

一株产油脂降解酶与生物表面活性剂的嗜麦芽寡养单胞菌的筛选及其特性

田小东^{1#}, 张政^{1,2#}, 蒙麒卉¹, 陈佳彤¹, 贾梦缘¹, 王申¹, 黄处云¹,
陈宗霞³, 黄若凤³, 姜明国^{1,2*}

1 广西民族大学 海洋与生物技术学院, 广西多糖材料与改性重点实验室, 广西 南宁

2 广西民族大学 海洋与生物技术学院, 广西-印度尼西亚微生物资源人工智能联合实验室, 广西 南宁

3 南宁东恒华道生物科技有限责任公司, 广西 南宁

田小东, 张政, 蒙麒卉, 陈佳彤, 贾梦缘, 王申, 黄处云, 陈宗霞, 黄若凤, 姜明国. 一株产油脂降解酶与生物表面活性剂的嗜麦芽寡养单胞菌的筛选及其特性[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1785-1801.

TIAN Xiaodong, ZHANG Zheng, MENG Qihui, CHEN Jiatong, JIA Mengyuan, WANG Shen, HUANG Chuyun, CHEN Zongxia, HUANG Ruofeng, JIANG Mingguo. Isolation and characterization of a lipase- and biosurfactant-producing strain of *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1785-1801.

摘要: 餐厨垃圾中含有难降解油脂, 易发生酸败, 进而造成环境污染。【目的】从餐厨垃圾中筛选高效产脂肪酶菌株, 优化其产酶条件, 并评价其胞外产物在餐厨垃圾中的油脂降解潜力。【方法】采用中性红培养基从食堂泔水中分离筛选产脂肪酶菌株, 并结合形态学特征及 16S rRNA 基因序列进行鉴定; 通过单因素试验和响应面法优化脂肪酶产酶条件; 分析脂肪酶性质及胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的乳化性能。【结果】从泔水样品中获得 1 株产脂肪酶能力强且具有生物表面活性的菌株 C24202, 鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。响应面优化结果显示, 其最佳发酵条件为: 乳糖 10.0 g/L、酵母膏 7.5 g/L、乳化大豆油 40.0 g/L、FeSO₄ 8.0 g/L、温度 34 °C、初始 pH 6.5、培养 72 h, 此时脂肪酶活力达(229.64±2.17) U/mL, 为优化前的 2.55 倍。该脂肪酶最适温度为 60 °C, 在 50 °C 下孵育 6 h 仍保留 50.70% 的活性。菌株产生的 EPS 具有良好的乳化性能, 其 EI₂₄ 值为 46.92%, 红外光谱分析表明其可能为聚合型糖脂肽类生物表面活性剂。【结论】该菌株兼具产耐热脂肪酶和生物表面活性剂的能力, 在油脂降解及

资助项目: 国家自然科学基金(32460009); 广西壮族自治区良庆番木瓜科技小院(HT-00001499-004); 广西民族大学研究生教育创新计划(gxmzu-chxs2024240)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32460009), the Science and Technology Backyard in Liangqing, Guangxi Zhuang Autonomous Region (HT-00001499-004), and the Guangxi Minzu University Graduate Education Innovation Program (gxmzu-chxs2024240).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: mzyxjiang@163.com

ORCID: JIANG Mingguo (0000-0003-2279-5740)

Received: 2025-12-30; Accepted: 2026-02-26; Published online: 2026-03-11

含油废水处理领域具有良好的应用前景。

关键词：餐厨垃圾；嗜麦芽寡养单胞菌；耐热脂肪酶；生物表面活性剂；产酶优化

Isolation and characterization of a lipase- and biosurfactant-producing strain of *Stenotrophomonas maltophilia*

TIAN Xiaodong^{1#}, ZHANG Zheng^{1,2#}, MENG Qihui¹, CHEN Jiatong¹, JIA Mengyuan¹, WANG Shen¹, HUANG Chuyun¹, CHEN Zongxia³, HUANG Ruofeng³, JIANG Mingguo^{1,2*}

1 Guangxi Key Laboratory for Polysaccharide Materials and Modification, School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi Minzu University, Nanning, Guangxi, China

2 Guangxi-Indonesia Joint Laboratory for Microbial Resources and Artificial Intelligence, School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi Minzu University, Nanning, Guangxi, China

3 Nanning Doing Higher Bio-Tech Co., Ltd., Nanning, Guangxi, China

Abstract: Kitchen waste contains recalcitrant lipids that are prone to rancidification and can cause environmental pollution. **[Objective]** To isolate efficient lipase-producing strains from kitchen waste, optimize their enzyme production conditions, and evaluate the lipid-degrading potential of their extracellular products in kitchen waste. **[Methods]** Lipase-producing strains were isolated from canteen swill *via* the neutral red medium and identified based on morphological characteristics and 16S rRNA gene sequences. Lipase production conditions were optimized through single-factor experiments and response surface methodology. The properties of the lipase and the emulsification performance of extracellular polymeric substances (EPS) were analyzed. **[Results]** A strain designated C24202, exhibiting strong lipase- and biosurfactant-producing activity, was isolated and identified as *Stenotrophomonas maltophilia*. The fermentation conditions were optimized as follows: lactose 10.0 g/L, yeast extract 7.5 g/L, emulsified soybean oil 40.0 g/L, FeSO₄ 8.0 g/L, and incubation at 34 °C and initial pH 6.5 for 72 h. Under these conditions, the lipase activity reached (229.64±2.17) U/mL, representing a 2.55-fold increase compared with the pre-optimization level. The lipase exhibited an optimal temperature of 60 °C and retained 50.70% of its activity after incubation at 50 °C for 6 h, demonstrating good thermal stability. The EPS produced by strain C24202 showed strong emulsifying capacity, with an EI₂₄ value of 46.92%. FTIR analysis suggested that the EPS may be polymeric glycolipopeptide-type biosurfactants. **[Conclusion]** Strain C24202 possesses dual capabilities of producing thermostable lipase and biosurfactants, demonstrating promising potential for lipid degradation and the treatment of oil-containing wastewater.

Keywords: kitchen waste; *Stenotrophomonas maltophilia*; thermostable lipase; biosurfactant; optimization of enzyme production conditions

餐厨垃圾是城市有机固体废物的主要组成部分，具有产量大、油脂和蛋白质含量高、易

腐败发酵等特点，其无害化与资源化处理已成为当前环境领域面临的严峻挑战^[1-2]。这类垃圾

主要来源于餐饮服务单位、企事业食堂和家庭厨房,其复杂的物理化学性质给传统处理工艺带来了巨大压力^[3]。其中,高含量的动植物油脂不仅是导致垃圾腐败发臭和滋生致病菌的主要原因,还会在后续的生物处理(如厌氧消化或堆肥)过程中形成疏水屏障,严重阻碍氧气传递、微生物接触以及营养物质的均匀分布,最终导致处理效率低下、产物品质不佳^[3-4]。

目前,餐厨垃圾的主流处理技术包括厌氧产沼、好氧堆肥和饲料化等,这些技术的效能高度依赖微生物对有机质,尤其是对油脂的高效降解^[5-6]。然而,油脂在垃圾中常以包裹态或大油滴形式存在,且与水相分层明显,使微生物及其分泌的酶难以有效接触并分解底物。因此,仅依靠混合或搅拌等传统物理手段,或依赖普通降解菌株,通常难以实现油脂的深度、快速去除^[7]。

在油脂降解过程中,微生物分泌的胞外酶系与代谢产物发挥着核心作用。脂肪酶(三酰甘油酯基水解酶, EC 3.1.1.3)是催化油脂水解的关键酶,能在油-水界面将甘油三酯分解为易吸收的脂肪酸和甘油^[8]。更为重要的是,许多高效降解菌还能同步分泌生物表面活性剂等胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)。这些物质可显著降低界面张力,将大油滴乳化为微米级甚至纳米级胶束,从而大幅增加脂肪酶的作用比表面积,脂肪酶与生物表面活性剂的协同作用共同构成了微生物突破“界面壁垒”、高效降解油脂的生化基础^[9]。

基于上述认识,研究前沿主要围绕 2 类功能菌株展开:一是挖掘高产脂肪酶菌株(如芽孢杆菌属、沙雷氏菌属等),以强化核心催化环节^[10-12];另一类是开发高效产表面活性剂菌株(如假单胞菌属等)以改善底物可及性^[13-14]。然而,在成分复杂、物性多变的餐厨垃圾实际环境中单一功能的菌株常因缺乏完整的降解链条而表现受限。近年来,已有研究关注脂肪酶与生物表面活性剂在油脂降解过程中的协同作用,并尝试通过多功能微生物或协同体系提升复杂含

油体系的处理效果^[15]。因此,筛选兼具“强乳化”(预处理)和“强酶解”(核心降解)双重功能的微生物资源,构建自驱式、一体化的油脂降解系统,被认为是提升餐厨垃圾生物处理效率的潜在突破口。

本研究着眼于这一关键需求,从餐厨垃圾原生环境中定向筛选具有较强耐热性的脂肪酶并同步产生具有乳化活性生物表面活性剂的菌株,对其耐热脂肪酶与表面活性剂的双重功能进行表征,并通过发酵优化显著提升其产酶效能,以期开发适用于餐厨垃圾高效生物降解的微生物制剂或酶制剂提供新的核心资源与理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

餐厨垃圾样品采集自广西壮族自治区南宁市西乡塘区广西民族大学思源湖校区东食堂和西食堂的泔水桶。

1.2 培养基

乳化液制备:将橄榄油与 2% 聚乙烯醇(PVA-124)溶液按体积比 1:3 混合后形成初乳液,置于超声波细胞破碎仪中,以 300 W 处理 10 min 形成均质乳白色液体。

富集培养基(g/L):大豆油 20.0, 蛋白胨 10.0, 酵母粉 5.0, 氯化钠 5.0, pH 7.0。

中性红培养基(g/L):蛋白胨 10.0, 牛肉膏 50.0, NaCl 2.5, 琼脂 15.0, 橄榄油乳化液 10.0, 1.6% 中性红溶液体积分数 1%, pH 7.3。

LB 种子培养基(g/L):胰蛋白胨 10.0, 酵母浸粉 5.0, NaCl 10.0。

基本发酵培养基(g/L):橄榄油乳化液 5.0, 蛋白胨 10.0, K₂HPO₄ 1.0, KH₂PO₄ 0.5。

除特别说明外,各培养基初始 pH 采用自然 pH。

1.3 产脂肪酶菌株筛选

1.3.1 初筛

取 5.0 g 广西民族大学思源湖校区的餐厨垃圾

样品, 加入 50 mL 无菌水, 于 30 °C、180 r/min 培养 2 h。取 2 mL 上清液接种于 20 mL 以大豆油为唯一碳源的富集培养基中, 在 30 °C、180 r/min 条件下培养 5 d 进行富集, 并于培养第 3 天补加 1% 大豆油进行驯化。随后, 取 2 mL 培养物转接至新鲜培养基进行继代培养, 共驯化 5 个周期, 每个周期于第 3 天补加的大豆油浓度依次递增 1%。取最终驯化液 5 mL, 用无菌水进行 10 倍梯度稀释至 10^{-7} 。分别取各梯度稀释液 100 μ L 涂布于中性红初筛平板, 在 30 °C 培养 24 h。挑选因水解油脂产酸而使菌落及周围培养基变为红色的单菌落, 在固体富集培养基上划线纯化, 30 °C 培养后备用。

1.3.2 复筛

将纯化菌株接种至种子培养基, 在 30 °C、180 r/min 培养 16 h 后, 以体积分数为 3% 的接种量接种至 50 mL/250 mL 的基本发酵培养基中, 在相同条件下培养 24 h 后于 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清测定酶活力, 筛选其中产酶能力强的菌株进行后续试验。

1.4 菌株生长特性的测定

将菌株接种于基本发酵培养基中, 分别设置不同温度(25–45 °C, 梯度为 5 °C)、不同初始 pH(5.0–9.0, 梯度为 1.0)及不同 NaCl 浓度(1%–7%, 梯度为 2%), 培养后测定并比较菌株在不同条件下的相对生长水平, 以表征其生长特性。

1.5 酶活力测定方法

对硝基苯酚酯(*p*-nitrophenyl phosphate, *p*-NPP)在脂肪酶作用下水解, 生成的对硝基苯酚(*p*-nitrophenol, *p*-NP)在 410 nm 处具有特征吸收峰, 其吸光度可用于定量酶活力。底物溶液制备方法如下^[16]: 将 30.0 mg *p*-NPP 溶于 10 mL 异丙醇中(50 °C 水浴溶解, 记为 A 液); 将 207.0 mg 脱氧胆酸钠和 100 mg 阿拉伯树胶溶于 90 mL 0.1 mol/L PBS (pH 8.0)中(热水搅拌, 记为 B 液)。按 1:9 的比例混合 A 液和 B 液, 并充分混匀。反应体系中加入 0.1 mL 粗酶液和 2.4 mL 底物溶

液, 空白对照管则先将 0.1 mL 粗酶液与 0.1 mL 4 mol/L TCA 混合孵育 5 min 灭活, 再与 2.4 mL 底物混合。所有反应管在 50 °C 水浴中反应 15 min 后置于冰浴 5 min 终止反应, 随后于 4 °C、8 000 r/min 离心 5 min, 取上清 200 μ L 于 410 nm 处测定吸光度。

1.6 对硝基苯酚标准曲线绘制

将 0、10、20、30、40、50、60、70 μ L 的 5 mmol/L 对硝基苯酚(*p*-NP)溶液分别加入各试管, 以 50 mmol/L PBS (pH 8.0)定容至 2.5 mL; 后续测定方法同 1.5 节。

1.7 酶活力计算

酶活力单位定义: 在一定条件下, 以每分钟产生 1 μ mol 对硝基苯酚(*p*-NP)所需的酶量为一个脂肪酶活力单位(U)。酶活计算如公式(1)所示。

$$Y = \frac{xV_1N}{V_2t} \quad (1)$$

式中: *Y* 为酶活(U/mL); *x* 为体系中 *p*-NP 浓度(μ mol/L); *V*₁ 为反应液体积(mL); *N* 为待测液稀释倍数; *V*₂ 为粗酶液体积(μ L); *t* 为反应时间(min)。

1.8 产脂肪酶菌株的鉴定

参照《常见细菌系统鉴定手册》^[17]对菌株进行形态学鉴定, 随后使用 DNA 提取试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]进行分子生物学鉴定, 使用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGA TCMTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTT GTTACGACTT-3')以及 2 \times Taq PCR MasterMix 对菌株的 16S rRNA 基因序列进行 PCR 扩增, PCR 反应体系与扩增程序参考林清钰^[11]。扩增产物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将获得的 16S rRNA 基因序列在 NCBI GenBank 数据库中进行 BLAST 比对, 下载比对结果中得分较高的参考菌株序列, 并利用 MEGA 5.0 软件采用邻接法(neighbor-joining)构建系统发育树。

1.9 产酶条件的优化

以基本发酵培养基为基础, 通过单因素试验分别考察碳源(葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、

可溶性淀粉)、氮源 [(NH₄)₂SO₄、NH₄Cl、NH₄H₂PO₄、NaNO₃、牛肉膏、酵母膏]、诱导剂(芝麻油、菜籽油、花生油、橄榄油、大豆油)、无机盐(CaCl₂、MnSO₄、FeSO₄、MgSO₄、KH₂PO₄、K₂HPO₄)、初始 pH (6.0–9.0, 间隔 0.5)、培养温度(26–36 °C, 间隔 2 °C)、接种量(1%–5%)及发酵时间(24–96 h)等因素对菌株产脂肪酶活力的影响, 以确定各因素的最适水平^[18]。基于单因素试验结果, 采用 Plackett-Burman 设计筛选影响脂肪酶活力的显著因素(表 1)。随后, 根据 PB 试验中显著因素的回归系数方向开展最陡爬坡试验, 以确定响应面优化的中心点。以最陡爬坡试验获得的最佳区域为中心, 构建基于 Box-Behnken 设计(RSM-BBD)的响应面试验(表 1), 建立数学模型并预测最优发酵条件。最终结合单因素试验、PB 设计及响应面分析结果, 确定以脂肪酶活力为响应值的最优发酵参数, 并在预测条件下进行验证实验, 以评估模型的可靠性与适用性。

1.10 温度对脂肪酶的影响

菌株发酵结束后, 于 4 °C、12 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液并通过 0.45 μm 滤膜过滤

表1 实验因素与水平设置

Table 1 Experimental factors and corresponding level settings

Test	Factor	Variant	Coded levels	
			0	1
Plackett Burman	Lactose (g/L)	X ₁	8	10
	Yeast extract (g/L)	X ₂	6	8
	Soybean oil (g/L)	X ₃	30	40
	FeSO ₄ (g/L)	X ₄	6	8
	Initial pH	X ₅	6.0	7.0
	Temperature (°C)	X ₆	32	34
	Time (h)	X ₇	48	72
	Inoculum size (%)	X ₈	0.5	1.0
Box- Behnken	Yeast extract (g/L)	A	5	7.5 10
	FeSO ₄ (g/L)	B	5	7.5 10
	Initial pH	C	6.0	6.5 7.0

得到粗酶液。将粗酶液在 30–90 °C (间隔 10 °C) 孵育 15 min 以评估最适温度, 热稳定性测定在相同温度范围内进行, 孵育 2、4、6 h 后取样测定残余活性。

1.11 生物表面活性剂的定性筛选

菌株产生的生物表面活性剂活性通过油置换分析(oil displacement assay, ODA)法测定^[19]。具体操作如下: 在培养皿中加入 20 mL Milli-Q 水, 滴加 200 μL 经苏丹 III 染色的植物油, 使其在水面形成均匀油膜。随后将 20 μL 细胞游离上清液(cell-free supernatant, CFS)或对照(ddH₂O)轻轻滴加于油膜中央。若出现明显透明光晕, 则表明样品具有生物表面活性剂活性。

1.12 乳化活性定量测定

将 5 mL 大豆油与 5 mL CFS 加入带刻度的洁净玻璃试管中, 使用旋涡振荡器充分振荡 2 min。样品于室温静置 24 h 后, 记录乳化层高度^[13]。乳化能力以乳化指数(emulsification index, EI₂₄)表示, 其计算如公式(2)所示。

$$EI_{24} = \frac{h_{\text{emulsion}}}{h_{\text{total}}} \times 100\% \quad (2)$$

1.13 生物表面活性剂的粗提及其 FTIR 分析

发酵得到的培养液于 4 °C、8 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液。将上清液与 75% 乙醇溶液按体积比 1:1 混合, 静置过夜, 随后, 于 4 °C、5 000×g 离心 15 min 收集沉淀。弃去上清后, 用蒸馏水洗涤沉淀 2 次, 并在 70 °C 下干燥 3 h。采用傅里叶变换红外光谱仪(ThermoFisher Scientific 公司)和衰减全反射(attenuated total reflection, ATR)技术, 对分离得到的生物表面活性剂进行傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)分析。测定范围为 4 000–600 cm⁻¹。

1.14 数据处理

实验数据采用 Design-Expert (Trial v13.0)、Origin 2024、IBM SPSS Statistics 27 进行统计分析 与绘图。其中组间差异显著性水平设定为 α=0.05。

2 结果与分析

2.1 产脂肪酶菌株的筛选与鉴定

从餐厨垃圾样品中,经大豆油富集培养、中性红平板初筛及发酵液酶活复筛,获得一株高产脂肪酶菌株,命名为 C24202。该菌株在初筛平板上可产生明显的颜色反应,其接种区域周围的中性红指示剂由橙黄色变为淡红色,初步表明该菌株具有产酸水解油脂的能力(图 1B)。进一步测定其发酵上清液的酶活力为 (90.05 ± 1.96) U/mL。对菌株 C24202 进行了系统鉴定,其在 LB 平板上的菌落呈白色至淡黄色,表面光滑凸起,边缘整齐(图 1A)。革兰氏染色显示其为红色杆状细菌,确定为革兰氏阴性菌(图 1C)。基于 16S rRNA 基因序列的分析表明,该序列与 NCBI 数据库中嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*) W8-2 菌株的相似性最高,达 99.93%。基于该序

列构建的系统发育树也显示其与该种聚为一支(图 1D)。据此,将菌株 C24202 鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),并已保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC),保藏号为 CGMCC 29872。

2.2 菌株 C24202 的生长特性及其胞外脂肪酶的温度特性

菌株 C24202 在不同环境条件下的生长测定结果见图 2。该菌株在 25–40 °C 和 pH 5.0–9.0 范围内均能生长,其最适生长条件为 35 °C 和 pH 6.0 (图 2A、2B)。耐盐性测定显示,菌株在 NaCl 浓度 $\leq 3\%$ 时生长良好,浓度 $> 5\%$ 时生长被强烈抑制(图 2C)。综上所述,菌株 C24202 表现为中温、偏酸、中度耐盐菌株。

菌株 C24202 脂肪酶粗酶液的最适反应温度为 60 °C (图 2D)。在 30–60 °C 范围内,酶活力随温度升高显著增强;超过最适温度后,酶活

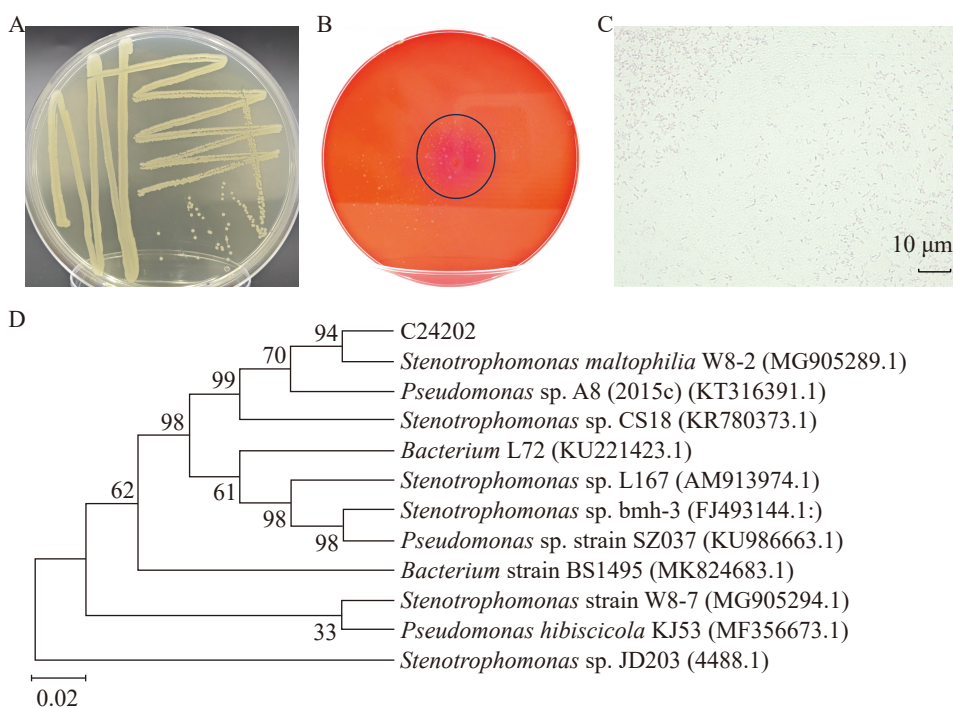


图1 菌株C24202筛选及鉴定结果

Figure 1 Screening and identification of strain C24202. A: Colony morphology of strain C24202 on LB agar plate; B: Color reaction of strain C24202 on neutral red agar plate; C: Gram-staining result of strain C24202; D: Phylogenetic tree of strain C24202 based on 16S rRNA gene sequence.

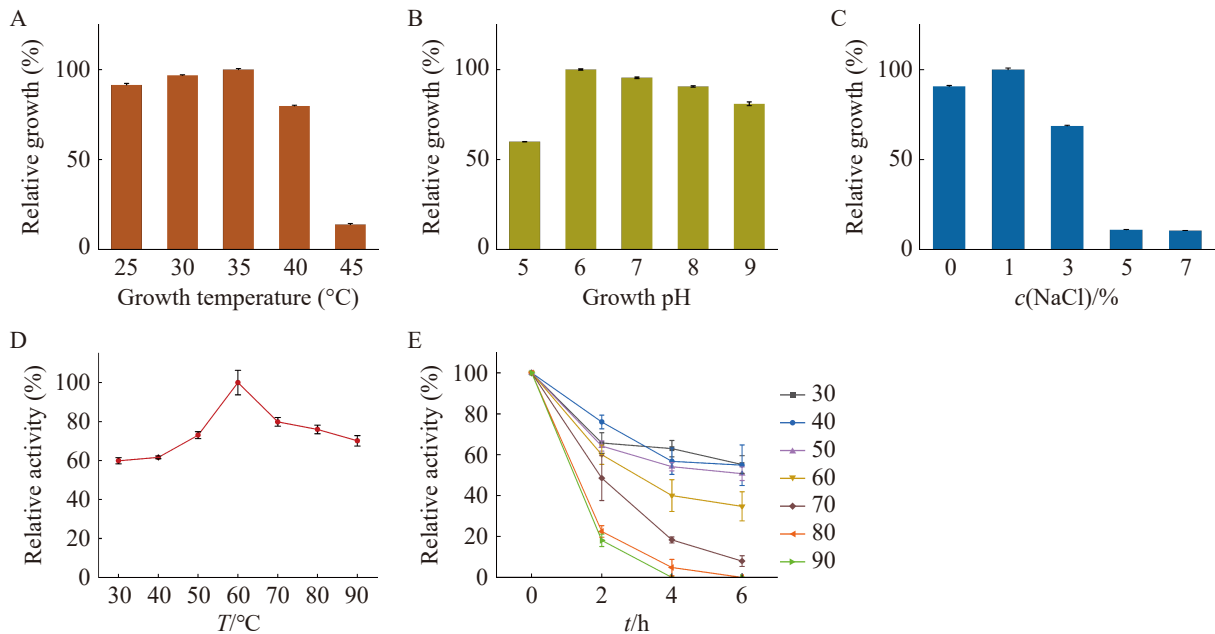


图2 菌株C24202的生长特性及脂肪酶的温度特性

Figure 2 Growth characteristics and temperature characteristics of lipase in strain C24202. A: Growth at different temperatures; B: Growth at different initial pH values; C: Growth at different NaCl concentrations; D: Optimal temperature for lipase; E: Temperature stability of lipase.

力迅速下降。该脂肪酶表现出较宽的温度适应范围, 在 30–90 °C 条件下均能维持较高活性, 即使在 90 °C 时仍可保留约 70% 的最大酶活。热稳定性分析结果表明(图 2E), 该脂肪酶在中温条件下具有较高稳定性。在 30 °C 和 40 °C 下孵育 6 h 后, 其相对活性仍高于 50.00%; 在 50 °C 孵育 6 h 后, 酶活性仍保持在 50.70%, 而在 60 °C 下相对活性降至 34.74%。相比之下, 在 70 °C 以上高温条件下, 酶活性随孵育时间迅速下降, 在 80 °C 和 90 °C 下孵育 2 h 后分别降至 22.44% 和 18.11%, 4 h 后几乎完全失活。

2.3 菌株 C24202 产生物表面活性剂的能力及特性分析

采用油置换分析(ODA)法对菌株 C24202 的无菌发酵上清液(CFS)进行定性检测, 结果如图 3 所示。未滴加 CFS 时染色油相在 Milli-Q 水表面形成均匀连续的油膜(图 3A); 而滴加 CFS 后, 油膜迅速被排开并发生破裂, 形成清晰且

扩展的扩散圈(图 3B), 表明该菌株的胞外代谢产物能够显著降低油-水界面张力, 呈现典型的表面活性剂行为。相比之下, 滴加等体积 ddH₂O 仅因液滴重力在油膜表面产生短暂凹陷, 未引起油膜破裂或形成稳定扩散圈(图 3C、3D), 从而证实该界面活性效应来源于菌株 C24202 的特异性代谢产物。

进一步通过乳化指数(EI)对 CFS 的乳化能力进行定量评价, 实验组在静置后形成稳定的三相结构, 包括上层黄色清油、中层白色乳状层及下层棕色 CFS (图 3E), 表明发生了显著乳化作用; 而对照组则呈现明显的油水两相分离, 几乎无乳化层形成(图 3F)。实验组 24 h 乳化指数(EI₂₄)为 46.92%, 说明近一半的油水体系在静置 24 h 后仍保持乳化状态。综上所述, 菌株 C24202 的发酵产物不仅能够通过降低界面张力引发表面铺展效应, 还可形成稳定乳状液, 兼具良好的表面活性和乳化性能, 符合生物表面

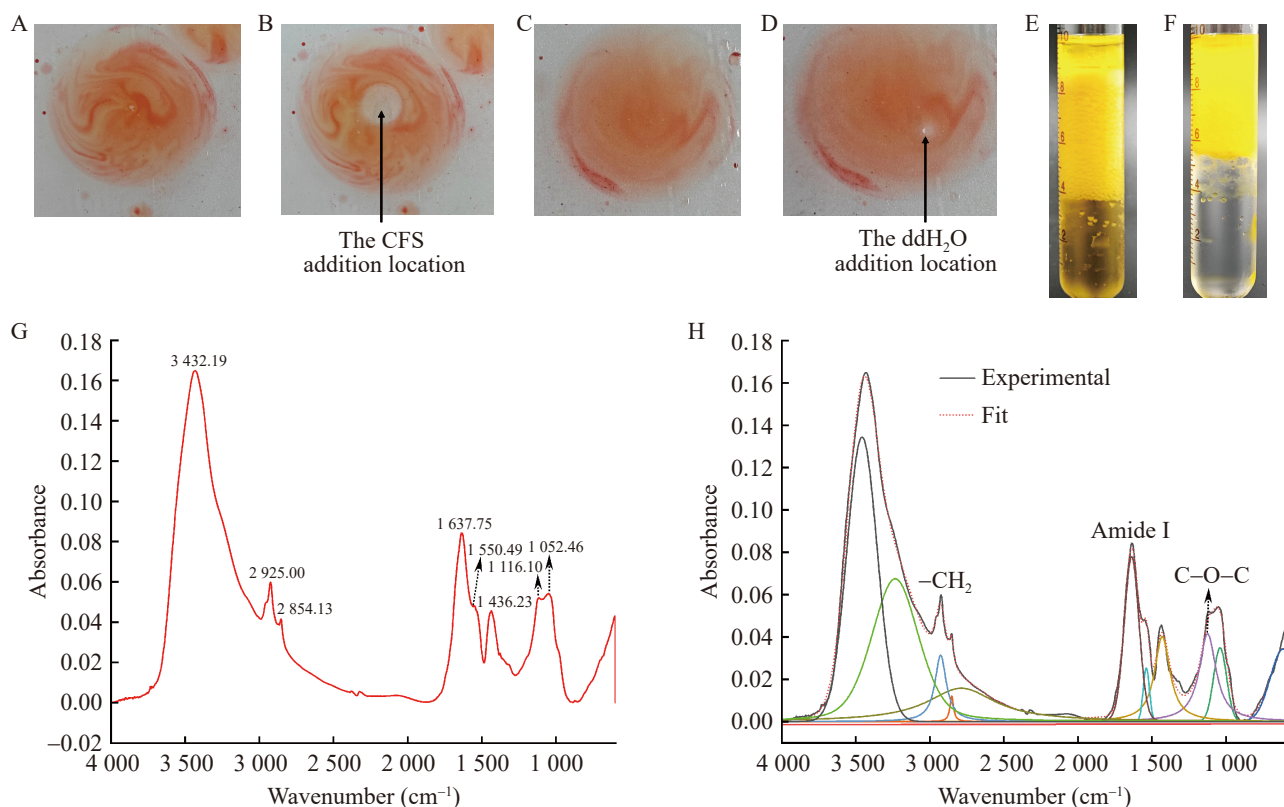


图3 菌株C24202胞外表面活性产物功能表征和检测

Figure 3 Functional characterization and detection of extracellular surface active products of strain C24202. A: Initial oil film state (blank control); B: Oil film rupture and diffusion after adding sterile fermentation supernatant (CFS); C: Oil film state before adding ddH₂O; D: Oil film state after adding ddH₂O (negative control); E: Experimental group: soybean oil+CFS; F: Control group: soybean oil+ddH₂O; G: Infrared analysis of strain CFS; H: Semi-quantitative analysis of functional groups of strain CFS.

活性剂的典型特征。

FTIR 光谱在 3432.19 cm^{-1} 处显示一个宽峰, 表明存在羟基(-OH) (图 3G)。 1637.75 cm^{-1} 处的伸缩振动峰对应于 -C=O 伸缩振动, 2925.00 cm^{-1} 处则对应于羧基 -C-O 伸缩振动。此外, 在 1052.46 cm^{-1} 处出现了 2 个伸缩振动信号。根据 Jadhav 等^[20]的研究, 这证实了糖脂结构中存在 C=O 。官能团半定量分析表明 (图 3H), 样品中酰胺键(Amide I)与 C-O-C 的峰面积均显著高于 -CH_2 , 且两者与 -CH_2 的比值分别达 2.20 和 1.97, 提示该生物表面活性剂可能含有丰富的酰胺键和糖苷键。综上所述, 菌株 C24202 产生的生物乳化剂主要由脂肽结构并伴

有少量糖脂组成, 具有典型的双亲性特征, 可能属于聚合型糖脂肽类生物表面活性剂。

2.4 菌株 C24202 产脂肪酶条件的单因素优化结果

2.4.1 培养基成分的优化

如图 4 所示, 在碳源的单因素优化中乳糖对脂肪酶产量的促进作用最为显著, 但与可溶性淀粉之间差异不大, 表明该菌株具有较宽泛的碳源利用谱 (图 4A), 其最适浓度为 10.0 g/L (图 4B)。氮源方面, 酵母膏作为有机氮源能够显著提高产酶效率 (图 4C), 最优浓度为 8.0 g/L (图 4D)。诱导剂在脂肪酶合成中发挥关键作用,

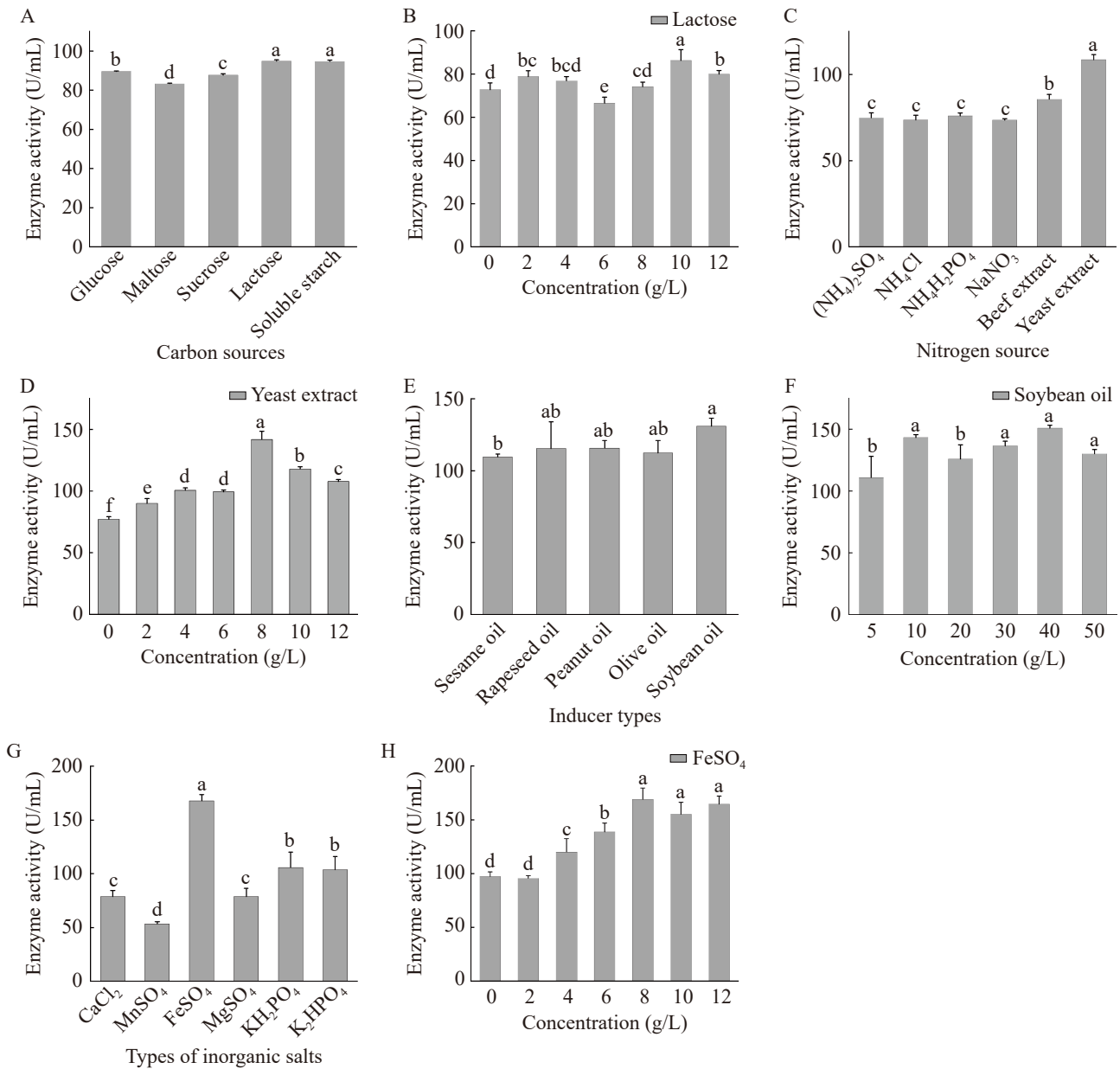


图4 菌株C24202产脂肪酶培养基成分的单因素优化

Figure 4 Single-factor optimization of the lipase production medium composition of strain C24202. A: Carbon source type; B: Carbon source concentration; C: Nitrogen source type; D: Nitrogen source concentration; E: Inducer type; F: Inducer concentration; G: Inorganic salt type; H: Inorganic salt concentration. Data are mean±SD ($n=3$), different letters indicate significant differences $P<0.05$.

本研究以大豆油为最佳诱导剂(图 4E), 其最适用浓度为 40.0 g/L (图 4F)。无机盐试验表明, CaCl₂、MnSO₄ 和 MgSO₄ 对脂肪酶产生具有抑制作用, K₂HPO₄ 和 KH₂PO₄ 几乎无影响, 而

FeSO₄ 能显著促进脂肪酶(图 4G)。由图 4H 可知, 无机盐的最佳添加浓度为 8.0 g/L。

2.4.2 培养条件的优化

如图 5 所示, 为明确培养条件对菌株脂肪

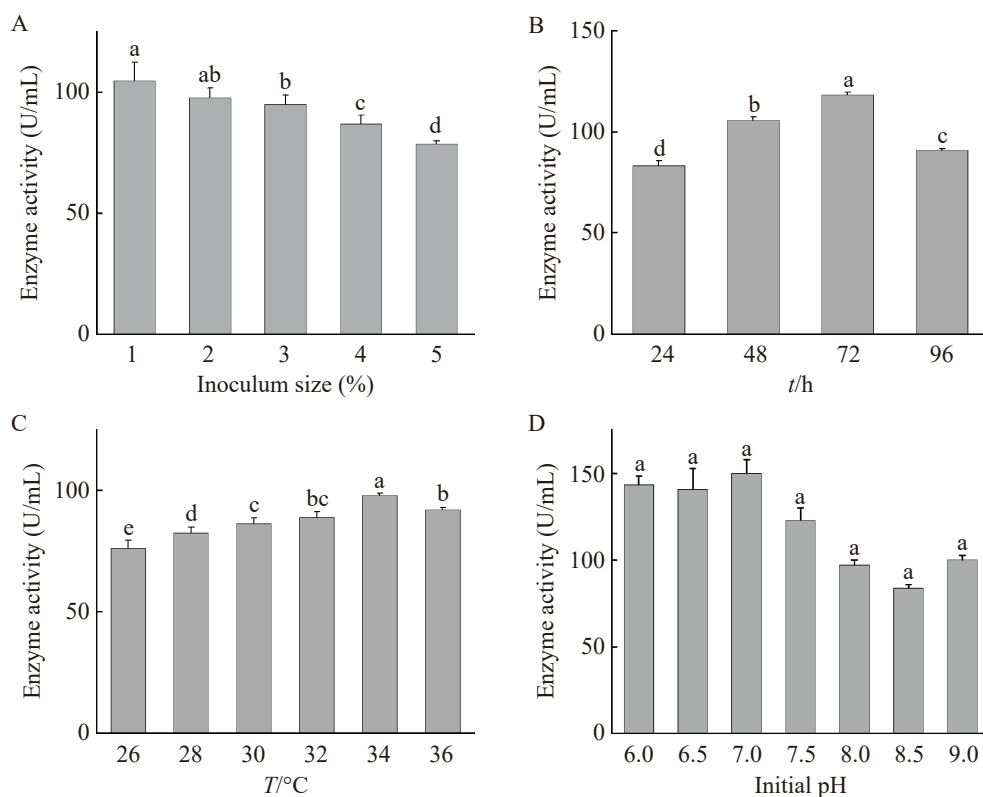


图5 菌株C24202产脂肪酶培养条件的单因素优化

Figure 5 Single-factor optimization of lipase production culture conditions for strain C24202. A: Inoculum size; B: Fermentation time; C: Fermentation temperature; D: Initial pH. Data are mean±SD ($n=3$), different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

酶产量的影响,分别对接种量、发酵时间、培养温度及初始 pH 进行了单因素优化。结果显示,当接种量为 1% 时酶活性最高(图 5A)。发酵时间以 72 h 为最适条件,可使酶活力达到峰值(图 5B)。培养温度对产酶也具有显著影响,34 °C 为最优温度(图 5C)。此外,初始 pH 为 7.0 时产酶水平最高(图 5D)。

2.5 基于 Plackett-Burman 试验的显著因素筛选

在确定各因素的适宜浓度后,采用 Plackett-Burman 设计对影响菌株产脂肪酶活性的关键变量进行筛选(表 2)。结果(表 3)表明,酵母膏(X_2)、 FeSO_4 (X_4)及初始 pH (X_5)对酶活性具有显著正向影响($P<0.05$),而其余因素的影响均不显著

($P>0.05$)。所建立的 PB 模型显著有效($F=19.88$, $P<0.05$),且拟合度较高($R^2=0.9815$),说明模型能够较好地反映各因素对响应值的影响。基于上述结果,将酵母膏、 FeSO_4 和 pH 作为关键因素用于后续响应面优化试验,其余组分浓度保持不变。对 PB 试验数据进行多元线性回归拟合后,得到脂肪酶活力的回归方程如下:

$$Y=113.11+0.140X_1+11.82X_2-0.3717X_3+8.69X_4+4.51X_5+3.67X_6-3.15X_7+0.8283X_8 \quad (3)$$

2.6 响应面法优化脂肪酶生产条件

以酵母膏(A)、 FeSO_4 (B)和初始 pH (C)为自变量,构建 Box-Behnken 响应面试验,试验设计及测定结果见表 4。不同试验组合下的酶活性存在显著差异。基于试验数据,对三因素与响应值进行二次多元回归拟合,得到脂肪酶活力

表2 Plackett-Burman实验结果

Table 2 Results of the Plackett-Burman experiment

Number	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	Enzyme activity (U/mL)
1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	146.15±3.19
2	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	122.31±2.55
3	1	-1	1	1	-1	1	1	1	109.94±1.72
4	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	131.81±1.68
5	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	101.85±4.26
6	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	102.04±5.76
7	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	92.29±3.09
8	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	118.35±7.02
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	101.48±3.64
10	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	129.47±6.65
11	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	111.37±1.83
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	90.33±10.19

表3 Plackett-Burman实验的方差分析结果

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for the Plackett-Burman model

Source	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean square	F -value	P -value	Significance
Model	3 116.20	8	389.52	19.88	0.016	Significance
X_1	0.235 2	1	0.235 2	0.012	0.919 7	
X_2	1 676.55	1	1 676.55	85.57	0.002 7**	Significance
X_3	1.66	1	1.66	0.084	0.790 1	
X_4	905.85	1	905.85	46.23	0.006 5**	Significance
X_5	243.72	1	243.72	12.44	0.038 7*	Significance
X_6	161.19	1	161.19	8.23	0.064 1	
X_7	118.69	1	118.69	6.06	0.090 8	
X_8	8.23	1	8.23	0.42	0.56	
Residual	58.78	3	19.59			
Total	3 174.9	11				

$R^2=0.981 5$; $R^2_{\text{adj}}=0.932 1$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

的二次多项式模型如下:

$$Y=234.23-1.29A+20.92B-0.57C-14.71AB+4.51AC+0.40BC-27.43A^2-27.43B^2-22.33C^2 \quad (4)$$

主效应分析表明(表 5), B 及其二次项 B^2 极显著($P<0.001$), C^2 也显著($P=0.003 5$), 为主要影响因素。交互作用中仅 AB 项显著($P=0.027 5$), 提示酵母膏与 FeSO_4 存在协同效应。响应面与等高线图(图 6)显示最优酶活性集中于中等酵母膏浓度、较高 FeSO_4 浓度及中性偏碱 pH 区间,

且 $A-B$ 交互作用最强, $B-C$ 交互作用较弱。

2.7 响应面模型的验证

根据响应面优化结果, 并结合单因素优化实验, 本研究保持部分恒定发酵条件为: 乳糖 10.0 g/L, 大豆油 40.0 g/L, 发酵时间为 72 h, 接种量为 1%, 发酵温度为 34 °C。在 Design Expert 软件得出酵母膏 7.26 g/L、 FeSO_4 浓度为 8.14 g/L, 在 pH 为 6.45 的最优组合下预测脂肪酶活的理论值最高为 236.98 U/mL。根据实

表4 RSM-BBD设计结果

Table 4 The design and results of RSM-BBD

Number	YE (g/L)	FeSO ₄ (g/L)	pH	Enzyme activity (U/mL)
1	5	5	6.5	123.50±4.66
2	10	5	6.5	148.62±2.19
3	5	10	6.5	207.52±1.69
4	10	10	6.5	173.82±3.20
5	5	7.5	6.0	191.82±1.28
6	10	7.5	6.0	181.95±1.25
7	5	7.5	7.0	177.98±1.96
8	10	7.5	7.0	186.13±2.62
9	7.5	5	6.0	153.07±0.85
10	7.5	10	6.0	181.33±3.68
11	7.5	5	7.0	154.80±3.68
12	7.5	10	7.0	184.67±1.04
13	7.5	7.5	7.0	231.82±0.86
14	7.5	7.5	6.5	245.58±0.60
15	7.5	7.5	6.5	234.20±0.34
16	7.5	7.5	6.5	218.52±3.08
17	7.5	7.5	6.5	241.03±0.77

际将调整酵母膏为 7.5 g/L、FeSO₄ 为 8.0 g/L，在 pH 为 6.5 进行验证试验，测得酶活为 (229.64±2.17) U/mL，与理论值之间的相对误差

表5 RSM-BBD设计的方差分析

Table 5 ANOVA of RSM-BBD

Source	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean square	F-value	P-value	Significance
Model	19 057.12	9	2 117.46	18.83	0.000 4**	Significant
A	13.26	1	13.26	0.118	0.741 3	
B	3 500.75	1	3 500.75	31.14	0.000 8**	
C	2.63	1	2.63	0.023 4	0.882 7	
AB	864.95	1	864.95	7.69	0.027 5*	
AC	81.18	1	81.18	0.722 1	0.423 6	
BC	0.648	1	0.648	0.005 8	0.941 6	
A ²	3 168.31	1	3 168.31	28.18	0.001 1**	
B ²	7 943.12	1	7 943.12	70.65	<0.000 1**	
C ²	2 099.26	1	2 099.26	18.67	0.003 5**	
Residual	786.95	7	112.42			
Lack of fit	359.28	3	119.76	1.12	0.440 1	Not significant
Pure error	427.675 6	4	106.918 9			
CV (%)	5.57					
R ²	0.960 3					
Adjusted R ²	0.909 4					

*: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$.

为 3.1%，证实了优化工艺的可靠性。

3 讨论

本研究从餐厨垃圾中筛选得到的菌株 C24202 被鉴定为嗜麦芽寡养单胞菌。该菌属在自然界中分布广泛，已报道的功能多样，包括生物降解与植物促生等，提示其在环境中扮演着积极的生态角色^[21]。本研究发现，菌株 C24202 的生长条件为 35 °C、pH 6.0 且可耐受 3% NaCl (图 2A–2C)，与餐厨垃圾典型的酸化、含盐及中温环境高度契合，体现了其对该特定生态位的良好适应性。

在单因素优化实验中，碳源筛选结果 (图 4A、4B) 显示乳糖可显著提升脂肪酶产量，其效果明显优于葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和可溶性淀粉。例如，在 *Limtongozyma siamensis* DMKU-WBL1-3 菌株中，乳糖诱导的脂肪酶产量达 355.6 U/mL，而葡萄糖仅为 177.8 U/mL，蔗糖为 251.8 U/mL，可溶性淀粉为 170.4 U/mL^[22]。这一差异主要源于碳分解代谢抑制 (carbon catabolite repression, CCR) 机制：在脂类诱导物

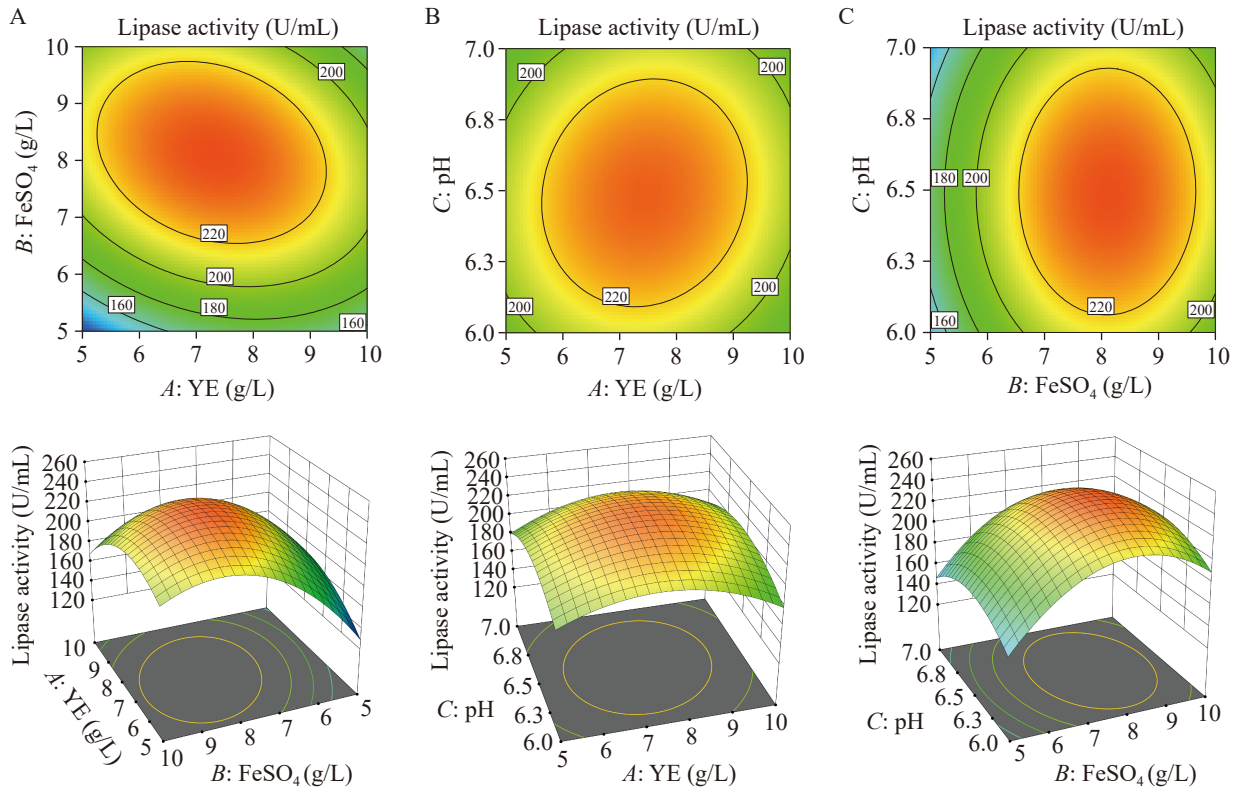


图6 RSM-BBD优化的等高图和3D图

Figure 6 RSM-BBD optimized contour maps and 3D maps.

存在时, 葡萄糖作为优先碳源会被迅速利用, 导致 cAMP 水平下降并抑制诱导物摄取, 从而下调脂酶基因(如 *lip2*)的表达^[23-24]; 相比之下, 乳糖等非优先糖类碳源不会触发 CCR, 因此支持更高的酶产量。

在氮源筛选(图 4C、4D)中, 酵母膏表现最佳, 最适浓度为 7.5 g/L。酵母膏富含氨基酸、维生素和微量元素, 不仅为菌体提供蛋白质合成所需的营养, 还可能通过特定氨基酸或肽类上调分泌途径相关基因的表达^[25]。在油脂诱导实验(图 4E、4F)中, 40.0 g/L 乳化大豆油可显著增强脂肪酶活性, 推测这与油-水界面提供的底物接触微环境及油脂水解产物(如游离脂肪酸)作为信号分子上调脂肪酶基因表达有关。大豆油的脂肪酸组成可能更易被该菌株识别, 从而触发更强的诱导效应^[3,26]。差异显著性分析(图 4E)显示其他植物油诱导能力相近, 说明该菌株对

多种油脂具有较强的生理适应性。无机盐添加实验(图 4G、4H)表明, 8.0 g/L FeSO_4 可显著促进脂肪酶产量, 这与 Hasan-Beikdashti 等^[27]的研究结果一致。值得注意的是, 本菌株的最适 FeSO_4 浓度偏高, 可能与 C24202 长期暴露于餐厨垃圾高盐环境所形成的生态适应性有关^[28-29], 具体机制仍需进一步研究。

在本研究的优化流程中, Plackett-Burman (PB)筛选结果显示酵母膏、 FeSO_4 和 pH 对脂肪酶产量具有显著正效应($P < 0.05$), 因此被选为后续优化因素。然而, 在响应面法(RSM)阶段, 最优响应并未出现在 PB 设定的高水平组合(酵母膏 10.0 g/L、 FeSO_4 8.0 g/L、pH 7.0), 而是位于中间区域(酵母膏 7.5 g/L、 FeSO_4 7.5 g/L、pH 6.5)。这一现象反映了 PB 设计的固有限制: PB 基于线性假设, 仅能识别主效应, 无法捕捉二次曲率或因素间交互作用; 而 RSM 通过二阶多项式

模型能够揭示变量与响应之间更真实的非线性关系。因此,即便某因素在 PB 中呈现正效应,其最优水平在 RSM 中仍可能位于设计空间中,以避免高浓度条件下可能出现的“过量抑制”或协同/拮抗效应。类似现象在多项研究中均有报道,例如 *Pseudomonas aeruginosa* IKW1 的糖脂肽优化中 PB 确认 Fe 的正效应,而 RSM 进一步揭示 Fe-Ni 交互及二次效应,使最优 Fe 浓度从 PB 的高水平降至 0.125 mg/L,产量提升 3.54 倍^[30];在 *Serratia* sp. EST4 的酯酶优化中, PB 筛选出的 pH 与蛋白胨虽呈正效应,但 RSM 中显著的 pH ($P < 0.0001$)和 pH-蛋白胨交互 ($P = 0.0085$)使最优条件定位于 pH 8.0 和蛋白胨 1.5%^[31]。这些结果共同强调了 PB 与 RSM 在工艺优化中的互补性:PB 适用于快速筛选关键变量,而 RSM 则通过捕捉非线性与交互作用精确定位最优条件,从而显著提升优化效率与目标产物产量。

已有研究表明,大多数来源于中温菌的脂肪酶最适反应温度集中在 30–45 °C,且在 50 °C 以上其酶活性或稳定性明显下降^[32–33]。相比之下,本研究中菌株 C24202 产生的脂肪酶在 60 °C 时仍表现出较高的酶活性,并在 50 °C 处理 6 h 后仍保留 50.70% 的残余活性,显示出更宽的有效作用温度范围和较强的热稳定性。该特性赋予其在餐厨垃圾高温处理过程中潜在的应用优势,既有利于加速油脂水解,也可降低高温条件下杂菌污染的风险。此外,菌株 C24202 产的脂肪酶展现出显著的耐热特性,该现象可能与其分泌的生物表面活性剂有关。已有研究表明,生物表面活性剂能够在 *Thermomyces lanuginosus* 脂肪酶周围形成保护性微环境,从而增强其热稳定性^[34]。Ortiz 等^[35]发现槐糖脂(一种典型的生物表面活性剂)能有效保护牛血清白蛋白免受热变性或展开的影响,使其在 70 °C 条件下仍能保持螺旋结构。

生物表面活性剂的乳化能力测定及红外光谱生化表征结果表明,C24202 的胞外聚合物

(EPS)中含有界面活性的成分。已有研究指出,EPS 中的生物表面活性剂可通过乳化脂质液滴促进油脂生物降解^[36]。在此基础上,对于同时产生脂肪酶与生物表面活性剂的菌株,其双重功能可能受群体感应机制的调控。例如在 *Burkholderia arboris* JYK2 中,当培养基仅含甘油时不表达脂肪酶,而在含脂肪酸的培养基中脂肪酶分泌被显著诱导^[37],与本研究中油脂诱导机制高度一致。进一步的 FTIR 分析结果提示,该界面活性物质可能为糖基化脂肽类化合物,此类分子由于同时具备肽链的构象稳定性与糖基的强亲水性,常表现出对高温、高盐等极端环境条件的良好耐受性^[38–39]。

已有研究表明,脂肪酶与生物表面活性剂在油脂代谢过程中存在协同增强效应,主要体现在 2 个方面:(1)在底物层面,生物表面活性剂能够降低油-水界面张力,将大油滴分散为稳定的小乳滴,使更多油脂分子暴露于界面,从而提高脂肪酶对底物的可及性并加速水解过程^[40–41];(2)在酶构象层面,生物表面活性剂可诱导或稳定脂肪酶的开放构象,促进界面激活,使油脂底物更高效地进入酶活性口袋,从而进一步提升水解效率^[42–43]。这种双重协同机制不仅揭示了脂肪酶与生物表面活性剂在油脂降解中的互补作用,也凸显了其在微生物驱动的油脂代谢与环境生物修复中的重要应用价值。本研究仅明确了菌株 C24202 具备脂肪酶分泌与生物表面活性剂活性,尚未直接验证其协同效应。未来研究将结合酶学实验、分子机制解析及实际废水体系验证,系统探索脂肪酶与生物表面活性剂在油脂降解过程中的潜在协同机制,以进一步揭示其作用规律,同时该研究将为高效微生物除油技术的开发提供理论支撑。

尽管嗜麦芽寡养单胞菌属中包含临床条件致病菌株,主要在免疫功能低下患者中引发机会性感染^[44]。然而,已有研究表明,其环境分离株在致病性及毒力因子组成方面通常表现出显著差异^[45–46],并在现有生物安全分级体系中

多被归入较低风险等级,提示其在合理管理条件下用于环境功能研究和工程化应用具有可行性。然而,针对其在规模化环境应用(如餐厨垃圾生物处理)中的潜在使用,仍有必要系统评估可能存在的生物安全隐患,包括对敏感人群的偶然暴露风险以及对本地微生物群落结构的潜在生态影响。未来研究可通过环境来源低毒力菌株的筛选、比较基因组学层面的风险基因识别、应用前风险评估与过程监测,以及结合基因编辑与合成生物学手段对潜在毒力相关基因进行精准调控并引入生物安全模块,在保障安全性的同时强化油脂降解等功能性状,从而推动该菌由“条件致病菌”向“安全高效细胞工厂”的可控转化^[47]。

4 结论

本研究从广西餐厨垃圾中分离得到一株具有双重功能的嗜麦芽寡养单胞菌 C24202,其核心特征在于可同步分泌耐热脂肪酶与生物表面活性剂,构成了比单一组分(脂肪酶或生物表面活性剂)更高效的胞外油脂降解系统。通过系统的发酵优化,将脂肪酶产量提升至 229.64 U/mL,较原始水平提高了 2.55 倍。该脂肪酶展现出了优异的工业酶属性,其最适作用温度为 60 °C,且在 50 °C 下处理 6 h 后仍能保留 50.70% 的酶活力,显示出很好的热稳定性。同时,研究证实该菌株所产的胞外聚合物具有显著的表面活性与乳化能力。综上所述,菌株 C24202 将耐热脂肪酶的催化功能与生物表面活性剂的乳化功能集于一体,这一“酶-乳化剂”协同系统使其在非均相油脂降解中具备独特优势。本研究不仅为餐厨垃圾等油脂废物的生物处理提供了一株极具潜力的微生物资源菌,其耐热脂肪酶的高效制备也为后续的酶学性质深入研究、分子机制解析及工业应用开发奠定了坚实基础。

作者贡献声明

田小东: 实验设计、完成和文章撰写; 张政: 项

目管理、论文框架构思及文章撰写; 蒙麒卉: 实验操作和数据整理; 陈佳彤: 菌株筛选和培养基配制; 贾梦缘: 样品采集与处理; 王申: 协助实验操作和数据复核; 黄处云: 结果记录、实验耗材准备; 陈宗霞: 数据整理、项目支持; 黄若凤: 协助数据整理、项目支持; 姜明国: 提出概念、获取基金、提供资源和审阅贡献。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 王越. 污水管道中油脂沉积物的形成机理及控制方法的研究进展[J]. 当代化工研究, 2018(3): 104-107.
Wang Y. Study on the formation of fat, oil and grease (FOG) deposits in sewer pipes[J]. Modern Chemical Research, 2018(3): 104-107 (in Chinese).
- [2] 寇梦倩. 生物质强化餐厨垃圾序批式堆肥过程溶解性有机质的特征[D]. 南充: 西华师范大学, 2023.
Kou MQ. Characteristics of dissolved organic matter in biomass enhanced kitchen waste sequential batch composting process[D]. Nanchong: China West Normal University, 2023 (in Chinese).
- [3] 刘婕. 除油菌的筛选鉴定及油脂废水处理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
Liu J. Study on screening and identification of oil degraded strains and treatment of oil wastewater[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010 (in Chinese).
- [4] 赵小斌. 处理餐厨垃圾的微生物筛选与复配的优化研究[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2022.
Zhao XB. Study on screening microbes and optimization of their formulation for treatment of food waste[D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2022 (in Chinese).
- [5] Sanghamitra P, Mazumder D, Mukherjee S. Treatment of wastewater containing oil and grease by biological method: a review[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2021, 56(4): 394-412.
- [6] De Medeiros ADM, da Silva CJG Jr, de Amorim JDP, Durval IJB, de Santana Costa AF, Sarubbo LA. Oily wastewater treatment: methods, challenges, and trends[J]. Processes, 2022, 10(4): 743.
- [7] Peng LY, Bao MD, Wang QF, Wang FC, Su HJ. The anaerobic digestion of biologically and physicochemically pretreated oily wastewater[J]. Bioresource Technology, 2014, 151: 236-243.
- [8] Javed S, Azeem F, Hussain S, Rasul I, Siddique MH, Riaz M, Afzal M, Kouser A, Nadeem H. Bacterial lipases: a review on purification and characterization[J]. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2018, 132: 23-34.
- [9] 侯兆伟, 李蔚, 乐建君, 金锐, 窦绪谋. 大庆油田微生物

- 采油技术研究及应用[J]. 油气地质与采收率, 2021, 28(2): 10-17.
- Hou ZW, Li W, Le JJ, Jin R, Dou XM. Research and application of microbial enhanced oil recovery technology in Daqing Oilfield[J]. *Petroleum Geology and Recovery Efficiency*, 2021, 28(2): 10-17 (in Chinese).
- [10] 邓婷婷, 柳远哲, 杨凌寒, 张东慧, 唐盛, 王强, 陈喜锋, 梁剑光. 一株来源于餐厨垃圾的高产脂肪酶菌株的筛选鉴定及其产酶条件优化[J/OL]. *中国油脂*, 2025: 1-14. (2025-03-04). <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.240701>.
- Deng TT, Liu YZ, Yang LH, Zhang DH, Tang S, Wang Q, Chen XF, Liang JG. Screening, identification, and enzyme production condition optimization of a high lipase-producing strain derived from kitchen waste[J/OL]. *China Oils and Fats*, 2025: 1-14. (2025-03-04). <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.240701> (in Chinese).
- [11] 林清钰. 餐厨易腐垃圾中油脂降解菌的筛选及竹粉联合堆肥微生物群落结构研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2024.
- Lin QY. Screening of grease-degrading bacteria in kitchen perishable wastes and study on the microbial community structure of bamboo powder co-composting[D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2024 (in Chinese).
- [12] 张传丽, 孙会刚, 崔珏, 陈学红, 高兆建, 唐兆成, 李同祥. 高产脂肪酶菌株的筛选及其酶学性质分析[J]. *食品科技*, 2019, 44(11): 30-35.
- Zhang CL, Sun HG, Cui J, Chen XH, Gao ZJ, Tang ZC, Li TX. Study on screening of a strain for high-yield lipase and its enzymatic properties[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(11): 30-35 (in Chinese).
- [13] 施添青, 赵卓群, 谢晓杰, 郑华宝. 一株产生表面活性剂油脂降解菌的分离及其特性研究[J]. *浙江农业学报*, 2025, 37(7): 1501-1511.
- Shi TQ, Zhao ZQ, Xie XJ, Zheng HB. Isolation and characterization of a biosurfactant production and oil-degrading bacteria strain[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2025, 37(7): 1501-1511 (in Chinese).
- [14] Shagufta SM, Dharani PV. Screening and isolation of bacteria producing biosurfactants from waste[J]. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 2022, 16(1): 567-577.
- [15] Damasceno FRC, Freire DMG, Cammarota MC. Assessing a mixture of biosurfactant and enzyme pools in the anaerobic biological treatment of wastewater with a high-fat content[J]. *Environmental Technology*, 2014, 35(16): 2035-2045.
- [16] Winkler UK, Stuckmann M. Glycogen, hyaluronate, and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1979, 138(3): 663-670.
- [17] Bergey DH. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. Lippincott Williams & Wilkins, 1994.
- [18] 辛佳慧. 沙福芽孢杆菌 β -甘露聚糖酶的发酵优化、重组表达及应用研究[D]. 济南: 济南大学, 2024.
- Xin JH. Fermentation optimization, heterologous expression and application of β -mannanase from *Bacillus safensis*[D]. Jinan: University of Jinan, 2024 (in Chinese).
- [19] Morikawa M, Daido H, Takao T, Murata S, Shimonishi Y, Imanaka T. A new lipopeptide biosurfactant produced by *Arthrobacter* sp. strain MIS38[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(20): 6459-6466.
- [20] Jadhav M, Kagalkar A, Jadhav S, Govindwar S. Isolation, characterization, and antifungal application of a biosurfactant produced by *Enterobacter* sp. MS16[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2011, 113(11): 1347-1356.
- [21] 李昱龙, 韩正敏. 嗜麦芽窄食单胞菌在环保和农业生产上的应用[J]. *生物技术通报*, 2015, 31(8): 35-43.
- Li YL, Han ZM. The application of *Stenotrophomonas maltophilia* in environmental remediation and agriculture[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(8): 35-43 (in Chinese).
- [22] Sakpuntoon V, Limtong S, Srisuk N. Lipase production by *Limtongozyma siamensis*, a novel lipase producer and lipid accumulating yeast[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33(11): 1531-1541.
- [23] Ilesanmi OI, Adekunle AE, Omolaiye JA, Olorode EM, Ogunkanmi AL. Isolation, optimization and molecular characterization of lipase producing bacteria from contaminated soil[J]. *Scientific African*, 2020, 8: e00279.
- [24] Akhter K, Karim I, Aziz B, Bibi A, Khan J, Akhtar T. Optimization and characterization of alkaliphilic lipase from a novel *Bacillus cereus* NC7401 strain isolated from diesel fuel polluted soil[J]. *PLoS One*, 2022, 17(8): e0273368.
- [25] Tao ZK, Yuan HB, Liu M, Liu Q, Zhang SY, Liu HL, Jiang Y, Huang D, Wang TF. Yeast extract: characteristics, production, applications and future perspectives[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33(2): 151-166.
- [26] Long ZD, Xu JH, Pan J. Significant improvement of *Serratia marcescens* lipase fermentation, by optimizing medium, induction, and oxygen supply[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2007, 142(2): 148-157.
- [27] Hasan-Beikdashti M, Foroootanfar H, Safiarian MS, Ameri A, Ghahremani MH, Khoshayand MR, Faramarzi MA. Optimization of culture conditions for production of lipase by a newly isolated bacterium *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2012, 43(5): 670-677.
- [28] Chen SJ, Yao FB, Pi ZJ, He L, Luo K, Li XM, Yang Q. Evaluating the role of salinity in enhanced biogas production from two-stage anaerobic digestion of food waste by zero-valent iron[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 351: 119911.
- [29] Karimirad R, Luo LW, Wong JWC. Enhancing methane production in anaerobic co-digestion of food wastes and sewage sludge: roles of different types of iron amendments[J]. *Waste Disposal & Sustainable Energy*, 2024, 6(4): 553-564.
- [30] Ekpenyong MG, Antai SP, Asitok AD, Ekpo BO. Plackett-Burman design and response surface optimization of medium trace nutrients for glycolipopeptide biosurfactant production[J]. *Iranian Biomedical Journal*, 2017, 21(4): 249-260.
- [31] Bhardwaj KK, Kumar R, Bhagta S, Gupta R. Optimization of culture conditions by response surface

- methodology for production of extracellular esterase from *Serratia* sp. EST-4[J]. Journal of King Saud University - Science, 2021, 33(8): 101603.
- [32] Gutarra MLE, Godoy MG, Maugeri F, Rodrigues MI, Freire DMG, Castilho LR. Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21): 5249-5254.
- [33] Rabbani G, Ahmad E, Ahmad A, Khan RH. Structural features, temperature adaptation and industrial applications of microbial lipases from psychrophilic, mesophilic and thermophilic origins[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 225: 822-839.
- [34] Madsen JK, Kaspersen JD, Andersen CB, Nedergaard Pedersen J, Andersen KK, Pedersen JS, Otzen DE. Glycolipid biosurfactants activate, dimerize, and stabilize *Thermomyces lanuginosus* lipase in a pH-dependent fashion[J]. Biochemistry, 2017, 56(32): 4256-4268.
- [35] Ortiz J, Marcelino PRF, Teruel JA, Aranda FJ, Ortiz A. Acidic sophorolipid biosurfactant protects serum albumin against thermal denaturation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(17): 8752.
- [36] Bai A J, Rai Vittal R. Quorum sensing regulation and inhibition of exoenzyme production and biofilm formation in the food spoilage bacteria *Pseudomonas psychrophile* PSPF19[J]. Food Biotechnology, 2014, 28(4): 293-308.
- [37] Huang JY, Chien MF, Bacosa HP, Inoue C. Production of lipase and extracellular polymeric substances by the lipid-degrading bacterium *Burkholderia arboris* strain JYK2 in response to different substrates[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2025, 41(6): 198.
- [38] Wang HD, Xiu JL, Huang LX, Yu L, Wu B. Study on the application potential of lipopeptide fermentation broth in oil recovery[J]. Energy Science & Engineering, 2022, 10(7): 2065-2075.
- [39] Wang B, Deng SY, Fu J, Qu RX, Lai FP, Dong H, Sun SS, She YH, Zhang F. Emulsification and oil flooding by high-temperature and high-salt tolerant *Geobacillus stearothermophilus* from Jiangnan oilfield[J]. Journal of Molecular Liquids, 2025, 439: 128947.
- [40] Zhang QQ, Xiong ZY, Sun L, Tian XW, Tian GW, Yang YM, Li X, Wang YH, Chu J. Effect of biosurfactant sophorolipids on *Rhizomucor miehei* lipase fermentation by *Aspergillus oryzae*[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2021, 8: 84.
- [41] Lu L, Rughöft S, Straub D, Joye SB, Kappler A, Kleindienst S. Rhamnolipid biosurfactants enhance microbial oil biodegradation in surface seawater from the north sea[J]. ACS ES&T Water, 2023, 3(8): 2255-2266.
- [42] Mateos-Diaz E, Amara S, Roussel A, Longhi S, Cambillau C, Carrière F. Probing conformational changes and interfacial recognition site of lipases with surfactants and inhibitors[M]//Enzymology at the Membrane Interface: Interfacial Enzymology and Protein-Membrane Binding. Amsterdam: Elsevier, 2017: 279-307.
- [43] Delorme V, Dhouib R, Canaan S, Fotiadu F, Carrière F, Cavalier JF. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition[J]. Pharmaceutical Research, 2011, 28(8): 1831-1842.
- [44] Brooke JS. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2012, 25(1): 2-41.
- [45] Ryan RP, Monchy S, Cardinale M, Taghavi S, Crossman L, Avison MB, Berg G, van der Lelie D, Dow JM. The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*[J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(7): 514-525.
- [46] Berg G, Martinez JL. Friends or foes: can we make a distinction between beneficial and harmful strains of the *Stenotrophomonas maltophilia* complex[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 241.
- [47] Alavi P, Starcher MR, Thallinger GG, Zachow C, Müller H, Berg G. *Stenotrophomonas* comparative genomics reveals genes and functions that differentiate beneficial and pathogenic bacteria[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 482.