

## MATH 法表征环境微生物细胞表面疏水性的研究进展

黄翔峰 方正 黄薇 彭开铭 陆丽君 刘佳\*

(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:**环境微生物的细胞表面疏水性对其生长代谢过程以及在环境领域的应用效率具有重要影响。目前用于测试细胞表面疏水性最常用的方法是碳氢吸附能力(Microbial adhesion to hydrocarbons, MATH), 该方法因具有操作简便、有一定的准确度等优点在环境、生物工程、医学、食品等领域应用广泛。本文综述了 MATH 法在环境微生物领域中的污泥絮体性能表征、有机物降解、膜污染和破乳方面的应用, 同时介绍了 MATH 法在实验操作、计数方法和数据分析方面的优化。最后展望了该方法今后的研究方向。

**关键词:** 碳氢吸附能力, 疏水性, 环境微生物

## Recent progress on MATH characterizing the cell surface hydrophobicity of environmental microorganisms

HUANG Xiang-Feng FANG Zheng HUANG Wei PENG Kai-Ming  
LU Li-Jun LIU Jia\*

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

**Abstract:** The cell surface hydrophobicity of environmental microorganism has important influence on its metabolism during cell growth process, and had wide applications in the field of environmental biotechnology. Currently, microbial adhesion to hydrocarbon (MATH) was popularly employed for characterizing the cell surface hydrophobicity. This method was widely used in environmental remediation, bioengineering, medical and food processing field owing to its advantages of simplicity, convenience and accuracy. This paper reviewed recent studies of MATH applied in sludge characteristic, degradation of refractory organics, membrane fouling and biological demulsification. The modified studies on MATH were also introduced in operating factors, counting methods and data analysis. Finally, the future research prospect in this field was also proposed.

**Keywords:** Microbial adhesion to hydrocarbon, Hydrophobicity, Environmental microorganisms

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 51108333); 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(No. 2012ZX070101006-02); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(No. NCET-10-0629)

\*通讯作者: Tel: 86-21-65985792; ✉: liujia@tongji.edu.cn

收稿日期: 2014-05-10; 接受日期: 2014-06-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-10-14

微生物细胞表面理化性质对微生物的生长代谢过程至关重要,在微生物领域有关表面理化性质的研究正在逐渐增加。微生物细胞表面理化性质主要包括疏水性和表面带电性等。细胞表面疏水性(Cell-surface hydrophobicity, CSH)是微生物细胞最重要的理化性质之一,主要影响细菌非特异性吸附到生物或非生物表面以及界面。在环境微生物研究领域,微生物细胞表面的疏水性对生物絮凝、生物挂膜、污染物的吸附降解利用等过程有重要影响,同时还直接影响了环境微生物各种重要生物过程的效率,如生物降解、生物发酵和污水处理等。

目前微生物细胞表面疏水性的测试手段和方法有疏水作用色谱法<sup>[1]</sup>、盐聚集测试<sup>[2]</sup>、接触角测量<sup>[3]</sup>、聚苯乙烯微球吸附法<sup>[4]</sup>、微生物碳氢吸附能力(Microbial adhesion to hydrocarbons, MATH)<sup>[5]</sup>等,其中接触角测量和微生物碳氢吸附能力是最常用的两种方法。这两种方法对微生物进行测试的结果如表 1 所示,由表 1 的研究结果可知,MATH 与接触角表征同一种微生物细胞疏水性具有较好的相关性。相比于接触角测量,微生物碳氢吸附能力在

环境领域的应用更为广泛。MATH 自 Rosenberg<sup>[9]</sup>在 1980 年首次提出用于测试细菌细胞表面疏水性的研究以来,近三十年来取得了较大的进展,该方法在环境工程<sup>[10-13]</sup>、生物工程<sup>[14-17]</sup>、石油开采<sup>[18]</sup>、医学<sup>[19-20]</sup>、食品工程<sup>[21-23]</sup>等领域应用广泛。

相比于其他方法,MATH 方法有很明显的三大优点<sup>[9]</sup>: (1) 不需要特殊的设备仪器,只需要有振荡器和分光光度计就可以检测细胞表面的疏水性,并且实验结果具有一定的准确性; (2) 吸附到碳氢化合物表面的微生物能够通过显微镜观察到; (3) 使用 MATH 能够检测的对象比较广泛,不论是混合菌体或单一菌体,还是直接从自然界获得的样品都可以进行测试。除了应用于测试疏水性以外,MATH 还被修改应用于测试微生物吸附性<sup>[7]</sup>,测试微生物吸附碳氢化合物过程中不同特性作用力的有机溶剂吸附能力(Microbial adhesion to solvents, MATS)<sup>[24]</sup>,研究微生物细胞表面蛋白质和碳氢化合物相互作用来影响细胞在油水界面吸附的蛋白质吸附能力(Protein adhesion to hydrocarbons, PATH)<sup>[25]</sup>,还有被用于分离亲疏水性的微生物<sup>[18]</sup>。

表 1 MATH 和接触角表征微生物细胞表面疏水性实验结果的比较				
Table 1 The comparison of MATH and contact angle characterizing microbial cell surface hydrophobicity				
微生物种类	微生物碳氢吸附能力	接触角	结果	参考文献
Strain	MATH (%)	Contact angle measurement	Result	Reference
<i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1	78.4	114.6	MATH 与接触角结果相关性较好;破乳效果和细胞表面疏水性呈正相关关系	Liu 等(2011) <sup>[6]</sup>
<i>Pseudomonas fluorescenes</i> LP6a	18.3	39.7	MATH 与接触角结果相关性较差;菌体形成稳定乳状液能力随着 MATH 值升高而增强,与接触角结果没有明显相关性	Dorobantu 等(2004) <sup>[7]</sup>
<i>Rhizomonassu berifaciens</i> EB2-1a	55.0	50.3		
<i>Rhodococcus erythropolis</i> 20S-E1-c	80.3	152.9		
<i>Acinetobacter venetianus</i> RAG-1	95.7	56.4	MATH 与接触角结果相关性较好;细胞表面疏水性在细胞凝聚过程中起次要作用	Lau 等(2009) <sup>[8]</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	33.5	33.3		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> migA mutant	38.2	34.0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> wapR mutant	40.2	34.1		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> rmlC mutant	45.2	37.5		

## 1 MATH 方法原理

MATH方法的基本原理是微生物对碳氢化合物有一定的吸附性,通过分光光度计检测菌悬液在与液相碳氢化合物混合前后水相中细菌细胞浓度的变化。整个实验过程中碳氢化合物被振荡破碎成细小的液滴,随后一些微生物吸附到这些细小的液滴上并在静置的过程中随着液滴上升至试管顶部液滴凝聚实现相分离,微生物也从底部的水相中转移到油相中。

根据 XDLVO<sup>[26]</sup>理论, MATH 实验过程中微生物在油水界面的吸附过程中受静电斥力(Electrical double layer, EL)、非极性的利弗席兹-范德华力(Lifshitz-van der Waals interactions, LW)和极性的路易斯酸碱电子作用力(Lewis acid-base interactions, AB)共同作用。此外,微生物表面具有复杂的物质结构,在细菌吸附碳氢化合物的微观过程中,也要考虑位阻效应和架桥作用<sup>[27]</sup>。所以这个方法的整个过程受到细胞的疏水性、表面电荷以及细胞双分子层结构等共同决定,也受到油相种类和油水体积比、缓冲液离子浓度和 pH 等实验操作因素的影响。因此,采用 MATH 方法准确表征细胞表面疏水性因其影响因素的复杂性而具有一定难度。

## 2 MATH 在环境领域用于表征疏水性的应用

环境微生物技术在环境领域具有广泛的应用,目前关于环境微生物细胞表面疏水性的研究,在环境领域主要集中在污水处理中污泥絮体性能表征、难降解有机物降解、MBR 膜污染控制、乳状液破乳等方面。

### 2.1 污泥絮体性能表征

在污泥絮体性能的研究方面, MATH 可以用于测试好氧生物絮体中的微生物细胞疏水性,一般研究表明污泥中微生物表面的亲疏水性对污泥性能的影响十分显著。在研究不同亲疏水性微生物对好氧颗粒污泥形成的影响时,研究结果表明细胞表面疏水性对好氧颗粒污泥的形成起着重要的作用,并

且可能是某种疏水性特别强的微生物对好氧颗粒污泥的形成起着关键的作用<sup>[28]</sup>。在研究微生物细胞表面性能对活性污泥吸附效果的影响时,研究结果表明微生物细胞表面疏水性和接触时间对微生物吸附率有影响,在较短接触时间下疏水性是影响细菌对活性污泥吸附率的主要因素<sup>[29]</sup>。

### 2.2 难降解有机物的降解研究

在难降解有机物生物降解方面, MATH 常用来表征有机物降解菌细胞表面疏水性,一般研究表明微生物细胞表面疏水性与其降解有机物能力之间显著相关。在红球菌属 *Rhodococcus* sp. CN6 降解对硝基苯酚的研究中发现其细胞表面的强疏水性随着培养时对硝基苯酚浓度的升高而升高,这使得红球菌细胞在培养基中中毒性条件下具有较强的耐受能力。并且细胞表面的强疏水性有利于微生物有效的吸附在污染物表面,促进对硝基苯酚的降解<sup>[30]</sup>。在不同亲疏水性微生物对碳氢化合物降解能力差异性的研究中,疏水性菌种比亲水性菌种表现出更强的碳氢化合物降解能力,细胞表面疏水性和烷烃降解能力之间有着显著地相关性<sup>[31-32]</sup>。

### 2.3 膜污染控制研究

在膜污染控制研究方面, MATH 常用来表征 MBR 反应器中活性污泥的相对疏水性(Relative hydrophobicity, RH),研究其与膜污染之间的关系。在膜污染影响因素的研究中,有研究者使用改进的 MATH 方法<sup>[33]</sup>测试活性污泥的相对疏水性 RH,活性污泥的相对疏水性 RH 越高膜污染阻力越大, RH 和膜污染阻力之间有着显著地相关性。并且当 RH 较高时污泥颗粒之间以及污泥颗粒与膜丝之间更易发生疏水性作用,膜污染越严重<sup>[34]</sup>。同时有研究者发现污泥的相对疏水性与胞外多聚物(EPS)有关,不同亲疏水性膜片上污泥的相对疏水性不同,并且疏水性膜片上更易吸附蛋白质从而表现出较强的疏水性<sup>[35]</sup>。

### 2.4 乳状液破乳研究

在乳状液破乳研究方面, MATH 常用于表征破乳菌细胞表面疏水性,研究其与破乳菌的破乳能力

之间的关系。生物破乳菌的细胞表面疏水性和破乳能力密切相关，细胞表面疏水性是决定破乳能力强弱的重要因素。红球菌 *Rhodococcus* sp. PR-1 具有很强的细胞表面疏水性，这使得 PR-1 菌体对模型乳状液发挥了超强的破乳能力<sup>[36]</sup>。产碱杆菌 *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 的破乳能力(48 h)与其细胞表面疏水性具有显著地线性关系( $R^2=0.88$ )，说明破乳菌疏水性越强破乳效果越好<sup>[37]</sup>。

3 MATH 方法的改进与优化

MATH 方法在环境领域细胞表面疏水性的研究中取得了广泛的应用，然而在进行测试时，不同研究者所选的碳氢化合物种类、油水体积比以及缓冲液离子强度都有所不同，如表 2 所示，这给实验结果的分析 and 比较带来难度。同时，研究中也发现实验操作条件对实验结果影响较大、对亲水性微生物辨识度较差以及使用分光光度计测试振荡前后菌悬液浓度不准确等问题。针对以上两个问题，本文主要从 MATH 方法的操作条件、计数方法和数据分析这三方面来综述 MATH 改进的研究进展。

3.1 操作条件

MATH 方法操作时需先将菌体在与碳氢化合物振荡混合，然后静置直至水相和有机相完成分层。该过程中不仅包括细菌在油水界面的吸附，还包括菌体扩散到油相、吸附到管壁、聚集沉淀到管底等过程，所以该方法的实验操作条件仍需要优化。许

多研究也表明 MATH 的实验操作条件对疏水性结果具有显著影响，有大量的研究者对原始的 MATH 操作条件进行了改进并发现某些条件参数的改变能够很明显地影响实验结果。这些参数包括：实验试管的直径，水相的 pH 和缓冲液的离子浓度，温度，油相体积及种类等。Hori 等<sup>[38]</sup>研究发现实验前用酸洗涤玻璃仪器以及使用超纯水可减小细菌到管壁的吸附，并且提出改变有机相体积、水相离子浓度来影响细菌细胞在 MATH 实验过程中的吸附效果。研究发现在水相体积不变的情况下，MATH 实验结果随着上层有机相体积增加呈现先升高后降低的趋势；在比较纯水和离子浓度为 0.34 mol/L 溶液配制的菌悬液的 MATH 时发现，前者微生物细胞吸附到玻璃壁的数量明显减少。Bunt 等<sup>[39]</sup>研究了水相中的 pH，离子浓度对 MATH 测试的影响，发现较低的缓冲液 pH 值和高的离子浓度能够提高细菌细胞对碳氢化合物的吸附作用。从表 2 的实验数据中可以看出当缓冲液离子浓度从 0.5 mol/L 提高到 1.0 mol/L 时，MATH 实验结果从 78%升高至 90%。Huang 等<sup>[41]</sup>研究中用 MATH 测试生物破乳菌细胞表面疏水性，配制菌悬液采用磷酸盐缓冲溶液 (0.01 mol/L，pH 7.0)，这样使整个实验过程在一定的离子强度下进行，减少了静电力的影响，提高了疏水性对微生物吸附有机相的作用，使实验结果更准确地表征疏水性。

表 2 MATH 用于表征微生物细胞表面疏水性操作条件和实验结果						
Table 2 The operating factors of MATH characterizing microbial cell surface hydrophobicity and results						
微生物种类 Strain	油水体积比 Volume ratio	缓冲液离子强度 Ionic strength (mol/L)	碳氢化合物 Hydrocarbon	计数方法 Counting method	结果 Result (%)	参考文献 Reference
<i>Acinetobacter</i> sp. strain Tol 5	0.01–1.00	0.34	十六烷	分光光度法	40–80	Hori 等 (2008) <sup>[38]</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29214	0.08	0.50	二甲苯	分光光度法	32	Bunt 等 (1993) <sup>[39]</sup>
		1.00	二甲苯	分光光度法	56	
<i>Pseudomonas putida</i> F1G4	0.06	0.02	十六烷	分光光度法	–5	Zoueki 等 (2010) <sup>[40]</sup>
			十六烷	Helber 计数法	38	
			十六烷、甲苯等体积混合液	分光光度法	17	
			十六烷、甲苯等体积混合液	Helber 计数法	74	

综上所述,在使用 MATH 表征细胞表面疏水性时,为了确保实验结果的准确性,需要注意以下三点:一是有机相和水相体积比应设定在一个合适的范围,使得振荡时上层有机相能够充分分散成细小液滴,静置分层时上层这些小液滴能够融合;二是在选择有机相种类时,要选择不会改变所测试微生物表面性质的有机相物质;三是在选用配置菌悬液所用的缓冲液方面,应采用一定离子浓度的溶液。

### 3.2 计数方法

除实验操作条件上的改进,研究者尝试了将 MATH 方法与其他手段相结合进行计数以得到更为精确的实验结果<sup>[42]</sup>。例如直接使用细胞计数法<sup>[38]</sup>取代分光光度计测试水相中细胞个数和吸附到碳氢化合物液滴上的细胞个数。最近也有研究中使用共聚焦显微镜(Confocal laser scanning microscopy, CLSM)对微生物吸附到油水界面的过程进行实时可视观察<sup>[43-45]</sup>,检测菌悬液与上层的碳氢化合物混合前后菌体数量的改变,从而减少其他因素对实验结果的干扰。还有研究者如 Zoueki 等<sup>[40]</sup>在 MATH 测试中将吸光度测菌体浓度替换为使用一种 Helber 计数装置,具体操作是在涡流振荡后使用巴斯德移液管将底部的水相转移到 Helber 细胞计数室,这种细胞计数室会形成计数网格线,通过显微镜观察网格线里的细菌细胞数量,显微镜观察下的碳氢化合物液滴和细菌细胞差别很明显,这样表征水相中细菌细胞数量和传统 MATH 中使用分光光度计相比就较为准确。表 2 中的数据可以看出,当使用 Helber 计数法代替分光光度计来表征细胞浓度时,有效地避免了菌悬液中有机相液滴对实验结果的干扰。在一般 MATH 测试中,振荡以后水相中会存在稳定或者半稳定的油相液滴。这些油相液滴之间因存在微弱的范德华力,并且这些液滴吸附水相中的氢氧根离子等其他阴离子使得这些液滴稳定存在。此外,测试中的菌体和非生物的胶体颗粒也使得这些油相液滴更稳定。这些油相液滴的存在直接影响实验结果的准确性。因此,使用传统分光光度法测量水相中的菌体细胞浓度会存在不可避免的误差。为获

得更为准确的实验结果应该采用上述材料中直接细胞计数的方法。

### 3.3 数据处理

传统 MATH 方法的数据处理一般是将油水两相分离后,通过计算底层水相细胞密度减少的百分比来表征疏水性。虽然这种方法很快就能获得实验结果,但这样处理数据需要建立在 MATH 方法具有统一标准的操作条件上,从上文可知 MATH 方法中实验的操作条件对实验结果的影响较为显著。在被测试微生物种类疏水性差别较大时,传统 MATH 方法能够有效的表现出差异;在测试疏水性只有细微差别的微生物菌种时,传统 MATH 的结果往往比较模糊。所以使用单一的细胞密度减少百分比来表征疏水性方法得到的实验结果偏差性就比较大。针对这一问题,目前有研究者提出了动态 MATH 方法<sup>[46]</sup>,通过多次不同条件实验结果的数据处理来消除其他因素的干扰。其中一种方法是通过测试不同振荡时间下的 MATH 值,由于实验结果是时间的指数型函数,所以通过作水相中剩余微生物细胞数量比例的对数( $\log[A_t/A_0 \times 100]$ )和时间的函数就得到一条直线,这条直线的斜率定义为初始分配率  $R_0$  ( $\text{min}^{-1}$ )<sup>[47-48]</sup>用于表征疏水性。还有研究者提出了另一种动态 MATH 方法<sup>[38]</sup>,这种方法是通过测试不同菌悬液浓度下的 MATH 值。实验结果使用 Langmuir 吸附等温式:

$$Y = \frac{Y_{\max} aX}{1 + aX} \quad (1)$$

其中  $Y$  代表吸附到烷烃液滴中细胞的数量 ( $\text{cells}/\text{mm}^2$ ),  $X$  是底层水相中微生物细胞浓度 ( $\text{cells}/\text{mL}$ ),  $a$  为常数。将实验数据代入公式就可以得出  $a$  和  $Y_{\max}$  的值。 $Y_{\max}$  代表被测微生物细胞表面疏水性。

## 4 结论与展望

MATH 用于表征细胞表面疏水性具有实验条件简便、实验结果较为准确的优点,目前广泛应用于环境领域用以表征微生物表面的疏水性。在使用 MATH 测试微生物细胞表面疏水性时,应选择合适

的油水体积比、不影响菌体性质的有机相和具有一定离子浓度的缓冲液。在计数方法上,将分光光度法与细胞计数法、共聚焦显微镜等技术结合表征实验结果则更为准确。此外,采用动态 MATH 法能更准确地表征微生物疏水性之间的差异。随着环境微生物表面物质和特性的研究技术不断革新,将 MATH 结合其他检测设备或方法应用于测试其他微生物表面疏水性,揭示微生物与不同界面之间的作用过程可能是 MATH 未来的发展方向。

## 参 考 文 献

- [1] Dillon JK, Fuerst JA, Hayward AC, et al. A comparison of five methods for assaying bacterial hydrophobicity[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1986, 1(6): 13-19
- [2] 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, 3(677): 471-476
- [3] 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, 5(48): 980-983
- [4] Rosenberg M. Bacterial adherence to polystyrene: a replica method of screening for bacterial hydrophobicity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 2(42): 375-377
- [5] Rosenberg M, Gutnick D, Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1980, 1(9): 29-33
- [6] 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, 7(46): 1456-1461
- [7] Dorobantu LS, Yeung AK, Foght JM, et al. Stabilization of oil-water emulsions by hydrophobic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 10(70): 6333-6336
- [8] Lau PCY, Lindhout T, Beveridge TJ, et al. Differential lipopolysaccharide core capping leads to quantitative and correlated modifications of mechanical and structural properties in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 21(191): 6618-6631
- [9] Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 2(262): 129-134
- [10] Petrovski S, Dyson ZA, Quill ES, et al. An examination of the mechanisms for stable foam formation in activated sludge systems[J]. *Water Research*, 2011, 5(45): 2146-2154
- [11] Djeridi I, Milton C, Grossi V, et al. Evidence for surfactant production by the haloarchaeon *Haloferax* sp. MSNC14 in hydrocarbon-containing media[J]. *Extremophiles*, 2013, 4(17): 669-675
- [12] Abbasnezhad H, Foght JM, Gray MR. Adhesion to the hydrocarbon phase increases phenanthrene degradation by *Pseudomonas fluorescens* LP6a[J]. *Biodegradation*, 2011, 3(22): 485-496
- [13] Toussaint JP, Pham TTM, Barriault D, et al. Plant exudates promote PCB degradation by a rhodococcal rhizobacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 6(95): 1589-1603
- [14] Mukherjee J, Karunakaran E, Biggs CA. Using a multi-faceted approach to determine the changes in bacterial cell surface properties influenced by a biofilm lifestyle[J]. *Biofouling*, 2012, 1(28): 1-14
- [15] Kavita K, Mishra A, Jha B. Extracellular polymeric substances from two biofilm forming *Vibrio* species: characterization and applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 2(94): 882-888
- [16] 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, 17(25): 2169-2182
- [17] de Carvalho CC, Wick LY, Heipieper HJ. Cell wall adaptations of planktonic and biofilm *Rhodococcus erythropolis* cells to growth on C5 to C16 n-alkane hydrocarbons[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 2(82): 311-320
- [18] Kryachko Y, Dong X, Sensen CW, et al. Compositions of microbial communities associated with oil and water in a mesothermic oil field[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2012, 3(101): 493-506
- [19] Djeribi R, Boucherit Z, Bouchloukh W, et al. A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 102: 540-545
- [20] Tahmourespour A, Kasra KR, Salehi R, et al. The relationship between cell surface hydrophobicity and antibiotic resistance of streptococcal strains isolated from dental plaque and caries[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2008, 10: 251-255
- [21] van Holle A, Machado MD, Soares EV. Flocculation in ale brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*: re-evaluation of the role of cell surface charge and hydrophobicity[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 3(93): 1221-1229
- [22] Wang HH, Ye KP, Zhang QQ, et al. Biofilm formation of meat-borne *Salmonella enterica* and inhibition by the cell-free supernatant from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Food Control*, 2013, 2(32): 650-658
- [23] Sedlackova P, Cеровsky M, Horsakova I, et al. Cell surface characteristic of *Asaia bogorensis*-spoilage microorganism of bottled water[J]. *Czech Journal of Food Science*, 2011, 4(29): 457-461
- [24] 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, 1(7): 47-53
- [25] van der Mei H, Meijer S, Busscher H. Electrophoretic mobilities of protein-coated hexadecane droplets at different pH[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1998, 1(205): 185-190
- [26] van Oss C. Acid-base interfacial interactions in aqueous media[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1993, 78: 1-49
- [27] Peng KM, Wang RF, Guo L, et al. Adhesion of bacteria to oil-water interface: mechanism, characteristics and application[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(7): 1-7 (in Chinese)
- [28] Guo F, Zhang SH, Yu X, et al. Variations of both bacterial community and extracellular polymers: the inducements of increase of cell hydrophobicity from biofloc to aerobic granule sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 11(102): 6421-6428

- [29] Sun XY, Shi HC, Quan XC, et al. Factors influencing bacterial cell-surface hydrophobicity and bacterial adhesion ratio to activated sludge flocs[J]. Environmental Science, 2008, 10(29): 2809-2814 (in Chinese)  
孙晓莹, 施汉昌, 全向春, 等. 细菌细胞表面疏水性及在活性污泥中粘附率影响因素研究[J]. 环境科学, 2008, 10(29): 2809-2814
- [30] Zhang J, Sun Z, Li Y, et al. Biodegradation of *p*-nitrophenol by *Rhodococcus* sp. CN6 with high cell surface hydrophobicity[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 2(163): 723-728
- [31] Obuekwe C, Al-Jadi Z, Al-Saleh E. Comparative hydrocarbon utilization by hydrophobic and hydrophilic variants of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 6(105): 1876-1887
- [32] Obuekwe CO, Al-Jadi ZK, Al-Saleh ES. Hydrocarbon degradation in relation to cell-surface hydrophobicity among bacterial hydrocarbon degraders from petroleum-contaminated Kuwait desert environment[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2009, 3(63): 273-279
- [33] Chang IS, Lee CH. Membrane filtration characteristics in membrane-coupled activated sludge system-the effect of physiological states of activated sludge on membrane fouling[J]. Desalination, 1998, 3(120): 221-233
- [34] Meng FG, Zhang HM, Yu LS, et al. Effect of activated sludge properties on short-term membrane fouling in submerged membrane bioreactor based on statistical analysis[J]. Environmental Science, 2006, 7(27): 1348-1352 (in Chinese)  
孟凡刚, 张捍民, 于连生, 等. 活性污泥性质对短期膜污染影响的解析研究[J]. 环境科学, 2006, 7(27): 1348-1352
- [35] Wang XM, Liu Y, Hua ZH, et al. Effect of extracellular polymeric substances in SBR on membrane filtration[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 12(25): 1602-1607 (in Chinese)  
王雪梅, 刘燕, 华志浩, 等. 胞外聚合物对浸没式膜-生物反应器膜过滤性能的影响[J]. 环境科学学报, 2005, 12(25): 1602-1607
- [36] Ma T, Liang FL, Xi YW, et al. Performance of demulsification by *Rhodococcus* sp. PR-1[J]. Environmental Science, 2006, 6(27): 1191-1196 (in Chinese)  
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, 6(27): 1191-1196
- [37] 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: 530-536
- [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, 8(74): 2511-2517
- [39] Bunt CR, Jones DS, Tucker IG. The effects of pH, ionic strength and organic phase on the bacterial adhesion to hydrocarbons (BATH) test[J]. International Journal of Pharmaceutics, 1993, 2(99): 93-98
- [40] Zoueki CW, Tufenkji N, Ghoshal S. A modified microbial adhesion to hydrocarbons assay to account for the presence of hydrocarbon droplets[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 2(344): 492-496
- [41] Huang XF, Peng KM, 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
- [42] Abbasnezhad H, Gray M, Foght JM. Influence of adhesion on aerobic biodegradation and bioremediation of liquid hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 4(92): 653-675
- [43] Seo Y, Bishop PL. Influence of nonionic surfactant on attached biofilm formation and phenanthrene bioavailability during simulated surfactant enhanced bioremediation[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 20(41): 7107-7113
- [44] Power L, Itier S, Hawton M, et al. Time lapse confocal microscopy studies of bacterial adhesion to self-assembled monolayers and confirmation of a novel approach to the thermodynamic model[J]. Langmuir, 2007, 10(23): 5622-5629
- [45] Rodrigues A, Wuertz S, Brito A, et al. Three-dimensional distribution of GFP-labeled *Pseudomonas putida* during biofilm formation on solid PAHs assessed by confocal laser scanning microscopy[J]. Water Science and Technology, 2003, 5(47): 139-142
- [46] Lichtenberg D, Rosenberg M, Sharfman N, et al. A kinetic approach to bacterial adherence to hydrocarbon[J]. Journal of Microbiological Methods, 1985, 3(4): 141-146
- [47] van der Mei H, de Vries J, Busscher H. Hydrophobic and electrostatic cell surface properties of thermophilic dairy streptococci[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 12(59): 4305-4312
- [48] 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, 21(43): 8290-8294