

废弃食用油脂生物合成鼠李糖脂研究进展

黄翔峰* 陈旭远 刘 佳 陆丽君

(同济大学环境科学与工程学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室 上海 200092)

摘要: 碳源的成本过高限制了鼠李糖脂的工业化生产及应用, 废弃食用油脂作为一种廉价易得的碳源, 越来越多的研究者开始关注用它发酵生产鼠李糖脂。废弃食用油脂的种类、投加量对鼠李糖脂的产量、结构、性质均会产生影响, 目前研究中用废弃食用油脂作碳源, 鼠李糖脂产量最高可达 24.61 g/L、表面张力最低达到 24 mN/m、产物 CMC 最低可达 40.19 mg/L。此外, 本文还总结了菌株、氮源、微量元素、pH、溶氧及培养方式等因素对废弃食用油脂生产鼠李糖脂的影响, 并展望了利用废弃食用油脂生产鼠李糖脂实现产业化的重点研究方向。

关键词: 鼠李糖脂, 废弃食用油脂, 脂肪酸, 生物表面活性剂

Recent Progress on Rhamnolipid Produced from Fermentation of Waste Edible Oils

HUANG Xiang-Feng* CHEN Xu-Yuan LIU Jia LU Li-Jun

(College of Environmental Science & Engineering, State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Although it is widely studied as a promising bio-surfactant, biosynthesis of Rhamnolipid has not been applied in large-scale due to its high production cost. As a cheap alternative carbon source, waste edible oils have been extensively studied for the production of rhamnolipid. This paper reviewed the recent research in this field, including the influence of various waste edible oils and production, chemical structure and properties of the produced rhamnolipids. With waste edible oils, the maximum production of rhamnolipids was reported to be 24.61 g/L. The lowest surface tension was 24 mN/m and the lowest CMC of the produced rhamnolipids was 40.19 mg/L. In addition, this paper also summarized the effect of various factors on the rhamnolipids biosynthesis, such as bacteria strains, nitrogen sources, trace minerals, dissolved oxygen, pH and fermentation conditions. Based on this, the key points of the mass production of rhamnolipids with waste edible oils were also discussed.

Keywords: Rhamnolipid, Waste edible oils, Fatty acids, Biosurfactant

基金项目: 上海市科委基金资助项目(No. 051258038); 上海市科委登山行动计划(No. 06DZ22007); 新疆维吾尔自治区科技支疆项目(No. 200891115)

* 通讯作者: Tel: 86-21-65982592; 信箱: hxf@tongji.edu.cn

收稿日期: 2009-04-02; 接受日期: 2009-06-26

生物表面活性剂(Biosurfactant)是指在一定条件下, 微生物代谢产生的具有一定表面活性, 同时含有亲水基和疏水基的两性物质。作为生物表面活性剂的一种主要类型, 糖脂又可分为鼠李糖脂、海藻糖脂、槐糖脂、纤维二糖脂和甘露糖赤藓糖醇酯等。其中, 鼠李糖脂是研究较多的一类物质, 因其表面活性好、有较好的乳化能力及一定抗菌、抗病毒和抗病原体性能, 可以应用在化妆品、医药、食品、农药等领域中, 还可以应用于生物修复, 能够很好地去除土壤或水体中的多种金属离子^[1]。

鼠李糖脂的亲水基主要是由1~2个鼠李糖(简称R)构成, 疏水基主要是由1~2个C₈~C₁₂的饱和或不饱和脂肪酸(简称L)构成, 因此鼠李糖脂有4种结构形式, 即RL、RL₂、R₂L与R₂L₂。鼠李糖脂多由假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)在一定培养条件下产生, 其中以铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)最为常见, 少数为恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)。铜绿假单胞菌分布广泛, 存在于土壤、水、植物以及含油污染物中, 如*P. aeruginosa* AT10是从大豆皂脚中筛选的^[2], *P. aeruginosa* LBI是从石油污染的土壤中筛选的^[3]。

鼠李糖脂尚未进行大规模生产及应用, 主要瓶颈在于碳源的成本过高和产量较低。目前, 培养基的成本占到了整个生物表面活性剂生产成本的50%^[4], 碳源又是其中的限制性因素, 它能够影响鼠李糖脂的产量、表面张力、乳化能力等^[5]。许多种类的碳源都可以发酵生产鼠李糖脂, 但一般疏水性碳源比亲水性碳源更适合生产鼠李糖脂, 更有研究者提到脂类碳源对提高鼠李糖脂的产量最有利^[6]。其主要原因是碳氢化合物和其他疏水性物质作为碳源时, 为了利用碳源, 微生物细胞必须产生具有表面活性的物质来降低界面张力, 增加碳源的溶解性, 从而促进对碳源的吸收^[7,8]。为提高生产鼠李糖脂的经济性, 研究者一直在寻求廉价并可循环利用的废弃物作为碳源, 如利用酿酒厂的废水与乳清和废弃食用油脂(Waste edible oils, WEOs)等^[9]。笔者用废弃食用油脂作为碳源培养*Dietzia* sp. S-JS-1, 发酵得到了具有破乳功能的生物表面活性剂, 经鉴定该生物破乳剂为脂肽类生物表面活性剂^[10]。目前以废弃食用油脂作为碳源制备生物表面活性剂的类型以鼠李糖脂居多, 生成脂肽类物质的研究鲜有报道。研究

者们开展了大量关于废弃食用油脂及其他因素对鼠李糖脂生产影响的研究, 这有助于指导开展利用废弃食用油脂生产其他类型生物表面活性剂的研究。

1 废弃食用油脂

废弃食用油脂主要是指餐饮业或食品加工业在生产过程中产生的不能再食用的动植物油脂及各种含油皂脚等。有文献报道^[11], 在2005~2006年间, 全世界产生了约4亿吨可食用油脂, 其中大部分都变成了废弃食用油脂。随着人们对食用油脂的需求逐渐增大, 废弃食用油脂的产量在不断增加。

1.1 废弃食用油脂的分类

废弃食用油脂根据其来源及组成可分为3类, 一类是在餐饮过程中产生的废弃煎炸油, 也称餐饮废油。餐饮废油与新鲜食用油脂的脂肪酸组成基本一致, 主要都含有油酸(C_{18:1})及亚油酸(C_{18:2}), 但脂肪酸类物质的比例发生了较大变化。Kock等^[12]认为废弃煎炸油比新鲜食用油脂多了约30%的极性化合物。游离脂肪酸含量等性质的变化与总的极性化合物含量呈线性关系, 这些变化使得皂化值与酸价都变大, 碘值变小^[13,14]。另一类是在食品加工过程中产生的含油皂脚(Soapstock), 它是精炼各种植物油脂时产生的一种副产品, 产生量约为油脂生产总量的2%~3%, 其组成和性质由原料中的脂肪酸决定^[15]。同餐饮废油相比, 皂脚也主要含有油酸和亚油酸, 但同时还含有少量的棕榈酸(C₁₆)、亚麻酸(C_{18:3})以及其他脂肪酸^[15,16]。此外, 皂脚中还含有大量的碳水化合物, 如某棉籽肥皂脚中脂肪酸以及碳水化合物的含量约占其干重的60%^[17]。最后一类是指各种含油废水, 如橄榄油污水等, 含有糖、氮化合物、有机酸、残留的橄榄油及有毒物质。相对于前两类废弃食用油脂, 含油废水作为碳源的利用研究报道较少。

1.2 废弃食用油脂作碳源的预处理

废弃食用油脂对社会的危害越来越严重, 研究者们一直在寻求废弃食用油脂资源化利用的途径。目前除了作为原料制造涂料、饲料用油以及生物柴油外, 研究最多的就是用其制备鼠李糖脂^[18-22]。

废弃食用油脂作为碳源时, 若其酸败程度比较严重, 在发酵前需进行必要的预处理, 以免影响培养效果。预处理主要通过沉淀、过滤等操作, 目的是去除油脂中的杂质和泡沫等。Zhu等人^[19]将废弃

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

煎炸油沉淀 48 h 后, 去除上层的泡沫和下层的固体杂质, 处理后的样品就可以作为微生物的碳源。Raza 等^[20,23,24]对废弃食用油脂也做了类似的预处理, 将废弃大豆油、废弃菜籽油、废弃玉米油及其对应的皂脚冷却至室温后, 利用真空过滤装置去除颗粒物质后使用。

2 废弃食用油脂对生产鼠李糖脂的影响

目前, 国内外研究者针对废弃食用油脂生物合成鼠李糖脂做了较为系统的研究。假单胞菌利用废弃食用油脂发酵得到的鼠李糖脂在产量与性质方面效果均很好, 为鼠李糖脂的工业生产寻找到了—种潜在的途径。鼠李糖脂的表面活性包括表面张力、界面张力、乳化能力和 CMC 4 个方面。表 1 总结了不同废弃食用油脂作为碳源发酵得到的鼠李糖脂在产量和性质上的差别。从表中可知, 目前研究中以废弃煎炸油为碳源时, 产物产量最高(24.61 g/L); 以皂脚为碳源时, 产物的表面张力达到最低

(24 mN/m); 以棕榈油皂脚为碳源时产物的 CMC 最低(40.19 mg/L)。

与餐饮废油相比, 利用皂脚得到的鼠李糖脂产量与表面张力总体上都要优于前者。Nitschke 等^[22]比较了废弃大豆油和大豆油皂脚, 发现后者得到的产量比前者高 4.09 g/L, 表面张力比前者低 3.9 mN/m。原因可能是皂脚与餐饮废油的组成不同, 其除了含有脂类外还含有碳水化合物, 当微生物利用其中—种碳源生长至衰亡期时, 第 2 种碳源能够继续被利用, 两者的共同作用更能促进鼠李糖脂的产生^[9,23]。

2.1 WEOs 对鼠李糖脂产量的影响

废弃食用油脂的种类对鼠李糖脂产量具有一定的影响。关于餐饮废油, 目前研究者多关注废弃大豆油、废弃橄榄油、废弃葵花籽油等几种碳源, 不同的碳源得到的产量各异(见表 1)。同样, 不同皂脚得到的鼠李糖脂在产量上也存在很大的差异。*P. aeruginosa* LBI 利用各种皂脚, 发现以玉米油皂脚

表 1 不同废弃食用油脂条件下鼠李糖脂的产量及性质
Table 1 Production and surface properties of rhamnolipid produced with various waste edible oils

碳源 Carbon sources	产物产量 Rhamnolipids production (g/L)	产物性质 Rhamnolipids properties				参考文献 References
		表面张力 ST (mN/m)	界面张力 IFT (mN/m)	临界胶束浓度 CMC (mg/L)	乳化指数 EI (E ₂₄ , %)	
Used olive oil		32			60(Kerosene)	[18]
Used sunflower oil		44			87.5(Kerosene)	[18]
Waste frying oil from the public catering	24.61	37.3		63.3		[19]
Waste soybean oil*	4.1	31.2		91		[20]
Used soybean oil	7.63	30.8				[22]
Waste soybean oil	9.3	29.1	<1(n-Hexadecane)	42	73.6(n-Hexadecane)	[24]
Waste frying oil (olive/sunflower, 1:1)	8.1	32.8	1(Kerosene)	108.8		[25]
Soybean soapstock	9.5	26.8		150		[2]
Soapstock	15.8	24	1.31(Hexadecane)	120		[3]
Soapstock and the acidic wastewater from sunflower oil production	7.3	34	1.3(Kerosene)	120	83(Almond oil)	[15]
Sunflower soapstock	15.9	32.9				[21]
Soybean soapstock	11.7	26.9	1.25(Hexadecane)	51.5	55.7(Kerosene)	[22]
Corn soapstock	13.46	30.96	2.4(Hexadecane)	43.21	20(Kerosene)	[22]
Palm soapstock	8.65	31.76	4.20(Hexadecane)	40.19	71.4(Kerosene)	[22]
Vegetable oil refinery	8.5	28.5	0.7(n-Hexadecane)			[23]
Oil wastewater		29.2		69.5	100(0# diesel)	[26]
OOME	6.4	28	4(Kerosene)		75(Kerosene)	[27]

注: *: 此研究的产生菌为恶臭假单胞菌, 其余的都为铜绿假单胞菌。

Note: *: The strain in this study is *P. putida*, and the strain used in the rest studies are all *P. aeruginosa*.

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

为碳源的鼠李糖脂产量最高为 13.46 g/L, 其次是大豆皂脚、棉籽油皂脚、巴西棕榈油皂脚及棕榈油皂脚, 分别为 11.7 g/L、10.55 g/L、8.65 g/L 及 8.62 g/L^[22]; 与玉米油皂脚及大豆油皂脚相比, 突变后的 *P. aeruginosa* EBN-8 利用菜籽油皂脚作为碳源得到的产量是最高的, 为 8.50 g/L^[23]。还有研究者比较了废弃食用油脂与新鲜食用油脂分别作为碳源时得到的鼠李糖脂产量。Benincasa 等^[21]发现在摇瓶培养条件下, 利用葵花籽油皂脚合成的鼠李糖脂产量是最高的, 为 12 g/L, 比新鲜葵花籽油得到的鼠李糖脂高出 7.1 g/L, 另外新鲜橄榄油与大豆油得到的产量也不高, 分别为 5.4 g/L 及 4.8 g/L。

废弃食用油脂的投加量对鼠李糖脂的产量也有影响, 碳源量不能过高或过低。从目前已有的研究来看, 废弃食用油脂的量多控制在 40 g/L 左右。Zhu 等^[19]依次比较了 1% 至 5% (V/V) 5 种不同量的废弃煎炸油, 发现 4% 的碳源(约 35 g/L)得到的鼠李糖脂的产量是最高的。该废弃煎炸油用作碳源时的最佳投加量远低于新鲜食用油的投加量, 可能是因为废弃煎炸油中含有的某些极性物质促进了鼠李糖脂的产生。Abalos 等^[28]通过正交试验发现当大豆油皂脚为 50 g/L 时, 鼠李糖脂的产量是最高的。

2.2 WEOS 对鼠李糖脂结构的影响

假单胞菌发酵得到的鼠李糖脂一般由几种同系物组成。不同废弃食用油脂发酵得到的产物中, 同系物的组成及含量各不相同, 但总体来说含量较高的有 $RC_{10}C_{10}$ 及 $R_2C_{10}C_{10}$ 两种鼠李糖脂。Benincasa 等^[3]利用某皂脚发酵得到的鼠李糖脂含 6 种同系物, $R_2C_{10}C_{10}$ 与 $R_1C_{10}C_{10}$ 约占总量的 52%; Haba 等人^[25]利用体积比为 1:1 废弃橄榄油和废弃葵花籽油作为碳源时, 得到的鼠李糖脂含有 11 种同系物, 其中 $R_2C_{10}C_{10}$ 与 $RC_{10}C_{10}$ 约占总量的 53%; Abalos 等^[2]利用皂脚得到的鼠李糖脂有 7 种同系物, $R_2C_{10}C_{10}$ 及 $RC_{10}C_{10}$ 占总量的 85%。此外, 产物中不饱和鼠李糖脂的量在一定程度上反映了碳源中不饱和脂肪酸的量, 如葵花籽油皂脚中含 50% 不饱和脂肪酸时, 得到的鼠李糖脂中相应含有 30.9% ($R_2C_{10}C_{12:1}+$ $RC_{10}C_{12:1}$) 不饱和结构^[15]。从目前研究来看, 鼠李糖脂结构的影响因素不仅是碳源, 还包括其他一些因素, 可能是菌龄、假单胞菌种类、培养基组成以及培养条件等^[29]。

2.3 WEOS 对鼠李糖脂性质的影响

鼠李糖脂的性质是由结构决定的。不同废弃食用油脂生物合成的鼠李糖脂结构存在差异, 不同碳链长度、不饱和度及鼠李糖种类对应的鼠李糖脂的表面张力和 CMC 差别很大^[2,25]。Raza 等^[24]比较了废弃菜籽油、废弃玉米油和废弃大豆油, 发现废弃大豆油是最好的碳源, 得到的鼠李糖脂表面张力为 29.1 mN/m。Haba 等^[18]也做了一些类似的研究, 他们利用废弃橄榄油和废弃葵花籽油培养了 36 株菌, 发现废弃橄榄油是较好的碳源, 大部分培养液的表面张力都集中在 32 mN/m~36.5 mN/m, 乳化能力在 55%~87%。Nitschke 等^[22]分别利用各种皂脚作为碳源, 研究发现大豆油皂脚是最好的碳源, 得到的鼠李糖脂表面张力及界面张力最低, 但玉米油皂脚为碳源时发酵得到的产物 CMC 最低, 达到 40.19 mg/L。

2.4 WEOS 的利用情况

有研究者考察了废弃食用油脂培养前后脂肪酸量的变化。Abalos 等^[2]发现, 大豆油皂脚中废弃游离脂肪酸含有 21.1% 的油酸、48.4% 的亚油酸和 6.23% 的棕榈酸, 诱导发酵后, 油酸、亚油酸以及棕榈酸含量分别为 9%、9.10% 及 3.21%。Benincasa 等^[3,21]报道, *P. aeruginosa* LBI 利用皂脚作为碳源发酵生产鼠李糖脂, 其中皂脚是由 25% 的油酸、50% 的亚油酸、7% 的棕榈酸和 4% 的硬脂酸组成, 在培养 48 h 后, 培养基中只剩下 4% 的亚油酸和 0.12% 的油酸, 而棕榈酸只被消耗掉 1%, 硬脂酸没有被消耗。Nitschke 等^[22]考察了两种皂脚脂肪酸在培养前后的变化, 研究结果表明, 微生物消耗了大豆油皂脚中 82.20% 的亚油酸与 100% 的亚麻酸, 消耗了棕榈油皂脚中 60.23% 的油酸、52.47% 的亚油酸及 74.2% 的亚麻酸。

上述研究表明, 假单胞菌利用的脂肪酸种类大致相同, 主要包括油酸和亚油酸以及亚麻酸, 还有少部分棕榈酸。造成这种结果的因素很多, 原因之一可能是油酸、亚油酸及亚麻酸是不饱和脂肪酸, 更易被假单胞菌利用^[3]。

3 其他条件对生产鼠李糖脂的影响

3.1 菌株突变

突变能改变假单胞菌的特性, 使其可能更适应生长在废弃食用油脂中, 从而代谢产生更多的鼠李糖脂。Zhu 等^[19]利用废弃煎炸油得到的产量是目前研究领域里最高的, 最重要的原因就是产生菌经紫

外线突变, 产量从突变前的 12.47 g/L 变为突变后的 24.61 g/L。

3.2 氮源

氮源是假单胞菌生长的必需元素, 其对鼠李糖脂的产量及结构也有很大的影响。徐成勇等^[30]认为 C/N 可以决定假单胞菌对鼠李糖脂的生产。Benincasa 等^[15]比较了不同 C/N 条件下发酵得到的鼠李糖脂情况, 研究结果表明 C/N 为 8 时, 培养 48 h 后, 鼠李糖脂产量达到最大 7.3 g/L。Haba 等^[18]也研究了 C/N 分别为 13.3、10、8、5.7 时对鼠李糖脂产率的影响, 当 C/N 为 8 时, 其产率是最高, 为 0.34。Raza 等^[23]比较了 10、20 及 30 不同的 C/N, 发现 C/N 为 20 时, 鼠李糖脂的产量是最高的。Gloria 等^[31]认为硝酸盐氮比氨态氮更能促进鼠李糖脂的产生, 而且还应提高 C/N。Mercade 等人^[27]比较了不同的 NaNO₃ 的投加浓度对产量的影响, 分别为 1 g/L、2.5 g/L、4 g/L 及 6 g/L, 发现最佳浓度为 2.5 g/L。综上所述, 鼠李糖脂一般是在假单胞菌静止期大量代谢出来的, 如果氮源过量的话, 假单胞菌会一直处在对数期自身生长同时代谢出少量的鼠李糖脂, 所以氮源的量不宜过高。

3.3 微量元素

微量元素是微生物生理物质的组成或生理活性作用的调节物, 这些物质一般在低浓度时对微生物生长和产物合成有促进作用, 在高浓度时通常会表现出明显的抑制作用。废弃食用油脂生物合成鼠李糖脂时, 其培养基一般含有 Zn、Cu、Mn、B 及 Mo 5 种微量元素, 但是 Zhu 等^[19]另外投加了 Co、Fe(3 价) 2 种微量元素, 其发酵得到的鼠李糖脂产量为 24.61 g/L, 是目前研究中的最高产量, 虽然微量元素 Co 及 Fe 对产量的影响可能不是决定性的, 但应该引起研究者的关注。在众多金属元素中, 也有研究者认为 Fe 对鼠李糖脂合成的影响是最大的^[32]。

3.4 pH 与溶氧条件

铜绿假单胞菌能够生长的酸碱度范围在 pH 为 5~9, 最适生长值在 pH 7 左右。从废弃食用油脂生物合成鼠李糖脂的研究中发现, 目前大多数培养条件的 pH 控制在 6.8 至 7.2, 尤其以 6.8 居多。Zhu 等^[19]利用 0.67 mol/L H₃PO₄ 与 2 mol/L KOH 将 pH 控制在 6.8; Benincasa 等^[21]则利用 2 mol/L HCl 与 2 mol/L NaOH 调节 pH 至 6.8。假单胞菌若在发酵罐中培养, 溶氧条件是一个很重要的参数。Benincasa 等^[21]比较

了两个溶氧系数 K_{La} , 发现 169.9 h⁻¹ 比 66.2 h⁻¹ 更好, 因为溶氧传递系数大时消耗氮源的速度就快, 从而鼠李糖脂的产率就高, 而溶氧传递系数可以通过进气量和装料量等来控制。

3.5 培养方式

假单胞菌的培养方式对鼠李糖脂的产量也有影响。Raza 等^[24]比较了摇瓶培养、分批培养与分批补料 3 种培养方式, 发现后者发酵得到的鼠李糖脂的产量最高, 其次是分批培养, 最差的是摇瓶培养。Benincasa 等^[21]利用葵花籽油皂脚作为碳源时, 摇瓶培养中的鼠李糖脂产量为 12 g/L, 而在发酵罐中的产量可达到 15.9 g/L。

4 展望

废弃食用油脂生物合成鼠李糖脂, 是变废为宝的有效途径, 既可以减少废弃食用油脂对环境 and 人类产生的危害, 又能得到产量高、活性强的鼠李糖脂。同时, 在利用过程中既大大降低了废弃食用油脂治理的成本, 又减少了生产鼠李糖脂的成本。目前, 利用废弃食用油脂生产鼠李糖脂的实验室研究相对比较成熟, 但要实现其产业化还需加强以下几方面的研究:

1) 废弃食用油脂种类的选择。大量研究表明, 含皂脚作为碳源要优于餐饮废油, 应进一步研究两者的成分差异对鼠李糖脂产量、性质的影响, 为鼠李糖脂的生产提供最经济的碳源。

2) 废弃食用油脂利用情况研究。目前关于废弃食用油脂利用机理方面的研究开展的不多, 碳源利用率及其在产物合成过程中的利用机制将有助于针对性地选择碳源。

3) 菌种的改良。利用优良基因的组合、突变技术, 改造出高效菌种以提高鼠李糖脂产量。

4) 其他培养条件的优化。通过对氮源、微量元素、pH、溶氧条件以及培养方式的具体研究, 与产量及经济费用关联起来, 优选出较好的培养条件, 寻求产业化途径。

参考文献

- [1] Ochoa-Loza FJ, Artiola JF, Maier RM. Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30(2): 479-485.
- [2] Abalos A, Pinazo A, Infante MR, et al. Physicochemical

- and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir*, 2001, **17**(5): 1367–1371.
- [3] Benincasa M, Abalos A, Oliveira I, *et al.* Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2004, **85**(1): 1–8.
- [4] Thavasi R, Jayalakshmi S, Balasubramanian T, *et al.* Biosurfactant production by *Corynebacterium kutscheri* from waste motor lubricant oil and peanut oil cake. *Letters in Applied Microbiology*, 2007, **45**(6): 686–691.
- [5] Das P, Mukherjee S, Sen R. Substrate dependent production of extracellular biosurfactant by a marine bacterium. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(2): 1015–1019.
- [6] 吴虹, 汪薇, 韩双艳. 鼠李糖脂生物表面活性剂的研究进展. *微生物学通报*, 2007, **34**(1): 148–153.
- [7] Maier RM, Soberon-Chavez G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, **54**(5): 625–633.
- [8] 杨葆华, 黄翔峰, 闻岳, 等. 生物表面活性剂在石油工业中的应用. *油气田环境保护*, 2005, **15**(3): 17–20.
- [9] Makkar RS, Cameotra SS. Biosurfactant production by microorganisms on unconventional carbon sources. *Journal of Surfactants and Detergents*, 1999, **2**(2): 237–241.
- [10] 刘佳, 黄翔峰, 陆丽君, 等. *Dietzia* sp. S-JS-1 利用废弃油脂生产生物破乳剂的研究. *微生物学通报*, 2009, **36**(4): 491–497.
- [11] Dumont MJ, Narine SS. Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: review on their characterization, extraction and utilization. *Food Research International*, 2007, **40**(8): 957–974.
- [12] Kock JLF, Botha A, Bloch J, *et al.* Used cooking oil: science tackles a potential health hazard. *South African Journal of Science*, 1996, **92**(11-12): 513–514.
- [13] Melton SL, Jafar S, Sykes D, *et al.* Review of stability measurements for frying oils and fried food flavor. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1994, **71**(12): 1301–1308.
- [14] Tyagi VK, Vasishtha AK. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1996, **73**(4): 499–506.
- [15] Benincasa M, Accorsini FR. *Pseudomonas aeruginosa* LBI production as an integrated process using the wastes from sunflower-oil refining as a substrate. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(9): 3843–3849.
- [16] Durant AA, Dumont MJ, Narine SS. In situ silylation for the multicomponent analysis of canola oil by-products by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2006, **559**(2): 227–233.
- [17] Dowd M. Compositional characterization of cottonseed soapstocks. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1996, **73**(10): 1287–1295.
- [18] Haba E, Espuny MJ, Busquets M, *et al.* Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, **88**(3): 379–387.
- [19] Zhu Y, Gan JJ, Zhang GL, *et al.* Reuse of waste frying oil for production of rhamnolipids using *Pseudomonas aeruginosa* zju.u1M. *Journal of Zhejiang University-Science A*, 2007, **8**(9): 1514–1520.
- [20] Raza ZA, Khan MS, Khalid ZM. Evaluation of distant carbon sources in biosurfactant production by a gamma ray-induced *Pseudomonas putida* mutant. *Process Biochemistry*, 2007, **42**(4): 686–692.
- [21] Benincasa M, Contiero J, Manresa MA, *et al.* Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source. *Journal of Food Engineering*, 2002, **54**(4): 283–288.
- [22] Nitschke M, Costa S, Haddad R, *et al.* Oil wastes as unconventional substrates for rhamnolipid biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI. *Biotechnology Progress*, 2005, **21**(5): 1562–1566.
- [23] Raza ZA, Rehman A, Khan MS, *et al.* Improved production of biosurfactant by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant using vegetable oil refinery wastes. *Biodegradation*, 2007, **18**(1): 115–121.
- [24] Raza Z, Khan M, Khalid Z, *et al.* Production kinetics and tensioactive characteristics of biosurfactant from a *Pseudomonas aeruginosa* mutant grown on waste frying oils. *Biotechnology Letters*, 2006, **28**(20): 1623–1631.
- [25] Haba E, Pinazo A, Jauregui O, *et al.* Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, **81**(3): 316–322.
- [26] 梁生康, 王修林, 单宝田, 等. 假单胞菌 O-2-2 利用油脂废水生产鼠李糖脂研究. *现代化工*, 2005, **25**(z1): 192–196.
- [27] Mercade ME, Manresa MA, Robert M, *et al.* Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production. *Bioresource Technology*, 1993, **43**(1): 1–6.
- [28] Abalos A, Maximo F, Manresa MA, *et al.* Utilization of response surface methodology to optimize the culture media for the production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2002, **77**(7): 777–784.
- [29] Pornsunthorntawe O, Wongpanit P, Chavadej S, *et al.* Structural and physicochemical characterization of crude biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 isolated from petroleum-contaminated soil. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(6): 1589–1595.
- [30] 徐成勇, 鲁时瑛, 周莲, 等. 发酵法生产生物表面活性剂. *微生物学通报*, 2003, **30**(3): 85–90.
- [31] Soberón-Chávez G, Lépine F, Déziel E. Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, **68**(6): 718–725.
- [32] Ochsner UA, Hembach T, Fiechter A. Production of rhamnolipid biosurfactants. In: Brázana E, Freitag R, Horváth C, *et al.* Downstream Processing Biosurfactants Carotenoids (Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology 53). Berlin: Springer-Verlag, 1996, pp. 89–118.