

## 细菌在油水界面粘附的理论、特性及应用

彭开铭 王若菲 郭磊 朱颖婕 何天昱 刘佳 黄翔峰\*

(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:** 细菌在油水界面粘附主要应用于烷烃污染的环境修复、石油开采与加工、食品加工等方面, 其研究已经引起各界的广泛关注。本文基于 XDLVO 理论阐述细菌在油水界面的粘附机理; 总结细菌表面特性、油相及水相性质对细菌粘附的影响; 介绍细菌粘附作用在微生物驱油、生物乳化与破乳以及烷烃降解方面的应用, 并对今后的研究方向提出展望。

**关键词:** 细菌, 油水界面, 粘附, 影响因素

## Adhesion of bacteria to oil-water interface: mechanism, characteristics and application

PENG Kai-Ming WANG Ruo-Fei GUO Lei ZHU Ying-Jie HE Tian-Yu  
LIU Jia HUANG Xiang-Feng\*

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

**Abstract:** Adhesion of bacteria to an oil-water interface have been mainly applied to bioremediation of hydrocarbons pollution, oil exploitation and refining, food processing and etc. The related studies have aroused widespread interest among researchers. The paper firstly elucidates the mechanism of bacterial adhesion to oil-water interface, which is based on extended Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (XDLVO) theory, and then the effects of cell surface properties, oil phase and water phase on bacterial adhesion. Finally, it introduces a few applications of bacterial adhesion in Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR), bioemulsification, biodegradation, and biodegradation of hydrocarbons. The further research directions in this field are also proposed.

**Keywords:** Bacteria, Oil-water interface, Adhesion, Influencing factors

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 50908166); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(No. NCET-10-0629); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(No. 0400219208)

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

收稿日期: 2013-09-11; 接受日期: 2013-11-28; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-12-11

细菌粘附是菌体细胞或胞外物质聚集在某个界面形成生物膜,细菌粘附会造成水处理过程中的膜污染、食品加工中设备污染、加速金属腐蚀、形成牙周炎或蛀牙等负面影响<sup>[1]</sup>,但同时对环境生物治理、石油开采和炼制以及采矿等方面具有重要意义<sup>[2-3]</sup>。相对于细菌在固体表面粘附,细菌在油水界面的粘附在环境及工业应用中也得到广泛地关注,但同时研究难度也较大<sup>[4]</sup>。细菌在油水界面的粘附是指悬浮在水相的菌体自发地转移到油水界面。环境功能菌粘附在油水界面可降解烷烃等污染物<sup>[4]</sup>;采油微生物粘附到油水界面可提高原油的采收率<sup>[5]</sup>;生物破乳菌粘附在油水界面可促进原油乳状液破乳实现能源炼制和废水处理的双重效益<sup>[6]</sup>;此外,生物乳化菌粘附在油水界面可形成稳定的食品乳状液<sup>[7]</sup>。所以,对细菌在油水界面的粘附机制、影响因素以及应用领域的研究显得尤为必要。

## 1 细菌在油水界面的粘附理论

细菌胞体大小一般为 0.5–2.0  $\mu\text{m}$ ,可视为胶体<sup>[1]</sup>,因此在油水界面的粘附过程可以用 DLVO 胶体稳定理论来表征。在传统的 DLVO 理论中主要存在为范德华力和静电作用力(Electrical double bayer, EL)这两个相互制约的作用力。当细菌细胞在媒介中接近油表面时,能否粘附到界面取决于这两个作用力的相对优势。但传统的 DLVO 理论没有考虑短程路易斯酸碱作用,van Oss 提出 XDLVO 理论<sup>[8]</sup>将胶体颗粒之间相互作用分为非极性的利弗席兹-范德华力(Lifshitz-van der Waals interaction, LW),极性的路易斯酸碱电子作用(Lewis acid-base interactions, AB),以及静电作用力(EL)。XDLVO 理论可以解释粒子在亲疏水性表面的静电作用以及水合作用下产生的排斥,该方法作为拓展方法,已经可以成功预测大量无电荷胶体物质在水媒介中的相互作用力。但传统和拓展 DLVO 理论都假定相互作用粒子表面完全平滑,没有粗糙结构或者表面结构。实际上,细胞表面形成特殊的胞外结构,并表现出复杂的物理化学性质,使得粘附作用力的测定值和理论计算值相差较大,

这可能是细胞表面的聚合物与固体表面之间的相互架桥或位阻效应引起的<sup>[9]</sup>。位阻效应主要是在细菌粘附过程中,表面多聚物会占有一定的空间位置,从而阻碍细菌和油相表面的粘附<sup>[9]</sup>。架桥吸引作用是指当细菌表面聚合物足够长能够连接细菌到油相表面时,在聚合物和油相界面之间存在一定的短程氢键作用力,促进菌体粘附到油水界面。一般当细菌与油相界面距离较长时,架桥作用为主导;距离较短时,位阻效应为主导。

综上,DLVO 理论仅从范德华力和静电斥力的共同作用描述细菌在油水界面粘附,XDLVO 理论在此基础上考察了路易斯酸碱作用力的影响。然而细菌表面有复杂的物质结构,需在这些经典理论的基础上引入位阻效应和架桥作用,才能进一步描述细菌在油水界面实际粘附的微观过程。综上所述,细菌在油水界面的粘附作用可以用如下公式表达:

$$\Delta G_{bwo}^{TOT} = \Delta G_{bwo}^{LW} + \Delta G_{bwo}^{AB} + \Delta G_{bwo}^{EL} + \Delta G_{bwo}^{\text{位阻}} + \Delta G_{bwo}^{\text{架桥}} \quad (1)$$

## 2 细菌粘附的测定方法

相对于固体表面,细菌在油水界面粘附的原位测定比较难控制和表征。综合文献,细菌在油水界面粘附的常用方法有如下几种,其中应用较为广泛的是用显微镜观察细菌在油水界面的粘附状态。显微镜结合细菌染色可用于观察在乳状液中菌体粘附在水滴的表面及内部<sup>[10]</sup>,以及菌体在十六烷油滴上的单层吸附状态<sup>[11]</sup>。共聚焦显微镜能更清楚地表征乳化菌 *Rhodococcus opacus* 在 W/O 乳状液中水滴表面的粘附<sup>[12]</sup>,以及乳化菌在油滴表面均匀分布形成网状结构,从而形成稳定的乳状液<sup>[13]</sup>。Ly 等<sup>[7,14]</sup>则用荧光显微镜观察菌体在液滴表面的分布及相互作用。这些手段可以直观地表征菌体在油水界面的分布及对油水界面的影响。

微生物/细菌碳氢吸附能力(Microbial/Bacterial adhesion to hydrocarbons, MATH/BATH)是表征细菌在油水界面粘附量较为简单便捷的方法。将油相液体加入待测菌悬液中混合振荡使细菌粘附于油相或油水界面,用分光光度计测定粘附前

后菌悬液的光密度。碳氢吸附能力可用公式(2)计算<sup>[15]</sup>。

$$\text{MATH} = (1 - \frac{OD_{(\text{final})}}{OD_{(\text{initial})}}) \times 100\% \quad (2)$$

MATH 是综合表征细胞粘附性的指标,受到细胞疏水性、表面电荷以及细胞双分子层结构等共同决定,也受到溶液盐度、pH 值以及油相种类等影响。因此在测定过程中需明确具体条件。为了避免 MATH 测试过程中液滴对吸光度的影响,有的研究者直接用显微镜计数法代替吸光度测定<sup>[3]</sup>。此外,有的用 MATH 测试结果随混合时间的变化考察菌体在油水界面的粘附动力学<sup>[16-17]</sup>。MATH 值表征的是菌体从水溶液减少量的相对比例,这其中不仅仅包括细菌在油水界面的粘附,还包括菌体扩散到油相、粘附到管壁、聚集沉淀到管底等,所以该方法对细菌在油水界面的表征较为粗放。

近年来在细菌粘附的研究过程中,引入了更准确的表征方法,如石英晶体微天平(Quartz crystal microbalance, QCM)和原子力显微镜(Atomic force microscope, AFM)<sup>[18]</sup>。QCM 主要是通过测定细菌在石英晶体表面粘附或者脱附过程中振荡频率的变化来表征菌体在界面的粘附。Fredriksson 等<sup>[19]</sup>用石英晶体微天平结合显微镜观察测定了细胞在亲疏水界面的粘附差异。然而 QCM 技术目前受限于测定菌体细胞在固体表面的粘附,对细菌在油水界面的粘附测定还有待进一步开发。AFM 利用悬臂及探针可测定细胞表面的形貌和粘附力,悬臂上可修饰不同的化合物及细菌使其表面具有不同的亲疏水性,因此可应用于测定细菌在界面的粘附力<sup>[20]</sup>。Dorobantu 等<sup>[9]</sup>用修饰成亲水性或疏水性的 AFM 探针在水溶液中分别测定 *Acinetobacter venetianus* RAG-1 和 *Rhodococcus erythropolis* 20S-E1-c 细胞与探针的作用力与其距离的变化关系。疏水性探针在距离 RAG-1 细胞表面 50 nm 时,作用力达到最大约为 0.6 nN。可见 AFM 技术是模拟菌体在油水界面粘附过程中粘附力变化时比较合适的手段。

对菌体在油水界面粘附过程的表征,除了实验

测定,还可将实验结果与理论计算结合。根据 XDLVO 理论,通过测定菌体的接触角来计算利弗席兹-范德华和酸碱作用力<sup>[9]</sup>,并测定菌体及液体的 Zeta 电位计算静电作用力。接触角测量方法是指将菌体过滤到滤纸上形成菌体平面,后测定其对蒸馏水、甲酰胺和二碘甲烷滴加菌体表面的接触角<sup>[3,21]</sup>,再根据 Young 方程计算菌体的表面自由能,如公式(3-5)<sup>[17,22-23]</sup>。其中 i=蒸馏水,甲酰胺,二碘甲烷;b=细菌; $\theta$ 为接触角; $\gamma^{\text{LW}}$ 为非极性表面自由能, $\gamma^{\text{AB}}$ 为极性表面自由能, $\gamma^+$ 和 $\gamma^-$ 分别为电子受体和电子供体表面自由能参数。

$$\sqrt{\gamma_i^{\text{LW}}} \times \sqrt{\gamma_b^{\text{LW}}} + \sqrt{\gamma_i^+} \times \sqrt{\gamma_b^-} + \sqrt{\gamma_i^-} \times \sqrt{\gamma_b^+} = (1 + \cos \theta_i) \times \frac{\gamma_i}{2} \quad (3)$$

$$\gamma_b^{\text{AB}} = 2\sqrt{\gamma_b^+} \times \sqrt{\gamma_b^-} \quad (4)$$

$$\gamma_b = \gamma_b^{\text{LW}} + \gamma_b^{\text{AB}} \quad (5)$$

两种物质相互作用的非极性和极性自由能可根据 Good Girifalco-Fowkes 法则<sup>[24-25]</sup>等计算出,如公式(6, 7)。根据 Dupre 方程(公式 8)<sup>[26]</sup>推算出菌体从水相中粘附到油水界面的自由能  $\Delta G_{\text{bwo}}^{\text{LW}}$  和  $\Delta G_{\text{bwo}}^{\text{AB}}$ 。而粘附过程中静电作用自由能  $\Delta G_{\text{bwo}}^{\text{EL}}$  可通过测定细菌和油相的 Zeta 电位计算得出<sup>[27]</sup>。其中 b 表示菌体, w 表示水相, o 表示油相。综上,根据 XDLVO 理论,细菌在油水界面的粘附作用自由能可通过公式(1)计算,但其中架桥作用和位阻效应暂无明确的计算方法。

$$\gamma_{12}^{\text{AB}} = 2(\sqrt{\gamma_1^+ \gamma_1^-} + \sqrt{\gamma_2^+ \gamma_2^-} - \sqrt{\gamma_1^+ \gamma_2^-} - \sqrt{\gamma_2^+ \gamma_1^-}) \quad (6)$$

$$\gamma_{12}^{\text{LW}} = (\sqrt{\gamma_1^{\text{LW}}} - \sqrt{\gamma_2^{\text{LW}}})^2 \quad (7)$$

$$\Delta G_{\text{bwo}} = \gamma_{\text{bw}} - \gamma_{\text{bo}} - \gamma_{\text{wo}} \quad (8)$$

### 3 细菌胞体特性对粘附的影响

#### 3.1 表面性质对粘附的影响

细菌表面性质对细胞在油水界面粘附的影响作用较大,其中主要包括亲疏水性、电荷、表面张力、润湿性以及亲脂性等。在文献研究中主要以细胞疏水性和细胞电荷为主<sup>[28]</sup>。

细胞疏水性是控制细胞在油水界面粘附的重要因素之一,其主要驱动力是非极性细胞周围水分子内聚的氢键作用,即路易斯酸碱作用<sup>[1,26]</sup>。表征细胞疏水性的方法有很多,包括 MATH<sup>[15]</sup>、接触角<sup>[21]</sup>、聚苯乙烯微球粘附<sup>[29]</sup>、盐聚集测试<sup>[30]</sup>、疏水作用色谱法<sup>[31]</sup>以及微生物微球粘附<sup>[32]</sup>等。其中 MATH 和接触角是两种被广泛应用的方法,但是它们的相关性却很差<sup>[28]</sup>。接触角实验不存在碳氢吸附能力对测试过程的影响,能反映细胞的疏水性;但稳定接触角的测试方法难度较高,其中润湿性、接触时间、液滴大小都会影响接触角的测定<sup>[33]</sup>。对于细胞疏水性也可以用水化自由能和疏水作用自由能的指标表征。根据方程(3-7)计算出菌体的疏水水合作用能  $\Delta G_{iw}$  和疏水引力作用能  $\Delta G_{iwi}$ ,当  $\Delta G_{iw} > -113 \text{ mJ/m}^2$  或  $\Delta G_{iwi} < 0 \text{ mJ/m}^2$  时,表示菌体具有疏水性<sup>[26]</sup>。细菌的疏水性越强,在油水界面的粘附性也越强<sup>[34]</sup>。Liu 等<sup>[35]</sup>通过实验发现,当生物破乳菌 *Alcaligenes* sp.接触角为  $114.6^\circ$  时,78.4%的菌株粘附在碳氢化合物上。细菌和碳氢化合物之间存在静电作用力对粘附同样有显著影响<sup>[4]</sup>。当微生物细胞表面带有很高的负电荷时,其在正十六烷界面的粘附量显著降低;当 Zeta 电位接近零时,粘附量最大<sup>[28]</sup>。将带负电的细菌加入到带正电荷的液滴乳状液中,细菌在静电作用下可以直接粘附在乳状液的液滴上<sup>[7]</sup>。

### 3.2 表面物质对粘附的影响

细胞表面含有许多大分子物质如:蛋白、肽聚糖、磷壁酸、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)和枝菌酸等,这些物质使细菌表面具有与其他物质发生路易斯酸碱作用、静电作用以及疏水作用的性能,从而影响细菌粘附性<sup>[7]</sup>。同时,这些延伸在微生物细胞表面的大分子物质也可以通过位阻效应抑制细菌在油水界面的粘附<sup>[3]</sup>。

较多的研究表明细胞的粘附是依靠暴露在其表面的蛋白质以及由蛋白组成的鞭毛,而无鞭毛的变异株的粘附量则较少<sup>[36-37]</sup>。Hori 等<sup>[38]</sup>进一步研

究表明不带菌毛的 *Acinetobacter* sp.可在油水界面形成单细胞层,而带鞭毛的细胞在油水界面上易发生自聚现象。Liu 等<sup>[35]</sup>推测生物破乳菌 *Alcaligenes* sp.表面较高的蛋白含量使其表面疏水性增强,更有利于粘附到油水界面。革兰氏阴性菌表面的 LPS 已被证实可以调节细胞表面疏水性,从而影响细菌对油滴的粘附作用;具有光滑型 LPS 的菌体不受疏水性抗生素的影响,而具有粗糙型 LPS、突变 LPS 或没有 LPS 的菌体易受疏水性抗生素的影响,更易粘附在正十六烷界面<sup>[39-40]</sup>。菌体表面 EPS 的含量、物质组成及结构上的松紧都会影响其亲疏水性。有研究表明, EPS 会抑制 *Rhodococcus* 的粘附作用,而对于菌株 *Sphingobium* 和 *Micrococcus* 表面富含蛋白质的 EPS 几乎不影响菌体粘附于硅油<sup>[34,41]</sup>。细菌表面脂肪酸及脂肪酸酯类物质对菌体表面的疏水性及在油水界面的粘附也起着重要作用,其中脂肪酸的碳链长度和不饱和度是影响菌体碳氢吸附能力的关键物质<sup>[42]</sup>。枝菌酸存在于杆状细菌中,与细菌表面的疏水性有很大关系。在  $C_{27}-C_{54}$  范围内枝菌酸类物质是保持微生物细胞完整性和疏水性的关键,使细菌在油水界面发生作用促进乳状液破乳<sup>[43]</sup>。

## 4 细菌粘附的影响因素

### 4.1 油相对细菌粘附的影响

细菌在油水界面的粘附也受到不同油相种类的影响,包括碳链长短、有无苯环等。当烷烃碳链长度为  $C_{10}-C_{12}$  时,烷烃降解菌 *Rhodococcus erythropolis* 粘附在油水界面;当碳链长度大于 14 时,菌体转移到油相中;当碳链长度小于 10 时,菌体转移到水相中<sup>[17]</sup>。在十六烷中加入甲苯可增强细菌在油水界面的粘附量,促进细菌对油相的降解<sup>[3]</sup>;同样在七甲基壬烷水两相体系中加入十二烷醇可使菌体在油水界面的粘附量从 35%提高到 86%<sup>[44]</sup>。

### 4.2 水相对细菌粘附的影响

水相中的环境因素如离子强度、pH 值、表面活性剂及其他物质等都会影响细菌在油水界面的

粘附。向溶液中添加  $\text{Ca}^{2+}$ , 可促进带负电的菌体粘附到带正电的液滴<sup>[7]</sup>; 向溶液中加入 1.5 mol/L 的硫酸铵盐可使菌体的粘附量从 2% 显著提高至 90%<sup>[45]</sup>。Abbasnezhad 等<sup>[46]</sup>研究表明, 把菌悬液的离子强度从 10 mmol/L 调整至 250 mmol/L 时, *P. fluorescens* LP6a 在正十六烷界面的粘附率从 8% 提高至 30%。溶液的 pH 也是影响细菌粘附的重要因素之一, 不同 pH 条件下菌体在乳状液油水界面的粘附情况也不同<sup>[7]</sup>。多数化合物会抑制细菌的粘附性, 只有少数化合物会促进细菌粘附, 其中包括阳离子表面活性剂和醇类。阳离子表面活性剂可通过提高细菌表面的电荷密度来提高细菌在油水界面的粘附性; 而长链醇类改变细菌的疏水性来提高粘附, 两者均能使细菌粘附到正十六烷表面的粘附性从大约 30% 提高到 90%<sup>[46]</sup>。Goldberg 等<sup>[47]</sup>研究证明阳离子型表面活性剂氯化十六烷吡啶显著提高了细菌 *Escherichia coli*、*Candida albicans*、*Acinetobacter calcoaceticus* 在十六烷上的粘附量, 从接近 0 显著增加到 90% 以上。Caroline 等<sup>[3]</sup>研究表明, 原油乳状液中的沥青质和树脂可使烷烃液滴表面带来更多的正电荷, 但却降低了细菌在油水界面的粘附。这种现象无法从纯静电学的角度来解释, 可能的原因是位阻效应。

## 5 细菌在油水界面粘附的应用

细菌胞体粘附在油水界面, 可改变油水界面的性质, 在提高原油采收率、促进油水乳化、乳状液破乳以及烷烃降解等方面具有广泛的应用和研究价值。

驱油微生物由于具有较强的化学趋向性而在油水界面处富集粘附, 菌液浓度最高可达到  $10^9/\text{mL}$ , 尤其是在原油、空隙隙壁、水三相交界处; 并发生“在位繁殖”效应, 使原油的结合形式趋于松散, 提高了原油采收率<sup>[48-49]</sup>。同时细菌降解原油使其高碳链烃含量减少, 降低原油粘度, 并增加水中有机酸含量, 降低水的表面张力和油水间界面张力<sup>[50]</sup>。具有乳化性能的菌体细胞自身吸附在油水

界面, 虽不改变界面张力, 却能像固体颗粒一样稳定乳状液<sup>[51]</sup>。粘附到油水界面的细菌之间具有较强的作用力, 使其在油水面发生自聚, 形成稳定的界面层, 通过位阻效应从而抑制油滴聚并和形变, 形成稳定的 W/O 或者 O/W 乳状液<sup>[13]</sup>。相对于生物乳化, 生物破乳也是近年来研究的热点<sup>[52-53]</sup>。生物破乳菌 *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 粘附到油水界面, 通过顶替界面膜上的乳化剂, 架桥作用连接相邻乳状液液滴等, 使油水界面弹性降低、界面强度减弱、界面膜寿命变短, 从而界面膜破裂导致乳状液破乳<sup>[6]</sup>。大肠杆菌细胞粘附在油水界面与乳状液液滴相互作用也能使乳状液失去稳定性<sup>[54]</sup>。而细菌在油水界面的粘附作用可以使细菌能直接附着在油相表面, 增大了细菌与烷烃的接触机会和接触面积, 从而促进细菌对烷烃的降解。生物破乳菌 *Alcaligenes* sp. 在用液体石蜡培养时大多数菌体会从水相粘附到油水界面, 消耗油相而产生生物破乳剂<sup>[52]</sup>。细菌在油水界面的粘附可增强细菌在烷烃、大分子多环芳烃等非水相物质中的生长并提高对其降解的时间<sup>[4]</sup>。

## 6 结论与展望

细菌在油水界面粘附作用的研究在近十年来已有相当大的进展, 但在细菌油水界面粘附理论方面, 还需要在复杂的油、水、菌三相体系中建立准确而全面的粘附模型, 明确粘附过程中的各种作用力, 以揭示细菌在油水界面的粘附机制。在粘附过程的检测方法探索中, 还需引入更精确的测量手段, 如原子力显微镜、石英晶体微天平等技术手段, 更准确地表达菌体细胞在油水界面的粘附力与粘附量。细菌油水界面粘附的应用在实际的油水界面过程更为复杂, 探究多因素作用下细菌粘附效果的综合效应是将实验室成果应用到实际工程的重要环节。

## 参考文献

- [1] Hori K, Matsumoto S. Bacterial adhesion: from mechanism

- to control[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2010, 48(3): 424-434.
- [2] 贾春云, 李培军, 魏德洲, 等. 微生物在矿物表面吸附的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2010, 37(4): 607-613.
- [3] Warne Zoueki C, Ghoshal S, Tufenkji N. Bacterial adhesion to hydrocarbons: Role of asphaltenes and resins[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 79(1): 219-226.
- [4] Abbasnezhad H, Gray M, Foght JM. Influence of adhesion on aerobic biodegradation and bioremediation of liquid hydrocarbons[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 92(4): 653-675.
- [5] 吴柏志, 李宜强, 张琪, 等. PBS 菌的趋化性与提高原油采收率机理[J]. *油田化学*, 2004, 21(4): 372-375.
- [6] Wen Y, Cheng H, Lu L, et al. Analysis of biological demulsification process of water-in-oil emulsion by *Alcaligenes* sp. S-XJ-1[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(21): 8315-8322.
- [7] Ly MH, Aguedo M, Goudot S, et al. Interactions between bacterial surfaces and milk proteins, impact on food emulsions stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(5): 742-751.
- [8] Van Oss C. Acid-base interfacial interactions in aqueous media[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1993, 78(1): 1-49.
- [9] Dorobantu LS, Bhattacharjee S, Foght JM, et al. Analysis of force interactions between AFM tips and hydrophobic bacteria using DLVO theory[J]. *Langmuir*, 2009, 25(12): 6968-6976.
- [10] Watanabe H, Tanji Y, Unno H, et al. Rapid conversion of toluene by an *Acinetobacter* sp. Tol 5 mutant showing monolayer adsorption to water-oil interface[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2008, 106(3): 226-230.
- [11] Hori K, Hiramatsu N, Nannbu M, et al. Drastic change in cell surface hydrophobicity of a new bacterial strain, *Pseudomonas* sp. TIS1-127, induced by growth temperature and its effects on the toluene-conversion rate[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2009, 107(3): 250-255.
- [12] Honda K, Yamashita S, Nakagawa H, et al. Stabilization of water-in-oil emulsion by *Rhodococcus opacus* B-4 and its application to biotransformation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, 78(5): 767-773.
- [13] Dorobantu LS, Yeung AKC, Foght JM, et al. Stabilization of oil-water emulsions by hydrophobic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 6333-6336.
- [14] Ly MH, Naïtali-Bouchez M, Meylheuc T, et al. Importance of bacterial surface properties to control the stability of emulsions[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 112(1): 26-34.
- [15] Rosenberg M, Gutnick D, Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1980, 9(1): 29-33.
- [16] Lichtenberg D, Rosenberg M, Sharfman N, et al. A kinetic approach to bacterial adherence to hydrocarbon[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1985, 4(3): 141-146.
- [17] Iwabuchi N, Sharma PK, Sunairi M, et al. Role of interfacial tensions in the translocation of *Rhodococcus erythropolis* during growth in a two phase culture[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(21): 8290-8294.
- [18] Busscher HJ, Norde W, Sharma PK, et al. Interfacial re-arrangement in initial microbial adhesion to surfaces[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2010, 15(6): 510-517.
- [19] Fredriksson C, Kihlman S, Rodahl M, et al. The piezoelectric quartz crystal mass and dissipation sensor: a means of studying cell adhesion[J]. *Langmuir*, 1998, 14(2): 248-251.
- [20] Dorobantu LS, Gray MR. Application of atomic force microscopy in bacterial research[J]. *Scanning*, 2010, 32(2): 74-96.
- [21] Busscher H, Weerkamp A, Van der Mei H, et al. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984, 48(5): 980-983.
- [22] Sharma P, Hanumantha Rao K. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2002, 98(3): 341-463.
- [23] Bellon-Fontaine MN, Rault J, Van Oss C. Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1996, 7(1): 47-53.
- [24] Fowkes FM. Additivity of intermolecular-forces at interface determination of the contribution to surface and interfacial tensions of dispersion forces in various liquids[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1963, 67(12): 2538-2541.
- [25] Good RJ, Girifalco LA. A theory for estimation of surface and interfacial energies III estimation of surface energies of solids from contact angle data[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1960, 64(5): 561-565.
- [26] Van Oss CJ. *Interfacial Forces in Aqueous Media*[M]. Boca Raton: CRC press, 2006: 231-233.
- [27] Visser J. The adhesion of colloidal polystyrene particles to cellophane as a function of pH and ionic strength[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1976, 55(3): 664-677.
- [28] Chakraborty S, Mukherji S, Mukherji S. Surface hydrophobicity of petroleum hydrocarbon degrading *Burkholderia* strains and their interactions with NAPLs and surfaces[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 78(1): 101-108.
- [29] Rosenberg M. Bacterial adherence to polystyrene: a replica method of screening for bacterial hydrophobicity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 42(2): 375-377.
- [30] Lindahl M, Faris A, Wadström T, et al. A new test based on 'salting out' to measure relative hydrophobicity of bacterial cells[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1981, 677(3): 471-476.
- [31] Dillon JK, Fuerst JA, Hayward AC, et al. A comparison of five methods for assaying bacterial hydrophobicity[J].

- Journal of Microbiological Methods, 1986, 6(1): 13-19.
- [32] Zita A, Hermansson M. Effects of bacterial cell surface structures and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(3): 1168-1170.
- [33] Gallardo-Moreno AM, Navarro-Pérez ML, Vadillo-Rodríguez V, et al. Insights into bacterial contact angles: Difficulties in defining hydrophobicity and surface Gibbs energy[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011, 88(1): 373-380.
- [34] Iwabuchi N, Sunairi M, Anzai H, et al. Relationships among colony morphotypes, cell-surface properties and bacterial adhesion to substrata in *Rhodococcus*[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2003, 30(1): 51-60.
- [35] Liu J, Lu LJ, Huang XF, et al. Relationship between surface physicochemical properties and its demulsifying ability of an alkaliphilic strain of *Alcaligenes* sp. S-XJ-1[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(7): 1456-1461.
- [36] Baldi F, Ivošević N, Minacci A, et al. Adhesion of *Acinetobacter venetianus* to diesel fuel droplets studied with *in situ* electrochemical and molecular probes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(5): 2041-2048.
- [37] Rosenberg M, Bayer EA, Delarea J, et al. Role of thin fimbriae in adherence and growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1982, 44(4): 929-937.
- [38] Hori K, Watanabe H, Ishii Si, et al. Monolayer adsorption of a "bald" mutant of the highly adhesive and hydrophobic bacterium *Acinetobacter* sp. strain Tol 5 to a hydrocarbon surface[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(8): 2511-2517.
- [39] 杨帆, 杨秀荣. 脂多糖与生物分子的相互作用及动力学分析[J]. 分析化学, 2007, 35(5): 667-680.
- [40] Al-Tahhan RA, Sandrin TR, Bodour AA, et al. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(8): 3262-3268.
- [41] Zhang Y, Wang F, Yang X, et al. Extracellular polymeric substances enhanced mass transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in the two-liquid-phase system for biodegradation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 90(3): 1063-1071.
- [42] Huang XF, Li MX, Lu LJ, et al. Relationship of cell-wall bound fatty acids and the demulsification efficiency of demulsifying bacteria *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 cultured with vegetable oils[J]. Bioresource Technology, 2012, 104(1): 530-536.
- [43] 马挺, 梁凤来, 奚艳伟, 等. 红球菌 PR-1 菌株破乳性能研究[J]. 环境科学, 2006, 27(6): 1191-1195.
- [44] Abbasnezhad H, Foght JM, Gray MR. Adhesion to the hydrocarbon phase increases phenanthrene degradation by *Pseudomonas fluorescens* LP6a[J]. Biodegradation, 2011, 22(3): 485-496.
- [45] Saini G, Nasholm N, Dolan ME, et al. Application of salting-out agent to enhance the hydrophobicity of weakly hydrophobic bacterial strains[J]. Journal of Adhesion Science and Technology, 2011, 25(17): 2169-2182.
- [46] Abbasnezhad H, Gray MR, Foght JM. Two different mechanisms for adhesion of Gram-negative bacterium, *Pseudomonas fluorescens* LP6a, to an oil-water interface[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 62(1): 36-41.
- [47] Goldberg S, Konis Y, Rosenberg M. Effect of cetylpyridinium chloride on microbial adhesion to hexadecane and polystyrene[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(6): 1678-1682.
- [48] 景贵成, 刘福海, 郭尚平, 等. 微生物局部富集提高原油采收率机理[J]. 石油学报, 2004, 25(5): 70-74.
- [49] 郑承纲, 李洋, 胥洪成, 等. 烃降解型微生物强化水驱提高原油采收率微观机制研究[J]. 科技导报, 2009, 27(23): 26-31.
- [50] 雷光伦, 李希明, 陈月明, 等. 微生物对岩石表面及地层流体性质的影响[J]. 油田化学, 2001, 18(1): 71-75.
- [51] Kang Z, Yeung A, Foght JM, et al. Mechanical properties of hexadecane-water interfaces with adsorbed hydrophobic bacteria[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 62(2): 273-279.
- [52] Huang X, Peng K, Feng Y, et al. Separation and characterization of effective demulsifying substances from surface of *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 and its application in water-in-kerosene emulsion[J]. Bioresource Technology, 2013, 139: 257-264.
- [53] Mohebbi G, Kaytash A, Etemadi N. Efficient breaking of water/oil emulsions by a newly isolated de-emulsifying bacterium, *Ochrobactrum anthropi* strain RPI15-1[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012, 98: 120-128.
- [54] Li J, McClements DJ, McLandsborough LA. Interaction between emulsion droplets and *Escherichia coli* cells[J]. Journal of Food Science, 2006, 66(4): 570-657.