

γ -癸内酯的生物转化机理研究进展

麦镶¹, 蔡秀岑¹, 任文彬^{1,2*}, 汪薇^{1,2}, 辛璇^{1,2}, 赵文红^{1,2*}, 白卫东^{1,2}

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)(2. 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室, 仲恺农业工程学院现代农业工程创新研究院, 广东广州 510225)

摘要: γ -癸内酯是一种具有桃子香味的香料, 主要存在于奶油、椰子、桃子中。因其香气宜人, 水溶性好, 且具有较高的安全性, 在食品和化妆品等领域得到了广泛的应用。该文分别从底物进入细胞、 β -氧化和环化反应三个角度综述 γ -癸内酯的生物法转化代谢路径, 并对目前影响 γ -癸内酯生产的因素进行分析, 包括底物类型及其疏水性、底物分批补料、羟基化过程与调控酰基辅酶 A 氧化酶、原位分离技术以及培养条件。最后, 本文还提出 γ -癸内酯生物调控的未来研究方向和可能出现的问题进行展望, 为微生物法制备芳香化合物提供理论参考。

关键词: γ -癸内酯; 代谢机理; β -氧化

文章编号: 1673-9078(2025)08-359-368

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0575

Research Progress on the Biotransformation Mechanism of γ -decalactone

MAI Xiang¹, CAI Xiucen¹, REN Wenbin^{1,2*}, WANG Wei^{1,2},

XIN Xuan^{1,2}, ZHAO Wenhong^{1,2*}, BAI Weidong^{1,2}

(1. College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)(2. Guangdong Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Institute of Modern Agricultural Engineering Innovation, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: γ -Decalactone is a substance with a peach aroma, mainly found in cream, coconut and peach. Because of its pleasant aroma, good water solubility and high safety, it has been widely used in foods and cosmetics. The paper reviews the biological transformation and metabolic pathway of γ -decalactone from three perspectives, namely, substrate entry into cells, β -oxidation and cyclization reactions, respectively, and analyzes the factors affecting current production of γ -decalactone, including the type of substrate and its hydrophobicity, batch-based substrate replenishment, hydroxylation process and regulation of acyl-coenzyme A oxidase, *in situ* isolation technique, and culture conditions. Finally, in this paper, future research directions and possible problems of γ -decalactone bioregulation are also put forward, providing a theoretical reference for the preparation of aromatic compounds by microbial methods.

Key words: γ -decalactone; metabolic pathway; β -oxidation

引文格式:

麦镶, 蔡秀岑, 任文彬, 等. γ -癸内酯的生物转化机理研究进展[J]. 现代食品科技, 2025, 41(8): 359-368.

MAI Xiang, CAI Xiucen, REN Wenbin, et al. Research progress on the biotransformation mechanism of γ -decalactone [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 359-368.

收稿日期: 2024-04-28

基金项目: 广东省重点研发计划项目 (2022B0202050003); 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室 (2021B1212040013); 广州市科技特派员项目 (2023E04J1228)

作者简介: 麦镶 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1435790918@qq.com

通讯作者: 任文彬 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 55909537@qq.com; 共同通讯作者: 赵文红 (1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: zhaowenhong2002@126.com

内酯是环羧酸酯, 来源于脂质代谢, 天然存在于水果、蔬菜、牛奶和葡萄酒等, 由于其独特的香味特征, 广泛应用在化妆品、食品和香精香料行业中^[1,2]。其中, γ -癸内酯更常见在水果中, 如椰子、桃子等, 具有浓郁的桃香、奶香和花香^[3,4]。 γ -癸内酯是手性分子, 有 R 型和 S 型两个构型。由于手性香料的香气特征与空间构型有密切关系, 因此两种构型的 γ -癸内酯呈现不同的香气特征^[5,6]。(R)- γ -癸内酯具有椰子、果脂香; (S)- γ -癸内酯具有椰子、焦糖、脂肪和水果的香气, 香气表现更加饱满^[7,8]。

目前, γ -癸内酯的制备方法有天然植物提取法、化学合成法和微生物转化法^[2]。目前, 化学合成法因其成本低成为市面上主流的生产方法^[9]。 γ -癸内酯化学合成途径有: 分子内直接合成法、不饱和酸异构化法、醇类酯类化合物等, 其中辛醛与丙二酸反应是工业化生产 γ -癸内酯的常用路径^[10]。但是, 化学合成 γ -癸内酯香味欠佳, 产生不能被消费者接受的外消旋体, 同时存在严重的环境污染问题^[11]。因此, 从产品安全性的角度出发, 消费者更喜欢从天然植物中提取的 γ -癸内酯。但是, 天然植物提取法仍然存在许多缺点, 如成本较高, γ -癸内酯产率低、不稳定。微生物转化法是通过微生物在新陈代谢过程中, 用自身产生的酶将外源物质转化为次生代谢产物内酯。然而, 微生物转化法合成过程不易控制, 但用此方法合成的 γ -癸内酯等同于天然化合物。因此, γ -癸内酯的微生物转化法具有条件温和的优点, 被认为是一种较为天然的产 γ -癸内酯方法^[12]。随着全球生活水平的提高, 消费者越来越关注香精香料的品质导致人们对天然香料的需求上升, 导致人们更加关注 γ -癸内酯的生物合成^[13,14]。

基于此, 本文综述了微生物转化法产 γ -癸内酯的代谢途径, 并且对影响 γ -癸内酯的合成因素进行总结。在代谢途径中, 从三个角度进行阐述, 即底物进入细胞, β -氧化和环化反应。除此, 分析了目前影响 γ -癸内酯生产的因素, 包括底物类型及其疏水性、底物分批补料、羟基化过程等。最后, 我们提出了生物调控的未来研究方向以及对可能出现的问题进行展望, 为微生物法制备芳香化合物提供理论参考。

1 生物转化代谢途径

根据现有的研究结果, 生物转化法合成 γ -癸内酯的通用途径是使羟基化底物转为前体物质 γ -羟基

酸, 随后进行环化反应, 如图 1。近年的研究表明, 自然界中许多微生物都有产 γ -癸内酯的能力, 如棉假囊酵母菌^[15]、梨孢镰刀菌^[16]、念珠菌^[17]、橙黄红酵母^[18]、酿酒酵母^[19]和解脂耶氏酵母^[20,21]等。其中, 解脂耶氏酵母是子囊菌门中的一员, 在自然界中广泛存在, 因其能够大量积累脂类物质也被称为产油酵母^[22]。与其它菌株相比, 解脂耶氏酵母能够利用疏水性底物作为碳源代谢合成 γ -癸内酯, 且自身拥有多种促进高价值代谢产物合成的酶, 如水解酶、脂肪酶^[23]。因此, 解脂耶氏酵母是目前应用最广泛的菌株。下面以解脂耶氏酵母转化蓖麻油酸为例, 详细阐述 γ -癸内酯的生物转化途径, 代谢路径图如图 2^[24,25]。解脂耶氏酵母经三步转化蓖麻油酸生成 γ -癸内酯, 分别是蓖麻油酸进入细胞、 β -氧化和环化反应。

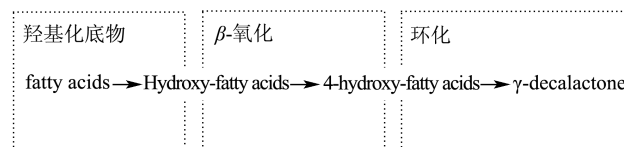


图 1 γ -癸内酯合成的通用途径

Fig.1 Generalized pathways for γ -decanolactone synthesis

1.1 蓖麻油酸进入细胞

在这个过程中, 蓖麻油酸进入细胞可以分为两步, 先是进入细胞膜, 然后进入线粒体或过氧化物酶体。研究发现, 脂肪酸首先被吸附到细胞表面, 然后通过细胞膜进入酵母细胞。脂肪酸进入细胞有两种方式, 被动扩散作用和转运蛋白协助作用的跨膜运输。以浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 定为临界值, 当浓度高于临界值时, 脂肪酸以扩散作用进入细胞。因此, 蓖麻油酸作为脂肪酸亦可以通过这两种方式进入细胞^[26]。

接下来是蓖麻油酸进入两大细胞器。在这个过程中, 线粒体和过氧化物酶体中的酶发挥着重要作用。脂肪酸进入线粒体有两条途径, 一种途径是由脂肪酸移位酶或酰基辅酶 A 合成酶将其转运至线粒体, 需要注意的是, 这条途径形成的脂肪酸结合蛋白物或者酰基辅酶 A 不能直接进入线粒体, 必须通过脂酰辅酶 A 结合蛋白或酰基肉碱移位酶辅助才能进入线粒体。另一种途径是通过转运蛋白将其运输到线粒体中^[27,28]。脂肪酸以不同的方式进入细胞器原因是脂肪酸碳原子数目的不同^[29]。因此, 蓖麻油酸 (C_{18}) 作为长链脂肪酸需要酰基肉碱移位酶催化

下才能进入线粒体。对比于蓖麻油酸转运到线粒体,它进入到过氧化物酶体也有两种方式,最为直接的一种方式是以游离脂肪酸的形式进入过氧化物酶体。另外一种则是脂肪酸结合蛋白结合,通过酰基辅酶 A 合成酶转化激活为蓖麻油酸酰基辅酶 A,蓖麻油酸酰基辅酶 A 再结合膜的转运蛋白进入到过氧化物酶体中^[26,30,31]。

综上所述,蓖麻油酸进入线粒体和过氧化物酶体的方式虽有所差别,但不难发现其共同点,将游离脂肪酸经过一系列酶的催化作用成蓖麻油酸酰基辅酶 A,是后续 β -氧化的重要物质。

1.2 蓖麻油酸的 β -氧化

β -氧化是一种生物化学过程,也是一个碳链缩短的生化反应,主要场所发生在过氧化物酶体,与脂肪酸代谢密切相关^[32]。蓖麻油酸(12-羟基-9-十八碳烯酸)经 1.1 过程进入过氧化物酶体参与 β -氧化。 β -氧化有四步反应,分别由四种酶调控,分别是酰基辅酶 A 氧化酶、烯酰辅酶 A 氧化酶、3-羟基辅酶 A 脱氢酶和 3-酮酰辅酶 A 硫解酶。其中酰基辅酶 A 氧化酶催化第一步氧化反应,烯酰辅酶 A 氧化酶催化第二步水合反应,3-羟基辅酶 A 脱氢酶催化第三步脱氢反应,3-酮酰辅酶 A 硫代酶负责最后一步脂肪酸的硫解反应^[33]。综上所述,蓖麻油酸经四次 β -氧化,每进行一次 β -氧化反应则脱去两个碳原子,共脱去八个碳原子,最终生成前体物质 4-羟基癸酸^[25,34,35]。有相关研究证明 4-羟基癸酸是生成 γ -癸内酯的前体物质,1995 年,Endrizzi 等^[17]利用几种念珠菌将蓖麻油酸甲酯生物转化成 γ -癸内酯,证明了蓖麻油酸甲酯首先转化为 4-羟基癸酸而后再进一步转化为 γ -癸内酯。Lee 等^[36]将 4-羟基癸酸和蓖麻油酸加入到糙米发酵中,发现 4-羟基癸酸能显著提高发酵糙米中 γ -癸内酯的含量,表明 4-羟基癸酸是稻米发酵过程中生成 γ -癸内酯的重要中间产物。

1.3 环化反应

内酯的环化反应是指羟基脂肪酸在酶催化作用下失去一分子的水后形成具有光学活性物质的环状化合物的过程。在 γ -癸内酯的生物转化过程中,环化反应具体是指前体物质 4-羟基癸酸在细胞内环化酶催化作用下自身脱水缩合环化为 γ -癸内酯的过程。常见的催化酶有酰基辅酶 A 氧化酶和 3-羟基酰辅酶 A 脱氢酶等^[27]。研究表明,不同分离体系可以影响环化酶的活性从而影响酵母的生物环化能力。

Rong 等^[19]通过研究树脂(HZ-816)和环戊硅氧烷(DC345)两种分离体系对酵母生物转化合成 γ -癸内酯能力的影响,发现不同分离体系会对酵母细胞造成不同程度的损伤,从而使得酵母细胞环化酶的活性降低。结果显示,DC345 系统对酵母细胞损伤程度更小,环化酶活性是 HZ-816 体系的 3.33 倍。由此可见,在环化过程中,环化酶是 4-羟基癸酸脱水缩合的关键酶。在生物转化过程中,4-羟基癸酸会被代谢排出细胞并在培养基中积累。因此,这部分 4-羟基癸酸无法在环化酶的催化作用转化为 γ -癸内酯,需要添加外加手段促进其发生环化反应,如酸化培养基、高温培养等^[37]。Endrizzi 等^[17]在研究不同念珠菌酵母菌株转化蓖麻油酸甲酯为 4-羟基癸酸和 γ -癸内酯的能力时,发现酸化培养基的 γ -癸内酯的产量更高。

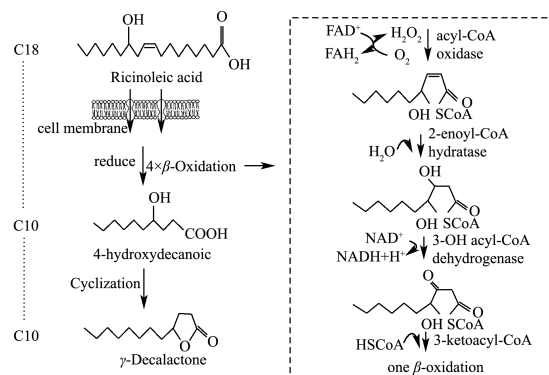


图 2 生物法生产 γ -癸内酯的代谢路径图

Fig.2 Metabolic pathway diagram for the biological production of γ -decalactone

2 γ -癸内酯合成的影响因素

基于 γ -癸内酯的代谢途径,发现 γ -癸内酯生物合成过程会受到不同的因素影响,现分别从底物类型、底物疏水性、底物羟基化、调控酰基辅酶 A 氧化酶、底物分批补料转化、原位分离技术和培养条件几个角度进行分析。

2.1 底物类型

利用微生物转化合成 γ -癸内酯,通常使用脂肪酸为底物,如羟基脂肪酸、非羟基脂肪酸和脂肪酸酯。

羟基脂肪酸中常见的底物有蓖麻油酸(Ricinoleic Acid)、蓖麻油(Castor Oil)和蓖麻油酸甲酯(Ricinoleic Acidmethyl Ester)。根据现有的研究发现,以 C_{18} -羟基化脂肪酸为原料制备得到的 γ -癸内酯,呈现出质优、安全性高的优势,且等

同于天然化合物，是目前使用最广泛的一种底物类型^[38]。蓖麻油中蓖麻油酸含量高达 80%~90%，但在 γ -癸内酯的生物转化过程中，需要脂肪酶催化酶解为蓖麻油酸进入 β -氧化反应。换言之，蓖麻油酸是微生物生物转化合成 γ -癸内酯的最根本底物^[39,40]。Almualad 等^[41]在利用解脂耶氏酵母（*Yarrowia lipolytica*）L2KF156787 菌株把蓖麻油生物转化为 γ -癸内酯时发现，脂肪酶在转化过程中把蓖麻油水解成蓖麻油酸参与反应。因此，在同类羟基脂肪酸中，蓖麻油酸的使用最为广泛。Kothari 等^[38]使用 *Yarrowia lipolytica* NCIM 3590 以蓖麻油酸为底物进行转化，对其进行了生物学参数的优化，获得了较高的产率。

油酸、亚油酸、癸酸等非羟基脂肪酸同样可以被微生物利用转化为 γ -癸内酯。然而，迄今为止，对这类底物的研究较少。与羟基脂肪酸不一样，非羟基脂肪酸在转化过程中，除了要引入羟基外，还需要活化 β -氧化所必需的氧化酶，使其成功地生成内酯^[34]。Lee 等^[36]通过测定糙米和精米中脂肪酸及 γ -内酯量的变化，结果显示，初始（0 d）油酸、亚油酸含量分别为 35.57、54.87 g/L，且随发酵时间延长，油酸、亚油酸含量降低（34.21、46.5 g/L），而 γ -癸内酯和 γ -壬内酯含量则有所提高。由此可见，油酸作为底物参与反应。

2.2 底物疏水性

在生物转化过程中，蓖麻油、蓖麻油酸、蓖麻油酸甲酯等底物属于疏水性油基材料，难溶于水，导致其在培养基中的分散性不理想，造成微生物

物利用率降低。为了解决这一难题，研究人员发现多种表面活性剂、有机溶剂及材料可以改善疏水性油性材料在培养基的分散状态。然而，表面活性剂易形成油-水乳状液，使酵母菌对蓖麻油酸的利用率下降，有机溶剂在中性条件下则会抑制菌体的生长^[20,42]。多孔高分子结构无机物质似乎是一种较好的选择，研究发现这种材料对油性材料具有很好的分散与吸收作用，可以促进酵母对底物的利用^[43]。

Shimin 等^[44]研究膨胀蛭石作为蓖麻油酸载体，同时比较膨胀蛭石和 3 种常用有机化合物对生物转化过程的影响。结果表明，在含有膨胀蛭石的培养基中，测得最高 γ -癸内酯质量浓度，为 6.2 g/L，比参考样品高 50%。蓖麻油酸被膨胀蛭石物理吸附在表面和内部，两者没有发生化学反应，这表明膨胀蛭石仅仅作为材料辅助提高蓖麻油酸在培养中的分散性，从而使得微生物对底物利用率得以提高。Rong 等^[45]也采用多孔淀粉（P-S）增加蓖麻油酸在培养基中的分散程度，使得 γ -癸内酯含量增加 17.5%。随着研究的深入，Chen 等^[46]尝试采用四种新材料，即埃洛石、粘土、SUNSIL-130NP 二氧化硅和 SUNSIL-130H 二氧化硅，增加底物的分散性，从而提高微生物对底物的利用率。结果表明，四种材料都有利于微生物对底物的吸附，同时也具有一定缓释作用。在四种吸附-包埋材料中，SUNSIL-130H 二氧化硅呈现出最佳的分散效果，吸附包埋率为 70.94%， γ -癸内酯产量提高至 2.79 g/L。

由此可见，利用微生物生物转化合成 γ -癸内酯的过程中，选择一种能增加底物的分散性，提高底物利用率的材料显得十分重要。

表 1 γ -癸内酯代谢途径中的酶
Table 1 Enzymes in the γ -decalactone metabolic pathway

途径	场所	酶	形成产物	作用方式
底物进入细胞	线粒体	/	游离脂肪酸	与转运蛋白结合进入
		脂肪酸移位酶	脂肪酸结合蛋白	以脂肪酸结合蛋白结合物形式进入
		酰基辅酶 A 合成酶	酯酰辅酶 A	脂酰辅酶 A 结合蛋白 / 肉碱棕榈酰基转移酶和肉碱 / 酰基肉碱移位酶的作用下进入
	过氧化物酶体	/	游离脂肪酸	直接进入
		酰基辅酶 A 合成酶	酯酰辅酶 A	以酯酰辅酶 A 结合蛋白形式进入
β -氧化	过氧化物酶体	酰基辅酶 A 氧化酶	/	参与第一步氧化反应
		烯酰辅酶 A 氧化酶	/	参与第二步水合反应
		3-羟基辅酶 A 脱氢酶	/	参与第三步脱氢反应
		3-酮酰辅酶 A 硫解酶	蓖麻油酸酰辅酶 A	参与第四步硫解反应
内酯化反应	胞内	环化酶	γ -癸内酯	促进 4-羟基癸酸环化

2.3 底物羟基化反应

由前面可知, γ -癸内酯的生物转化合成主要是使用羟基脂肪作为底物,经 β -氧化反应和内酯环化反应,从而得到 γ -癸内酯。羟基脂肪酸是使用最广泛的底物类型。然而羟基脂肪酸的生产过程仍然充满挑战。

根据目前的研究发现,水合酶、脂氧合酶和环氧水解酶等酶可以直接作用于游离脂肪酸,且能高效催化转化为羟基脂肪酸。水合酶能将水分子以顺式或反式的方式加成到不饱和脂肪酸C=C键上形成羟基脂肪酸^[47]。脂氧合酶能将氧分子以顺式或反式的方式加合到不饱和脂肪酸的碳碳双键上形成氢过氧化物脂肪酸和羟基脂肪酸^[48,49]。最新研究表明,非特异性过氧化物酶具有特异性催化底物羟基化的功能。Ebrecht等^[50]发现3种具有不同结构特征的非特异性过氧化物酶可以选择性地将脂肪酸(碳原子数目为8~12个)上的第四位、第五位碳进行羟基化。结果表明,非特异性过氧合酶对第四位碳原子的羟基化能力更强,使得 γ -内酯成为主要的产物。

乳酸菌似乎也具有催化脂肪酸羟基化的功效。Suzuki等^[51]利用T-58酵母筛选了能将不饱和脂肪酸转化为羟基脂肪酸的乳酸菌菌株。结果显示,Y-20乳酸菌菌株能将油酸转变成10-羟基硬脂酸,羟基化达到90%。因此,利用乳酸菌对脂肪酸进行羟基化修饰,是一种极具应用前景的方法,对高效地合成 γ -癸内酯具有重要的理论意义和应用价值。

2.4 调控酰基辅酶A氧化酶

过氧化物酶体的 β -氧化是一条合成 γ -癸内酯的酶催化途径。为了提高 γ -癸内酯的产量,研究人员对 β -氧化的代谢工程进行深入研究。由代谢途径可知,解脂耶氏酵母 β -氧化过程中有四种酶对其四步反应进行调控,酰基辅酶A氧化酶、烯酰辅酶A氧化酶、3-羟基辅酶A脱氢酶和3-酮酰辅酶A硫解酶^[52]。其中酰基辅酶A氧化酶是主要的酶,是 β -氧化反应的第一阶段的关键酶,因其链长长短不同,具有不同的生物活性^[53]。

解脂耶氏酵母存在6个由POX1-6基因编码的酰基辅酶A氧化酶AOX1-6^[54]。研究发现,POX2-3具有高效的催化活性和强专一性,POX2的长链特异性能催化C18向C10的转化,POX3则具有短链特异性,可以将脂肪酸从C10降解为C4。POX4、POX5均呈微弱活性,而POX1、POX6则无明显活性^[55,56]。

在此基础上,研究人员通常采用基因工程对解

脂耶氏酵母菌株进行改造,从而探究其生物转化合成 γ -癸内酯的能力。基因工程是从分子水平上对微生物进行改造的一种方法,通过敲除、扩增或者新增某个基因片段,从而得到一个新品种。科学人员以酰基辅酶A氧化酶POX1-6基因为作用对象, γ -癸内酯的产量为检测指标,分别研究某段基因合成 γ -癸内酯的能力。Guo等^[57]通过基因工程对野生型解脂耶氏酵母进行改造后获得两株菌株,Tp-11(含有多个POX2基因、POX3基因被破坏)和Tp-12(POX3基因被破坏),经发酵培养,Tp-11菌株 γ -癸内酯获得了较高的产率。Guo等^[58]还将抗铜基因CRF1导入POX3,获得了高产 γ -癸内酯产率的酵母菌*Yarrowia lipolytica* TA1,其合成 γ -癸内酯(63 h)达到0.531 g/L,比原始菌株(0.194 g/L)的2.9倍。Braga等^[59]通过对POX2-5进行破坏并表达异位Aox2p编码基因发现 γ -癸内酯的产量提高。因此,通过对过氧化物酶体 β -氧化途径的调控,可以使 γ -癸内酯的产率得到显著提高。

表 2 β -氧化过程中酰基辅酶A的基因和功能
Table 2 Genes and functions of acyl coenzyme A during β -oxidation

名称	基因	特异性	功能
AOX1	POX1	无	/
AOX2	POX2	长链特异性	C18 向 C10 的转化
AOX3	POX3	短链特异性	催化从 C10 降解为 C4
AOX4	POX4	弱	内酯降解
AOX5	POX5	弱	参与蓖麻油酸第一步反应
AOX6	POX6	无	/

2.5 底物分批补料转化

在生物转化合成 γ -癸内酯的过程中,当底物被完全消耗完时,解脂耶氏酵母可以利用 γ -癸内酯作为碳源继续生长,这会导致 γ -癸内酯的产量下降^[60]。为避免这种情况的发生以及底物对细胞的毒性作用,且确保底物的可用性以便获得高产量 γ -癸内酯。底物分批补料方式可以用于解决这个问题。Gomes等^[61]探究了两种底物分批补料方式对 γ -癸内酯产量的影响,发现间歇补料方式有利于 γ -癸内酯产量提高。在此状态下,细胞生长速率很慢,但是保持在高活性状态。这是因为在高浓度的内酯类产物中细胞受到抑制,从而使转化底物的时间延长了。Moradi等^[62]证明 γ -癸内酯在经纯氧曝气的分批补料方式中获得最高产量,比分批补料高出3倍。陈炬

龙^[28]采用分批补料方式添加底物,并辅以原位分离技术减轻产物的反馈抑制作用,结果表示蓖麻油酸质量浓度为 10 g/L 为最佳分批补料量, γ -癸内酯的产物反馈抑制得到缓解,产率提高了 43.53%。

显而易见,通过合理安排底物的分批补充,能够有效地满足酵母细胞在转化过程中对底物需求。这种方法不仅有助于减少 γ -癸内酯在生产过程中的消耗速度,而且还能显著提高最终产物的产量。当底物供应及时且充足时,酵母细胞可以更加专注于其生物转化的核心任务,从而促进代谢效率和产物质量的提升。这样的策略无疑为工业规模的发酵过程提供了一种高效、经济的解决方案,对于提高资源利用效率具有重要意义。

2.6 原位分离技术

在利用微生物生产 γ -癸内酯的过程中, γ -癸内酯的产量在培养基中进行积累到达峰值,对酵母菌产生毒性作用,从而抑制酵母的生长甚至导致细胞死亡。因此,及时、高效地分离 γ -癸内酯变得至关重要。细胞固定化技术可以达到产物内酯和酵母菌株分离的目的。但是,这种方法会造成酵母与底物之间传递速率降低,从而造成内酯产物的产量降低^[63]。原位分离技术是指从细胞中快速去除产物,从而防止内酯产物对细胞产生的后续伤害。目前,常用的分离介质有树脂和有机溶剂。

加氢蒸馏法是从植物中回收精油和生物活性化合物的传统技术,尽管存在工艺时间长、效率低、不饱和化合物因热效应导致部分降解等缺点,但仍被广泛使用^[64]。经发现,有机树脂具有很强的吸附能力,可以循环用于减少发酵液中产品对细胞的抑制反馈、降低生产成本^[65,66]。Rong 等^[19]通过向生物转化培养基中加入树脂(HZ-816)或环戊硅氧烷(DC345)建立的两种分离系统,并研究了它们的效率和对酵母代谢的影响。发现与对照组相比,HZ-816 和 DC345 培养基的产量分别提高了 140% 和 175%。在后续的研究中,Malajowicz 等^[67]比较了液-液萃取、加氢蒸馏法和三种多孔材料(沸石、蛭石和树脂 Amberlite XAD-4)分离 γ -癸内酯的有效性,结果显示多孔材料 Amberlite XAD-4 分离 γ -癸内酯能力最强。在范德华力的作用下, γ -癸内酯与高表面积树脂 Amberlite XAD-4 相互接触,能够达到有效分离 γ -癸内酯的目的,1 h 内分离率达到 80%,为 2.45 g。然而,无论使用哪种类型的吸附剂,在接触约 3 h 后达到平衡状态。在平衡时,

沸石和蛭石的吸附能力相似,约为 70%~80%,而 Amberlite XAD-4 的吸附能力超过 95%。

2.7 培养条件

γ -癸内酯的生成过程是一个复杂的生化反应,它不仅受到多种因素的综合作用,而且在培养条件方面尤其需要精心控制,主要受以下方面影响,添加合适的底物浓度从而促进酵母转化底物的能力;控制培养基中的 pH;控制微生物转化过程中氧气的传递速率从而促进酵母细胞的 β -氧化能力。

适宜的底物浓度是保证 γ -癸内酯产量的关键因素之一。对不同种类的底物而言,其添加的比例和浓度有所不同。Singh 等^[68]利用两株酵母菌株(PA-19、SB-62),蓖麻油酸为底物,运用田口方法优化底物浓度、pH、温度等因素。在最佳条件下,蓖麻油酸添加量为 1% 时得到最佳的 γ -癸内酯产量,产率分别为 272.0 mg/g (转化率为 52.69%) 115.7 mg/g (转化率为 24.69%)。Almualad 等^[41]以 *Yarrowia lipolytica* L2 KF156787 为出发菌株,优化蓖麻油底物浓度,当蓖麻油质量浓度为 25 g/L 时, γ -癸内酯产量为 0.46 g/L。同样以蓖麻油酸为底物进行转化,不同菌株之间的底物添加量也有所差别。Malajowicz 等^[69]探究 *Yarrowia lipolytica* KKP 379 产 γ -癸内酯的最佳条件,在四种生物反应器间歇培养的基础上,使用田口方法优化(蓖麻油浓度、生长培养基的 pH 调节和混合强度)合成 γ -癸内酯的最有效培养条件,结果显示,最佳培养条件下, γ -癸内酯的质量浓度提高 1.4~15 倍,为 2.93 g/L。García 等^[70]通过研究 pH 值和通气对内酯积累的综合影响,发现 γ -癸内酯的积累在 pH 值为 5 时较高,并且在低曝气状态下,最佳 pH 值为 6.35, γ -癸内酯产量为 0.1 g/L;在高曝气状态下,最佳 pH 值为 4.4, γ -癸内酯产量为 0.66 g/L。

此外,溶氧是影响生物转化效率的重要因素,其关键在于溶氧的高低,而氧传递速率越大,则越有利于微生物的呼吸,因此,通过增加氧来强化发酵体系中的氧含量,可促进其 β -氧化,进而加速底物降解,进而提高产物产率^[71]。García 等^[70]采用 Doehlert 因子设计研究了曝气对脂质体内酯积累的影响。观察到在低曝气条件下,酵母细胞可以积累更多的 γ -癸内酯,达到 496 mg/L。Reis 等^[72]研究基于振荡流技术的新型微生物反应器应用于 γ -癸内酯的生产规模化,通过改变振荡混合强度改变增加系统中的氧传质速率,结果显示,震荡强度从 Reo~482 增加到 Reo~1 447, γ -癸内酯的产量提高了 3 倍。

表 3 γ -癸内酯合成影响因素及其产量
Table 3 Factors affecting the synthesis of γ -decalactone and its yield

影响因素	作用机理	作用对象	菌种	底物	处理方式	内酯产量	参考文献
底物疏水性	增加底物在培养基中分散性, 提高菌株与底物的作用	蓖麻油酸等疏水性油基材料	解脂耶氏酵母 (CGMCC 2.2087)	蓖麻油酸	以膨胀蛭石 (E-V) 为 RA 载体	6.2 g/L	[44]
			解脂耶氏酵母 (CGMCC 2.2087)	蓖麻油酸	以多孔淀粉 (P-S) 为载体	3.36 g/L	[45]
			酿酒酵母 MF-Y11	蓖麻油酸	以埃洛石、粘土、SUNSIL-130NP 二氧化硅和 SUNSIL-130H 二氧化硅为载体	2.79 g/L	[46]
底物羟基化反应	提高细胞对底物的利用率	主要是非羟基脂肪酸底物	/	10 mmol/L 脂肪酸	添加三种非特异性过氧合酶	促进 γ -内酯产生	[50]
			酿酒酵母 T-58	油酸	利用乳酸菌 Y-20 将油酸转化成 10-羟基硬脂酸	内酯转化效率为 90%	[51]
调控酰基辅酶 A 氧化酶	利用基因工程对微生物进行改造、敲除或者扩增	酵母细胞中关键酶基因	解脂耶氏酵母 2.1405	蓖麻油酸甲酯	敲除 POX3 基因过表达 POX2 基因	2.75 g/L	[57]
			解脂耶氏酵母 TA1	蓖麻油酸甲酯	将铜抗性基因 CRF1 整合到 POX3 基因位点	0.531 g/L	[58]
			解脂耶氏酵母 MTLY40-2P	蓖麻油	POX2-5 中被破坏并表达异位 Aox2p 基因	7g /L	[59]
底物分批补料转化	及时补充底物以满足微生物对底物的需求	脂肪酸底物	解脂耶氏酵母 ATCC20460	蓖麻油酸甲酯	补料分批加入	6.8 g/L	[61]
			解脂耶氏酵母 DSM 3286	蓖麻油	纯氧曝气分批培养	0.22 g/l	[62]
			酵母菌	蓖麻油酸	原位分离补料分批培养	3.71 g/L	[28]
原位分离技术	降低产物对细胞的毒性作用	降低 γ -癸内酯在培养基中含量	酿酒酵母 MF-Y11	12- 羟基硬脂酸	分别加入树脂 (HZ-816) 和环戊硅氧烷 (DC345)	产量增加	[19]
			解脂耶氏酵母 KKP379	蓖麻油	建立三个系统进行比较, 液-液萃取、加氢蒸馏和吸附对多孔材料	有效分离内酯	[67]
培养条件	选取合适的培养条件, 如 pH、底物浓度、氧气浓度等	酵母细胞在最佳条件下产量提高	念珠菌 OP954733	蓖麻油酸	添加不同浓度的蓖麻油酸培养, 最佳添加量为 1%	0.27 g/L	[68]
			解脂耶氏酵母 L2 KF156787	蓖麻油	添加不同浓度的蓖麻油培养, 25 g/L 是最佳质量浓度	0.46 g/L	[41]
			解脂耶氏酵母 KKP 379	蓖麻油	添加不同质量浓度的蓖麻油培养, 最佳质量浓度为 75 g/L	2.93 g/L	[69]
			解脂耶氏酵母 W29 (ATCC20460)	蓖麻油酸甲酯	低曝气状态下, 最佳 pH 值为 6.35	0.1 g/L	[70]
					高曝气状态下, 最佳 pH 值为 4.4	0.66 g/L	
			解脂耶氏酵母 W29 (ATCC20460)	甲基蓖麻酸	增加系统中的氧传质速率	产量增加	[72]

3 总结与展望

γ -癸内酯以其卓越的香气和多样的用途在食品、香料、化妆品以及制药等领域备受青睐。然而,尽管它拥有众多潜在的应用, γ -癸内酯的开发和应用仍然面临着一系列技术挑战。目前,许多研究聚焦于探索 γ -癸内酯的合成方法,尤其是通过生物转化法来进行生产。

在深入探讨了 γ -癸内酯的化学性质及其代谢途径之后,可以发现,该分子的羟基化、过氧化物酶体 β -氧化以及内酯化过程是其生物合成的关键步骤。这些反应不仅涉及到底物的选择,还包括底物疏水性的考量和底物分批补料培养,同时, γ -癸内酯的分离技术也是影响产品纯度和质量的关键因素之一。

总之, γ -癸内酯作为一个多功能性的手性分子,其生产和应用潜力巨大。未来,可以通过结合发酵工程、基因工程及酶工程等先进技术,致力于调控代谢通路,并寻找提高产量的关键位点。这些努力不仅有助于提升 γ -癸内酯的生产效率,而且对于发展微生物法制备内酯类化合物具有重要的理论和实践意义。

参考文献

- [1] SILVA R, COELHO E, AGUIAR T Q, et al. Microbial biosynthesis of lactones: gaps and opportunities towards sustainable production [J]. Applied Sciences, 2021;11(18): 8500.
- [2] SYED N, SINGH S, CHATURVEDI S, et al. Production of lactones for flavoring and pharmacological purposes from unsaturated lipids: an industrial perspective [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(29): 10047-10078.
- [3] SINGH S, SHARMA S, SARMA S J, et al. A comprehensive review of castor oil-derived renewable and sustainable industrial products [J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2023, 42(2): e14008.
- [4] LIU G, CHEN Q, GOU M, et al. Formation of key aroma-active and off-flavor components in concentrated peach puree [J]. Food Chemistry, 2024, 439: 138105.
- [5] 李燕,马志广,贾荣荣,等.合成香料中香气的影响因素[J].山东化工,2017,46(1):18-19.
- [6] 姜若含,尹舒婷,牟雪瑶,等.3种trans-3-甲基- γ -烷内酯类手性香料的制备[J].食品科学技术学报,2024,42(6):35-44.
- [7] 汪薇,王靖宇,辛璇,等.手性内酯类化合物的来源及其制备方法研究进展[J].食品科学,2023,44(17):341-351.
- [8] ZHU J, CAO X, NIU Y, et al. Investigation of lactone chiral enantiomers and their contribution to the aroma of longjing tea by odor activity value and S-curve [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(17): 6691-6698.
- [9] 孙君燕,姚凌云,宋诗清,等.水果风味物质的生物制备技术[J].中国果菜,2020,40(6):18-22.
- [10] 陈红艳,张同来,张建国. γ -癸内酯的合成生产进展[J].香料香精化妆品,2004,2:25-30.
- [11] HANKO E K R, DENBY C M, SÁNCHEZ I NOGUÉ V, et al. Engineering β -oxidation in *Yarrowia lipolytica* for methyl ketone production [J]. Metabolic Engineering, 2018, 48: 52-62.
- [12] ABDELRAHEEM E M M, BUSCH H, HANEFELD U, et al. Biocatalysis explained: from pharmaceutical to bulk chemical production [J]. Reaction Chemistry & Engineering, 2019, 4(11): 1878-1894.
- [13] PAULINO B N, SALES A, FELIPE L, et al. Recent advances in the microbial and enzymatic production of aroma compounds [J]. Current Opinion in Food Science, 2021, 37: 98-106.
- [14] DICKEY R M, GOPAL M R, NAIN P, et al. Recent developments in enzymatic and microbial biosynthesis of flavor and fragrance molecules [J]. Journal of Biotechnology, 2024, 389: 43-60.
- [15] SILVA R, AGUIAR T Q, COELHO E, et al. Metabolic engineering of *Ashbya gossypii* for deciphering the de novo biosynthesis of γ -lactones [J]. Microbial Cell Factories, 2019, 18(1): 62.
- [16] LATRASSE A, GUICHARD E, PIFFAUT C, et al. Chirality of the γ -lactones formed by *Fusarium poae* INRA 45 [J]. Chirality, 1993, 5(5): 379-384.
- [17] ENDRIZZI A, BELIN J. Bioconversion of methyl ricinoleate to 4-hydroxy-decanoic acid and to γ -decalactone by yeasts of the genus *Candida* [J]. Journal of Basic Microbiology, 1995, 35(5): 285-292.
- [18] DUFOSSÉ L, FÉRON G, LATRASSE A, et al. Chirality of the γ -lactones produced by *Sporidiobolus salmonicolor* grown in two different media [J]. Chirality, 1997, 9(7): 667-671.
- [19] RONG S, GUAN X, LI Q, et al. Biotransformation of 12-hydroxystearic acid to gamma-decalactone: Comparison of two separation systems [J]. Journal of Microbiological Methods, 2020, 178: 106041.
- [20] CHEN J, WEN X, ZHANG S. The mechanism of the interaction between the formed emulsification and yeast cells in biotransformation system [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2022, 97(1): 199-207.
- [21] 赵禹,赵雅坤,刘士琦,等.非常规酵母的分子遗传学及合成生物学研究进展[J].微生物学报,2020,60(8):1574-1591.
- [22] 陈茁,朱源,李伟国,等.解脂耶氏酵母生物合成芳香族氨基酸衍生物的合成生物学策略[J].微生物学通报,2025,

- 52(1):33-45.
- [23] 钱芷兰,宋丽丽,刘启,等.非常规酵母天然产物合成[J].生物工程学报,2023,39(6):2284-2312.
- [24] 张婧.油酸水合酶协同解脂耶氏酵母 (*Yarrowia lipolytica*) 转化油酸合成 γ -癸内酯[D].淮安:淮阴工学院,2019.
- [25] YU Y, ZHOU Y, WANG K, et al. Metabolic and process engineering for producing the peach-like aroma compound γ -decalactone in *Yarrowia lipolytica* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(1): 110-120.
- [26] SPAGNUOLO M, SHABBIR HUSSAIN M, GAMBILL L, et al. Alternative substrate metabolism in *Yarrowia lipolytica* [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1077.
- [27] 田怀香,杨睿,荣绍丰,等.内酯类香料的微生物法转化制备及其调控研究进展[J].食品工业科技,2022,43(13):9-16.
- [28] 陈炬龙.生物制备天然香料 γ -癸内酯乳化形成及工艺优化调控[D].上海:上海应用技术大学,2023.
- [29] QUAN J, CHENG C, TAN Y, et al. Acyl-CoA synthetase long-chain 3-mediated fatty acid oxidation is required for TGF β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal carcinoma [J]. International Journal of Biological Sciences, 2022, 18(6): 2484-2496.
- [30] LEDESMA-AMARO R, DULERMO R, NIEHUS X, et al. Combining metabolic engineering and process optimization to improve production and secretion of fatty acids [J]. Metabolic Engineering, 2016, 38: 38-46.
- [31] SHABBIR HUSSAIN M, WHEELDON I, BLENNER M A. A strong hybrid fatty acid inducible transcriptional sensor built from *Yarrowia lipolytica* upstream activating and regulatory sequences [J]. Biotechnology Journal, 2017, 12(10): 1700248.
- [32] BRAGA A, BELO I. Biotechnological production of γ -decalactone, a peach like aroma, by *Yarrowia lipolytica* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(10): 169.
- [33] ZHANG M, LI Q, FAN F, et al. Combinatorial metabolic engineering and tolerance evolution of *Yarrowia lipolytica* for improved γ -decalactone synthesis [J]. Process Biochemistry, 2023, 132: 248-254.
- [34] 赵玉萍.*Yarrowia lipolytica*生物转化 γ -癸内酯的研究[D].无锡:江南大学,2014.
- [35] BLIN PERRIN C, MOLLE D, DUFOSSE L, et al. Metabolism of ricinoleic acid into γ -decalactone: β -oxidation and long chain acyl intermediates of ricinoleic acid in the genus *Sporidiobolus* sp [J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 188(1): 67-74.
- [36] LEE S M, LIM H J, CHANG J W, et al. Investigation on the formations of volatile compounds, fatty acids, and γ -lactones in white and brown rice during fermentation [J]. Food Chemistry, 2018, 269: 347-354.
- [37] 张俊杰.初探酵母MF-Y11转化 γ -癸内酯的环化机制[D].上海:上海应用技术大学,2019.
- [38] KOTHARI S D, VADGAMA R N, BHAT K H, et al. Process optimization for production and purification of γ -decalactone from ricinoleic acid using *Yarrowia lipolytica* NCIM 3590 [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2022, 39: 102285.
- [39] THAKKAR K, KACHHWAHA S S, KODGIRE P. Enhanced castor seed oil extraction assisted by the synergistic effect of ultrasound and microwave: Impact on extraction effectiveness and oil quality [J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification, 2023, 185: 109307.
- [40] NITBANI F O, TJITDA P J P, WOGO H E, et al. Preparation of ricinoleic acid from castor oil:a review [J]. Journal of Oleo Science, 2022, 71(6): 781-793.
- [41] AL MUALAD W N A, BOUCHEDJA D N, SELMANIA A, et al. Yeast *Yarrowia lipolytica* as a biofactory for the production of lactone-type aroma gamma-decalactone using castor oil as substrate [J]. Chemical Papers, 2022, 76(12): 7715-7728.
- [42] DYRDA G, BONIEWSKA-BERNACKA E, MAN D, et al. The effect of organic solvents on selected microorganisms and model liposome membrane [J]. Molecular Biology Reports, 2019, 46(3): 3225-3232.
- [43] ZHANG T, LI Z, LÜ Y, et al. Recent progress and future prospects of oil-absorbing materials [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2019, 27(6): 1282-1295.
- [44] SHIMIN G L, SUP G, Lt, et al. Enhanced biotransformation productivity of gamma-decalactone from ricinoleic acid based on the expanded vermiculite delivery system [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 29(7): 1071-1077.
- [45] RONG S, WANG M, YANG S, et al. Improvement in lactone production from biotransformation of ricinoleic acid based on the porous starch delivery system [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2018, 93(4): 1198-1205.
- [46] CHEN J, TANG Y, ZHANG S. Comparison of production of gamma-decalactone via microbial biotransformation based on different adsorption-embedding systems [J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2023, 70(3): 1245-1257.
- [47] 张皓.MroUPO的发酵工艺优化及其级联脂肪酶催化合成大环内酯的研究[D].广州:华南理工大学,2023.
- [48] KIM K, OH D. Production of hydroxy fatty acids by microbial fatty acid-hydroxylation enzymes [J]. Biotechnology Advances, 2013, 31(8): 1473-1485.
- [49] 于海燕,姚文倩,陈臣,等.内酯类化合物在食品中的风味贡献及形成机制[J].现代食品科技,2022,38(5):337-349.
- [50] EBRECHT A C, MOFOKENG T M, HOLLMANN F, et al. Lactones from unspecific peroxygenase-catalyzed in-chain hydroxylation of saturated fatty acids [J]. Organic Letters,

- 2023, 25(27): 4990-4995.
- [51] SUZUKI Y, HATANAKA S, KANAUCHI M, et al. Screening the hydroxylation of fatty acids with lactic acid bacteria based on the lactonization of the hydroxylated products [J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2016, 74(2): 127-133.
- [52] KNOBLACH B, RACHUBINSKI R A. Reconstitution of human peroxisomal β -oxidation in yeast [J]. FEMS Yeast Research, 2018, 18(8): foy92.
- [53] ZHANG L, LI H, GAO L, et al. Acyl-CoA oxidase 1 is involved in γ -decalactone release from peach (*Prunus persica*) fruit [J]. Plant Cell Reports, 2017, 36(6): 829-842.
- [54] SOARES G P A, SOUZA K S T, VILELA L F, et al. γ -decalactone production by *Yarrowia lipolytica* and *Lindnera saturnus* in crude glycerol [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2017, 47(6): 633-637.
- [55] LUO Y, WANG H, GOPALAN K V, et al. Purification and characterization of the recombinant form of Acyl CoA Oxidase 3 from the yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2000, 384(1): 1-8.
- [56] FABISZEWSKA A, PAPLIŃSKA-GORYCA M, MISIUKIEWICZ-STĘPIEŃ P, et al. Expression profile of selected genes involved in storage lipid synthesis in a model oleaginous yeast species *Yarrowia lipolytica* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23: 1041.
- [57] GUO Y, SONG H, WANG Z, et al. Expression of POX2 gene and disruption of POX3 genes in the industrial *Yarrowia lipolytica* on the γ -decalactone production [J]. Microbiological Research, 2012, 167(4): 246-252.
- [58] GUO Y, FENG C, SONG H, et al. Effect of POX3 gene disruption using self-cloning CRF1 cassette in *Yarrowia lipolytica* on the γ -decalactone production [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(12): 2807-2812.
- [59] BRAGA A, CRUTZ-LE COQ A M, DULERMO R, et al. Effect of POX genotype and Lip2p overexpression on lactone production and reconsumption by *Yarrowia lipolytica* using castor oil as substrate [J]. Process Biochemistry, 2015, 50(9): 1357-1362.
- [60] MAŁAJOWICZ J, NOWAK D, FABISZEWSKA A, et al. Comparison of gamma-decalactone biosynthesis by yeast *Yarrowia lipolytica* MTLY40-2p and W29 in batch-cultures [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2020, 34(1): 330-340.
- [61] GOMES N, TEIXEIRA J A, BELO I. Fed-batch versus batch cultures of *Yarrowia lipolytica* for γ -decalactone production from methyl ricinoleate [J]. Biotechnology Letters, 2012, 34(4): 649-654.
- [62] MORADI H, ASADOLLAHI M A, NAHVI I. Improved γ -decalactone production from castor oil by fed-batch cultivation of *Yarrowia lipolytica* [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2013, 2(1): 64-68.
- [63] ZHAO Y, XU Y, JIANG C. Efficient biosynthesis of γ -decalactone in ionic liquids by immobilized whole cells of *Yarrowia lipolytica* G3-3.21 on attapulgitite [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(10): 2045-2052.
- [64] COSTA P, GROSSO C, GONÇALVES S, et al. Supercritical fluid extraction and hydrodistillation for the recovery of bioactive compounds from *Lavandula viridis* L'Hér [J]. Food Chemistry, 2012, 135(1): 112-121.
- [65] LIU F, MA N, XIA F, et al. Preparative separation of minor saponins from *Panax notoginseng* leaves using biotransformation, macroporous resins, and preparative high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Ginseng Research, 2019, 43(1): 105-115.
- [66] KUMAR D, SHARMA P K, PRAKASH O, et al. Green solvent system for isolation of biopolymers from *Mentha arvensis* distilled biomass and saccharification to glucose for the production of methyl levulinate [J]. Renewable Energy, 2022, 194: 448-458.
- [67] MAŁAJOWICZ J, GÓRSKA A, BRYŚ J, et al. Attempt to develop an effective method for the separation of gamma-decalactone from biotransformation medium [J]. Applied Sciences, 2022, 12(4): 2084.
- [68] SINGH S, DEEPA N, RASTOGI D, et al. Biotransformation of ricinoleic acid to γ -decalactone using novel yeast strains and process optimization by applying Taguchi model [J]. Journal of Biotechnology, 2023, 377: 34-42.
- [69] MAŁAJOWICZ J, FABISZEWSKA A, NOWAK D, et al. Improved gamma-decalactone synthesis by *Yarrowia lipolytica* yeast using taguchi robust design method [J]. Applied Sciences, 2022, 12(20): 10231.
- [70] GARCÍA E E, BELIN J M, WACHÉ Y. Use of a Doehlert factorial design to investigate the effects of pH and aeration on the accumulation of lactones by *Yarrowia lipolytica* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 103(5): 1508-1515.
- [71] AGUEDO M, GOMES N, GARCIA E E, et al. Decalactone Production by *Yarrowia lipolytica* under increased O₂ Transfer Rates [J]. Biotechnology Letters, 2005, 27(20): 1617-1621.
- [72] REIS N, GONÇALVES C N, AGUEDO M, et al. Application of a novel oscillatory flow micro-bioreactor to the production of γ -decalactone in a two immiscible liquid phase medium [J]. Biotechnology Letters, 2006, 28(7): 485-490.