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

孙晓莹¹, 施汉昌², 全向春^{1*}, 呼丽娟¹

(1. 北京师范大学环境学院, 水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875; 2. 清华大学环境科学与工程系, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要:以 4 株不同菌株为对象, 研究了培养基类型对细菌细胞表面疏水性的影响, 及初始细胞表面疏水性、接触时间等因素与细菌在活性污泥中粘附率的关系。结果表明, 培养基类型、培养时间以及菌株的自身特性均会对所培养菌种的表面疏水性产生影响; 而初始细胞表面疏水性、接触时间与细菌在活性污泥中的粘附率密切相关。当接触时间较短时 (< 14 h), 初始细胞表面疏水性是影响系统中菌种粘附量的主要因素, 且存在某一临界值, 当菌种的疏水率低于该值时, 菌种粘附量相近, 当菌种的疏水率高于该值时, 粘附量明显增高, 菌种可以迅速粘附到活性污泥中; 而当接触时间足够长时 (> 38 h), 接触时间则成为系统中菌种粘附率的主要影响因素。经预接触, 外投高效菌被系统完全吸附后, 营养物质的投加或供氧方式的改变均不会引起被吸附菌种的再释放。

关键词:细胞表面疏水性; 接触时间; 粘附率

中图分类号: X172; X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)10-2809-06

Factors Influencing Bacterial Cell-surface Hydrophobicity and Bacterial Adhesion Ratio to Activated Sludge Flocs

SUN Xiao-ying¹, SHI Han-chang², QUAN Xiang-chun¹, HU Li-juan¹

(1. State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: With four different strains as the model, effects of different culture medium on cell-surface hydrophobicity (CSH) were investigated, and the relationship between CSH, contact time and adhesion of bacteria to activated sludge flocs was correlated. Results showed that culture medium, culture time and the characteristic of strain itself influenced the CSH of bacteria, and initial CSH, contact time was closely related to bacterial adhesion ratio in activated sludge system. When contact time was relatively short (< 14 h), initial CSH was the main factor influencing bacterial adhesion ratio. A critical value existed for CSH, similar bacterial adhesion ratio was obtained below the critical value; beyond the value, bacterial adhesion ratio was greatly enhanced, which indicated that only strains with initial CSH beyond the critical value could adhere to activated sludge flocs rapidly. When contact time was long enough (> 38 h), contact time became the main factor influencing adhesion. When the inoculated bacteria thoroughly adhered to sludge flocs by pre-contact, nutrient supplementation and changing oxygen providing mode did not cause the release of adhered bacteria again.

Key words: cell-surface hydrophobicity; contact time; adhesion ratio

随着现代生物技术的发展, 生物强化技术在环境中的应用越来越广泛。生物强化过程中, 高效菌剂的投加方式主要分为直接投加和固定化投加。尽管直接投加高效菌种存在菌种沉降性能差、流失严重以及易于被原生动捕食等问题, 但由于其具有简便易行、见效快等优点, 仍是生物强化技术研究及应用中最为普遍的投加方式^[1~4]。为了提高采用直接投加方式时系统的生物强化效果, 许多研究者对影响外投菌种在生物强化系统中存活情况的因素进行了研究, 主要包括系统的物化参数、营养物质的可获得性、捕食压力以及微生物小生境等, 而有关外投菌种自身生理学特性对其存活情况的影响研究较少。

有研究表明, 增强外投菌种的粘附性可以促进其融入污泥絮体中, 从而减少流失量, 避免原生动物的捕食, 而细菌的细胞表面疏水性 (cell-surface hydrophobicity, CSH) 是决定细菌非特异性黏附到各种生物和非生物表面及界面的最重要的因素之一^[5~7], 如 Busscher 在放线性链球菌表面发现一种能粘连凝集素的葡萄糖 (GBL), 可影响菌的疏水性和粘附性, GBL 能降低 CSH 和粘附性, 仅 GBL 阴性

收稿日期: 2007-10-30; 修订日期: 2007-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50508006)

作者简介: 孙晓莹 (1982~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为废水生物处理技术。

* 通讯联系人, E-mail: xchquan@yahoo.com.cn

的菌体才有很强的 CSH 和粘附性^[8]. 目前, 环境保护领域对于细菌细胞表面结构及 CSH 的研究主要集中在大型设备的生物污染、生物腐蚀的控制及疏水性物质(如石油)的降解方面^[9~11].

本实验以 4 种不同菌株为对象, 研究了培养基类型对细菌细胞表面疏水性的影响, 及细胞表面疏水性、接触时间等因素与细菌在活性污泥中粘附量的关系, 旨在得到提高高效菌剂在生物强化系统中存活能力的菌种扩培和预处理方法.

1 材料与方 法

1.1 细胞表面疏水性的测定

本实验采用微生物粘着碳烃化合物法(microbial adhesion to hydrocarbons, MATH)测定细胞表面疏水性^[12]. 向圆底玻璃试管(酸处理, $d = 10$ mm)内加入 4 mL 菌悬液(约 10^8 CFU/mL), 再加入 1.5 mL 正己烷作为有机相. 用玻璃小塞封口, 室温(20 ± 1) 剧烈振荡 60 s, 静置 15 min 分层. 用无菌注射针头快速吸取下相水溶液 3.0 mL, 以磷酸盐缓冲液为空白对照, 在 600 nm 波长下测定 A 值. 每个样品重复测定 3 次. 同时作不加有机相的对照组.

细菌细胞表面疏水率(CSH)按下式计算:

$$\text{CSH} = \frac{\text{对照组 } A_{600 \text{ nm}} - \text{实验组 } A_{600 \text{ nm}}}{\text{对照组 } A_{600 \text{ nm}}} \times 100\%$$

1.2 培养条件对细胞表面疏水性的影响研究

实验中所用到的 4 种菌株 Q_a 、 Q_c 、 Q_d 、 Q_e 是从活性污泥中筛选得到的特性菌种, 分别以 4 种常用培养基: LB 培养基、牛肉膏-蛋白胨培养基、营养肉汤培养基和模拟生活污水(COD 约 700 mg/L)进行扩大培养. 由于模拟生活污水中所含有机物较少, 每 12 h 取出一定量的混合液, 再加入相应量高浓度模拟生活污水(COD 约 1 000 mg/L). 以 500 mL 三角烧瓶培养菌种, 接种后置于摇床中, 120 r/min, 30 恒温振荡培养, 定期取出 20 mL 混合液(无菌操作), 离心收集菌种并用磷酸盐缓冲液洗 2 次, 重制成菌悬液, 600 nm 测定 D 值, 由各菌株的 D -菌落数标准曲线查得其生长量. 调节菌液浓度为 10^8 CFU/mL, 测定 CSH.

实验用各培养基组分如下.

LB 培养基成分: 胰蛋白胨 10 g/L; 酵母提取物 5 g/L; 氯化钠 5 g/L, pH 7.0.

牛肉膏-蛋白胨培养基成分: 牛肉膏 3 g/L; 蛋白胨 10 g/L; 氯化钠 5 g/L, pH 7.4~7.6.

营养肉汤培养基成分: 蛋白胨 10 g/L; 葡萄糖 5

g/L; 牛肉膏 5 g/L; 酵母提取物 2 g/L; 氯化钠 5 g/L, pH 7.2~7.8.

模拟生活污水组分: 葡萄糖 400 mg/L; 淀粉 200 mg/L; 蛋白胨 60 mg/L; 尿素 25 mg/L; KH_2PO_4 88 mg/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 20 mg/L; NaHCO_3 188 mg/L; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 6 mg/L; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 40 mg/L.

1.3 细胞表面疏水性、接触时间等条件对细菌粘附性的影响研究

根据上述实验结果, 选择适当培养基及培养时间扩培菌株 Q_a 、 Q_c 、 Q_d 、 Q_e , 离心收集并用磷酸盐缓冲液洗 2 次, 重制成菌悬液, 调节浓度至 10^8 CFU/mL, 测定 CSH, 备用.

1.3.1 初始细胞表面疏水性及接触时间对细菌粘附率的影响

本实验研究对象包括菌株 Q_a 、 Q_c 、 Q_d 、 Q_e 及其混合菌种, 混合菌种由 4 种菌种等比例混合得到. 以 150 mL 三角烧瓶为反应容器, 按一定比例加入菌悬液、活性污泥及磷酸盐缓冲液, 使菌种浓度为 10^8 CFU/mL, 污泥浓度为 1 200 mg/L, 混合液总体积 80 mL, 共设 6 组样品, 每组样品为 1 个取样点, 对照组不加活性污泥. 样品置于摇床中, 120 r/min, 30 恒温振荡培养, 每隔 3~4 h 取出 1 组样品及对照组, 静置 30 min, 取 3 mL 上清液, 以磷酸盐缓冲液为空白对照, 在 600 nm 波长下测定 D 值, 考察粘附到活性污泥中的细菌量随时间的变化情况, 本实验重复进行 2 次.

细菌的粘附率按下式计算:

$$\text{粘附率} = \frac{\text{初始组 } D_{600 \text{ nm}} - \text{实验组 } D_{600 \text{ nm}}}{\text{初始组 } D_{600 \text{ nm}}} \times 100\%$$

1.3.2 营养物质的投加及供氧方式的改变对被吸附菌种释放的影响

混合液制备方法同上, 共设 3 组样品, 均放入摇床振荡培养, 3 组样品完全粘附后, 第 1 组加入适量模拟生活污水浓缩液, 放入摇床继续培养, 第 2 组改为空压机曝气方式供氧, 24 h 后测定上清液 D 值. 考察营养物质的加入及供氧方式的改变是否会引起被吸附菌种的释放.

2 结果与讨论

2.1 培养条件对细胞表面疏水性的影响

Q_a 、 Q_c 、 Q_d 、 Q_e 4 种菌株在以 LB 培养基、牛肉膏-蛋白胨培养基、营养肉汤培养基及模拟生活污水培养过程中细胞表面疏水率的变化如图 1 所示. 从中可知, 培养基类型、培养时间及菌株的自身差异均会

对所得菌种的表面疏水性产生影响. 在培养 24 h 时,对于菌株 Q_a 、 Q_c 和 Q_d ,由模拟生活污水培养得到的菌种细胞表面疏水性较高,可达到 70% ~ 90%,由 LB 培养基得到的菌种疏水率相对较低;而对于菌株 Q_e ,由 LB 培养基得到的菌种细胞表面疏

水性可以达到 82.6%. 24 h 后细胞表面疏水率随培养时间的增长表现出不同的变化规律,但大部分呈降低或先降低后升高的趋势,少数呈增强趋势,但变化率不大,因此对于本实验中的 4 种菌种均选择 24 h 为最佳扩培时间.

图 1 4 种细菌利用不同培养基培养过程中细胞表面疏水性变化

Fig. 1 Changes of the four strains cell-surface hydrophobicity cultured in different culture medium

4 种菌在不同培养基中的增长曲线如图 2 所示. 各菌株在 LB 培养基和牛肉膏-蛋白胨培养基中生长良好, 培养 24 h 时处于对数增长末期, 培养基中的细菌数量达到 10^9 CFU/mL,而在碳源更丰富的营养肉汤培养基中生长情况不理想,细菌数量维持在 10^8 CFU/mL,在碳源相对不足的模拟生活污水中,尽管定时添加营养物质,菌种的生长速度仍较缓慢,培养 96 h 后仅达到 6×10^8 CFU/mL 左右(只有 Q_d 较多,达到 1.4×10^9 CFU/mL). 此分析表明,由模拟生活污水培养得到的菌种虽然疏水性较高,但生长缓慢,而采用生物强化技术时往往需要大量投加外源菌,因此在疏水率相差不大的情况下应优先选择其他生长量较大的培养基.

Watanabe 等^[13] 研究发现,由无机盐培养基中培养获得的菌种经 2 d 的饥饿处理后细胞表面疏水性和粘附性均明显高于由 LB 培养基培养获得且经相同处理的菌种. 赵晴等^[10] 在研究疏水性石油降解菌的降解特性时也发现培养时间和环境因素会影响细菌的表面疏水性. 因此在投加高效菌进行生物强化之前,应该对高效菌在不同培养基中的疏水性变化

及其生长量情况进行研究,以选择最有利于提高菌种细胞表面疏水性的培养条件. 同时,在培养基及培养时间相同的条件下,扩培之后的表面疏水性高也可以作为选择投加菌种的一个考虑因素.

综合以上分析,本研究确定各菌种适宜培养基为: Q_a :牛肉膏-蛋白胨培养基(培养 24 h,疏水率 54.8%); Q_c :牛肉膏-蛋白胨培养基(培养 24 h,疏水率 53%); Q_d :LB 培养基(培养 24 h,疏水率 56%); Q_e :LB 培养基(培养 24 h,疏水率 82.6%).

2.2 细胞表面疏水性、接触时间等条件对细菌粘附率的影响

2.2.1 初始细胞表面疏水性及接触时间对细菌粘附率的影响

本实验所用 4 种菌种及混合菌群的疏水性如图 3 所示. Q_e 疏水率最高,达 83.1%, Q_a 、 Q_c 、 Q_d 的疏水率相对较低,分别为 47.2%、65.6%和 71.4%,混合菌的疏水率为 66.1%,这与 4 种菌株疏水率的平均值 66.8%极其相近,说明菌种的混合不会对其表面疏水性产生影响,混合菌悬液的表面疏水率为不同

图 2 4 种细菌在不同培养基中的生长量

Fig. 2 Growth of the four strains in different culture medium

图 3 实验用菌种的疏水率

Fig. 3 Cell-surface hydrophobicity of the tested strains

菌种表面疏水率与其所占比例乘积之和。

在摇床振荡培养条件下对不同菌株在活性污泥系统中的粘附率变化进行了测定,结果如图 4 所示。各菌株的粘附率均随接触时间的增长而增加,且初始疏水率为 83.1% 的菌株 Q_e 可以迅速粘附到活性污泥絮体中,至反应 38 h 时,各样品上清液均完全澄清,粘附率也达到 90% 以上。这一结果表明,初始细胞表面疏水性和接触时间都会对菌种在活性污泥絮体中的粘附量产生显著影响,但并不是简单的培养时间相同时,初始细胞表面疏水性越高,菌种粘附量越大,如反应 14 h 时,菌株 Q_c (疏水率 65.6%) 和菌株 Q_a (疏水率 47.2%) 的粘附量高于菌株 Q_d (疏水

率 71.4%) ,图 5 进一步分析了不同反应时间下,初始细胞表面疏水率与菌种粘附率间的关系,从中可知:反应初期(0~14 h),疏水率较低的 Q_a、Q_c、Q_d (均低于 75%) 的粘附量相近且较低,而疏水率较高的 Q_e (83.1%) 的粘附量显著增高,这表明可能存在一个细胞表面疏水率的临界值,当菌种的疏水率低于该值时,菌种粘附量相近,而只有当菌种的疏水率高于该值时,其粘附量才会明显增高;当接触时间足够长时(38 h),初始细胞表面疏水性不再对菌种粘附量产生影响,即使初始疏水性相差较大的菌种,经过足够长时间的预接触后其粘附量几乎相同,即此时,接触时间成为系统中菌种粘附量的主要影响因素。

综上所述,当接触时间较短时,初始细胞表面疏

图 4 不同菌种在活性污泥中的粘附率随接触时间的变化

Fig. 4 Changes of strains adhesion ratio in activated sludge system with contact time

图5 疏水率对粘附率的影响

Fig. 5 Effect of cell-surface hydrophobicity on adhesion ratio

水性是影响系统中菌种粘附率的主要因素,且存在某一临界值,当菌种的疏水率低于该值时,菌种粘附率相近,而只有当菌种的疏水率高于该值时,其粘附率才会明显增高,但该临界值需要进一步研究确定;而当接触时间足够长时,接触时间则成为系统中菌种粘附率的主要影响因素.这与之前一些学者的研究结果一致,Zita 等^[14]报道了指定接触时间条件下 *E. coli* 细胞表面疏水性与吸附性间的关系,认为细菌细胞表面疏水性对于其与活性污泥絮体间的粘附具有重要作用,而细胞表面电荷及其它特殊表面结构与粘附性能无明显相关性.对于其它几种由污水处理厂筛选出的菌种也得到相同的结果:疏水性越强粘附量越大. Watanabe 等^[13]的研究也表明在接触时间为 5 min 的条件下,疏水性 75 % 以上的菌种在活性污泥絮体中的粘附率较高,其在生物强化系统中的存活情况也明显优于疏水性较低的菌种.但是这些学者只考察了细胞表面疏水性对菌种在活性污泥系统中粘附率的影响,而没有考虑接触时间的影响.

本研究从物理化学的角度考察了影响细菌粘附量的因素,另有一些学者从生物学的角度出发,认为细菌粘附性的差别是由于细菌表面结构及其上所附着的生物分子的差别引起的,而细菌的这些特征又是由相应的基因片段控制的,因此确定及描述与促进絮凝相关的基因和质粒,有助于构建可有效融入活性污泥絮体的菌种.在 *E. coli* 中,已经确定 *mor* 基因属于控制自由聚集基因组的一部分^[15].这类菌种的构建或筛选同样有助于提高高效菌在活性污泥系统中的粘附性,改善生物强化的效果.

2.2.2 对照组 D 值变化情况分析

在生物强化系统中,增强外投菌种的沉降性能可以减少其流失量,但如果沉降的菌种仍处于游离

状态则不能避免原生动物的捕食,为了考察实验中各系统上清液 *D* 值的降低,是由于菌种沉降性能增强,沉降到底层污泥中造成的,还是由于菌种粘附到活性污泥絮体中造成的,本实验设置了只投加菌种和磷酸盐缓冲液的对照实验,对沉降 30 min 后对照组 *D* 值的变化进行测定,结果见图 6. 该组实验菌种浓度与其余组相同.

图6 对照组 D 值变化情况

Fig. 6 Change of *D* in the control experiment

由图 6 可知,各系统 *D* 值随时间增长而降低,但同时发现将各样品振荡均匀后测得的 *D* 值仍与该值相同,这表明 *D* 值的降低并不是由于菌种的沉降引起的,反应 48 h 后,观察到各样品中均出现细小的微生物絮体,因此可以推断出 *D* 值的降低是由于菌种的自身粘附性引起的,而在活性污泥系统中,菌种应该优先粘附到活性污泥絮体中.这表明:本实验中各系统上清液 *D* 值的降低,是由于菌种粘附到活性污泥絮体中造成的,因此通过外投菌种与活性污泥的预接触即可以达到减少外投菌种流失量及避免原生动捕食的目的.

2.2.3 投加营养物质及改变供氧方式对被吸附菌种再释放的影响

由于上述各菌种的粘附率测定实验是在未投加营养物质和摇床振荡培养条件下进行的,而在实际生物强化过程中,外源菌投加到系统后往往会很快接触到营养物质,供氧方式也与振荡培养不同,故本实验考察了完全吸附后,营养物质的投加或供氧方式的改变(改为空压机曝气供氧)是否会引起被吸附菌种的再释放.

表 1 列出了投加营养物质前、投加 30 min 及 24 h 后各系统的粘附率,结果表明投加营养物质 30 min 后,各系统中的菌种均有所释放,但至 24 h 后各系统均又恢复到原状态,因此,可以认为营养物质的投加不会引起被吸附菌种的大量释放.

表 1 投加营养物质前后各系统粘附率/%

菌株	完全吸附时	投加营养物 30 min 后	投加 24 h 后
	粘附率	粘附率	粘附率
Q _a	84.6	70.7	86.2
Q _c	82.7	72.8	86.9
Q _d	89.8	77.3	91.4
Q _e	84.6	79.2	90.0
混合菌	85.7	72.2	86.6

采用空压机曝气供氧的系统,由于挥发量过大,残余的上清液极少,无法直接测定粘附率,因此向各系统中加入适量磷酸盐缓冲液,混合均匀后沉淀 30 min,测定上清液的 D 值,以间接考察菌种的粘附率,结果测得各系统上清液中的细菌含量与曝气前相近,这表明空压机曝气供氧方式也不会引起被吸附菌种的释放.上述实验表明细菌在活性污泥絮体中的粘附是不可逆的,并且随时间的增长而增强,这与 Vadillo-Rodríguez 等^[16]研究的 *S. thermophilus* 在固体表面的粘附规律一致.

3 结论

(1) 培养基类型、培养时间以及不同菌株的自身差异均会对扩培得到的菌种的表面疏水性产生影响.本研究结果表明,在投加高效菌进行生物强化之前,应该对高效菌在不同培养基中的疏水性变化及生长量情况进行分析,以选择最有利于提高菌种细胞表面疏水性的培养条件.同时,在培养基和培养时间相同的条件下,扩培之后的表面疏水性高也可以作为选择投加菌种的一个考虑因素.

(2) 初始细胞表面疏水性和接触时间都会对菌种在活性污泥系统中的粘附量产生影响,当接触时间较短时 (< 14 h),初始细胞表面疏水性是影响系统中菌种粘附量的主要因素,且存在某一临界值,当菌种的疏水率低于该值时,菌种粘附量相近,当菌种的疏水率高于该值时,其粘附量明显增高,即只有疏水性高于该临界值的菌种才可以迅速粘附到活性污泥中,该临界值需要进一步研究确定;而当接触时间足够长时 (38 h),接触时间则成为系统中菌种粘附量的主要影响因素,即初始表面疏水性不同的菌种经过足够长时间的预接触后都可以完全粘附到活性污泥系统中.因此,当难于改变外投菌种的表面疏水性时,可以通过增长预接触时间的方法,增加菌种在系统中的粘附量.

(3) 经过预接触,外投菌种被系统完全吸附之后,营养物质的投加或供氧方式的改变(改为空压机

曝气供氧)均不会引起被吸附菌种的释放.细菌在活性污泥絮体中的粘附是不可逆的.

参考文献:

- [1] Boon N, Top E M, Verstraete W, *et al.* Bioaugmentation as a Tool To Protect the Structure and Function of an Activated-Sludge Microbial Community against a 3-Chloroaniline Shock Load[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, **69** (3): 1511-1520.
- [2] Marrón-Montiel E, Ruiz-Ordaz N, Rubio-Granados C, *et al.* 2,4-D-degrading bacterial consortium Isolation, kinetic characterization in batch and continuous culture and application for bioaugmenting an activated sludge microbial community[J]. Process Biochemistry, 2006, **41**: 1521-1528.
- [3] Park D, Lee D S, Kim Y M, *et al.* Bioaugmentation of cyanide-degrading microorganisms in a full-scale cokes wastewater treatment facility[J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(6): 2092-2096.
- [4] Van Limbergen H, Top E M, Verstraete W. Bioaugmentation in activated sludge: current features and future perspectives[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, **50**: 16-23.
- [5] Gumargalieva K Z, Kalinina I G, Mironova S N, *et al.* Biodegradation of polymers and adhesion properties of microorganism cells[J]. Polymer Degradation and Stability, 1995, **47** (3): 363-368.
- [6] Ubink J, Schär-Zammaretti P. Colloidal properties and specific interactions of bacterial surfaces[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2007, **12**: 263-270.
- [7] Zita A, Hermansson M. Effects of Ionic Strength on Bacterial Adhesion and Stability of Flocs in a Wastewater Activated Sludge System[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, **60** (9): 3041-3048.
- [8] 侯幼红, 吴绍熙. 微生物细胞表面疏水性与粘附性的研究进展[J]. 国外医学皮肤病学分册, 1995, **21** (2): 83-86.
- [9] Goutser S E, Cloete T E. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems[J]. Crit Rev Microbiol, 2005, **31**: 213-232.
- [10] 赵晴, 张甲耀, 陈兰洲, 等. 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] 胡田甜, 张甲耀, 陈兰洲, 等. 饥饿诱导对饥饿降解菌降解能力和存活能力影响研究[J]. 环境科学与技术, 2007, **30** (3): 13-16.
- [12] Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH[J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, **262**: 129-134.
- [13] Watanabe K, Miyashita M, Harayama S. Starvation Improves Survival of Bacteria Introduced into Activated Sludge [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2000, **66** (9): 3905-3910.
- [14] Zita A, Hermansson M. Effects of Bacterial Cell Surface Structures and Hydrophobicity on Attachment to Activated Sludge Flocs[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1997, **63** (3): 1168-1170.
- [15] Warne S R, Varley J M, Boulnois G J, *et al.* Identification and characterisation of a gene that controls colony morphology and auto-aggregation in *Escherichia coli* K12 [J]. J Gen Microbiol, 1990, **136**: 455-462.
- [16] Vadillo-Rodríguez V, Busscher H J, Norde W, *et al.* Atomic force microscopic corroboration of bond aging for adhesion of *Streptococcus thermophilus* to solid substrata [J]. J Colloid Interface Sci, 2004, **278**: 251-254.