

• 专论与综述 •

微生物表面活性物质研究进展

高 燕, 谢建军, 林庆胜, 陈 永, 钟国华*

(华南农业大学 昆虫毒理研究室, 教育部生物防治工程研究中心, 广州 510642)

摘 要: 微生物表面活性物质是由微生物产生的具有高表面活性的生物分子, 环境相容性好, 易生物降解, 广泛应用于各领域。从微生物表面活性物质生产菌种、化学结构类型和特点、主要生产方法及其在病虫害防治、农药生产加工、土壤改良等领域的应用进展进行了总结和评述, 并展望了其未来的发展方向。

关键词: 微生物表面活性物质; 结构类型; 生产方法; 应用进展

中图分类号: TQ423 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2008) 02-0186-10

Advances on Microbial Surfactant and its Application

GAO Yan, XIE Jian-jun, LIN Qing-sheng, CHEN Yong, ZHONG Guo-hua*

(Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Engineering Research Center of Biological Control, Ministry of Education, Guangzhou, 510642)

Abstract Microbial surfactant is a high surface active agent produced by microorganism. Compared with chemical surfactant, microbial surfactant has low toxicity to ecological system, in addition it is easily biodegradable. Screen of microorganism producing certain microbial surfactant, chemical structures and properties, producing technology and its applications in agriculture were reviewed in this article. The future development of microbial surfactant in agriculture was prospected.

Key words microbial surfactant; type of structure; method of production; application

当前国内外表面活性剂工业发展迅速, 2005 年全球表面活性剂年用量为 1.8×10^7 t, 我国的产量亦已达 460 万 t^[1]。目前绝大多数为化学合成表面活性剂, 其大量应用对环境造成了巨大的压力, 因此研究开发新型、环保、绿色化的表面活性剂已成为国际共识^[2]。微生物表面活性物质 (microbial surfactant) 就是其中的后起之秀, 它是由微生物在代谢过程中生成的自我调节微环境的活性物质, 具有降低表面张力、稳定乳化液、增加泡沫等表面活性作用, 具备环境相容性良好、无毒或低毒、可被生物降解等突出优点^[3], 因此引起了

国际上的高度重视, 近年来其基础理论研究取得了重要进展, 并开始应用于工农业、采矿业、医药卫生、环境保护等多个领域^[4-5]。本文主要介绍和评述微生物表面活性物质的生产菌株、化学结构类型和特点、生产方法及其在农业上的应用进展, 并探讨了其今后研究的重点和方向。

1 微生物表面活性物质的生产菌株

菌种是生产制备微生物表面活性物质的基础, 多种细菌、酵母和真菌均可用于生产表面活性

收稿日期: 2007-10-08; 修回日期: 2008-04-07。
作者简介: 高燕 (1979-), 女, 博士研究生; * 通讯作者 (Author for correspondence): 钟国华 (1973-), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为天然源农药、昆虫生理毒理和细胞生物学。联系电话: 020-85280308 E-mail: guohuazhong@scau.edu.cn
基金项目: 教育部全国优秀博士学位论文作者基金项目 (2004061); 科技部农业科技成果转化资金项目 (05EFN214400207)。
©1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

物质^[6]。表 1 总结了其中部分重要的微生物种类。文献表明,目前对微生物表面活性物质生产菌的研究主要集中在细菌和低等真菌方面,细菌中又以杆菌居多。不同菌种能产生不同种类的表面活性物质,如分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)的大多数种能产生海藻糖脂(trehalose esters),而槐糖脂(sophorolipids)则主要由酵母产生,地衣状枯草芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis* 能产生脂肽类(lipopeptide)生物表面活性物质,多种铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 和放线菌 *Nocardia* sp 则能产生鼠李糖脂(rhamno lipid)类表面活性物质^[7]。假单胞菌 *Pseudomonas* sp S27 菌株在代谢过程中能够产生糖脂和脂肽类表面活性物质,其临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)为 36 mg/L,可以将水的表面张力由 72 mN/m 降低到 29.17 mN/m,油水界面张力由 30 mN/m 降低到 11.3 mN/m^[8]。由于不同菌株产生的表面活性物质肽链中氨基酸的数量、种类及连接顺序不同,所以菌体代谢产物往往是多个异构体的混合物,客观上造成同种微生物不同菌种产生的表面活性物质种类也可能不同,如枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* S499 菌株能同时产生脂肽类表面活性素(surfactins)、伊枯草菌素(iturins)和芬芥素(fengycin)3 大类表面活性物质,而某些菌株(如 *B. subtilis* ATCC 21332 或 *B. subtilis* B2)只能产生脂肽类表面活性素(surfactin)。

根据底物的不同,可将微生物表面活性物质生产菌种分为 3 类:第 1 类严格以烷烃作为碳源,如棒状杆菌 *Corynebacterium* sp;第 2 类以水溶性底物为碳源,如杆菌 *Bacillus* sp;第 3 类可同时以烷烃和水溶性底物两者作为碳源,如假单胞菌 *Pseudomonas* sp。了解不同菌种的碳源有利于优化培养条件。

菌株的快速筛选和评价方法也是当前的研究热点之一,目前比较成熟的方法包括液滴轴线对称分析法(ADSA-P)、快速液滴破裂实验、表面活性物质生产菌落的薄层层析、比色法等^[9]。改进的液滴分散法既可定性筛选生产菌,又可定量测定微生物表面活性物质的浓度^[10]。高学文等^[11]报道利用基质激光解吸附离子化质谱(MALDI-MS)和电喷雾离子化质谱(ESI-MS)技术,通过分析微生物次生代谢产物来划分微生物属、种和菌株。利用微生物对污染物质的化学趋向性(chemotaxis)来寻找高效的微生物表面活性物质

产生菌种正引起人们的强烈兴趣^[12]。随着基因组技术的快速发展和完善,提取环境样品混合微生物总基因组 DNA,构建宏基因组文库,筛选目的基因,将可能成为微生物活性物质筛选的重要手段^[13]。

2 微生物表面活性物质化学结构类型及特征

微生物表面活性物质的化学结构类型多样,包括纤维二糖脂、鼠李糖脂、槐糖脂、海藻糖二脂、海藻糖四脂、单糖脂、二糖脂、三糖脂、脂肽、脂蛋白、磷脂、中性类脂衍生物、表面活性蛋白等^[68]。Sunair 等^[69]和 Bonilla 等^[44]报道了恋臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* ML2 菌株产生的胞外多聚糖的表面活性。总体看,这些表面活性物质分子质量较大,结构复杂多变,其差别往往仅在于氨基酸的种类、连接顺序、C 链 C 原子个数及支链位置的不同,从发酵液中分离纯化其单体化合物非常困难。所以,大多数微生物表面活性物质经过萃取、盐析、渗析、离心、沉淀得到粗产品后,还必须经三甲基十六烷基溴化铵凝聚沉淀,溶于硫酸钠溶液,加碘化钾形成三甲基十六烷基碘化铵沉淀,离心除沉淀后,所剩的清液再用水渗析,然后经冷冻干燥等,才可能获得纯净的微生物表面活性物质固体,而且往往还要通过光谱法、化学修饰、软离子化质谱、二维核磁共振等技术才能准确鉴定其结构^[11 28 70]。

微生物表面活性物质都是具有极性的亲水基团和非极性的疏水基团的“两亲型分子结构”^[23]。非极性基团大多为脂肪酸链或烃链,极性部分结构类型较多,如脂肪酸的羟基、单或双磷酸酯基团,多羟基基团或糖、多糖、缩氨酸等。根据亲水基的类别,可将微生物表面活性物质分为糖脂、酰基缩氨酸、脂肪酸、磷脂及高分子表面活性剂等,其中以对糖脂的研究最为深入,是微生物表面活性剂中最主要的一类。糖脂类表面活性物质主要包括海藻糖脂类、鼠李糖脂类(共 4 种结构,图 1 所示为第二种结构)和槐糖脂类(可分为内酯型和酸型,图 1 所示为酸型),其分子结构式如图 1 所示^[71]。根据相对分子质量高低,微生物表面活性物质又可分为低分子和高分子两类。前者一般为糖脂,如海藻糖类脂类、槐糖类脂类和鼠李糖类脂类或脂肽,如 surfactin、短杆菌肽 S 及多粘菌素,多用于降低表面张力和界面张力;后者多为两亲多糖类、蛋白、脂多糖类、脂蛋白或这些生物聚合物的混合物,在稳定水包油乳液中更为有效^[20 72]。

表 1 常见微生物表面活性物质化学类型和产生菌株

Table 1 Strains and chemical types of surfactant of common microorganism

化学类型 Chemical Type		微生物种类 Microbe Species	参考文献 References
糖脂类 Glycolipid	槐糖脂 Sophorolipids	假丝酵母 <i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	[14]
		假丝酵母 <i>C. bombicola</i>	[15]
		假丝酵母 <i>C. apicola</i> MET43747	[16]
		解脂假丝酵母 <i>C. lipolytica</i>	[17]
		球拟酵母 <i>Torulopsis bombicola</i>	[18]
		蜜蜂生球拟酵母 <i>T. apicola</i>	[19]
	海藻糖脂 Trehalose	红串红球菌 <i>Rhodococcus erythropolis</i>	[20]
		红球菌 <i>R. watislaviensis</i> BN38	[21]
		红球菌 <i>Rhodococcus</i> sp ST-5	[22]
		红球菌 <i>Rhodococcus</i> sp H13A	[23]
	鼠李糖脂 Rhamnolipids	诺卡氏菌 <i>Novcardia</i> SFC-D	[24]
		类诺卡氏菌 <i>Novcardioides</i> sp A-8	[7]
		铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[25]
		铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> PAO1	[26]
		铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> LB1	[27]
		铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> Q S9-119 Q S10-129	[28]
		铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> GL-1	[29]
		铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i> UW-1	[30]
		假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> sp S-17	[31]
		甘露赤藓糖脂 <i>Erythro se</i>	[32]
		海藻糖四酯 <i>Trehalose</i>	[33]
		其他类型糖脂 <i>Other</i>	[34]
		混浊红球菌 <i>Rhodococcus opacus</i>	[35]
		赤红球菌 <i>R. ruber</i>	[36]
		缓症链球菌 <i>Streptococcus mitis</i>	[37]
		食碱菌 <i>Akanivorax borlumensis</i>	[38]
		冢村氏菌 <i>Tsukamurella</i> sp	[39]
		粘质沙雷氏菌 <i>Serratia marcescens</i>	[40]
		深红沙雷氏菌 <i>S. rubidea</i>	[41]
聚糖类 Polysaccharides	蛋白聚糖 Proteoglycan	琼氏不动杆菌 <i>Acinetobacter junii</i> Sc14	[42]
		乳链球菌 <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> bv	[43]
		瑞士乳杆菌 <i>Lactobacillus helveticus</i>	[43]
脂肽类 Lipopeptide	多聚糖 Polysaccharide	恋臭假单胞菌 <i>P. putida</i> ML2	[44]
	表面活性素 Surfactin	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	[45]
	产黄杆菌酯 Flavolipids	黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> sp MTN11	[46]
	环脂肽 Cyclic Lipopeptide	荧光假单胞菌 <i>P. fluorescens</i>	[47]
		芽孢杆菌 <i>B. circulans</i>	[48]
		甘露糖-脂蛋白 <i>Mannose Lipoprotein</i>	[49]
	脂肪肽 Fat Peptide	马克斯克鲁维酵母 <i>Kluyveromyces marxianus</i>	[49]
		酿酒酵母菌 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[49]
		热带假丝酵母 <i>C. tropicalis</i>	[50]
		枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	[48]
	硫放线菌素 Sulfactin	唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus thermophilus</i>	[51]
		枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	[52]
		枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> C9	[53]
	Serratettin	粘质沙雷氏菌 <i>Serratia marcescens</i>	[54]
	肽 A Peptide A	地衣状芽孢杆菌 <i>B. licheniformis</i>	[55]

资源再利用优势, 无毒、无副作用, 如甘油三酯、脂肪酸、磷脂、氨基酸等。还可利用工业废料和农副产品为原料, 如牛奶、土豆、木薯、肥皂加工下脚料或麦麸等^[14-27], 既解决了农产品加工废物处理问题, 同时也降低了生产费用。

(5) 分子结构类型多样, 具有特殊的官能团, 专一性强, 反应产物均一, 可用微生物学方法合成新的化学基团^[71]。

3 微生物表面活性物质生产方法

3.1 发酵法

对发酵法生产微生物表面活性物质的研究较早, 技术较成熟, 一般包括菌株的筛选及改良、优化培养条件和发酵生产、产品分离提纯等 4 个基本步骤。目前已可以利用不同条件下的菌种生产表面活性物质, 或是利用发酵与生物转换相结合, 通过加入底物前体的方式生产表面活性物质^[73]。如以棕榈油和葡萄糖作为碳源, 假丝酵母 *Candida bombicola* 可生产槐糖脂 100~150 g/L^[74]。以废电动机润滑油和花生饼为碳源, 棒状杆菌 *Corynebacterium kutscheri* 可产生 64 mg/mL 的缩氨酸酯类表面活性物质, 其中含有 40% 的糖类、27% 的酯类和 29% 的蛋白质^[75]。在微生物的培养过程中则可以通过细胞生长法、细胞代谢控制法、细胞休止法和加入前体法等手段控制发酵条件及各种营养物质的量, 使生产菌最有效地生产所需的表面活性物质。生产模式包括间歇式、半连续式和连续式操作等多种, 流化床反应器、固定化细胞等已用于中试和生产过程。利用南极假丝酵母 *C. antarctica* 的休止细胞法生产甘露糖赤藓糖醇脂, 优化培养条件后, 最高产量可达 140 g/L^[76]。Danie 等^[77] 利用棒状杆菌 *C. bombicola* 分别获得浓度高达 300 和 422 g/L 的槐糖脂, 产率较高, 究其原因, 除可能与其采用菜籽油作为主要碳源有关外, 也与其采用的“二次发酵”技术有关, 值得借鉴。

从目前的文献报道分析, 发酵法主要用于生产糖脂类微生物表面活性物质, 此外还有磷脂、脂肪酸、鸟氨酸肽和赖氨酸肽等, 研究重点主要集中在提高微生物表面活性物质的产量和降低成本方面^[78]。生产实践中, 微生物发酵法缺陷较多, 如最终产品质量浓度较低, 发酵液易起泡, 产品生产成本超出了商业接受水平等, 在很大程度上制约了

发酵法的应用。

3.2 酶法

酶促反应合成表面活性物质的研究在 20 世纪 80 年代初实现了较大突破, 发现非水介质条件下的酶促反应不仅有利于浓集反应物质, 而且可使水解酶的催化转向, 明显提高了目标产物的产率。目前, 非水溶剂和无溶剂法合成微生物表面活性物质已成为酶法合成的主流, 甘油单酯、糖醇酯等的产率可达 90% 以上^[79]。酶促反应可以生产多种微生物表面活性物质, 包括糖脂、甘油单酯、磷脂、含氨基酸类脂等。在酶法生产合成糖脂方面, 应用最多的是脂肪酶, 利用脂肪酶的区域选择性, 可从糖脂和脂肪酸或甘油三酯等价廉易得的原料出发合成酯化位置特定的糖脂, 而且反应条件温和, 操作方便。

酶促反应合成微生物表面活性物质起步较晚, 但优势明显: (1) 比发酵法生产的微生物表面活性物质在结构上更接近化学合成的商品表面活性剂, 可以直接应用; (2) 通过酶法处理, 可以对微生物表面活性物质进行结构修饰; (3) 发酵法生产条件要求严格, 产物较难提取, 而酶法是一种离体生产方法, 条件相对粗放, 常温常压生产, 产物易回收; (4) 磷脂分子结构中有多个敏感官能团, 利用酶特有的选择性和专一性, 用酶法催化合成磷脂类化合物的产率将明显提高^[80]。目前酶促反应面临的最主要问题是制剂价格昂贵, 难以推广应用; 过高的产物或底物浓度会对细胞和酶产生毒害作用, 而且副产物较多, 分离和纯化工艺比较复杂。但随着基因工程和蛋白工程技术的发展, 获得价格合理、性能优良的酶将可能逐渐成为现实。

4 微生物表面活性物质的应用

4.1 直接控制作物病害发展

许多微生物表面活性物质本身即具有一定的控制作物病虫害的生物活性, 这是一般化学合成的表面活性剂难以匹敌的, 是生物防治的新方式^[81]。鼠李糖脂在质量分数为 1% 时即能很好地控制粘性烟草 *Nicotiana glauca* 叶部的烟草花叶病毒 (TMV) 病和马铃薯 X 病毒 (PXV) 病^[78]。荧光假单胞菌产生的生物活性物质对黑胡椒根腐病菌 *Phytophthora capsici* 有明显的抑制作用^[82]。Stanghellini 等^[83] 发现, 铜绿假单胞菌的代谢物鼠李糖脂表面活性剂可作为杀菌剂使用, 浓度为

5~30 $\mu\text{g/mL}$ 时可破坏瓜果腐霉 *Pythium aphanidematum* 和辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* 游动孢子的质膜, 从而使其致死。伊枯草菌素具有广谱抑制植物病原菌的作用, 能有效抑制病原菌对番茄的为害。Bacillus sp. B2菌株产生的脂肽类表面活性物质对大白菜软腐病菌 *Erwinia carotovora* 和油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 控制效果良好^[11]。

4.2 应用于农药生产加工

随着全球面临日益严重的环境污染压力, 绿色农药和绿色农药制剂已成为发展的必然。对农药制剂中表面活性剂、填料、溶剂及其他助剂在环境相容性方面的要求也日益严格^[84]。微生物表面活性剂具有低毒、安全、高效和环保等诸多优点, 有可能在一定程度上逐步取代常规化学合成的表面活性剂, 推动绿色农药的进程。如芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) 所产生的一种可能是糖脂肽的乳化剂在 400 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下可使倍硫磷 (endosulfan) 溶液形成稳定的乳剂, 增加溶解度, 也可使粘重土壤亲水化, 进而增加其可湿性, 令肥料和农药均匀分散于土壤中^[85]。伯克霍尔德菌 *Burkholderia cenocepacia* BSP3分泌的糖脂类物质具有很高的表面活性, 对杀虫剂具有很好的增溶作用^[60]。

然而, 目前真正用于农药产业化的微生物表面活性物质还较少, 最主要的阻碍原因是生产成本过高, 与目前常用的化学合成表面活性剂相比不具有成本优势。今后的解决办法是一方面要不断改进生产工艺, 降低成本; 另一方面要通过基因工程技术, 选育高效的微生物菌种^[86]。通过技术改进, 微生物法生产鼠李糖的产率可达 100 g/L, 已实现商业化生产^[87]。这个重要突破说明, 在现代生物技术支持下, 微生物表面活性物质将可能具备与化学合成表面活性剂竞争的能力。

4.3 应用于土壤改良

近年来, 工业废水、固体废弃物的排放, 农药的大量和不合理使用以及采矿、采油等多种原因, 造成对土壤的污染日趋严重。研究表明, 加入微生物表面活性物质能够增强疏水性化合物的亲水性, 有利于加快进入土壤的外源化合物的降解速度, 这为生物修复 (bioremediation) 提供了又一可供选择的技术手段。糖脂类微生物表面活性物质可提高烷烃的去除率, 加速烷烃矿化程度, 缩短可被微生物利用的适应时间, 加速环境有机污染物的生物降解进程^[45]。假丝酵母生产的甘露糖赤藓

糖醇脂、铜绿假单胞菌生产的鼠李糖脂都能明显提高土壤中烷烃的去除率^[88]。鼠李糖脂在降解萘的同时还可以降低金属镉的毒性^[89]。鼠李糖脂不仅可促进铜绿假单胞菌的生长, 而且能促使有机质从颗粒表面转移到液相, 改变有机质的降解方式, 加速菌种对有机质的降解作用^[26]。浓度高于临界胶束浓度的鼠李糖脂在基质表面的等温吸附呈线性规律^[90]。此外, 微生物表面活性物质还可用于铅、锌、铜、镉等毒性重金属和铀等放射性物质污染地点的生物修复^[91]。

有关微生物表面活性物质改良污染土壤的机理研究, 以往较多集中于其对污染物质在土壤水相中的增溶作用、对污染物在有机相和水相之间传质的影响^[78], 现在则更着重于研究其对微生物细胞的作用。研究表明, 外源或菌体自身产生的微生物表面活性物质能够促进菌株吸附有机污染物液滴, 通过移除细胞膜外层的脂多糖而加强细胞表面的疏水性, 促进菌体与基质直接作用^[92]。如海藻糖脂改变了细胞表面的疏水性, 加强了细胞的吸附以及烷烃向细胞内部的输送^[87]。Surfactin能够以聚集体的形式排列在细胞膜表面或嵌入细胞膜中, 从而改变细胞膜的结构, 在膜上形成“微孔”和“通道”, 以摄取污染物^[93]。

4.4 应用于肥料生产

微生物表面活性物质在肥料生产中也具有广阔的应用前景, 尤其是在固体废弃物资源化利用过程中的应用潜力巨大^[3]。戴芳等^[94]以富含难降解纤维素类的稻草秸秆和麸皮为堆肥原料, 添加鼠李糖脂, 加速了堆肥的成熟进度。傅海燕等^[95]从不同温度 (45℃ 和 55℃) 的堆肥过程中筛选获得了产生 surfactin等脂肽类微生物表面活性物质的菌种枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*, 优化了培养条件, 提高了 surfactin等物质的生产能力。

4.5 应用于农产品加工

由于符合功能性食品和绿色食品添加剂的要求, 目前微生物表面活性物质已广泛应用于农产品加工领域, 蔗糖脂、卵磷脂、山梨聚糖等都是常用的乳化剂、保湿剂、防腐剂、润湿剂、起泡剂、增稠剂或润滑剂等。如可作为乳化剂用于面包和肉类生产, 改善面粉的流变学特征, 以及部分裂解的脂肪组织的乳化^[96]。蔗糖脂可改善农产品的加工性能, 提高农产品的抗氧化防霉作用和香味质量^[97]。在洗涤剂中加入蔗糖脂用作活性剂能除去水果、蔬菜上残存的农药, 而本身却很少残留^[98]。

用蔗糖脂和鼠李糖脂等作保鲜剂处理番茄、辣椒、茄子、苹果、梨等果蔬,可显著降低“自然耗”、“腐烂率”,提高果实硬度,延长保存时间,达到保证品质、减少损耗、减少腐烂等保鲜目的^[99]。产阮假丝酵母 *Candida utilis* 产生的微生物表面活性物质可用作色拉调味剂^[100]。马克斯克鲁维酵母 *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 菌株产生的甘露糖脂蛋白、恋臭假单胞菌产生的多聚糖具有良好的乳化作用,可用于农产品加工^[44-49]。

5 展望

对微生物表面活性物质的研究应用已愈来愈受重视,预期将在今后的现代农业中发挥重要作用。然而,目前虽已分离得到许多高效微生物菌种,但总体上仍处于实验室阶段,国内外仍鲜见大规模的工业化生产,最主要的原因是生产成本过高,生产工艺效益较差,与化学合成表面活性剂的比较优势不明显。当前国内外微生物表面活性物质的生产成本均约是化学合成表面活性剂的 3~10 倍,这成为了限制其实践应用的最大障碍。所以,在今后的研究和开发中,应以经济可行性为指导,主要致力于以下几方面工作:

(1) 加快及深入开展微生物表面活性物质制备、生产、机理、应用方面的基础研究,这是从理论转为实践应用的基础。如微生物表面活性物质产生的调控基因是什么? 其表面活性功能与基因行为有无关联? 在加速污染物降解过程中是否与细胞的生化活动相关联? 是否作为中间介质参与污染物的生物转化过程^[6-101] 等等都仍有太多的研究空白和盲点,需要我们做大量的基础工作。

(2) 通过诱变育种、原生质体融合和基因工程等技术手段,筛选、改良、提供优质微生物菌种、变异株、工程菌,建立优质种质资源库,在此基础上,研究它们的特性、功能,在基因水平对肽链及氨基酸组成、顺序、位置等进行分子改造,大幅提高生产效率。这是一项根本性的工作,尤其值得重视。

(3) 完善发酵条件,调控培养技术,阐明生物合成机制,控制合成的关键步骤。对于特定的生产菌株,应建立各种营养因素(C、N、P等)及底物的增加和产量、生产费用之间的关系模型,确定最经济的培养条件^[102]。目前研究人员已经认识到微生物表面活性物质生物合成的模块化(modules)细胞机制,而且已经开始利用代谢工程

驾驭这些模块来制造全新的分子。

(4) 研究开发和应用固定化酶与固定化细胞技术,增加微生物表面活性物质的产率,提高酶的利用率,降低生产成本,适应连续化生产过程。

(5) 废物资源化利用,降低生产成本。开发出可被生产菌种利用的有机废物培养基,结合菌种的筛选与优化,建立利用有机废物的微生物表面活性物质生产体系。

(6) 加强产物提取工艺的研究,采用泡沫分离、离子交换、超滤、切面流过滤等先进的技术,提高产率,降低成本。

参考文献:

- [1] WEI Fu-xiang(魏福祥), HAO Li-li(郝莉莉), WANG Jin-mei(王金梅). 表面活性剂对环境的污染及检测研究进展[J]. *Hebei J Ind Sci Tech* (河北工业科技), 2006, 23(1): 57-60.
- [2] SHEN Jin-liang(沈晋良). *Pesticide Processing and Management*(农药加工与管理)[M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 2002: 18-61.
- [3] LANG S B. Biological Amphiphiles (Microbial Biosurfactants) [J]. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2002, 7(1-2): 12-20.
- [4] SINGH P, CAMEROA S S. Potential Applications of Microbial Surfactants in Biomedical Sciences [J]. *Trends Biotechnol*, 2004, 22(3): 142-146.
- [5] PUNTUS I E, SAKHAROVSKY V, FILONOV A E, et al. Surface Activity and Metabolism of Hydrocarbon-degrading Microorganisms Growing on Hexadecane and Naphthalene [J]. *Process Biochem*, 2005, 40(8): 2643-2648.
- [6] SULLIVAN E R. Molecular Genetics of Biosurfactant Production [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1998, 9(3): 263-269.
- [7] VASILEVA-TONKOVA E, GESHEVA V. Glycolipids Produced by Antarctic *Nocardia* sp. during Growth on n-Pentaffin [J]. *Process Biochem*, 2005, 40(7): 2387-2391.
- [8] HAO Rui-xia(郝瑞霞), PAN Yong-qiang(潘永强), WANG Guan-yu(王关玉). 假单胞菌 S27 产生的表面活性剂特性研究 [J]. *J Beijing Univ (Nat Sci Ed)* (北京大学学报, 自然科学版), 2003, 39(6): 844-849.
- [9] SHI Jin-gang(时进钢), YUAN Xing-zhong(袁兴中), ZENG Guang-ming(曾光明), et al. 生物表面活性剂的合成与提取研究进展 [J]. *J Microbiology* (微生物学通报), 2003, 30(1): 68-72.
- [10] YOUSSEF N H, DUNCAN K E, NAGLE D P, et al. Comparison of Methods to Detect Biosurfactant Production by Diverse Microorganisms [J]. *J Microbiological Methods*, 2004, 56(3): 339-347.
- [11] GAO Xue-yi(高学义), YAO Shi-yi(姚仕义), HUONG PHAM, et al. 枯草芽孢杆菌 B2 菌株产生的表面活性素变异体的纯化和鉴定 [J]. *Acta Microbiologica Sinica* (微生物学报), 2003, 43(5): 647-651.
- [12] PANDEY G, JAIN R K. Bacterial Chemotaxis towards Environmental Pollutants Role in Bioremediation [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(12): 5789-5795.

- [13] YAN Bing(阎冰), HONG Kuǐ(洪葵), XU Yun(许云), et al. 宏基因组克隆——微生物活性物质筛选的新途径 [J]. *Microbiology* (微生物学通报), 2005, 32(1): 113-117.
- [14] KIM H S, KIM Y B, LEE B S, et al. Sophorolipid Production by *Candida bombicola* ATCC 22214 from a Crude Oil Processing Byproduct [J]. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2005, 15(1): 55-58.
- [15] BRAKEMEIER A, LANG S, WULLBRANDT D, et al. Novel Sophorose Lipids from Microbial Conversion of 2-Alkanols [J]. *Biotechnol. Lett.* 1995, 17(11): 1183-1188.
- [16] HOMMEL R, WEBER L, WEISS A, et al. Production of Sophorose Lipid by *Candida* (*Torulopsis*) *apicola* Grown on Glucose [J]. *J. Biotechnol.* 1994, 33(2): 147-155.
- [17] CREGLIANO M C, CARMAN G M. Isolation of a Bioemulsifier from *Candida Lipolytica* [J]. *Appl. Environ. Microbiol.* 1984, 48(4): 747-750.
- [18] COOPER D G, LISS S N, LONGAY R, et al. Surface Activities of *Mycobacterium* and *Pseudomonas* [J]. *Fement Technology*, 1989, 59: 97-101.
- [19] HOMMEL R, STIWER O, STUBER W, et al. Production of Water-soluble Surface-active Exolipids by *Torulopsis apicola* [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1987, 26(3): 199-205.
- [20] CHANG J S, RADOSEVICH M, JIN Y, et al. Enhancement of Phenanthrene Solubilization and Biodegradation by Trehalose Lipid Biosurfactants [J]. *Environ. Toxicol. Chem.* 2004, 23(12): 2816-2822.
- [21] RAPP P, GABRIEL-JURGENS L H E. Degradation of Alkanes and Highly Chlorinated Benzenes and Production of Biosurfactants by a Psychrophilic *Rhodococcus* sp. and Genetic Characterization of its Chlorobenzene Dioxygenase [J]. *Microbiol.* 2003, 149: 2879-2890.
- [22] RUWADA A S, BANAT I M, HADITHOTO S, et al. Nutritional Requirements and Growth Characteristics of a Biosurfactant-producing *Rhodococcus* bacterium [J]. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 1991, 7(1): 53-60.
- [23] BANAT I M, MAKKAR R S, CAMEOTRA S S. Potential Commercial Applications of Microbial Surfactants [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 53(5): 495-508.
- [24] KOSARIC N, CHOI H Y, BLASZCZYK R. Biosurfactant Production from *Nocardia* SFC-D: Biosurfactant Production in a Nitrogen Limited Hydrocarbon Medium from *Nocardia* SFC-D [J]. *Tenside Surfactants Detergents*, 1990, 27(5): 294-297.
- [25] BAZIRE A, DHEILLY A, DIAB F, et al. Osmotic Stress and Phosphate Limitation Alter Production of Cell-to-cell Signal Molecules and Rhamnolipid Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005, 253(1): 125-131.
- [26] DAVEY M E, CAIAZZA N C, O TOOLE G A. Rhamnolipid Surfactant Production Affects Biofilm Architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *J. Bacteriol.* 2003, 185(3): 1027-1036.
- [27] BENNCASA M, CONTIERO J, MANRESA M A, et al. Rhamnolipid Production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI Growing on Soapstock as the Sole Carbon Source [J]. *J. Food Eng.* 2002, 54(4): 283-288.
- [28] RAHMAN K S M, RAHMAN T J, MCCLEAN S, et al. Rhamnolipid Biosurfactant Production by Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Using Low-cost Raw Materials [J]. *Biotechnol. Progr.* 2002, 18(6): 1277-1281.
- [29] SM L, WARD O P, LIZY. Production and Characterization of a Biosurfactant Isolated from *Pseudomonas aeruginosa* UW-1 [J]. *Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1997, 19(4): 232-238.
- [30] ARNO S, MARCHAL R, VANDECASTEELE J P. Identification and Production of a Rhamnolipid Biosurfactant by a *Pseudomonas* Species [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1996, 45(1-2): 162-168.
- [31] VASILEVA-TONKOVA E, GALABOVA D, KARPENKO E, et al. Shulga Biosurfactant-rhamnolipid Effects on Yeast Cells [J]. *Lett. Appl. Microbiol.* 2001, 33(4): 280-284.
- [32] KITAMOTO D, YANAGISHITA H, SHINBO T, et al. Surface Active Properties and Antimicrobial Activities of Mannosylerythritol Lipids as Biosurfactants Produced by *Candida antarctica* [J]. *Biotechnol.* 1993, 29(1): 91-96.
- [33] SCHULZ D, PASSERI A, SCHMIDT M, et al. Marine Biosurfactants. I. Screening for Biosurfactants among Crude Oil Degrading Marine Microorganisms from the North Sea [J]. *Z. Naturforsch.* 1991, 46(3-4): 197-203.
- [34] CAMARGO-DE-MORA ISM M, RAMOS S A F, PMENTEL M C B, et al. Production of an Extracellular Polysaccharide with Emulsifier Properties by *Penicillium citrinum* [J]. *World J. Microbiol. & Biotechnol.* 2003, 19(2): 191-194.
- [35] NIESCHER S, WRAY V, LANG S, et al. Identification and Structural Characterisation of Novel Trehalose Dinocardimycates from *N-alkane-grown Rhodococcus opacus* 1CP [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 70(5): 605-611.
- [36] PHILIP J C, KUYUKNA M S, IVSHINA I B, et al. Alkanotrophic *Rhodococcus ruber* as a Biosurfactant Producer [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, 59(2-3): 318-324.
- [37] HOOGMOED V C G, DER KUIJTHOOIJ V M, DER MEIVH C, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* NS Adhesion to Glass with and without a Salivary Conditioning Film by Biosurfactant-releasing *Streptococcus mitis* strain [J]. *Appl. Environ. Microb.* 2000, 66(2): 659-663.
- [38] ABRAHAM W R, MEYER H, YAKMOV M. Novel Glycerine Containing Glycerolipids from the Alkane Using Bacterium *Alcanivorax borkumensis* [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998, 1393(1): 57-62.
- [39] VOLLBRECHT E, HECKMANN R, WRAY V, et al. Production and Structure Elucidation of D- and O-oligosaccharide Lipids (Biosurfactants) from *Tsukamurella* sp. nov. [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1998, 50(5): 530-537.
- [40] PRUTHI V, CAMEOTRA S S. Production of a Biosurfactant Exhibiting Excellent Emulsification and Surface Active Properties by *Serratia marcescens* [J]. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 1997, 13(1): 133-135.
- [41] MATSUYAMA T, KANEDA K, ISHIZUKA I, et al. Surface Active Glycerolipid and Linked 3-hydroxy Fatty Acids Produced by *Serratia rubidea* [J]. *Bacteriol.* 1990, 172: 3015-3022.
- [42] PATIL J R, CHOPADE B A. Bioemulsifier Production by *Acinetobacter* Strains Isolated from Healthy Human Skin [J]. *J. Appl. Microbiol.* 2001, 91(2): 290-298.
- [43] BOONAERT C J P, ROUXHET P G. Surface of Lactic Acid Bacteria: Relationships between Chemical Composition and

- Physicochemical Properties[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(6): 2548-2554
- [44] BONILLA M, OLVARO C, CORONA M, et al Production and Characterization of a New Biosurfactant from *Pseudomonas putida* ML2 [J]. *J Appl Microbiol*, 2005, 98(2): 456-463.
- [45] MULLIGAN C N. Environmental Applications for Biosurfactants[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133 (2): 183-198
- [46] BODOUR A A, CLAUDIA G B, JORLE B V, et al Structure and Characterization of Flavolipids a Novel Class of Biosurfactants Produced by *Flavobacterium* sp strain MTN11 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(1): 114-120.
- [47] DE SOUZA J T, DE BOER M, DE WAARD P, et al Biochemical Genetic and Zoosporicidal Properties of Cyclic Lipopeptide Surfactants Produced by *Pseudomonas fluorescens* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(12): 7161-7172.
- [48] MUKHERJEE A K. Potential Application of Cyclic Lipopeptide Biosurfactants Produced by *Bacillus subtilis* Strains in Laundry Detergent Formulations[J]. *Lett in Appl Microbiol*, 2007, 45 (3): 330-335.
- [49] LUKONDEH T, ASHBOLT N J, ROGERS P L. Evaluation of *Kluyveromyces marxianus* FII 510700 Grown on a Lactose-based Medium as a Source of a Natural Biosurfactant [J]. *J Ind Microbiol Biot*, 2003, 30(12): 715-720.
- [50] KAPPELIO, WALTHER P, MUELLER M, et al Structure of the Cell Surface of the Yeast *Candida tropicalis* and its Relation to Hydrocarbon Transport[J]. *Arch Microbiol*, 1984, 138(4): 279-282
- [51] BUSSCHER H J, VAN HOOOGMOED C G, GEERTSEMA-DOORNBU SCH G I et al *Streptococcus Thermophilus* and its Biosurfactants Inhibit Adhesion by *Candida* spp. on Silicone Rubber [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(10): 3810-3817.
- [52] MAKKA R P S, BECKER K, SPÖREN F, et al Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituents of Different Provenances of *Jatropha curcas* [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45(8): 3152-3157.
- [53] KIM H S, YOON B D, LEE C H, et al Production and Properties of a Lipopeptide Biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9[J]. *J Ferment Bioengng*, 1997, 84(1): 41-46.
- [54] MATSUYAMA T, NAKAGAWA Y. Bacterial Wetting Agents Working in Colonization of Bacteria on Surface Environments [J]. *Colloids and Surf B: Biointerfaces*, 1996, 7(5-6): 207-214.
- [55] YAKMOR M M, TMMIS K N, WRAY V, et al Characterization of a New Lipopeptide Surfactant Produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61 (5): 1706-1713
- [56] LIN S C, CARSWELL K S, SHARMA M M, et al Continuous Production of the Lipopeptide Biosurfactant of *Bacillus licheniformis* JF-2 [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1994, 41 (3): 281-285.
- [57] LAYCOCK M V, HILDEBRAND P D, THIBAUT P, et al Viscoisin, a Potent Peptidolipid Biosurfactant and Phytopathogenic Mediator Produced by a Pectolytic Strain of *Pseudomonas fluorescens* [J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39 483-489.
- [58] FANG A, PIERSON D L, MISHRA S K, et al Gramicidin S Production by *Bacillus brevis* in Simulated Microgravity [J]. *Curr Microbiol*, 1997, 34(4): 199-204
- [59] RICHTER M, WILLEY J M, SUSSMUTH R, et al Streptofactin Novel Biosurfactant with Aerial Mycelium Inducing Activity from *Streptomyces tendae* Tu 901/8c [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1998, 163(2): 165-171
- [60] WATTANATHON H T, KERDSN A, THAMMACHAROEN C, et al A Biosurfactant from *Burkholderia cenocepacia* BSP3 and its Enhancement of Pesticide Solubilization [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 104 1012-1020.
- [61] THANOM SUB B, WATCHARACHAIPONG T, CHOTELERSAK K, et al Monoacylglycerols Glycerolipid Biosurfactants Produced by a Thermotolerant Yeast *Candida lusitanae* [J]. *J Appl Microbiol*, 2004, 96(3): 588-592
- [62] VELRAEDS M M C, V MEIA H C V, REID G, et al Physicochemical and Biochemical Characterization of Biosurfactants Released by *Lactobacillus* strains [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1996, 8(1-2): 51-61
- [63] NAVON-VENEZIA S, ZOSM Z, GOTTLIEB A, et al Alkanol A New Biosurfactant from *Acinetobacter radioresistens* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61 3240-3244.
- [64] PHALE P S, MAHAJAN M C, VADYANATHAN C S A Pathway for Biodegradation of 1-Naphthoic Acid by *Pseudomonas maltophilia* CSV 89 [J]. *Arch Microbiol*, 1995, 163(1): 42-47
- [65] MORIKAWA M, DAIDO H, TAKAO T, et al A New Lipopeptide Biosurfactant Produced by *Arthrobacter* sp strain M IS38 [J]. *Bacteriol*, 1993, 175(20): 6459-6466
- [66] NEUT R. Significance of Bacterial Surface-active Compounds Interaction of Bacteria with Interfaces[J]. *Microbiol Rev*, 1996, 60(1): 151-166.
- [67] DESA I J D, BANAT I M. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential [J]. *Microbiol Molecular Biology Rev*, 1997, 61(1): 47-64.
- [68] MAIER R M. Biosurfactants Evolution and Diversity in Bacteria [J]. *Adv Appl Microbiol*, 2003, 52 101-121
- [69] SUNARIN M, URAI M, ITOH C, et al Extracellular Polysaccharides of *Rhodococcus rhodochrous* S-2 Stimulate the Degradation of Components in Crude Oil by Indigenous Marine Bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68 (5): 2337-2343
- [70] YANG Shizhong(杨世忠), MOU Bo-zhong(牟伯中), LY Ying-nian(吕应年), et al 环脂肽氨基酸顺序的质谱测定 [J]. *Acta Chimica Sinica (化学学报)*, 2004, 62(21): 2200-2204
- [71] ROSENBERG E, RONE Z. High- and Low-molecular mass Microbial Surfactants[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 52 (2): 154-162
- [72] OZDEMIR G, MALAYOGLU U. Wetting Characteristics of Aqueous Rhamnolipids Solutions [J]. *Colloids Surfaces B- Biointerfaces*, 2004, 39(1-2): 1-7.
- [73] FOLMSBEE M J, MCNERNEY M J, NAGLE D P. Anaerobic Growth of *Bacillus mojavensis* and *Bacillus subtilis* Requires

- Deoxyribonucleosides or DNA [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(9): 5252-5257.
- [74] ITOH S. Microbial Surfactants in Cosmetic Applications [J]. Fat Sci Technol, 1987, 89: 470-473.
- [75] THAVASIR, JAYALAKSHMI S, BALASUBRAMANIAN T, et al. Biosurfactant Production by *Corynebacterium kutscheri* from Waste Motor Lubricant Oil and Peanut Oil Cake [J]. Lett Appl Microbiol, 2007, 45(6): 686-691.
- [76] KITAMOTO D, KEGAMIT, SUZUKIG T, et al. Microbial Conversion of n-Alkanes into Glycerolipid Biosurfactants Mannosylerythritol Lipids by Pseudozymas (*Candida antarctica*) [J]. Biotechnol Lett, 2001, 23(20): 1709-1714.
- [77] DANIEL H, JRESS M, SYLDATK C. Production of Sophorolipids in High Concentration from Deproteinized Whey and Rapeseed Oil in a Two Stage Fed Batch Process using *Candida bombicola* ATCC 22214 and *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509 [J]. Biotechnol Lett, 1998, 20(12): 1153-1156.
- [78] MAKKAR R S, CAMEOTRA S S. An Update of the Use of Unconventional Substrates for Biosurfactant Production and their New Applications [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 58(4): 428-434.
- [79] QIAN X in-ping (钱欣平), YANG Yong-rong (阳永荣), MENG Qin-li (孟琴利). 利用不同碳源合成生物表面活性剂的研究 [J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业), 2002, 32(1): 15-17.
- [80] VALLS M, LORENZO V D. Exploiting the Genetic and Biochemical Capacities of Bacteria for the Remediation of Heavy Metal Pollution [J]. FEMS Microbiol Rev, 2002, 26(4): 327-338.
- [81] KOCH B, NIELSEN T H, SØRENSEN D, et al. Lipopeptide Production in *Pseudomonas* sp. strain DSS73 is Regulated by Component of Sugar Beet Seed Exudates via the Gac Two-component Regulatory System [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(9): 4509-4516.
- [82] TRAN H, KRUIJF M, RAAIJMAKERS J M. Diversity and Activity of Biosurfactant-producing *Pseudomonas* in the Rhizosphere of Black Pepper in Vietnam [J]. J Appl Microbiol, 2008, 104(3): 839-851.
- [83] STANGHELLINI M E, MILLER R M. Microbial Surfactants: Their Identity and Potential Efficacy in the Biological Control of Zoospore Plant Pathogens [J]. Plant Dis, 1997, 81(1): 4-12.
- [84] LIANG Wen-ping (梁文平), ZHENG Fei-neng (郑斐能), WANG Y i (王仪), et al. 21 世纪农药发展的趋势: 绿色农药与绿色农药制剂 [J]. Pesticides (农药), 1999, 38(9): 1-2.
- [85] PATEL R M, DESAIA J M. Microbial Surfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from Molasses [J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 25(2): 91-94.
- [86] KIM H S, KIM S B, PARK S H, et al. Expression of *sfp* Gene and Hydrocarbon Degradation by *Bacillus subtilis* [J]. Biotechnol Lett, 2000, 22(18): 1431-1436.
- [87] LANG S, WULLBRANDT D. Rhinose Lipids-biosynthesis: Microbial Production and Application Potential [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 51(1): 22-32.
- [88] RON E Z, ROSENBERG E. Biosurfactants and Oil Bioremediation [J]. Curr Opin Biotech, 2002, 13(3): 249-252.
- [89] TODD R S, ANDREA M C, MAIER R M. A Rhinose Lipid Biosurfactant Reduces Cadmium Toxicity during Naphthalene Biodegradation [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4585-4588.
- [90] ZHONG Hua (钟华), ZENG Guang-ming (曾光明), HUANG Guo-he (黄国和), et al. 鼠李糖脂对铜绿假单胞菌降解颗粒有机质的影响 [J]. Chinese Society for Environmental Science (中国环境科学), 2006, 26(2): 201-205.
- [91] SINGH P, CAMEOTRA S S. Enhancement of Metal Bioremediation by Use of Microbial Surfactants [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 319(2): 291-297.
- [92] AL-TAHHAN R A, SANDRIN T R, BODOUR A A, et al. Rhinose Lipid-induced Removal of Lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: Effect on Cell Surface Properties and Interaction with Hydrophobic Substrates [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(8): 3262-3268.
- [93] CARRILLO C, TERUEL J A, ARANDA F J, et al. Molecular Mechanism of Membrane Permabilization by the Peptide Antibiotic Surfactin [J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1611(1): 91-97.
- [94] DAI Fang (戴芳), ZENG Guang-ming (曾光明), YUAN X ing-zhong (袁兴中), et al. 生物表面活性剂在农业废物好氧堆肥中的应用 [J]. Environ Sci (环境科学), 2005, 26(4): 181-185.
- [95] FU Hai-yan (傅海燕), ZENG Guang-ming (曾光明), HUANG Guo-he (黄国和). 堆肥过程中产生生物表面活性剂的细菌的筛选 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae (环境科学学报), 2004, 24(5): 936-938.
- [96] RON E Z, ROSENBERG E. Natural Role of Biosurfactants [J]. Environ Microbiol, 2001, 3(4): 229-236.
- [97] FIECHTER A. Biosurfactants: Moving towards Industrial Application [J]. Trends Biotechnol, 1992, 10(6): 208-217.
- [98] TRAUDEL K, MERTEN S. Possible Food and Agricultural Application of Microbial Surfactants: an Assessment [C] // KOSARIC N, CARM W, GRAY N. Biosurfactants and Biotechnology. Surfactant Science Series New York: Marcel Dekker Inc, 1987, 25: 183-210.
- [99] LI Jiang-yun (李江云), SHI Y i-ping (施邑屏), LIZU-yi (李祖义), et al. 蔗糖脂和鼠李糖脂对水果贮藏保鲜的作用 [J]. Chin Bull of Plant Physiol (植物生理学通讯), 1998, 34(2): 115-117.
- [100] RACHEL SHEPHERD, JOHN ROCKEY, et al. Novel Biomulsifiers from Microorganisms for Use in Foods [J]. J Biotech, 1995, 40(3): 207-217.
- [101] DAI K, HIRAKO I, TADAATSU N. Functions and Potential Applications of Glycerolipid Biosurfactants from Energy Saving Materials to Gene Delivery Carriers [J]. J Biosci Bioeng, 2002, 94(3): 187-201.
- [102] AMEZCUA-VEGA C, FERRERA-CERRATO R, ESPARZA-GARCIA F, et al. Effect of Combined Nutrients on Biosurfactant Produced by *Pseudomonas putilla* [J]. J Environ Sci Health A, 2004, 39(11-12): 2983-2991.

(Ed. TANG J)