

# 改性竹炭对正己烷生物降解过程的强化机理

许宇虹<sup>1</sup>, 范红叶<sup>1</sup>, 郑燊鹏<sup>1</sup>, 王泽宇<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>浙江树人学院, 生物与环境工程学院, 浙江 杭州

<sup>2</sup>浙江树人学院, 交叉科学研究院, 浙江 杭州

收稿日期: 2022年2月18日; 录用日期: 2022年3月18日; 发布日期: 2022年3月24日

## 摘要

正己烷作为重要的工业原料被广泛应用, 但其会对人体健康和大气环境造成严重危害。微生物技术凭借反应条件温和、环境友好、运行费用低和操作简单等优点越来越受到关注, 但正己烷的超强疏水性导致了生物法难以高效去除正己烷。本文研究了一种双金属改性竹炭(Fe-Pd/BC), 并将其应用于正己烷的生物降解。实验结果表明, 在Fe-Pd/BC投加浓度为 $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 浓度 $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH 7.7、温度 $35^\circ\text{C}$ 条件下,  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的正己烷去除率在35 h可达94.63%。此外, 在Fe-Pd/BC存在的情况下, 与对照组相比, 细胞疏水性从22.61%提高至45.78%, 胞外蛋白质含量从 $38.14 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 提高至 $46.27 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 细胞表面zeta电位从 $-14.7 \text{ mV}$ 降低至 $-18.4 \text{ mV}$ 。进一步的实验表明, Fe-Pd/BC可以通过参与细菌生长、提高zeta电位绝对值、暴露大量蛋白质疏水基团、增加CSH来提高正己烷的生物降解效率。本研究的结论证实通过添加Fe-Pd/BC来提高微生物降解效果是一种很有前景的正己烷废气治理技术。

## 关键词

正己烷, NX-1, Fe-Pd/BC, 疏水性, 胞外聚合物

# Mechanism of Biodegradation of N-Hexane by Bamboo Charcoal

Yuhong Xu<sup>1</sup>, Hongye Fan<sup>1</sup>, Shengpeng Zheng<sup>1</sup>, Zeyu Wang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou Zhejiang

<sup>2</sup>Interdisciplinary Research Academy, Zhejiang Shuren University, Hangzhou Zhejiang

Received: Feb. 18<sup>th</sup>, 2022; accepted: Mar. 18<sup>th</sup>, 2022; published: Mar. 24<sup>th</sup>, 2022

\*通讯作者。

文章引用: 许宇虹, 范红叶, 郑燊鹏, 王泽宇. 改性竹炭对正己烷生物降解过程的强化机理[J]. 自然科学, 2022, 10(2): 175-182. DOI: [10.12677/ojns.2022.102022](https://doi.org/10.12677/ojns.2022.102022)

## Abstract

N-hexane is widely used as an important industrial raw material, but it will cause serious harm to human health and atmospheric environment. Microbial technology has attracted more and more attention because of its mild reaction conditions, friendly environment, low operation cost and simple operation. However, the super hydrophobicity of n-hexane makes it difficult for biological method to remove n-hexane efficiently. A bimetallic modified bamboo charcoal (Fe-Pd/BC) was studied and applied to the biodegradation of n-hexane. The experimental results show that under the conditions of Fe-Pd/BC concentration of  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4^+$  concentration of  $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7.7 and temperature of  $35^\circ\text{C}$ , the removal rate of n-hexane of  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  could reach 94.63% in 35 h. In addition, in the presence of Fe-Pd/BC, compared with the control group, the cell hydrophobicity increased from 22.61% to 45.78%, and the content of extracellular protein increased from  $38.14 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  to  $46.27 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . The cell surface potential decreased from  $-14.7 \text{ mV}$  to  $-18.4 \text{ mV}$ . Further experiments show that Fe-Pd/BC could improve the biodegradation efficiency of n-hexane by participating in bacterial growth, increasing the absolute value of zeta potential, exposing a large number of protein hydrophobic groups and increasing CSH. The conclusion of this study confirmed that adding Fe-Pd/BC to improve the microbial degradation effect is a promising n-hexane waste gas treatment technology.

## Keywords

N-Hexane, NX-1, Fe-Pd/BC, Hydrophobicity, Extracellular Polymer

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

挥发性有机化合物(Volatile organic compounds, VOCs)的产生和排放对生态环境和人类健康具有广泛的不良影响。正己烷是 VOCs 的一种, 作为重要的工业原料被广泛应用, 其水溶性较低, 比甲苯、苯等难溶性挥发有机物更难溶于水[1]。处理正己烷废气常用的方法有燃烧法、溶液吸附法、膜分离法、生物法等[2]。

与一般的物理、化学技术相比, 微生物技术凭借反应条件温和、环境友好、运行费用低和操作简单等优点脱颖而出, 受到国内外学者的广泛关注[3]。然而, 正己烷疏水性的特点对传统的生物法具有极大的限制, 也是导致生物可降解性较差的主要原因。增加微生物对疏水性正己烷的捕获能力是解决生物可生化性较差的关键[4]。

细胞表面疏水性(Cell surface hydrophobicity, CSH)是微生物的一个重要的特性, 不但决定了细菌黏附到非生物表面和界面的情况, 而且也显著影响了微生物对疏水性化合物的降解效率[5]。尽管正己烷在水中的溶解度很低, 但细菌可利用 CSH 与正己烷通过疏水-疏水相互作用进行粘附[6]。疏水-疏水相互作用被认为是非极性基团自发聚集的趋势, 以使其与水分子的接触最小化, 这些相互作用是加快细胞与 VOCs 进行物质传递的主要原因[7]。因此, CSH 可促进细胞与 VOCs 的相互作用, 并进一步充当细胞在亲水性液相中进行物质交换的触发力。

有学者观察到, 在微生物降解正己烷的过程中通过添加竹炭(Bamboo charcoal, BC)可以增强正己烷的

代谢能力, 而 Pd-Fe 负载后的 BC 可将细菌外膜关键蛋白酶置于疏水环境中, 促进了微生物对正己烷的亲合力[8]。*Pseudomonas mendocina* NX-1 是在之前的研究中从废水污泥中分离出来的, 它可以利用正己烷作为细菌生长和代谢的唯一碳源。本文拟研究 Fe-Pd/BC 对菌株 NX-1 降解正己烷性能的影响, 主要研究以下内容: 1) Fe-Pd/BC 对菌株 NX-1 降解正己烷性能的影响; 2) Fe-Pd/BC 对菌株 NX-1 表面疏水性的影响; 3) 以表面疏水性为重点, Fe-Pd/BC 对微生物降解正己烷影响的机理。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 试剂

Luria-Bertani 液体培养基主要成分: 酵母提取物  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 氯化钠  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 蛋白胨  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (pH 7.0)。最小培养基(MM)溶液如下:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$   $4.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   $2.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CaCl}_2$   $0.023 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 微量元素 1 mL。微量元素主要成分:  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$   $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$   $0.014 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$   $0.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $0.02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$   $0.02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 $\text{R}_2\text{A}$  琼脂培养基主要成分: 酵母提取物  $0.50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 蛋白胨  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 丙酮酸钠  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 葡萄糖  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 可溶性淀粉  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $0.30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。所有试剂均购自阿拉丁, 纯度为分析纯。

### 2.2. BC 与菌株来源

本实验中使用的 BC 粉购自浙江江山绿意竹炭有限公司。通过共沉淀法将 Fe-Pd 负载于 BC 表面以完成对 BC 的改性: 2 g 竹炭加入硫酸亚铁盐溶液( $7.5 \text{ g FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 200 mL 去离子除氧水)中置于磁力搅拌器上, 超声处理 20 min, 少量多次加入 2.5 g  $\text{NaBH}_4$  和 0.15 g  $\text{K}_2\text{PdCl}_6$ 。烘箱干燥处理 24 h 后, 去离子水洗涤 3 次后再次烘干得到 Fe-Pd/BC 样品。

所选微生物从浙江省某制药厂废水处理池的活性污泥中筛选分离出来, 保藏在中国典型培养物保藏中心(CCTCC, 武汉, 中国; CCTCC 编号 M2015114)中。*Pseudomonas mendocina* NX-1 用  $\text{R}_2\text{A}$  培养基活化后接种于 MM 培养基( $30^\circ\text{C}$ ,  $160 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 光密度( $\text{OD}_{600}$ )为 0.6。将 5 mL 细胞悬浮液和 5 mg BC-Fe/Pd 在 100 mL MM 中与正己烷混合后转移至 150 mL 锥形瓶中。

### 2.3. 表征与分析方法

通过扫描电子显微镜(SEM, Hitachi, S-570)对 Fe-Pd/BC 和菌株 NX-1 进行了表征。

通过气相色谱仪 GC (Agilent 6890, USA)分析正己烷的浓度。HP-INNOWAX 毛细管柱(长 30 m, 内径 0.32 mm, 膜厚  $0.5 \mu\text{m}$ )用于分离。载气(氦气)流速为  $2.1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。操作条件如下: 火焰离子化检测器(FID); 温度:  $300^\circ\text{C}$ ; 分流比: 3:1; 烘箱温度:  $80^\circ\text{C}$ ; 入口温度:  $300^\circ\text{C}$ ; 进样量: 1 mL。

胞外聚合物(Extracellular polymeric substance, EPS)的测量: 将样品在  $4^\circ\text{C}$ , 6000 rpm 条件下离心 5 分钟。倒出上清液, 之后用 PBS (pH 7)洗涤 3 次, 在 12,000 rpm 下离心 10 min。然后将样品均质化以分离 EPS 和细菌。用 50 mL PBS 重悬离心后的样品,  $60^\circ\text{C}$  下孵育 3 h。最后将混合物的上清液离心来测定 EPS 的浓度。

菌株 NX-1 的 CSH 通过对碳氢化合物的粘附性(MATH)来测定[9]。

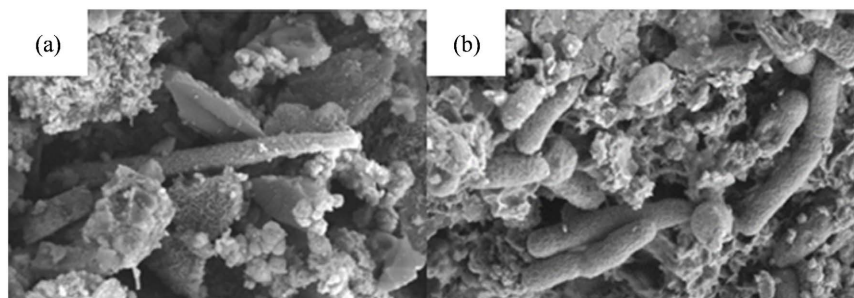
Zeta 电位采用 Zeta 电位分析仪(Zetasizer Nano ZS90, UK)测定[10]。

## 3. 结果与讨论

### 3.1. Fe-Pd/BC 和 NX-1 的形貌表征

图 1(a)显示了 Fe-Pd/BC 表面的微观结构, 其表面复杂粗糙, 这种现象的出现猜测是由 Fe-Pd 纳米颗

粒(50~100 nm)在 BC 表面的不均匀分散负载引起的。搅拌不足和其他因素会导致 Pd-Fe 在 BC 表面聚集, 形成链状或块状的颗粒形态[11]。图 1(b)显示菌株 NX-1 被 Fe-Pd/BC 所包围, 表明 Fe-Pd/BC 成功负载与菌株 NX-1 表面, 未显示出明显的生物毒性。

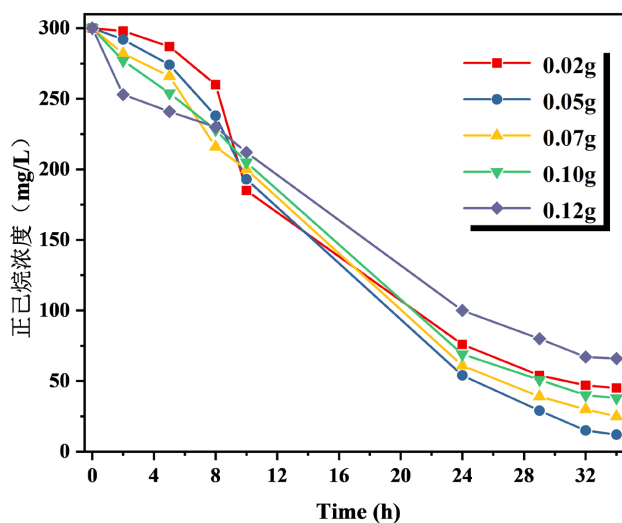


**Figure 1.** SEM of Fe-Pd/BC (a) and Fe-Pd/BC with strain NX-1 (b)

**图 1.** Fe-Pd/BC (a)和 Fe-Pd/BC 与菌株 NX-1 (b)的电镜图

## 3.2. Fe/Pd-BC 对 NX-1 降解正己烷的影响

### 3.2.1. Fe/Pd-BC 浓度对 NX-1 降解正己烷效率的影响



**Figure 2.** Effect of Fe/Pd-BC dosage on the degradation efficiency of n-hexane

**图 2.** Fe/Pd-BC 投加量对正己烷降解效率的影响

控制正己烷浓度为 300 mg/L, 以 5% 的接种量将生长对数期的菌液接种至新鲜 MM 中, 在 30°C、160 rpm/min 条件下培养 35 h, 考察 Fe/Pd-BC 投加量对菌株 NX-1 正己烷降解效率的影响。如图 2 所示, 在 MM 中分别加入 0.02、0.05、0.07、0.10、0.12 g 的 Fe/Pd-BC, NX-1 对正己烷的降解率分别为 85.25%、94.63%、92.78%、87.14%、82.33%。添加 0.02 g 的 Fe/Pd-BC 的降解体系在 10 h 处率先达到最大降解率, 但随着反应的进行, 添加 0.05 g 的 Fe/Pd-BC 降解体系最终呈现最大降解率, 说明适当浓度的 Fe/Pd-BC 能加速菌株 NX-1 对正己烷的降解效率, 如果 Fe/Pd-BC 浓度过低, 难以对菌株 NX-1 的生化性能起到显著的促进作用, 但如果 Fe/Pd-BC 含量过高, 则会抑制菌株 NX-1 对正己烷的降解, 推断其原因是因为 BC 表面负载的 Fe/Pd 金属离子浓度过高会进入细胞, 影响细胞酶活性, 导致降解率下降。

### 3.2.2. 正己烷初始浓度对 NX-1 降解正己烷的影响

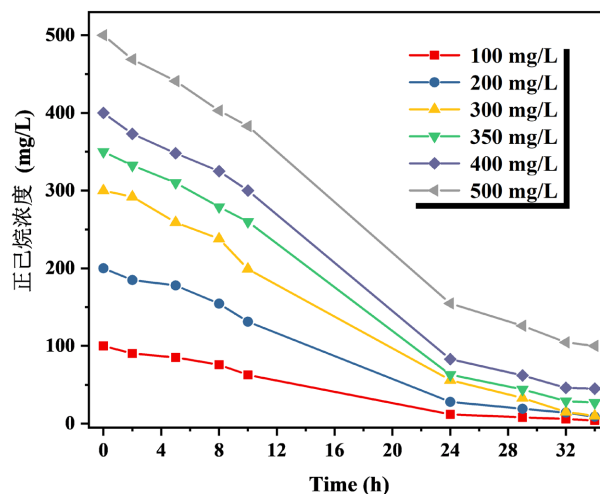


Figure 3. Effect of initial n-hexane concentration on degradation efficiency

图 3. 底物初始浓度对正己烷降解效率的影响

控制 Fe/Pd-BC 投加量 0.05 g、接种量 5%、pH = 8.0, 然后分别在反应体系中加入 100、200、300、350、400、500 mg/L 正己烷, 在 30°C、160 rpm/min 条件下培养 35 h, 正己烷降解效率分别为 96%、95.5%、96.6%、92%、88% 和 80%。通过如图 3 可知, 在不同初始底物浓度条件下, 菌株 NX-1 表现出不同的生物降解率, 底物浓度太低或太高均不利于细菌的生长和相关酶的活性提高。同时可以发现菌株 NX-1 具有较强的正己烷耐受性, 当正己烷浓度达到 400 mg/L 时, 仍然能保持较高的降解率, 但是当正己烷浓度达到 500 mg/L 时会对菌株 NX-1 产生抑制作用。

### 3.3. Fe/Pd-BC 增强正己烷生物降解的机理

#### 3.3.1. Fe/Pd-BC 对菌株 NX-1 的 CSH 的影响

Table 1. Effects of Fe-Pd/BC on CSH of strain NX-1  
表 1. Fe-Pd/BC 对菌株 NX-1 CSH 的影响

	细胞表面疏水性(CSH)
菌株 NX-1	22.61%
菌株 NX-1 + Fe/Pd-BC	45.78%

生物法难以降解正己烷的主要原因是正己烷具有极高的疏水性。有研究表明, 疏水性 VOCs 的降解会受到 CSH 的影响, VOCs 的降解率与 CSH 呈正相关关系, 细胞表面疏水性越高细菌的 VOCs 降解能力越强, 主要是因为疏水性 VOCs 更容易被高疏水性的细菌捕捉和吸附进而促进细菌降解。通过表 1 可知, 经过 18 h 的培养后, 添加 Fe/Pd-BC 的菌株 NX-1, 其 CSH 提高了 23.17%。有学者发现高 CSH 的细菌更容易附着在疏水性底物表面和疏水性底物形成的液滴表面, 从而促进疏水性 VOCs 的降解[12]。因此本文推测 Fe/Pd-BC 通过提高细胞表面 CSH 强化细菌对正己烷的捕捉能力, 进而提高降解效率。

#### 3.3.2. CSH 对菌株 NX-1 分泌 EPS 的影响

EPS 的主要有机成分是蛋白质(PN)、多糖(PS)和腐殖质类物质, 纯培养中细胞的 EPS 主要是 PN 和



PS。通过表 2 可知, 具有较大 CSH 的菌株 NX-1, 其表面分泌的 PN 呈现增加趋势, 而 PS 呈现减少的现象。大量报道证明 PN 对 CSH 起主要作用, 乙酰化的 PS 也可形成疏水基团, 从而影响 EPS 的疏水性。有学者研究表明 CSH 的高低主要取决于 PN 含量, PN 含量较高的细菌会具有较大的 CSH, 进而促进细菌对碳氢化合物的吸收和降解, 因此 CSH 的增加可以归因于 PN 含量的增加[13] [14]。

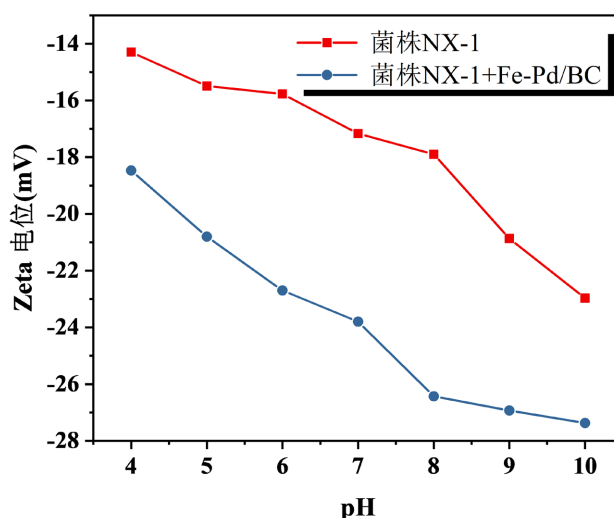
正己烷的去除性能可能取决于多种因素, EPS 可以通过调节表面电荷或疏水性来改变细菌的表面性质, 这对正己烷的降解至关重要[15]。细菌在 Fe/Pd-BC 表面的积累促进了 EPS 的形成。表 2 显示, 在 Fe/Pd-BC 存在下, PS 的浓度从  $39.16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  降低到  $32.44 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 而 PN 从  $38.14 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  增加到  $46.27 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结果表明, Fe/Pd-BC 与菌株的接触可能会改变细菌外膜的生长和代谢。

**Table 2.** EPS of strain NX-1 under different culture conditions

**表 2.** 不同培养条件的 NX-1 的胞外聚合物

	蛋白质( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	多糖( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
菌株 NX-1	38.14	39.16
菌株 NX-1 + Fe/Pd-BC	46.27	32.44

### 3.3.3. CSH 对 NX-1 的 Zeta 电位的影响



**Figure 4.** Effect of Fe/Pd-BC on Zeta potential of strain NX-1

**图 4.** Fe/Pd-BC 对菌株 NX-1 Zeta 电位的影响

如图 4 所示, 在整个 pH 范围内, 所有的 Zeta 电位都是负值, 这两条电位曲线随着 pH 的升高呈现相同的下降趋势, 低 CSH 具有相对较低的 Zeta 电位。Zeta 电位的变化反映了细胞疏水性与表面电荷之间的负相关关系, 细胞表面性质的变化利于细菌适应有毒碳氢化合物存在的环境[16]。

先前的研究表明, CSH 与 Zeta 电位的绝对值正相关[17]。因此, 添加 Fe/Pd 可以促进 BC 表面上的 NX-1 生长并改善 NX-1 的 CSH。有学者发现正己烷的去除与细胞的疏水性呈正相关, 这可能表明本研究中正己烷去除效率的提高与 Fe/Pd 对 CSH 的增加有关[18]。生物膜会根据不同条件下的环境压力交换亲水或疏水表型。Fe/Pd-BC 通过动态调节细胞 EPS 的组成来增加 PN 含量和 Zeta 电位, 从而在其表面产生额外的等电电荷。相同电荷的相互排斥使体系稳定, PN 分子的聚集和 Zeta 电位的绝对值降低。这种现象会使疏水基团的暴露, 从而导致 NX-1 的表面疏水性增加[19]。

### 3.3.4. CSH 对菌体接触角的影响

通过图 5 可知, 菌株 NX-1 的接触角为  $27.4^\circ$  (三次取平均), 添加 Fe/Pd-BC 后菌株 NX-1 的接触角增加到  $40.1^\circ$  (三次取平均), 虽然细菌仍为亲水性, 但相对来说, 疏水性有所增加, 说明 Fe/Pd-BC 可以增加细胞表面疏水性。有研究发现, 恶臭假单胞菌 DOT-T1E 会通过改变细胞表面电荷和疏水性来适应有毒的正构烷醇, 细胞暴露于正构烷醇后, 细胞表面疏水性会急剧增加, 接触角立刻从  $30^\circ$  增加到  $85^\circ$ , 证明细胞表面疏水与接触角的增加有关[17]。

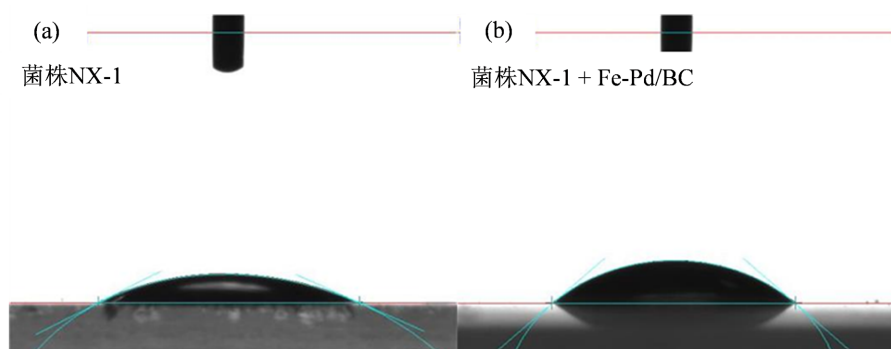


Figure 5. Effect of Fe/Pd-BC on the contact angle of strain NX-1  
图 5. Fe/Pd-BC 对菌株 NX-1 接触角的影响

## 4. 结论

本文研究结果证实了 Fe/Pd-BC 对 *Pseudomonas mendocina* NX-1 降解正己烷的影响。结果表明, 菌株 NX-1 在 Fe/Pd-BC 浓度为  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NH}_4^+$  浓度为  $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH} = 7.7$ , 温度为  $35^\circ\text{C}$  的条件下对  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的正己烷有 94.63% 的降解能力。此外, 在 Fe-Pd/BC 存在的情况下, 与对照组相比, 细胞疏水性从 22.61% 提高至 45.78%, 胞外蛋白质含量从  $38.14 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  提高至  $46.27 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 细胞表面 zeta 电位从  $-14.7 \text{ mV}$  降低至  $-18.4 \text{ mV}$ 。进一步的实验表明, Fe-Pd/BC 可以通过参与细菌生长、提高 zeta 电位绝对值、暴露大量蛋白质疏水基团、增加 CSH 来提高正己烷的生物降解效率。本研究的结论证实通过添加 Fe-Pd/BC 来提高微生物降解效果是一种很有前景的正己烷废气治理技术。

## 基金项目

本项目为浙江树人学院大学生科技创新活动资助项目。

## 参考文献

- [1] 周汇, 周珊, 单胜道. 竹炭固定化微生物去除水样中氨氮的研究[J]. 林业科学, 2009, 45(6): 133-138.
- [2] 孙翔, 沈宇, 周珊. 竹炭固定化微生物处理低浓度含酚废水的初步研究[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(3): 151-154.
- [3] 彭丽莎, 余东游, 李卫芬, 杨慧敏. 竹炭及其固定化微生物在水处理中的应用研究进展[J]. 竹子研究汇刊, 2013, 32(2): 37-41.
- [4] Meyer, E. (2006) Recent Progress in Understanding Hydrophobic Interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 15739-15746. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606422103>
- [5] Neumann, G. (2006) Energetics and Surface Properties of *Pseudomonas putida* DOT-T1E in a Two-Phase Fermentation System with 1-Decanol as Second Phase. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 4232-4238. <https://doi.org/10.1128/AEM.02904-05>
- [6] Bernet, M.F. (1994) Adhesion of Human Bifidobacterial Strains to Cultured Human Intestinal Epithelial Cells and Inhibition of Enteropathogen Cell Interactions. *Applied & Environmental Microbiology*, **59**, 4121-4128. <https://doi.org/10.1128/aem.59.12.4121-4128.1993>

- 
- [7] Rosenberg, K. (2006) Recent Progress in Understanding Hydrophobic Interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 15712-15715.
- [8] Liu, Y. (2004) Cell Hydrophobicity Is a Triggering Force of Biogranulation. *Enzyme and Microbial Technology*, **34**, 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.12.009>
- [9] Hamada, T. (2009) Effect of Cell Surface Hydrophobicity on Bacterial Conversion of Water Immiscible Chemicals in Two-Liquid-Phase Culture Systems. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **108**, 116-120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.03.009>
- [10] 赵晴, 张甲耀, 陈兰洲. 疏水性石油烃降解菌细胞表面疏水性及降解特性[J]. 环境科学, 2005, 26(5): 132-136.
- [11] Suzuki, T. (1998) Immobilization of *Prototheca zopfii* in Calcium-Alginate Beads for the Degradation of Hydrocarbons. *Process Biochemistry*, **33**, 541-546. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00022-3)
- [12] Pen, Y. (2015) Effect of Extracellular Polymeric Substances on the Mechanical Properties of Rhodococcus. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1848**, 518-526. <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2014.11.007>
- [13] Ras, M. (2013) Distribution and Hydrophobic Properties of Extracellular Polymeric Substances in Biofilms in Relation towards Cohesion. *Journal of Biotechnology*, **165**, 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.03.001>
- [14] Lindahl, M. (1981) A New Test Based on "Salting Out" to Measure Relative Surface Hydrophobicity of Bacterial Cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, **677**, 471-476. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(81\)90261-0](https://doi.org/10.1016/0304-4165(81)90261-0)
- [15] Ferenc, R. (1985) Improvement of the Salt Aggregation Test to Study Bacterial Cell-Surface Hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letters*, **30**, 131-138. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1985.tb00999.x>
- [16] Gao, B. (2010) Influence of Extracellular Polymeric Substances on Microbial Activity and Cell Hydrophobicity in Biofilms. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **83**, 227-232. <https://doi.org/10.1002/jctb.1792>
- [17] Rosenberg, M. (1980) Adherence of Bacteria to Hydrocarbons: A Simple Method for Measuring Cell-Surface Hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letters*, **9**, 29-33. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1980.tb05599.x>
- [18] Jorand, F. (1998) Hydrophobic/Hydrophilic Properties of Activated Sludge Exopolymeric Substances. *Water Science & Technology*, **37**, 307-315. <https://doi.org/10.2166/wst.1998.0652>
- [19] Kwok, D.Y. (1999) Contact Angle Measurement and Contact Angle Interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science*, **81**, 167-249. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(98\)00087-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00087-6)