

文章编号:1009-038X(2004)01-0099-07

酶法合成生物表面活性剂

方云, 吕栓锁, 夏咏梅

(江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:总结了外源酶催化法和整胞微生物代谢法合成生物表面活性剂的特点,并将外源酶催化法对整胞微生物代谢法及传统化学合成法的优势进行了比较.详细介绍了单甘酯、糖酯、(溶血)磷脂、纯异头烷基糖苷和氨基酸型表面活性剂等生物表面活性剂的酶催化合成方法及其研究进展;展望了酶工程的进步、化学-酶催化技术进展、外源多酶联合催化技术的开发与应用、酶膜反应器和其它连续酶反应器的开发,以及反应-分离耦合技术在酶催化过程中的应用将给酶法合成生物表面活性剂带来的机遇.

关键词:酶催化;生物表面活性剂;合成

中图分类号:Q 814.9

文献标识码:A

Enzymatic Synthesis of Biosurfactants

FANG Yun, LU Shuan-suo, XIA Yong-mei

(School of Chemical & Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The different synthetic routes of biosurfactants by ectogenous enzymatic catalysis and metabolism of whole-cell microorganism and traditional organic synthesis were compared with one another. Some advantages of the enzymatic synthesis of biosurfactants were highlighted over the conventional organic synthesis and microorganism metabolism. Processes such as the synthesis of monoglycerides, sugar fatty acid esters, (lyso)phospholipids, alkyl glycosides and amino acid-based biosurfactants were discussed in detail. The prospect to apply enzyme in biosurfactant synthesis is expected in virtue of the advancement of enzyme engineering, chemo-enzyme catalysis, united multi-enzymes catalysis, enzyme film reactor and reaction-separation coupling technique.

Key words: enzymatic synthesis; biosurfactant; synthesis

一般将采用生物技术合成的表面活性剂称作生物表面活性剂.20 世纪 80 年代以来,生物技术的迅速发展激起了人们用生物技术开发传统和新型表面活性剂的广泛兴趣,同时消费者不断增强的绿色产品意识也促进了在某些领域中以生物表面活

性剂替代现有的表面活性剂的进程.生物表面活性剂的合成方法分为两类,整胞微生物代谢法(简称微生物法)和外源酶催化法(简称酶法).国内外对微生物法合成生物表面活性剂已做了大量的研究,并在发酵过程中分离和鉴定了不同种类的微生物

收稿日期:2003-04-21; 修回日期:2003-09-09.

基金项目:江苏省科委基金项目(BJ99036)资助课题.

作者简介:方云(1957-),男,江苏扬州人,教授,博士生导师.

和产生的相应生物表面活性剂^[1,2]。本文主要论述了外源酶催化法在生物表面活性剂合成中的应用。

1 生物表面活性剂合成的特点

1.1 微生物法合成生物表面活性剂的特点

许多种微生物和真菌在富碱的烷烃培养基中生长时会分泌胞外表面活性脂,借助于胞外表面活性脂的乳化作用,可以使微生物对烷烃的利用更加容易。到目前为止,分离出来的胞外表面活性剂主要是糖酯。另外,许多微生物产多肽基、磷基和磺酸基脂已有报道,它们的亲水基和疏水基连在酯键、酰胺键或配糖键上^[1]。微生物法合成生物表面活性剂是一种在细胞内进行代谢活动的多酶联合催化的生物转化过程,因此能够合成分子结构较为复杂的生物表面活性剂。微生物法合成生物表面活性剂之所以受到诸多关注主要有两方面原因:一是生物表面活性剂分子结构的多样化,对于大部分结构复杂的生物表面活性剂,目前还难以在应用规模上通过有机合成手段获得;二是生物表面活性剂的生理协合性、某些生物活性和迅速而彻底的生物降解性,减少了其在应用中对人体及环境的不良影响。理论上,发酵法是一种能廉价地生产生物表面活性剂的方法,但是实际上,发酵液中最终产品质量浓度较低,很少超过 10 g/L;而且,由于含生物表面活性剂的发酵液易起泡,造成产品回收困难。目前许多这类产品的生产成本超出了商业可以接受的水平,这在很大程度上制约了微生物法在生物表面活性剂合成中的应用。

1.2 酶法合成生物表面活性剂的特点

大多数酶在非极性溶剂中或微水条件下仍然能很好地发挥其催化功能,这极大地拓宽了酶作为催化剂催化合成生物表面活性剂的应用范围。与化学法比较,酶法可在常温和常压下进行、三废减少或无三废,产品具有明显的绿色特点并且易于为与生命相关的行业所接受。与微生物法比较,酶法的生产条件相对粗放、反应具有专一性、可以获得高含量的目标产物、产物易回收,并且产品结构的修饰具有较大的灵活性。酶法和微生物法合成生物表面活性剂的最大区别在于酶法是一种外源酶催化的有机合成反应,酶只是用作传统催化剂的生物替代品,将化学结构相关的前体一步转化为目标产物;而微生物法是一种内源多酶联合催化的多步过程,能够将化学结构不相关的底物生物转化为分子结构较为复杂的目标产物。

然而,由于目前人们对生物代谢和蛋白质工程

的认识还不够深刻,很难随心所欲地通过人为调控改变微生物代谢途径来改变生物表面活性剂的结构。反之,选用合适的前体,用酶催化便可以合成指定分子结构的表面活性剂,这些表面活性剂尽管结构不如微生物法的复杂,但可以通过分子设计使其具有所期望的生理协合性和某些生物活性。而且,目前正在研究的外源多酶联合催化,在体外将多酶串联或共同作用,模拟了内源多酶联合催化过程并使其处于可控状态,正在将整胞微生物代谢法的优点嫁接到外源酶催化法上来,使得酶法合成生物表面活性剂具有更大的发展潜力。

2 酶法合成生物表面活性剂的主要品种

2.1 单甘酯的酶法合成

单酰基甘油酯(习惯上简称“单甘酯”)及其衍生物(甲酰化单甘酯、乙酸、乳酸、柠檬酸和二乙酰酒石酸的单甘酯等)作为乳化剂广泛地应用于食品工业和医药工业,约占全世界乳化剂市场的 2/3,具有很好的市场前景。目前,单甘酯主要由油脂的化学法醇解或脂肪酸的甘油酯化生产,即在化学催化剂和 240~260 ℃ 高温下进行反应,以使反应物有较好的互溶性。这种生产方法的主要缺陷是能耗高、单甘酯含量低、副产物多、产品色泽深、有焦味等。局限性是高度不饱和热敏油脂未经过氢化处理则不能直接采用该法进行反应。如欲生产高纯度的单甘酯产品,则需要采用分子蒸馏法对上述低单甘酯含量产品进行分离,设备投资及能耗均较大。采用酶法合成单甘酯的反应温度很低,产品易分离,设备投资小,基本克服了上述缺陷。如以 1,3-位专一性脂肪酶催化油脂的甘油解反应,反应温度接近环境温度,无溶剂,反应平衡可以由反应温度控制,其最佳转化温度在体系的最低共熔点以下^[3]。对于多种动植物油脂,包括牛油、猪油、菜子油、橄榄油和棕榈油等含大量不饱和脂肪酸的原料均可用该法生产单甘酯,已获得的产率高达 90%^[4]。Miller 等人^[5]用基团保护法结合酶法合成了含量接近 100% 的单甘酯。

单甘酯的酶法合成按原料种类可分为油脂甘油解法^[6~8]、酯交换法^[9]和直接酯化法^[10];若按其反应体系的相态又可分为无溶剂体系^[10~15]、溶剂体系^[16,17]、反相胶束体系^[18,19]、超临界体系^[20,21]等。

用辛酸或癸酸和甘油在无溶剂条件下可以直接酶法酯化合成单甘酯,反应温度 40~

50℃^[11~13, 22, 23]. 本实验室夏咏梅、章克昌和方云等^[7, 10~12, 14]在无溶剂体系下对酶法合成各种原料的单甘酯进行了研究,用程序降温法酶催化棕榈油甘油解可使单甘酯含量达 75% 以上^[6]. 用直接酯化法酶法合成中碳酸偏甘油酯^[11~13],在最佳反应条件下单甘酯含量最高可达 46%,并对其反应热力学和动力学进行了研究. 在无溶剂体系中,适量的水对酶法酯合成反应是必须的^[10, 12~15, 23]. 水直接或间接地参与了酶天然构象中所有的非共价相互作用——氢键、静电作用、疏水作用和范德华力. Gupta 等^[24]认为,在无水条件下,酶分子的带电基团和极性基团之间相互作用,自身形成一种非活性闭合结构,而水的加入可削弱这种相互作用,使非活性闭合结构“疏松”,即水充当了酶高级结构的“润滑剂”,使酶分子的柔性增大,并通过非共价作用力来维持酶的催化活性构象. 通常认为,酶分子需要一层较薄的水合层来充当微环境的成分,该水层作为酶表面与主体反应物之间的缓冲层,它对保持酶的催化作用非常重要. 就酶本身而言,当酶周围含有足够的水分子来维持其天然构象时,在有机溶剂中也应显示其催化活力. 随着人们在分子水平上对酶认识的不断深入,一般认为,蛋白质的结合水能够减小各极性残基高级结构之间的相互作用,使极性残基彼此分开,使活性点具有更大运动自由度,从而使得酶与底物间形成过渡态时的能阈变小,直接导致酶活性的增加. 另外,由于水解酶催化反应的过渡态中间物为酶-酰基络合物,而酶-酰基络合物的去酰基化反应也必须靠水来实现.

有机溶剂中酶法合成单甘酯的最大优点是可以进行连续生产,适宜的溶剂一般为正构烷烃或叔丁醇. 缺点是对溶剂要求比较高,原料成本和操作成本也相当高,若该单甘酯产品用于医药或食品领域,将会由于溶剂的使用而受到一定限制.

反向胶束用作脂肪酶催化合成单甘酯的反应介质,除了高相界面积、容易制备、酶-底物接触性好等优点外,将甘油封闭到反向胶束中也解决了甘油在有机溶剂中溶解性差的问题. 但是由于表面活性剂的乳化作用使产品的分离较为困难,因此微乳体系中的单甘酯合成目前虽然具有较大的理论价值,但是离工业化还有相当的距离.

与有机溶剂相比,超临界 CO₂ 不仅对环境的影响小^[25],还可以很方便地通过改变温度或压力来调节超临界 CO₂ 的溶解性质,溶质在 CO₂ 中的分散更加充分;可以很方便地将 CO₂ 从产品中驱除,减少下游工段的成本. 尽管如此,从转化率角度来看,目

前在超临界 CO₂ 体系中制备中高碳脂肪酸甘油酯并无优势,因此这一方面的研究尚需假以时日,其中主要问题还是在于反应物的互溶.

单甘酯的合成工艺一般为间歇式,但是脂肪酶需要分离,且脂肪酶不易循环使用,在物料的混溶性和流动性许可时用填料塔进行连续反应. 这种连续式酶反应器既可使酶循环使用,又省去了酶与产物的分离程序. van der Padt 等^[26]将带有在线吸附柱的酶膜反应器用于酶法单甘酯的合成,在该反应器中油相和水相由酶催化剂膜隔开,分别进行循环,油相通过在线吸附柱分离生成的单甘酯,从而获得纯度较高的单甘酯. 这是典型的反应-分离耦合技术在酶法生物表面活性剂合成中的成功应用.

2.2 糖酯的酶法合成

糖酯是一种用途广泛的非离子表面活性剂,具有优良的表面活性,在许多产品和工艺中用作食品乳化剂和洗涤剂. 已开发的商品生物乳化剂 Emulsan 的乳化性能非常好,可使原油和水乳化,这对重油的运输和油水乳化后作为燃料以节省能源有着重要的意义. 同时,糖酯也具有多种药理作用和免疫功能^[27],如蔗糖酯无毒、无味、无嗅,在体内可降解为脂肪酸和蔗糖,是很好的药用乳化剂^[28].

糖酯的化学合成方法有许多缺陷,一是能耗高,二是糖环会发生聚合,且不易进行特定位置的酯化. 脱水山梨醇的气相色谱分析显示至少有 65 种化合物,其中许多化合物被鉴定为脱水山梨醇的异构体、山梨聚糖及它们的单、双及三酯. 对这些副产品的变性和致癌性引起人们越来越多的关注.

利用酯酶的区域选择性,可以较方便地从糖类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酯,而且反应条件温和,操作方便. 酶法合成糖酯可以在二甲亚砜和吡啶等有机溶剂中进行,但是由于有机溶剂的影响,酶催化的单步反应产率较低,而且由于有机溶剂的毒性使糖酯产品难以用于食品或药品.

在无溶剂状态下也可以合成糖酯,如用熔化的脂肪酸对已改性的糖基进行酯化. Adelhors 等^[29]以稍过量(摩尔)的熔化脂肪酸对简单的烷基糖苷进行了定向、无溶剂酯化. 酶催化的酯化反应速度极大地依赖于烷基的链长,对葡萄糖和甲基葡萄糖苷的酯化反应分别保温 1 d 和 21 d,产率只有 20%. 但是,用乙基和异丙基葡萄糖苷时,反应在几小时内即可完成. 一种 6-O-酰基葡萄糖基糖苷已经成功制备,产率为 90%,并在中等规模的工厂进行了试验,该产品的生产商(Novo Nordisk.)称该产

品无毒,可被微生物迅速降解.因此,该产品有望在工业和家用洗涤剂及化妆品中应用^[30].

为了增加反应物的混溶性可先对糖进行化学修饰,酶催化反应后再去修饰^[31].可用缩酮形式进行修饰,但反应后需对缩酮进行去修饰,这会使反应复杂化;用烷基糖苷形式进行修饰则无须去修饰步骤,因为含短链糖苷的糖酯衍生物本身就是很好的表面活性剂. Sarney 等人^[30]用酯酶 Lipozyme IM-60 催化缩酮修饰的乳糖酯化时,发现该酶对 6'-羟基具有选择性(见图 1). 3',4'-O-异丙基-乳糖和四缩醛乳糖均转化为 6'-O-酰基-乳糖. 在该反应中

采用异丙基乳糖为原料旨在提高反应物的混溶性,应该同传统的有机合成中所用的基团保护方法区别开来.即使是酶催化下部分被酯化的缩醛乳糖的粗混合物,其异丙基糖苷水解后,仍能获得单一的 6'-O-酰基-乳糖产品.由于酶对 6'-羟基严格的区域选择性,未观察到 4',6'-异丙基-乳糖被酯化,而用 3',4'-异丙基-乳糖衍生物反应时也生成相同的单酯产品.因此,如果希望获得酰化位置单一的糖酯产品可以通过酶的专一性来得到,而不必在复杂的反应混合物中分离出某种缩醛.

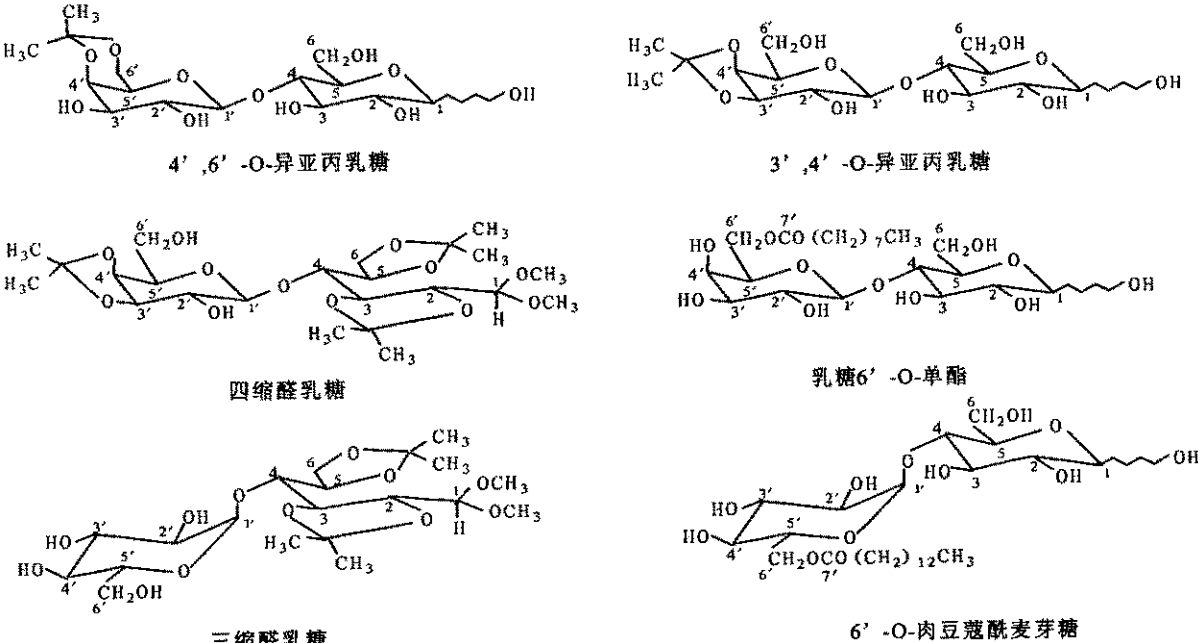


图 1 6'-O-酰基-乳糖合成中酶的区域选择性

Fig. 1 Regioselectivity of enzyme in the synthesis of 6'-O-acyl-lactose

2.3 氨基酸型表面活性剂的酶法合成

氨基酸型表面活性剂具有良好的乳化性能和灭菌能力^[32],同时对人体具有很好的生理协合性,因此在食品、医药和化妆品行业常用作乳化剂和消毒剂.其性质随 pH 的变化而变化,在碱性溶液中呈阴离子表面活性剂的性质,起泡性良好,去污力也强;在酸性溶液中则显示阳离子表面活性剂的杀菌性.如有一类称为 Tego 的氨基酸型两性表面活性剂的杀菌力很强,而毒性比阳离子表面活性剂小. Tego MHG 为十二烷基双(氨乙基)-甘氨酸的盐酸盐,其溶液(1 g/dL)作喷雾消毒用,比体积分数 70%酒精及溴化十六烷基三甲铵和洗必泰(均为 1 g/dL)溶液的消毒力还强^[28].

氨基酸型表面活性剂用化学法合成时主要采

用 3 条路线:(1)脂肪酰氯与氨基酸在碱性催化剂作用下进行反应,制得脂肪酰氨基酸盐^[33];(2)脂肪酰氯与 N,N-二丙腈胺反应制得 N,N-二丙腈基烷基酰胺,将后者水解制得脂肪酰氨基酸盐^[34];(3)脂肪酰胺(或酰氯)与丙烯腈在碱性条件下反应生成 N-脂肪酰基-β-氨基丙腈,将其水解可制得脂肪酰氨基酸盐^[35,36].化学合成法的主要优点是总产率高,但其副产物多和产品色泽差等缺点增加了产品后处理的负担,限制了其在食品、医药和化妆品等领域中的应用.

氨基酸型表面活性剂的酶法合成一般采用化学-酶合成法,酶催化只针对其中的酰化部分,其它部分则由化学法合成. Nagao^[37]采用酶法制备了 L-油酰高丝氨酸并且评定了它的乳化性能.尽管该

产品能有效地稳定 O/W 的乳化液,但是用 L-高丝氨酸为原料所获得的产率低。用 L-丝氨酸、L-赖氨酸及它们的甲酯和酰胺,由于反应物的混溶性很低,所以产率较低。Mostet 等在产自 *Mucor miehei* 的酶的催化下,将植物油与游离氨基酸的有机溶剂悬浮液保温 7 d 可制得 N-ε-酰基赖氨酸。但后来的实验表明,采用化学-酶合成法,先制备赖氨酸-铜配合物然后通过酶催化能更有效地合成 N-ε-酰基赖

氨酸。Clapes 等人^[38]以固定化的木瓜酶催化合成 N-烷基精氨酸(Arg)酰胺和酯类衍生物。在有机介质中, Z-Arg-OMe 和各种长链烷基胺及醇在酶的催化下进行反应,最好的产率为 81%~89%。Valivefo 等人^[39]以 N-苄氧羰基-L-氨基酸来提高氨基酸的混溶性并作为酰基供体,合成了 1-O-氨酰基-3-O-肉豆蔻酰甘油酯,并使其产率大大提高(92%),其合成路线见图 2。

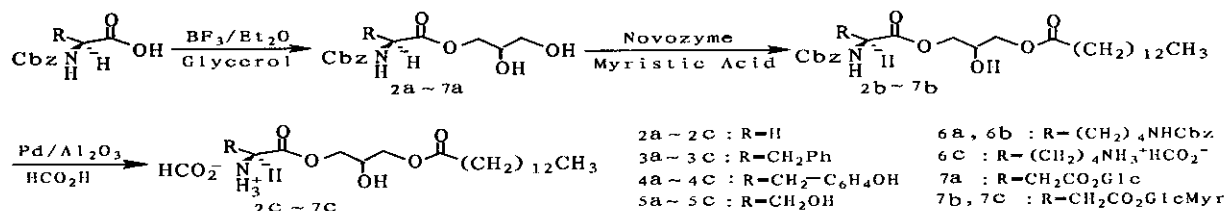


图 2 化学-酶法合成 1-O-氨酰基-3-O-肉豆蔻酰甘油酯

Fig. 2 Chemo-enzymatic synthesis of 1-O-aminoacyl-3-O-myristoyl glyceride

本实验室以脂肪酸甲酯与 3-氨基丙烯腈为原料,用脂肪酶催化合成了长链酰基氨基丙烯腈,当原料摩尔比为 1:1 时,在低加酶量下原料转化率即可达到 96.8%^[40]。作者实验室已采用化学-酶催化技术将该物质经进一步水解得到酰基氨基酸生物表面活性剂,对酶法酰基化过程实施反应-分离耦合技术也已经取得满意的结果,产物直接从反应器中在线分离,母液套用,酶可以连续使用 40 d 而不明显失活,并正在尝试应用外源多酶催化技术处理该过程。

2.4 磷脂的酶法合成与改性

从植物油中回收的卵磷脂是多种磷脂的复杂混合物,主要成分是磷酸胆碱、磷酸胆胺、磷酸肌醇和磷酸丝氨酸^[41]。作为表面活性剂,磷脂大量地应用于皮革和涂料的生产以及食品工业(如烘焙食品、巧克力、奶油和速食产品),也可作为特殊磷脂的生产原料,它们的衍生物在药品和个人护理品中亦有特殊应用。虽然工业上已采用了几种物理和化学方法对卵磷脂进行了改性,但是仍有许多方面需要用酶对卵磷脂改性。磷脂分子内有大量的官能团,因此酶的应用可以对产品的酯化进行控制,以期获得良好的区域选择性。用不同的酶对磷酸酰胆碱进行催化可以生成磷酸酰丝氨酸、磷酸酰甘油和溶血磷脂等一系列表面活性剂。卵磷脂完全或部分水解获得的溶血磷脂是一类目前工业上大规模应用的重要表面活性剂^[42,43]。

为了避免进行分离处理且较经济地利用生物催化剂,用一种霉菌脂酶代替磷脂酶可以在均相反

应混合物中进行连续生产^[43]。该霉菌脂酶很容易催化在乙醇中的卵磷脂的水解反应,且显示了对磷脂分子中 *Sn*-1 脂肪酸的严格定向选择,生成独有的 *Sn*-1 溶血磷脂,通过催化酰基迁移也可获得 *Sn*-2 磷脂。反应连续进行 1 200 h 而没有明显的生物催化剂失活现象。

2.5 烷基糖苷(APG)的酶法合成

烷基糖苷的突出优点是:可以从可再生的原料来制备,它的毒性、对皮肤刺激性、生物降解性等均优于现存的大多数种类的表面活性剂,并且在碱性条件下比相应的脂肪酸糖酯更稳定。因此,烷基糖苷在医药、洗涤剂、化妆品和食品加工等行业倍受青睐,如纯异头烷基糖苷已在生物医疗和药物中得到了成功应用。

用于合成烷基糖苷的方法主要有 6 种:Koenig-Knovn 反应、直接苷化法、转糖苷法、原酯法、糖缩酮物醇解法和酶催化法^[44]。目前酶催化法的主要缺点是反应速度较慢,尤其对长碳链醇反应物,这主要是由于两相体系中传质速度的限制。在 W/O 乳化液中进行反应时速度有很大提高。采用糖苷酶则可以控制产物异头碳上键的空间构象,生成异头碳上构型单一的烷基糖苷,纯度可达 95%^[45]。

3 展 望

生物催化剂在非传统介质(主要是有机溶剂)中的应用为生物有机合成提供了新的机遇。酶作为有力的催化合成工具在表面活性剂合成中的潜在

应用已引起人们越来越多的关注. 虽然酶的生产成本是实现其应用的主要障碍,但随着基因工程和蛋白质工程的发展,使得在较合理的价格上获得性能优良的酶逐渐成为现实. 外源多酶联合催化技术的开发与应用综合了整胞微生物代谢法和外源酶催化法的优势,使得生物转化过程更趋可控. 酶膜反

应器和其它连续酶反应器的开发,以及反应-分离耦合技术在酶催化过程中的应用使得酶法合成生物表面活性剂逐渐向现代化工过程贴近. 所有这些科技进步都将加速推动酶催化剂在工业规模上合成生物表面活性剂的应用.

参考文献:

[1] 方云,夏咏梅. 生物表面活性剂[M]. 北京:中国轻工出版社,1992.

[2] Kosaric N. Biosurfactants: Production Properties Applications[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1993.

[3] 夏咏梅,章克昌. 无溶剂酶催化油脂甘油解中温度效应的研究[J]. 精细化工,2000,17(6):315—317.

[4] 方云,夏咏梅. 酶法合成生物表面活性剂进展[A]. 中国化工学会精细化工专业委员会. 全国第七次工业表面活性剂技术经济与应用开发会议论文集[C]. 大连:《精细化工》编辑部,1998. 67—71.

[5] Miller C,Austin H,Posorske L, *et al.* Characteristics of an immobilized lipase for the commercial synthesis of esters[J]. *J Am Oil Chem Soc*,1988,65:927—932.

[6] 夏咏梅,方云,章克昌,等. 非水相酶促合成癸酸偏甘油酯的研究[J]. 生物工程学报,2002,18(6): 65—69.

[7] 夏咏梅,章克昌. 铜绿假单胞菌脂肪酶催化棕榈油甘油解 I 单甘酯酶促合成工艺的研究[J]. 精细化工,2000,17(5):249—251.

[8] 夏咏梅,章克昌. 铜绿假单胞菌脂肪酶催化棕榈油甘油解 II 进一步提高单甘酯产率的研究[J]. 精细化工,2000,17(4): 194—196.

[9] 夏咏梅,章克昌,方云. 酶法合成脂肪酸多元醇酯进展[J]. 化学通报(网络版),2000,(13):112.

[10] 夏咏梅,章克昌,石贵阳,等. 微水体系中荧光假单胞菌脂肪酶催化合成单甘酯[J]. 生物工程学报,2002,18(1):84—88.

[11] 夏咏梅,章克昌. 程序降温法固相酶催化棕榈油甘油解的研究[J]. 生物工程学报,2000,16(2):235—237.

[12] 夏咏梅,方云,章克昌,等. 无溶剂酶促合成癸酸偏甘油酯的热力学和动力学[J]. 分子催化,2002, 16(6):449—454.

[13] 刘雪锋,王征远,胡学一,等. 无溶剂体系酶促合成甘油中碳酸偏酯[J]. 无锡轻工大学学报, 2002,21(9): 447—451.

[14] 夏咏梅,章克昌. 无溶剂体系中脂肪酶合成单甘脂的研究[J]. 化学通报,2001,64(5):303—305.

[15] 许志国,夏咏梅,方云. 非水介质酶促反应中水的作用[J]. 香精香料化妆品,2001,(4):34—36.

[16] Kwon S J, Han J J, Rhee J S. Production and in situ separation of mono-or diacylglycerol catalyzed by lipase in n-hexane [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1995,17:700-704.

[17] 谭立凤,谭天伟. 有机相脂肪酶催化合成单甘酯的研究进展[J]. 化学世界, 1998,(3):120—126.

[18] Hayes D G, Gulari E. 1-Monoglyceride production from lipase-catalyzed esterification of glycerol and fatty acid in reverse micelles[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1991, 38: 507—517.

[19] Shah D O, Holmberg K, Singh C P. Synthesis of mono- and diglycerides in water-in-oil microemulsions[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1994, 74: 583—587.

[20] Jackson M A, King J W. Lipase-catalyzed glycerolysis of soybean oil in supercritical carbon dioxide[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1997, 74:103—106.

[21] Gunnlaugsdottir H. Alcoholysis and glyceride synthesis with immobilized lipase on controlled-pore glass of varying hydrophobicity in supercritical carbon dioxide[J]. *Enzyme and Microb Technol*, 1998, 22:360—364.

[22] Kim S M,Rhee J S. Production of medium-chain glycerides by immobilized lipase in a solvent-free system[J]. *J Am Oil Chem Soc*,1991,68:499—503.

[23] Xia Y M, Fang Y, Zhang K C, *et al.* Enzymatic synthesis of partial g glycerol caprate in solvent-free media[J]. *J of Molecular Catalysis B*, 2003,23(1):3—8.

[24] Gupta M N. Enzyme function in organic solvents[J]. *Eur J Biochem*,1992,203:25—32.

[25] Clifford A A. Reaction in Supercritical Fluids, Fundamentals for Application[M]. Kluwer Academic Publications, Dor-

drecht, 1994. 449—479.

[26] van der Padt A,Keurentjes J T F,Sewalt J J W,*et al.* Enzymatic synthesis of monoglycerides in a membrane bioreactor with an in-line adsorption column[J]. **J Am Oil Chem Soc**,1992,69:748—754.

[27] Noll H,Bloch H,Asselineau J,*et al.* The chemical structure of the cord factor of *mycobacterium tuberculosis*[J]. **Bioch Biophys Acta**,1956,20:299—304.

[28] 钟静芬.表面活性剂在药学中的应用[M]. 北京:人民卫生出版社,1996. 44—54.

[29] Adelhorst K, Bjorkling F, Godtfredsen S E, *et al.* Enzyme catalyzed preparation of 6-O-acylglucopyranosides[J]. **Synthesis**,1990,(12):112—115.

[30] Sarney D B, Kapeller H, FreyapaneE G, *et al.* Chemo-enzymatic synthesis of disaccharide fatty acid esters[J]. **J Am Oil Chem Soc**,1994,71:711—714.

[31] Kaneko Y, Tatazawa O, Sotodani K. Preparation of N-long chain-acylated aminocarboxylic acids or aminosulfonic acids-type surfactants and detergents and cleansings containing them[P] . **日本专利**:05097787 A2,1993-04-20.

[32] Xia J D, Xia Y M. Structure-function relationship of acyl amino acid surfactants: surface active and antimicrobial properties[J]. **J Agric Food Chem**, 1995, 43(4): 867—871.

[33] Kojima M, Tatezawa O, Abe Y, *et al.* (Kao Corp, Japan) Preparation of N-(long chain acyl)- β -alanine by improved schotten baumann reaction[P] . **日本专利**:05070418 A2, 1993-03-23.

[34] Fujii T, Kin H, Kado K. (Kawaken Fine Chemicals Co. , Japan)Preparation of N-(long-chain acyl)amino acids or their salts[P]. **日本专利**: 09301941 A2 ,1997-11-25.

[35] Tsutsumi T, Kaneko Y. (Kao Corp, Japan)Preparation of acyl amino acids[P]. **日本专利**:07258186 A2 ,1995-10-09.

[36] Kaneko Y, Tsutsumi T. (Kao Corp, Japan)Preparation of N-(long-chain acyl)amino acids [P]. **日本专利**:07278079 A2 , 1995-10-24.

[37] Nagao A,Kito M. Synthesis of O-Acyl-L-Homoserine by lipase[J]. **J Am Oil Chem Soc**, 1989, 66: 710—713.

[38] Clapes P, Moran C, Infante M R. Enzymatic synthesis of arginine-based cationic surfactants[J]. **Bio & Bio**,1999, 63(3): 333—343.

[39] Valivefo R, Jauregi P, Iqbal G, *et al.* Chemo-enzymatic synthesis of amino acid-based surfactants[J]. **J Am Oil Chem Soc**, 1997, 74:879—886.

[40] 夏咏梅,许志国,胡学铮,等. 有机相酶促合成 N-月桂酰- β -氨基丙腈[J]. **无锡轻工大学学报**, 2002, 21(1): 20—23.

[41] 王墨林,佟白,吴晓辉,等. 天然表面活性剂磷脂的研究与发展[A]. 中国化工学会精细化工专业委员会. 现代化工技术 [C]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1997. 43—53.

[42] Nieuwenhuyzen W V. The industrial uses of special lecithins[J]. **J Am Oil Chem Soc**,1981, 58:886—888.

[43] Scholfield C R. Composition of soybean lecithin[J]. **J Am Oil Chem Soc**,1981, 58:889—891.

[44] 杨联堡,杨锦宗. 烷基糖苷—新型世界级表面活性剂[J]. **化工进展**,1993,(1):43—48.

[45] Vulfson E N, Patel R, Law B A. Alryl- β -glucoside synthesis in a water-organic two-phase system[J]. **Biotechnol Lett**, 1990, 12:397—402.

(责任编辑:杨 勇)