

生物表面活性剂

方 云 夏咏梅 编译

苏宜洗 审校

中国轻工业出版社

生物表面活性剂

方 云 夏咏梅 编译

苏宜诜 审校

中国轻工业出版社

(京)新登字034号

内 容 提 要

本书系统地介绍了生物表面活性剂和生物乳化剂的生产、分离、结构分析、性能及其在采油、乳化和破乳、环境保护等方面的应用。

全书共分八章。计有：一、生物技术和表面活性剂工业；二、生物表面活性剂的结构和性质；三、类脂前体的生物合成；四、生物表面活性剂的生产；五、HLB及微生物对石油采收率的影响；六、MEOR技术；七、胞外多糖型生物乳化剂；八、生物破乳剂。本书可供从事表面活性剂、微生物、采油、环境保护、制药、食品及生化工程等领域的科技人员和高等院校师生阅读参考。

生 物 表 面 活 性 剂

方 云 夏咏梅 编译

苏宜洗 审校

中国轻工业出版社出版

(北京东长安街6号)

京安印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

850×1168毫米 1/32 印张9.625 字数240千字

1992年2月第1版第1次印刷

印数：1—3,500 定价：10.90元

ISBN 7-5019-1111-8, TQ·036

编 译 者 序

人们预言，生物技术这一领域将是 21 世纪科研和开发重点之一，它将对工业生产和人类生活产生巨大的影响。

随着生物技术的发展，利用微生物的工业将逐渐成为大规模的新型工业。因为微生物反应具有资源易得、能耗低、公害小等特点，所以微生物新的应用领域可能首先是化学工业。运用生物技术，将使原来由传统化工生产工艺无法实现的化学转化成为可能，利用生物方法将能得到许多新的产品。

微生物在一定条件下可将某些特定物质转化为具有表面活性的代谢产物，即生物表面活性剂。生物表面活性剂也具有降低表面张力和界面张力的能力，加上它的无毒、生物降解性能好等特性，使其在一些特殊工业领域和环境保护方面受到注目，并有可能成为化学合成表面活性剂的替代品或升级换代产品。因而生物表面活性剂被认为是某些工业和加工工序十分有用的微生物制品。

目前，对生物表面活性剂、生物乳化剂和生物破乳剂的研究主要侧重于在与石油有关的工业方面的应用，如用于提高石油采收率、清除油污、乳化、工业 W/O 及 O/W 乳状液的破乳等等。此外，它们在食品、药物、化妆品工业和农业方面的研究也有一些新进展。

本书以“Surfactant Series” Volume 25《Biosurfactants and Biotechnology》(第一版)为蓝本，结合国内外近年来发表的有关文献编译而成，向我国从事表面活性剂理论和应用工作的广大科技人员，介绍生物表面活性剂的发展概况。以期望我国能在轻工业和食品工业、化学工业、能源工业用生物技术合成精细

化工产品和基本化工产品。这也是编译此书的主要意图。

《Biosurfactants and Biotechnology》一书，由 Naim Kosaric、W.L. Cairns 和 Neil C.C. Gray 编著，他们所在的实验室在生物表面活性剂、生物乳化剂及生物破乳剂方面作了大量的研究工作，对其发展作出了很大贡献。书中各章的撰稿人亦是该领域内卓有成效的专家学者。该书是国际上第一部有关生物表面活性剂的制备、提取、结构鉴定、性能、用途、应用潜力等方面综合评述的论著，反映了生物技术在表面活性剂工业中的最新成就，它无论对学术研究或工业应用都具有重要的指导意义。

在编译过程中，译订者对该书中有关化学合成表面活性剂的叙述作了删节，个别章节进行了调整合并，明显的印刷错误已予纠正，并参照文献作了若干增补。许多同志曾对本书的编写给予指导，在此一并致谢。由于本书涉及的理论研究领域和应用范围很广，限于水平，错误和缺点在所难免，敬希读者批评指正。

目 录

第一章 生物技术和表面活性剂工业	1
第一节 生物技术的发展.....	1
第二节 生物表面活性剂及生物乳化剂的来源、分类.....	3
一、分类.....	4
二、生物表面活性剂、生物乳化剂及其生产菌.....	6
第三节 生物表面活性剂及生物乳化剂的工业应用.....	7
一、在石油工业中的应用.....	7
二、其它工业应用.....	9
第四节 生物表面活性剂及生物乳化剂在食品和农业 上的应用前景.....	11
一、经济性.....	12
二、毒理和生物降解.....	14
三、预测.....	16
参考文献.....	16
第二章 生物表面活性剂的结构和性质	21
第一节 引言.....	21
第二节 生物表面活性剂的分离和提纯.....	21
第三节 生物表面活性剂的结构分析方法.....	22
一、酯键和 O-配糖键的鉴定.....	22
二、含氨基酸类脂的鉴定.....	24
三、脂肽的鉴定.....	24
第四节 细菌产生的表面活性剂.....	24
一、糖脂.....	25
二、含氨基酸类脂.....	34

三、憎水类蛋白	36
第五节 酵母菌产生的表面活性剂	37
一、含蛋白质脂	37
二、槐糖脂等	37
第六节 霉菌产生的表面活性剂	39
一、黑粉菌酸	39
二、甘露糖赤藓糖醇脂	40
第七节 生物表面活性剂的化学性质	42
第八节 生物表面活性剂的物理性质	42
一、溶解性	42
二、表面活性和界面活性	43
三、其它性能	45
参考文献	47
第三章 类脂前体的生物合成	51
第一节 引言	51
第二节 脂肪酸的全程生物合成	52
一、乙酰-CoA 的来源	52
二、乙酰-CoA 羧基化	53
三、脂肪酸合成酶 (FAS)	54
四、不饱和脂肪酸的生物合成	57
五、羟基酸、支链酸和其它脂肪酸的形成	59
第三节 从烷烃生物合成脂肪酸	61
一、正构烷烃的摄取	61
二、烃氧化机理	63
三、脂肪酸的去向	64
第四节 类脂的生物合成	66
一、中性类脂	66
二、磷脂	70
三、其它类脂	72

第五节 脂肪形成和代谢调节	72
一、培养条件对脂肪形成的影响	73
二、生物表面活性剂生产中的代谢调节	76
参考文献	82
第四章 生物表面活性剂的生产	88
第一节 引言	88
第二节 生物表面活性剂的生物合成	93
一、生物表面活性剂合成的一般规律	93
二、生物表面活性剂合成的调节	96
第三节 生产生物表面活性剂的方法	100
一、生长相关型生物表面活性剂的生产	100
二、控制下由生长细胞生产生物表面活性剂	102
三、由休止细胞生产生物表面活性剂	106
四、加入前体后生产生物表面活性剂	108
第四节 产物提取	109
一、经典提取方法	109
二、随程提取方法	110
参考文献	112
第五章 HLB及微生物对石油采收率的影响	117
第一节 憎水性和 HLB	117
一、憎水性	117
二、HLB	118
第二节 实验材料与方法	119
一、实验材料	120
二、实验方法	120
第三节 实验结果	121
一、HLB 与石油采收率	121
二、表面活性剂的分子量与石油采收率	123
三、HLB 与乳化	124

四、槐糖脂(生物表面活性剂)与石油采收率	127
五、在一定HLB下助表面活性剂与石油采收率	128
六、在一定HLB下CGM、IPA、 <i>Bacillus</i> sp.与石油采收率	131
第四节 小结	135
参考文献	136
第六章 MEOR 技术	138
第一节 引言	138
一、常规采油方法(一次采油和二次采油)	138
二、EOR 技术(三次采油)	139
三、EOR 的难题	140
四、使用表面活性剂的化学法 EOR	141
第二节 两种 MEOR 方法	143
一、地下法 MEOR (In Situ MEOR)	144
二、地面法 MEOR (Extra Situm MEOR)	144
第三节 地下法 MEOR 方法	144
一、地下法 MEOR 的过程	144
二、地下法 MEOR 的机制	146
三、地下法 MEOR 的试验对象	152
四、地下法 MEOR 现场试验	153
五、地下法 MEOR 可能产生的不良影响	155
六、小结	156
第四节 地下法和地面法 MEOR 之比较	156
一、物理因素	157
二、化学因素	158
三、生物学因素	160
四、地下法和地面法 MEOR 之比较	164
五、结束语	168
参考文献	168

第七章 胞外多糖型生物乳化剂	173
第一节 引言	173
第二节 Emulsan的发现与分离	175
一、原油的微生物降解	175
二、Emulsan的分离和提纯	177
三、Emulsan的定量分析	177
第三节 Emulsan 的物理性质和化学性质	178
一、聚合物特性	178
二、粘度	179
三、结合阳离子的特性	180
第四节 Emulsan 与烃类的相互作用	180
一、界面上的 Emulsan	180
二、烃基质专一性	182
三、Emulsanosol	182
四、油-水界面上 Emulsan的特性	183
五、Emulsanosol的失稳	185
第五节 与 Emulsan 生产有关的微生物学	186
一、 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1 的荚膜	186
二、释放 Emulsan 的休止细胞体系	188
三、 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1 在甘油三酯中 生长	189
四、酯酶	191
五、 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1 的突变体	192
六、Emulsan 的作用	194
七、微生物附着于憎水基质	195
第六节 其它聚合型生物乳化剂	196
一、 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> BD 4 和 <i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i> BD 413 产生的乳化剂	196
二、其它 <i>Acinetobacter</i> sp. 产生的乳化剂	197

三、 <i>Pseudomonas</i> PG-1 产生的乳化因子和增溶因子	198
四、蓝藻细菌 <i>Phormidium</i> J-1 产生的乳化剂	198
五、 <i>Candida lipolytica</i> 产生的乳化剂	199
第七节 生物乳化剂的应用	199
一、重油输送	199
二、重质燃料乳状液的直接燃烧	200
参考文献	200
第八章 生物破乳剂	210
第一节 引言	210
第二节 生物破乳剂及生产菌的初步筛选	213
一、破乳能力的测试方法	213
二、生物多糖破乳剂	214
三、细菌作为破乳剂	218
第三节 W/O 乳状液的细菌破乳	233
一、试验方法	233
二、破乳能力	234
三、各种参数对破乳的影响	236
四、细菌破乳剂与商品破乳剂的比较	241
第四节 O/W 乳状液的细菌破乳	244
一、试验方法	244
二、破乳能力	245
三、生长条件对破乳的影响	248
四、对细菌破乳的评价	250
第五节 细菌破乳的机理	251
一、一般原理	251
二、絮凝	259
三、凝聚	260
四、影响细菌破乳速率的因素	264

五、细菌细胞表面的憎水性与破乳	265
六、小结	273
参考文献	274
缩写表	276
表面活性剂商品名一览表	281
菌名索引	287

第一章 生物技术和表面活性剂工业

第一节 生物技术的发展

生物科学是一门古老的科学。在许多情况下，复杂化合物的合成只能利用生物体系来达到，这在制药工业方面显得特别明显。食品加工业广泛地利用微生物及其制品的历史也已经很长了，这些微生物制品包括特效食品稳定剂、乳化剂、维生素、氨基酸、蛋白质、食品酶、特种脂肪酸、保水剂、风味剂以及发泡剂等。

近年来，生物科学，尤其是分子生物学的突破性进展，使得生物技术显示出更加巨大的应用前景。许多原来与生物体系或生物技术似乎毫无关联的领域，如原材料处理、加工工艺，产品改良和汰选，废物处理，能量再循环及节能等，现在都具备了应用生物技术的可能性。甚至象过去认为与生物技术无缘的采矿和金属加工业，现在也在利用微生物，如将微生物应用于矿物浸选、浮选，金属提浓，废水处理和气体排放控制等方面。在石油工业方面，微生物及其制品可以应用于 MEOR (microbial enhanced oil recovery)、石油脱沥青、粘度控制、脱硫、溢油控制、废水处理及解毒。由于世界石油资源日趋贫乏，人类也迫切需要用微生物方法从再生性生物资源获取代用燃料。Kosaric⁽¹⁾ 对上述许多微生物方法的工业可行性进行过探讨。表 1-1 列举了生物技术在一些领域中的应用。

表1-1

生物技术的工业应用

石油及石油化学	MEOR, 焦油砂和石油加工用乳化剂, 石油和煤的微生物脱硫剂, 微生物法脱沥青及减粘, W/O和O/W乳状液的破乳, 炼油厂废水解毒, 油品升级, 新型生物聚合物, 化妆品及有关产品, 生物塑料
采矿和矿物加工	微生物矿物浸出剂, 微生物特效浮选剂, 微生物破乳剂, 微生物法采收矿物, 生物废水处理, 微生物法摄取金属, 生物地质化学和生物地质工程, 油砂的乳化和处理, 尾砂中的金属回收
造纸业	从木质素磺酸盐生产化学制品、蛋白质和醇等, 微生物制浆, 纤维素降解和利用, 妥尔油的生物降解和生物转化, 破乳, 木质纤维素和木质素磺酸盐系生物表面活性剂, 木质素磺酸盐的生物降解, 亚硫酸废液作发酵基质
能源	微生物法制液体燃料, 生物体的降解, 从生物体、粪肥、工业废料和副产品制气体燃料, 石油燃料的微生物法升级, MEOR, W/O和O/W乳状液的微生物破乳
环保及治废	微生物法处理工业废水, 工业废液解毒, 工业废弃物的微生物法转化, 污染控制, 生物煤气的生产, 金属采收和浸取, 能源和原料化学品, 复杂有机物的生物降解
其它	生物碎片, 酶法回收废照相胶片中的银, 生物传感器, 生物控制器, 防止老化的生物护肤霜, 光学异构体的酶法分离, 生物聚合物和塑料, 微生物法采金, 加酶洗涤剂, 航天燃料, 风味剂, 有机溶剂(丁醇、丙酮、丙醇等), 排水管加酶液体清洁剂, 龋齿的防治, 生物技术中的改光光纤, 应用生物技术的妊娠试验, 甜味剂, 风味强化剂, 类固醇转移, 羧酸类(苹果酸、乳酸、谷氨酸、丙烯酸、己二酸等), 乙二醇、环氧丙烷、甘油、丙二醇等, 黄原胶、普鲁蓝、PHB、葡聚糖等

目前, 许多原先在国民经济中占据重要地位的传统工业领域正受到新兴技术的挑战。人们已经认识到生物技术是一种富有挑战性的新兴技术, 而且它确实已在工业应用方面显露出勃勃生机。所有这些现有的发展和对未来的预测都表明: 我们正进入一个全球性工业迅猛发展的新纪元, 生物技术的发展和应用是其中极其重要的一个方面。

对生物制品销售额的预测, 使得各个工业领域提高了应用生

物技术的兴趣。1980 年全世界生物技术产品的销售额仅为 2500 万美元，而 1988~1990 年世界生物技术产品的销售额将达到 270 亿美元（表 1-3），增加一千余倍^[3]！据估计，到本世纪末，全世界生物技术产品的总销售额将达到 5000 亿美元。随着生物技术和推广，已经而且还将涌现出一批新型的生物技术公司，它们不断地创造出新工艺和新产品。美国商业部的一份报告“商业生物技术”中列出了一些商业性的生物技术公司^[4]。

表1-2 生物技术在部分应用领域内的分布情况（美国、加拿大）^{〔2〕}

应用领域	加拿大（%）	美国（%）
药物	28.9	54
农业和食品	27.4	45
林业	10.8	（忽略不计）
化学特制品	1.2	12
生物工程	12.0	6
能源	1.2	8
测试仪器及附件	3.6	4
矿业	4.8	1

表1-3 世界生物技术产品销售规划

产品应用领域	销量（10亿美元）	产品应用领域	销量（10亿美元）
能源	9.4	塑料	2.6
农业	5.7	化学品	2.5
食品	3.7	其它	0.3
药物	2.9	总计	27.1

第二节 生物表面活性剂及生物

乳化剂的来源、分类

表面活性剂素有“工业味精”之称，可见它在各个工业领域中所占的特殊重要地位。目前，在美国的化学工业中，表面活性剂工业正飞速发展。1972~1982 年间，该工业以高于 300% 的速

度增长⁽¹⁰⁾。

但是，化学合成表面活性剂受到原材料来源和价格、产品性能等因素影响，同时在生产和使用过程中常常会带来严重的环境污染问题。在生物技术快速发展，生物制品销售见好的今天，如果能够应用生物技术来生产活性高，具有特效的表面活性剂，就可能避免出现上述问题。因此，用生物技术生产表面活性剂具有重要意义。

生物表面活性剂和生物乳化剂是七十年代后期发展起来的。用化学合成方法能制得表面活性剂，然而用生物方法也能合成集亲水基和憎水基结构于一身的两亲化合物。微生物在一定条件下培养时，在其代谢过程中会分泌出具有一定表面活性的代谢产物，如糖脂、多糖脂、脂肽或中性类脂衍生物等。它们与一般表面活性剂分子在结构上类似，即在分子中不仅有脂肪烃链构成的非极性憎水基，同时也含有极性的亲水基，如磷酸根或多羟基基团。这样的由生物产生的两亲分子会改变两相界面的物理性质。

一、分 类

由生物体系代谢产生的两亲化合物可以分为两大类：

(a) 生物表面活性剂 (Biosurfactant)；

(b) 生物乳化剂 (Bioemulsifier)。

这两类物质都具有两亲结构，但相互之间又有区别。简而言之，就乳化作用而言，生物表面活性剂是一些低分子量的小分子，它们能显著降低空气-水或油-水界面的张力，从而有助于油-水乳化；而生物乳化剂都是一些生物大分子，它们不能显著降低 γ_i ，但它们对油-水界面表现出很强的亲合力，能够吸附在分散的油滴表面，防止油滴凝聚，从而使这种乳状液得以稳定。由于历史的原因，长期以来许多研究者混淆了生物表面活性剂和生物乳化剂这两个概念。文献中常出现以生物表面活性剂作为生物表面活性剂和生物乳化剂两者的统称的情形，以致生物表面活性剂

的用途广泛到从乳化、破乳直到润湿、洗涤和起泡的广大领域⁽⁶⁾。而且这样也将不具界面活性，仅起稳定作用的生物乳化剂纳入了表面活性剂的范畴，造成了概念上的混乱。本书将力求澄清这种混淆，较为严格地区别使用生物表面活性剂和生物乳化剂这两个不同的概念。

从结构方面出发，生物表面活性剂和生物乳化剂基本上可分为六大类，如表 1-4 所示。它们在不同条件下和不同体系中都能或多或少地降低 γ_s 或油-水混合体系的 γ_i 。有时，由于耗用了体系中的某种成分，如石蜡烃、异构石蜡、环烷烃或多环芳香烃，可以观察到体系的粘度略有变化，而大多数生物表面活性剂并不影响油的粘度。

表 1-4 生物表面活性剂和生物乳化剂的分类

分 类	典型产物	生 产 菌
1. 糖 脂	海藻糖脂	<i>Arthrobacter</i> , <i>Mycobacteria</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Corynebacteria</i> , <i>Rhodococcus</i>
	鼠李糖脂	<i>Pseudomonas</i>
	槐糖脂	<i>Torulopsis</i>
2. 中性脂/脂肪酸	甘油酯，脂肪酸， 脂肪醇，蜡	<i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridia</i>
3. 含氨基酸类脂	脂蛋白，脂肽， 脂氨基酸（如 Surfactin, Polymixin B）	<i>Bacilli</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Corynebacteria</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Mycobacteria</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Agrobacteria</i> , <i>Gluconobacter</i>