

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(2):174-179; 4 February 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

植物乳杆菌 ZS2058 生物转化共轭亚油酸的反应动力学

陈海琴, 许庆炎, 叶强, 陈卫*, 张灏

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122)

摘要 【目的】对本实验室从泡菜中筛选到的植物乳杆菌 ZS2058 完整细胞生物转化共轭亚油酸的反应动力学进行研究。【方法】探讨底物浓度、细胞浓度、反应体系 pH 值等因素对生物转化共轭亚油酸反应速度的影响, 并通过双倒数和 Hanes-Woolf 作图法拟合反应初始阶段的速度方程。【结果】生物转化共轭亚油酸时存在明显的底物抑制现象, 当亚油酸浓度为 0.4 mg/mL 时产 $c_9, t11$ -共轭亚油酸的反应速度达最大值 15.99 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$; 反应速度随细胞浓度增加而上升, 当细胞浓度为 5×10^{10} cfu/mL 时反应速度达到最高, 最适 pH 值和最适反应温度分别为 6.5 和 40°C。利用双倒数和 Hanes-Woolf 作图法求得米氏常数和最大反应速度, 在低底物浓度下, 反应初始阶段的反应规律与经典的米氏方程相符, 而在高底物浓度下, 存在明显的底物抑制现象。【结论】通过对植物乳杆菌 ZS2058 完整细胞催化合成共轭亚油酸各因素的考察, 在得到最佳反应条件的同时建立了不同底物浓度范围内的反应速度方程, 这对于实现共轭亚油酸的生产 and 研究其生理功能具有十分重要的理论价值。

关键词: 共轭亚油酸, 生物转化, 植物乳杆菌, 速度方程, 底物抑制

中图分类号: Q558 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)02-0174-06

共轭亚油酸 (Conjugated Linoleic Acid, CLA) 是一类由亚油酸 (Linoleic Acid, LA) 衍生的具有共轭双键的异构体的总称, 具有多种营养和保健功能, 如抗癌、减肥、抗动脉粥样硬化和延缓机体免疫力衰退等^[1-2]。在共轭亚油酸的各种异构体中, $c_9, t11$ -CLA 被认为最具生物活性^[3], 而乳酸菌生物转化共轭亚油酸具有安全性高、专一性强等优点, 因此使用乳酸菌进行生物转化共轭亚油酸已成为当前研究热点^[4-5]。

迄今为止, 国内外科学家对乳酸菌生物转化 CLA 进行了大量的研究, 筛选出了一些具有 CLA 合成能力的乳酸菌, 并对乳酸菌生物转化 CLA 的机理进行了初步探讨, 如提出亚油酸异构酶是乳酸菌合成 CLA 的关键酶, 从乳酸菌细胞内提取出了亚油酸

异构酶的粗酶液等^[4,6]。但是, 生物法转化 CLA 的转化率目前还是较化学法低, 并且对乳酸菌亚油酸异构酶的产生机理、酶学性质和催化动力学等都还没有进行深入研究^[7]。本文针对完整细胞生物转化 CLA 进行研究, 其实质仍是完整细胞中的亚油酸异构酶与底物结合发生异构化反应, 利用完整细胞代替纯酶进行反应动力学的研究, 一方面不需要对酶进行分离纯化, 可以减少分离纯化过程中酶的失活; 另一方面酶在细胞内更耐受苛刻的环境, 使用完整细胞生物转化 CLA 较为容易、效率高, 产物的后处理更简单。

本文以实验室筛选到具 $c_9, t11$ -CLA 生物转化能力的植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) ZS2058^[8]

基金项目: 国家“863 计划”(2007AA100402); “十一五”国家科技支撑计划重点项目(2006BAD27B08)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-510-85912155; E-mail: weichen@jiangnan.edu.cn

作者简介: 陈海琴(1978-)女, 浙江人, 博士, 副教授。主要从事食品生物技术的研究。E-mail: haiqinchen@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2008-09-01; 修回日期: 2008-10-27

为研究对象,在初步研究了完整细胞在磷酸盐缓冲液体系中转化 CLA 能力^[9]的基础上对生物转化 CLA 反应动力学进行研究,这有助于寻找最有利的生物转化条件,以最大限度地发挥酶催化反应的效率,也有助于为酶作用机理研究提供数据。本文拟考查底物浓度、细胞浓度、反应体系 pH 值、反应温度等因素对生物转化速度的影响,建立不同底物浓度范围内的反应速度方程,这将对实现 CLA 的生产和研究 CLA 的生理功能具有十分重要的理论价值。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种 植物乳杆菌(*L. plantarum*)ZS2058,本实验室从自制泡菜中分离筛选所得。

1.1.2 培养基 MRS 培养基^[5]。

1.1.3 主要试剂和仪器 亚油酸(纯度 99%,本实验用脲包法制备),共轭亚油酸($\geq 99\%$,美国 SIGMA 公司),其他试剂为国产分析纯。气相色谱仪(GC2010,日本岛津公司),冷冻离心机(UNIVERSAL32R,德国 HETTICH 公司),色谱柱(BPX-70(120 m \times 0.25 mm i. d. \times 0.25 μ m),SGE 公司),其余为实验室常规仪器。

1.2 产物分析采用气相色谱法(GC)

在前期工作^[10]基础上作了改进,具体如下:

1.2.1 气相色谱条件 柱前压:366.3 kPa;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;检测器温度:250 $^{\circ}$ C;空气压力:50 kPa;氢气压力:60 kPa;氮气压力:100 kPa。

1.2.2 程序升温条件:150 $^{\circ}$ C 保持 5 min,然后以 5 $^{\circ}$ C/min 的升温速率将温度升至 190 $^{\circ}$ C,在此温度下保持 0.1 min,再以 3 $^{\circ}$ C/min 的升温速率将温度升至 220 $^{\circ}$ C,在此温度下保持 15 min。分流比为 5:1,进样量为 1 μ L。

1.2.3 计算转化产物中 CLA 的浓度 采用峰面积归一化法计算转化产物中 CLA 的浓度。

1.3 细胞收集

从斜面挑取菌种在 10 mL MRS 培养基中连续活化两次,以体积分数 1% 接种量接入 400 mL MRS 培养基,37 $^{\circ}$ C 诱导培养(0.5 mg/mL LA 诱导)12 h。培养结束后冷冻离心(4500 \times g, 10 min, 4 $^{\circ}$ C)收集菌体,并用无菌生理盐水洗涤 2 次,洗涤后直接收集细胞或用 0.1 mol/L 的磷酸钾缓冲溶液(pH6.5)制成细胞悬浮液备用。

1.4 对生物转化速度的影响实验

1.4.1 底物浓度对生物转化速度的影响:分别取 1 mL 细胞悬浮液于 10 mL 具塞磨口三角瓶中,添加 LA 乳浊液至终浓度分别为 0、0.3、0.5、0.8、1.0、1.5、2.0、3.0 mg/mL,使菌体细胞浓度为 4.0×10^{10} cfu/mL。于 37 $^{\circ}$ C 200 r/min 条件下反应,每隔一段时间取出提取脂肪酸,经甲酯化后 GC 分析。

1.4.2 细胞浓度对生物转化速度的影响:将收集到的细胞用磷酸钾缓冲溶液稀释成不同细胞浓度的细胞悬浮液,分别取 1 mL 悬浮液于 10 mL 具塞磨口三角瓶中,添加 LA 乳浊液至终浓度为 0.8 mg/mL,使菌体细胞浓度分别为 1.0×10^{10} 、 2.0×10^{10} 、 3.0×10^{10} 、 4.0×10^{10} 、 5.0×10^{10} 、 6.0×10^{10} cfu/mL。于 37 $^{\circ}$ C 200 r/min 条件下反应,隔一段时间后取出提取脂肪酸,经甲酯化后 GC 分析。

1.4.3 反应缓冲液 pH 值对生物转化速度的影响:将收集到的细胞用不同 pH 的磷酸钾缓冲溶液进行悬浮,分别取 1 mL 悬浮液于 10 mL 具塞磨口三角瓶中,添加 LA 乳浊液至终浓度为 0.8 mg/mL,使菌体细胞浓度为 4.0×10^{10} cfu/mL。于 37 $^{\circ}$ C 200 r/min 条件下反应,每隔一段时间后取出,提取脂肪酸,经甲酯化后 GC 分析。确定生物转化反应的最适 pH 值。

1.4.4 反应温度对生物转化速度的影响:分别取细胞悬浮液 1 mL 于 10 mL 具塞磨口三角瓶中,添加 LA 乳浊液至终浓度为 0.8 mg/mL,此时菌体细胞浓度约为 4.0×10^{10} cfu/mL。分别于不同温度(30 $^{\circ}$ C、35 $^{\circ}$ C、40 $^{\circ}$ C、45 $^{\circ}$ C、50 $^{\circ}$ C、55 $^{\circ}$ C)200 r/min 反应,每隔一段时间后取出,提取脂肪酸,经甲酯化后 GC 分析。确定生物转化反应的最适反应温度。

1.5 速度方程

1.5.1 速度方程的拟合 对反应速度 v 和底物浓度 $[S]$ 用双倒数法(double-reciprocal plot method)和 Hanes-Woolf 法作图,测定不同底物浓度范围内的最大反应速度 V_{\max} 和米氏常数 K_m ,建立不同底物浓度范围的速度方程。

1.5.2 速度方程的验证:取 1 mL 细胞悬浮液于 10 mL 具塞磨口三角瓶中,添加 LA 乳浊液至终浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/mL,使菌体细胞浓度约为 4.0×10^{10} cfu/mL,于 37 $^{\circ}$ C 200 r/min 条件反应,每隔一段时间后取出,提取脂肪酸,经甲酯化后 GC 分析,对所拟合的速度方程进行验证。

2 结果和讨论

2.1 底物浓度对生物转化速度的影响

在酶催化反应体系中,酶和底物是最基本的构成要素。不同的底物浓度(即 LA 浓度)会直接影响酶催化转化的反应速度。本实验考察了 LA 浓度在 0~3 mg/mL 范围内的情况,结果见图 1-A。

在低底物浓度范围内(0.1~0.4 mg/mL),反应速度 v 随着 LA 浓度的增加而直线上升;当 LA 浓度达到 0.4 mg/mL 时,产生 c9, t11-CLA 的反应速度达到最大值,为 15.99 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$;当 LA 浓度大于 0.5 mg/mL 时,反应速度 v 随着 LA 浓度的增加而快速下降。由此可知在 LA 浓度大于 0.5 mg/mL 时,该异构化反应存在着明显的底物抑制现象,该结果与 Susan^[11]等从梭状芽孢杆菌中分离到的亚油酸异构酶的酶反应动力学相似,但目前关于亚油酸异构酶底物抑制的机理尚不明确。

2.2 细胞浓度对生物转化速度的影响

酶催化反应的速度也取决于酶的浓度。在利用 *L. plantarum* ZS2058 全细胞催化转化的反应体系中,可通过改变体系中的细胞浓度来调节参与反应的酶量,进而影响酶催化反应的反应速度。本实验考察了不同细胞浓度下生物转化速度的变化趋势,结果见图 1-B。

从图 1-B 可以看出,当细胞浓度较低时,反应速度随着细胞浓度的增加而缓慢上升;当细胞浓度在 $3\sim 5\times 10^{10}$ cfu/mL 时,反应速度随着细胞浓度的增

加而快速上升;当细胞浓度达到 5×10^{10} cfu/mL 时,反应速度趋稳。这种规律是由于在低细胞浓度下存在底物抑制,因此反应速度上升的比较平缓;增加细胞浓度,相对底物抑制的作用减弱,反应速度随着细胞浓度的增加而线性增加;当细胞浓度达饱和时反应速度达最大值。因此,在实际反应中,细胞的加入量需在刚饱和状态,当细胞用量过饱和时会造成生产成本的加大。

2.3 反应缓冲液 pH 值对生物转化速度的影响

生物转化速度受介质 pH 值的影响,酶作用存在最适 pH 提示酶分子活性基团的电离状态、底物分子及辅酶与辅基的电离状态都与酶的催化作用相关。从图 1-C 可知,*L. plantarum* ZS2058 完整细胞生物转化 CLA 的最适 pH 在 6.5 左右。

2.4 反应温度对生物转化速度的影响

温度对生物转化 CLA 反应速度的影响主要包括两个方面,一方面是影响细胞中酶的稳定性;另一方面是影响细胞-底物复合物转变成产物的速度。酶的最适温度是温度升高使酶促反应加速和使酶变性两种拮抗因素作用的总和,温度对生物转化 CLA 的实验结果见图 1-D。

实验结果表明,酶催化反应速度随着温度的上升而加速,然而当温度达到 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右时,继续提高温度,酶催化反应速度反而下降,高温会使酶分子构象发生变化,从而导致酶活性的降低。因此 *L. plantarum* ZS2058 完整细胞生物转化 CLA 的最适反应温度在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。

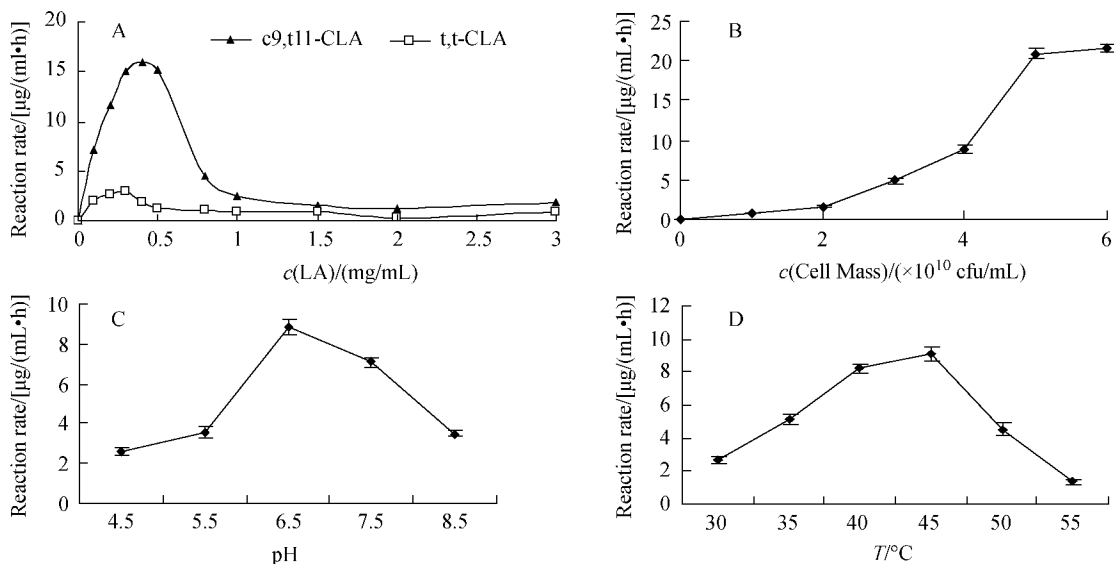


图 1 底物浓度、细胞浓度、反应 pH 值及反应温度对反应初速度的影响

2.5 速度方程的拟合

由于 *L. plantarum* ZS2058 生物转化 CLA 存在着明显的底物抑制现象, 因此对速度方程分两段考察: 即非底物抑制范围内的速度方程和底物抑制范围内的速度方程。

2.5.1 非底物抑制范围内的速度方程: 由 2.1 可知, 在非底物抑制范围内 ($0 < [S] < 0.5 \text{ mg/mL}$), 全细胞反应规律遵循酶学上经典的米氏方程。因此将反应速度与底物浓度的关系图(图 1-A, $0 < [S] < 0.5 \text{ mg/mL}$ 范围)双倒数作图得到 $1/v$ 对 $1/[S]$ 的关系图 2。

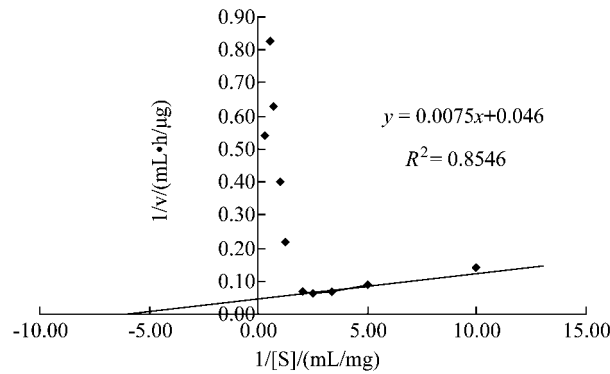


图 2 $1/v \sim 1/[S]$ 关系图

Fig.2 A double reciprocal plot of $1/v$ vs $1/[S]$.

从图 2 可知, 在低底物浓度范围内 ($0 < [S] < 0.5 \text{ mg/mL}$) 拟合出一条线性较好的双倒数直线, 该直线的斜率为 $K_m/V_{max} = 0.0075$, 将直线延长与横轴相交, 在横轴上的截距为 $-1/K_m$, 在纵轴上的截距为 $1/V_{max}$, 从而求得最大反应速度和米氏常数分别为:

$$V_{max} = 21.74 \mu\text{g/mL}\cdot\text{h}; K_m = 0.16 \text{ mg/mL}$$

因此, 在低底物浓度范围内, 该全细胞反应规律可参考酶学上经典的米氏方程来解析:

$$v = \frac{21.74[S]}{0.16 + [S]} \quad \text{式(1)}$$

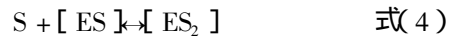
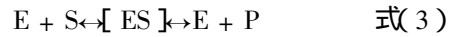
其中 $0 < [S] < 0.5 \text{ mg/mL}$ 。

2.5.2 底物抑制范围内的速度方程: 由 2.1 可知, 在较高底物浓度范围内 ($[S] > 0.5 \text{ mg/mL}$), 由于底物抑制很明显, 无法拟合出双倒数直线, 可对其应用经典的底物抑制速率方程。

$$v = \frac{V_{max}S}{K_m + S + \left(\frac{S^2}{K_i}\right)} \quad \text{式(2)}$$

式中 K_i 是底物抑制的解离常数。经典的底

物抑制反应的机理式为:



式中 $[ES_2]$ 无催化反应活性, 不能分解为产物的三元复合物。

对式(2)变形得下式:

$$\frac{S}{V} = \frac{K_m}{V_m} + \frac{S}{V_m} + \frac{S^2}{V_m K_i} \quad \text{式(5)}$$

对式(5)采用 Hanes-Woolf 作图法对 $[S]/V$ 与 $[S]$ 作图, 见图 3。

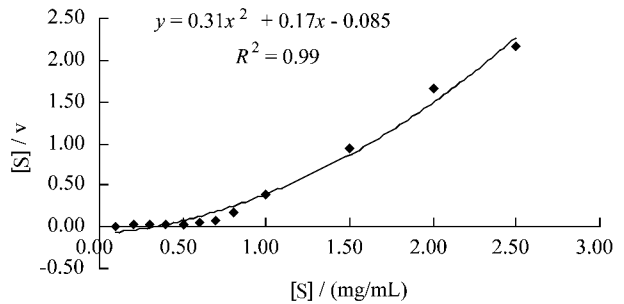


图 3 $[S]/v \sim [S]$ 关系图

Fig.3 The relation plot of $[S]/v$ vs $[S]$.

根据图 3 可以拟合出一非线性回归方程: $y = 0.31x^2 + 0.17x - 0.85$, 对照式(5)可以求得: $V_{max} = 5.88 \mu\text{g}(\text{mL}\cdot\text{h})$; $K_m = 0.50 \text{ mg/mL}$; $K_i = 0.55 \text{ mg/mL}$ 。

因此, 在较高底物浓度范围内, 拟合得该全细胞反应规律的速度方程为:

$$v = \frac{5.88S}{\left(\frac{S^2}{0.55}\right) + S + 0.5} \quad \text{式(6)}$$

其中 $[S] > 0.5 \text{ mg/mL}$ 。

2.6 速度方程的验证

分别对上述非底物抑制及底物抑制范围内的速度方程进行验证。

2.6.1 非底物抑制范围内的速度方程验证: 对非底物抑制范围内的速度方程式(1)进行验证, 结果见图 4-A: 底物浓度在 $0.1 \sim 0.5 \text{ mg/mL}$ 范围内, 其相对偏差低于 5%, 反应速度与经典的 Michaelis-Mentent 方程相吻合, 说明在非底物抑制范围内的速度方程式拟合较好。

而当底物浓度超过 0.5 mg/mL 时, 实际值与模型计算值相差较大, 实际值远远小于计算值, 而且浓度越大相差越大, 存在着明显的底物抑制现象。

2.6.2 底物抑制范围内速度方程的验证: 对底物抑制范围内的速度方程式(6)进行验证, 结果见图 4-

B 底物浓度在 1~5 mg/mL 范围内, 方程计算值与实际值的相对偏差低于 5%, 这与经典的底物抑制速率方程吻合。而底物浓度在 0.5~1 mg/mL 范围内, 方程计算值与实际值相差较大, 而且浓度越小, 相差越大。目前有关亚油酸异构酶底物抑制的机理还有待进一步研究。

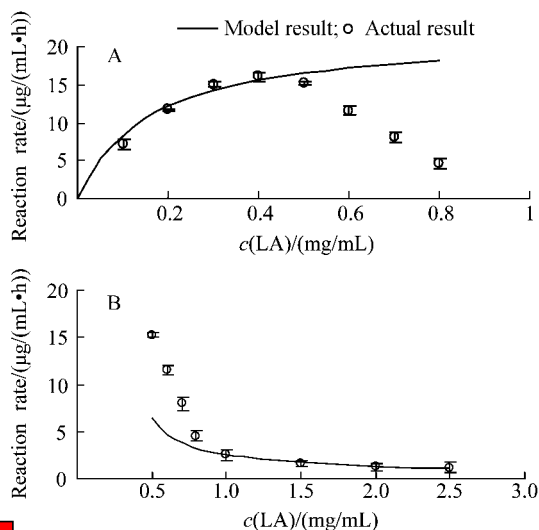


图4 模型计算值与实际值的比较

Fig. 4 Comparison of model result with actual result. A: At low substrate concentration; B: At high substrate concentration.

3 结论

本文通过对影响 *L. plantarum* ZS2058 完整细胞生物转化 CLA 反应速度关键因素的研究, 包括底物浓度、细胞浓度、反应体系 pH 值和反应温度, 得到了生物转化 CLA 的最适 pH 值和最适温度分别为 6.5 和 40°C, 并得到其在不同底物浓度下的反应动力学规律, 反应速度随着细胞浓度增加而上升, 当细胞浓度达到 5×10^{10} cfu/mL 时, 反应速度达到最高。同时通过双倒数和 Hanes-Woolf 作图法建立了反应初始阶段不同底物浓度范围内的速度方程, 在低底物浓度下, 反应规律与经典的米氏方程相符合, 而在高底物浓度下, 存在明显的底物抑制现象。这些结论将为后续研究酶反应动力学提供参考和依据, 并能为 CLA 的生产和生理功能研究提供指导。

参考文献

- [1] Jones EL, Shingfield KJ, Kohen C, et al. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88(8): 2923–2937.
- [2] Pariza M. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79: 1132S–1136S.
- [3] Pariza M, Park Y, Cook M. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 2001, 40: 283–298.
- [4] Lin TY. Conjugated linoleic acid production by cells and enzyme extract of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* with additions of different fatty acids. *Food Chemistry*, 2006, 94(3): 437–441.
- [5] Lee SO, Chang SK, Somi KC. Bioconversion of linoleic acid into conjugated linoleic acid during fermentation and by washed cells of *Lactobacillus reuteri*. *Biotechnology Letters*, 2003, 25: 935–938.
- [6] Ogawa J, Kishino S, Ando A, et al. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2006, 100(4): 355–364.
- [7] Irmak S, Dunford NT, Gilliland SE, et al. Biocatalysis of linoleic acid to conjugated linoleic acid. *Lipids*, 2006, 41: 771–776.
- [8] 周凌华, 张灏, 陈卫, 等. 生物合成共轭亚油酸菌种的筛选与鉴定. 无锡轻工大学学报: 食品与生物技术 (*Journal of Wuxi University of Light Industry*), 2004, 23(5): 53–57.
- [9] 钮晓燕, 陈卫, 张灏, 等. 植物乳杆菌 ZS2058 在磷酸盐缓冲液体系中生物转化共轭亚油酸. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2007, 47(2): 244–248.
- [10] 许庆炎, 陈海琴, 田丰伟, 等. 植物乳杆菌 ZS2058 生物转化产物共轭亚油酸的分析方法的研究. 食品与发酵工业 (*Food and fermentation industries*), 2008, 34(1): 110–114.
- [11] Peng SS, Deng MD, Grund AD, et al. Purification and characterization of a membrane-bound linoleic acid isomerase from *Clostridium sporogenes*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 40(4): 831–839.

Bioconversion kinetics of conjugated linoleic acid by *Lactobacillus plantarum* ZS2058

Haiqin Chen, Qingyan Xu, Qiang Ye, Wei Chen*, Hao Zhang

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract [**Objective**] Studying the kinetics of conjugated linoleic acid (CLA) bioconversion by *Lactobacillus plantarum* ZS2058. [**Methods**] We studied the effects of the substrate concentration, cell mass, reaction pH and temperature on the reaction rate of producing CLA by *L. plantarum* ZS2058, and established the equations of reaction rate at the initial response stage under different substrate concentrations by double-reciprocal plot and Hanes-Woolf plot method. [**Results**] A marked substrate inhibition effect existed, and the early reaction rate of producing c9, t11-CLA reached the maximum of 15.99 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ when linoleic acid concentration was 0.4 mg/mL. The early reaction rate increased with the cell mass increase, and when the cell mass was at 5×10^{10} cfu/mL, the response reaction rate close to the maximum. The optimum pH and temperature of bioconversion of CLA were 6.5 and 40°C. Michaelis constant was obtained by double-reciprocal plot and Hanes-Woolf plot method, the reaction rate equation followed the classic Michaelis-Mentent equation at the low substrate concentration, while there existed in a marked substrate inhibition effect at the high substrate concentration. [**Conclusion**] rough exploring the various factors of CLA bioconversion by *L. plantarum* ZS2058, we established the reaction rate equations of the initial response stage under different substrate concentrations, and got the optimal reaction conditions. These results will contribute to the CLA production and its physiological functions research.

Keywords: conjugated linoleic acid; bioconversion; *lactobacillus plantarum*; reaction rate equation; substrate inhibition

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (2007AA100402) and the 11th Five Years Key Programs for Science and Technology Development of China (2006BAD27B08)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-510-85912155; E-mail: weichen@jiangnan.edu.cn

Received: 1 September 2008/ Revised: 27 October 2008

《微生物学报》答作者问——关于投稿

问:投稿时都需要哪些手续?是否还需要纸稿?

答:从2006年起,本刊开始采用“稿件远程处理系统”。投稿时需要提供:

- (1) 论文研究内容所属单位的介绍信(请注意:在此强调的是研究内容所属单位,通常是第一单位),介绍信主要应证明该文的作者署名无误,未一稿两投及不涉及保密问题。介绍信模板可从本刊主页“下载专区”或“远程投稿时”下载。
- (2) 在接到经过编辑部内审后 E-mail 发出的“稿件受理通知”后,需要及时补寄纸样的 1 份稿件和介绍信,并缴纳 100 元稿件受理费。

问:审稿费需邮局汇款还是转帐?

答:邮局汇款!中科院微生物所共有 4 个期刊编辑部,因此提醒您在办理汇款时一定要注意以下几点,否则在登记汇款、办理发票时会造成混乱!编辑部在收到汇款之后,将以挂号信形式及时寄回发票。

- (1) 切忌在邮寄来的纸样材料中加入 100 元现金!
- (2) 在收款人一栏填写“微生物学报编辑部”;
- (3) 在备注栏中注明“稿件编号”+“第一作者姓名”;
- (4) 通过邮局汇 100 元审稿费,汇款后请登陆本刊网站,填写“汇款时间”、“发票单位”和“收”“发票地址”等信息。编辑部会在收到后及时登记“收款时间”和“寄发票时间”,作者可随时查询不必打电话来询问。