, STANTON C, et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease[J]. J Funct Foods, 2015, 15:314-325.
- [4] GORISSEN L, LEROY F, DE VUYST L, et al. Bacterial production of conjugated linoleic and linolenic acid in foods: a technological challenge[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2015, 55(11):1561-1574.
- [5] 张绍绍,张慧,李昊昊,等. 葵花油碱异构化法制备共轭亚油酸研究[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(9):100-105.
- [6] 熊向峰,陈朝银,赵声兰,等. 天然植物油碱异构化合成共轭亚油酸的研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(4):39-41.
- [7] 吴祖芳,石清花,翁佩芳. 生物转化法生产共轭亚油酸及其研究进展[J]. 中国粮油学报, 2005, 20(6):84-87.
- [8] ROSBERG - CODY E, ROSS R P, HUSSEY S, et al. Mining the microbiota of the neonatal gastrointestinal tract for conjugated linoleic acid - producing bifidobacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(8):4635-4641.
- [9] BARRETT E, ROSS R P, FITZGERALD G F, et al. Rapid screening method for analyzing the conjugated linoleic acid production capabilities of bacterial cultures[J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(7):2333-2337.

(下转第145页)

2.4 扩展不确定度及结果表示

根据 CNAS—GL006:2018《化学分析中不确定度的评估指南》,取包含因子 $k=2$ (95%置信度)时,扩展不确定度 $U = u_{\text{rel}}(W) \times 2 \times X$,由此得到菜籽油中乙基麦芽酚的测量结果,见表7。由表7可知,菜籽油中乙基麦芽酚含量为 10.096 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,其扩展不确定度为 1.544 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表7 菜籽油中乙基麦芽酚不确定度评定结果

实测值 $X/$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	合成相对 不确定度	扩展不确 定度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检测结果/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
10.096	0.076 49	1.544	10.096 \pm 1.544

3 结论

分析超高效液相色谱-串联质谱法测定菜籽油中的乙基麦芽酚含量时的不确定度分析,得出菜籽油中乙基麦芽酚含量为 10.096 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,其扩展不确定度为 1.544 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。影响测定结果的不确定度最主要来源于标准曲线的拟合和标准溶液的配制过程,其次是仪器的影响和回收率测试过程的随机效应,其他因素的影响较小。因此,在检测过程中要确保标准溶液的准确可靠,增加标准曲线的测定次数。检测人员在实验过程也需要增加平行测定次数,减小不准确性。

参考文献:

- [1] 杨海燕. 多功能增香剂——麦芽酚与乙基麦芽酚[J]. 中国食品工业,1998(11):29-31.
- [2] 杨华梅,杭莉. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中4种常用香精[J]. 色谱,2015,33(3):250-255.

(上接第131页)

- [10] COAKLEY M, ROSS R P, NORDGREN M, et al. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived bifidobacterium species[J]. J Appl Microbiol, 2003, 94(1):138-145.
- [11] 杨波,陈卫,陈海琴,等. 一株短双歧杆菌及其制备共轭亚油酸或共轭亚麻酸的应用:CN 201610547034. 1 [P]. 2016-09-07.
- [12] YANG B, GAO H, CATHERINE S, et al. Bacterial conjugated linoleic acid production and their applications [J]. Prog Lipid Res, 2017, 68:26-36.
- [13] 杨波,陈海琴,刘李至,等. 生物转化共轭亚麻酸乳酸菌的快速筛选[J]. 中国油脂, 2016, 41(10):44-47.
- [14] 张白曦,宋宇航,杨芹,等. 甲酯化方法对甘油三酯和

- [3] 肖立群. 超高效液相色谱法测定婴儿配方奶粉中的增香剂[J]. 食品工业,2019,40(8):306-308.
- [4] 杨小珊. 气相色谱法测定食用植物油中乙基麦芽酚的含量[J]. 食品与发酵科技,2019,55(1):119-121.
- [5] 唐韵熙,白亚敏,毛庆,等. 芝麻油、芝麻调和油中乙基麦芽酚 HPLC-MS/MS 分析[J]. 分析实验室, 2016,35(4):468-471.
- [6] 周宏霞,臧汝瑛. HPLC 法检测液态乳中的乙基麦芽酚[J]. 中国乳品工业,2018,46(9):55-56.
- [7] 陈毓芳,林海丹,官咏仪,等. 高效液相色谱法测定饮料中乙基麦芽酚含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报,2018(9):2175-2180.
- [8] 宋阳,管咏仪,林海丹,等. 高效液相色谱法测定植物油中苯并芘含量的不确定度评价[J]. 工业计量,2017,36(16):231-235.
- [9] 唐满生,李治章,李文艺,等. 原子吸收光谱法测定山茶油中钙、铜、锌含量的不确定度分析[J]. 中国油脂, 2017,42(12):137-141.
- [10] 李静,张居舟,余晓娟,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定豆芽中植物生长调节剂残留量的不确定度评定[J]. 食品科学,2019, 40(10):292-297.
- [11] 王嘉权. 液相色谱串联质谱法测定水产品喹诺酮类药物残留的不确定度评定[J]. 广东化工, 2018,45(12):227-229.
- [12] 吾建祥,杨德毅,虞冰,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定禽蛋喹诺酮类药物残留的不确定度分析[J]. 河北农业科学, 2018,22(4):104-108.
- [13] 曹慧,施元旭,王璐璐. UPLC-MS/MS 技术测定猪肉中甲氧氯普胺不确定度评价[J]. 食品工业科技, 2017,38(9):267-270.

游离型脂肪酸混合物脂肪酸分析的影响[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(9):95-99.

- [15] 陈忠周,李艳梅,赵刚,等. 共轭亚油酸的性质及合成[J]. 中国油脂, 2000, 25(5):41-45.
- [16] 付金衡,丁宜春,李海星,等. 乳中共轭亚油酸异构体合成机制的研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(23):338-343.
- [17] KISHINO S, OGAWA J, OMURA Y, et al. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria[J]. J Am Oil Chem Soc, 2002, 79(2):159-163.
- [18] 杨波. 乳酸菌生物转化共轭亚油酸的研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2014.