

PVA 固定化微生物方法及应用

刘元坤^{1,2}, 茆云汉^{2,3}, 王建龙²

1. 北京工业大学环境与能源工程学院, 北京 100124
2. 清华大学核能与新能源技术研究院, 北京 100084
3. 大唐环境产业集团股份有限公司, 北京 100097

摘要 固定化微生物技术具有提高相对微生物浓度、增强生物污水处理效率等优势。本文系统阐述了PVA(聚乙烯醇)固定化微生物技术的特点与优势,分析了PVA包埋微生物的方法,指出了常用包埋方法(物理交联法、化学交联方法)在PVA载体应用过程中的弊端,并提出了相应的改进和优化技术。文章深入探讨了PVA固定化微生物技术在水处理过程中的应用,分析了该方法在水处理应用过程中的优势与不足,得出建立生物活性较好、机械强度较高、水溶膨胀性较低、操作相对简单的固定化优化技术的必要性和重要性,为水处理技术的可持续发展提供新的发展方向。

关键词 固定化微生物;聚乙烯醇;环境保护

生物固定化技术是指通过物理或化学手段,将游离的微生物或者酶限定在特定空间区域内,使其在保持活性的同时可被广泛而有效利用的新型生物技术。固定化微生物技术作为环保领域中的新兴技术,与传统技术相比,可以大幅度提高参加反应的微生物浓度,减少微生物的流失,延长其作用时间,增强抗毒和抗冲击能力,降低二次污染^[1]。

固定化微生物的方法多种多样,但没有一种方法是理想且能普遍适用的,需要根据菌种特性以及使用环境选择合适的方法。目前,研究者通常选择采用的生物固定化方法主要有4种:包埋法、吸附法、截留法和交联法。其中,包埋法固定化微生物是指将选出的优势菌种,通过扩散进入载体内部,或者利用聚合物在形成凝胶时将优势菌种包埋在凝胶内部。常用的包埋法固定化微生物的载体材料有天然高分子多糖类,如:海藻酸钠、卡拉胶等,和有机合成高分子材料,如聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酰胺(ACAM)等。

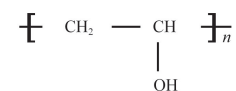
天然高分子多糖类(如琼脂、明胶、海藻酸钠、卡拉胶等)作为固定化微生物载体,由于其机械强度较差,在长期使用中易被微生物降解,并对大分子物质传质较差,限制了其广泛应用。合成高分子化合物有较高的机械强度和稳定度,抗微生物分解能力强。但大多数化合物的凝胶形成过程对微生物损害较大,造成生物活性较低^[2-3]。聚乙烯醇作为新型微生物包埋固定化载体,具有较高的机械强度以及较好的化学

稳定性。同时,相对于天然高分子多糖类载体而言,它价格低廉、对微生物无毒无害、抗微生物分解性能强,是一种具有实用潜力的包埋材料,近年来得到了国内外专家学者的广泛关注^[4]。

1 PVA 包埋固定化微生物方法

1.1 物理交联法

PVA是白色片状、絮状或粉末状固体,无味。不溶于汽油、煤油、植物油、苯、甲苯、二氯乙烷、四氯化碳、丙酮、醋酸乙酯、甲醇、乙二醇等。微溶于二甲基亚砷。PVA溶于水,具有亲水性,其分子带有大量羟基,结构式为:



PVA在浓度较高时分子间/分子内氢键发生作用,形成非共价键式网络结构,发生自凝聚反应。物理交联主要是利用PVA冷冻过程中的这种氢键作用,在PVA链间的氢键、微晶区以及大分子链间互相缠结,完成其三维网络交联过程^[5]。由于物理交联法不加入任何化学试剂,因此对微生物活性影响较小,但相应载体的水溶膨胀性较大。

PVA-冻融法是目前采用较多的固定化微生物方法,当

收稿日期:2016-04-29;修回日期:2016-09-26

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(51508007)

作者简介:刘元坤,讲师,研究方向为水处理工程,电子信箱:liuyuankun@bjut.edu.cn;王建龙(通信作者),教授,研究方向为水处理工程,电子信箱:wangjl@tsinghua.edu.cn

引用格式:刘元坤,茆云汉,王建龙. PVA固定化微生物方法及应用[J]. 科技导报, 2016, 34(22): 56-61; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.22.007

温度较高时, PVA 形成的网络结构强度较弱, 不足以成为包埋固定化微生物的载体, 当处于冷冻的环境中, PVA 能充分交联, 形成机械强度较高的固定化载体。

液态 PVA 的凝固点要低于溶剂(水), 在冷冻系统中, 溶剂凝固, 因此整个系统看起来像一块固态的冰, 但 PVA 仍以液微相(UFLMP)的形式存在。液微相中 PVA 浓度大大增加, 促进了交联过程, 由于在低温冷冻时, 液微相在初始体积中占的比重非常小, 随着缓慢解冻的过程(仍在溶剂凝固点以下), 液微相逐渐扩大, PVA 进一步交联。凝固的溶剂充当了造孔剂的作用, 当系统解冻时, 冰融化留下了孔隙, 溶剂和凝胶之间的表面张力决定了孔隙的形状, 也使得孔隙表面光滑。孔隙的大小和形状主要由 PVA 的浓度和冻融过程决定。但由于制备得到的 PVA 凝胶成块状, 不利于实际应用, 因此很多学者基于此方法研究了 PVA 物理交联的成形方法^[5]。基于物理交联的原理, 许多学者将 PVA-冻融法进行改进, 提出了 PVA-橄榄油-冻融法、PVA-液氮-冻融法、PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法。

PVA-橄榄油-冻融法是将 PVA 混合溶液滴入疏水性的橄榄油中, 由于表面张力的作用, 使得滴入的 PVA 凝胶成球形, 再使用冻融的方法使得 PVA 交联^[6-7], 是一种较好的方法, 但操作过程较为复杂, 在实际应用中并不多。

在 PVA-液氮-冻融法^[8-9]中, 由于液氮温度较低(-196℃), 一方面可以使得颗粒快速冷冻, 减少了颗粒交联时间; 但另一方面也使得操作过程变得困难, 不利于大规模生产应用。

通过在 PVA 的混合溶液中添加海藻酸钠, 将混合溶液加入 Ca(NO₃)₂ 中, 使得颗粒成形, 再通过冻融的方法使得 PVA 充分交联, 这种固定化微生物方法操作简单, 且颗粒成形情况较好。

Wang 等^[10-11]利用 PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法、PVA-CaCl₂-冻融法、PVA-硼酸法、PVA-磷酸盐法包埋固定化 *Acidithiobacillus ferrooxidans*。结果表明, PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法具有最高的机械强度, 颗粒形成速度最快, 膨胀系数最低且相对生物活性最高, 为 59.1%。这是由于混合溶液用 Ca(NO₃)₂ 溶液固化, 海藻酸钠先与 Ca²⁺ 形成了严密的网络结构, 限制了 PVA 分子的流动性, 缩短了 PVA 分子间距离, 增强了链间的氢键作用, 增加了 PVA 交联位点, 在冻融的处理过程中, 由于增强了的氢键作用, 使得 PVA 交联效果更好。

刘巍等^[12]利用 PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法、PVA-硼酸法、PVA-磷酸盐法这 3 种固定化微生物的方法固定化降解苯胺的混合菌种 GA1。结果表明, PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法膨胀系数更低, 具有最好的强度和稳定性, 对高浓度苯胺溶液有优异的降解效果。

1.2 化学交联法

化学交联法是由 PVA 加热溶于水, PVA 上羟基与具有双功能或者多功能基团的交联剂形成共价键相互连结形成不溶性的大分子而加以固定的方法, 化学交联制备的固定化微

生物颗粒机械性能较好, 弹性佳, 常用硼酸作为添加剂。自 Hashimoto 等^[13]首次使用 PVA-硼酸法包埋活性污泥以来, 该方法受到了广泛的研究, 并对其进行改进^[13-20]。

由于硼酸对微生物的毒性作用较大, 导致制备的颗粒生物活性较低; 且由于 PVA 与硼酸反应较慢, 导致滴入的过程中容易产生严重的凝聚倾向。为了改进 PVA-硼酸法在交联过程中微生物活性的损失以及减少颗粒的水溶膨胀性, 许多学者在探索能替代硼酸进行交联的化学试剂。并提出了 PVA-磷酸盐法、PVA-硫酸盐法以及 PVA-硝酸盐法。

将 PVA 混合溶液经硼酸成形后, 放入磷酸盐溶液中再进行交联, 一方面可以提高固定化微生物颗粒的强度; 另一方面, 减少了颗粒在硼酸中的交联时间, 而在对微生物无毒的盐溶液中交联, 可以提高固定化微生物颗粒的生物活性^[21-25]。

与 PVA-磷酸盐法相似, PVA-硫酸盐法减少了颗粒在对微生物毒性较大的硼酸中交联, 在硫酸盐中继续交联既提高了颗粒的生物活性, 又增加了颗粒的机械强度^[26-29]。但对于 PVA-硫酸盐法的反应机理, 目前的研究比较有争议: Takei 等^[29]认为, 硫酸盐离子诱导 PVA 分子间氢键的形成。在 PVA 凝胶制备的过程中, 当 PVA 颗粒放入硫酸钠溶液中时, 硫酸盐离子就渗入到 PVA 颗粒中去, 由于硫酸盐离子的水和作用非常强, 通过极化水分子, 阻断了 PVA 的羟基与水分子之间的氢键作用, 使得 PVA 内部羟基通过氢键进行交联。Zain 等^[28]则认为, 硫酸盐中的硫原子取代了原单二醇型凝胶中的硼原子。这是由于硫酸盐中的硫原子相对于硼原子原子半径更大, 亲核性更强。因此, 取代了原有的硼原子, 与带部分正电荷 PVA 凝胶颗粒相结合, 形成更稳定的共价结构。

PVA-硝酸盐法这种交联方法操作过程简单, 且交联过程时间短, 对微生物无毒, 颗粒机械强度高, 值得进一步研究^[30-31]。

Chang 等^[32]使用 PVA-硝酸盐法、PVA-磷酸盐法、PVA-硼酸法固定化反硝化菌 *Alcaligenes entrophus* 考查固定化颗粒的水溶膨胀性, 机械强度以及反硝化性能。结果表明, 使用 PVA-硝酸盐法不仅可以解决颗粒易凝聚的问题, 采用对微生物无毒的盐溶液进行交联也可以消除 PVA-硼酸法和 PVA-磷酸盐法中硼酸对微生物的毒性作用, 得到的固定化微生物颗粒机械强度高, 生物活性最好。

但在反应过程中, 使用高浓度的盐溶液, 也有可能使被包埋的微生物产生脱水作用, 导致活性的下降。Zhang 等^[33]使用 PVA-硝酸盐法、PVA-磷酸盐法、PVA-硼酸法固定化活性污泥, 考查不同交联剂对固定化微生物颗粒生物活性的影响, 结果表明, PVA-磷酸盐法制备的固定化微生物颗粒氧吸收速率最大, 生物活性最高。

2 PVA 包埋固定化微生物方法的改进

2.1 改善固定化微生物颗粒的成形

为了解决颗粒易凝聚的问题, Long 等^[34]在 PVA 混合物中

加入海藻酸钠,由于海藻酸钠与钙盐反应的速率较快,可以解决这一问题;同时海藻酸钠的加入有助于改善颗粒的表面性能,增加PVA颗粒的机械强度。Dave等^[35]研究了不同PVA和海藻酸钠的比例对固定化过程的影响。研究发现,当PVA与海藻酸钠的质量比为12.5:0.05时,不仅可以有效防止PVA易凝聚的现象,同时制备的凝胶具有较高机械强度,相比未添加海藻酸钠的颗粒,在酯化反应过程中,颗粒未出现破裂现象并且生物活性更高。结论得出为了防止PVA颗粒凝聚,海藻酸钠的添加量最低为0.05%(w/v)。Poopal和Laxman^[36]利用添加海藻酸钠前后的PVA-硼酸法,PVA-硝酸盐法对Streptomyces griseus进行固定化处理Cr⁶⁺。结果表明,添加海藻酸钠后的PVA-硼酸法还原Cr⁶⁺效率最高,使用24 h后,PVA-硼酸法和PVA-硝酸盐法制备的颗粒解体,而添加海藻酸钠的PVA-硼酸颗粒保持完好。

2.2 改善固定化微生物颗粒的机械性能

为了增强颗粒的机械强度以及解决颗粒易水溶膨胀的问题,主要从2个方面进行,一是通过引入一些其他交联剂增强交联强度;二是添加无机材料,增强颗粒强度。

(1) 引入其他交联剂。

李花子^[37]通过在PVA-硼酸法中采用延时包埋和加入单体丙烯酰胺(ACAM)和交联剂N,N'-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)的方法改进固定化颗粒,使得水溶膨胀性得到了控制,不易破碎。通过扫描电镜观察发现,改进后的PVA网络结构要明显优于未改进前的网络结构。

Jeon等^[38]采用改进的PVA-硼酸-戊二醛方法,将戊二醛加入硼酸溶液中,固定化褐藻酸,由于戊二醛的加入,固定化颗粒机械强度更佳且膨胀系数下降。另外,经过戊二醛交联后的固定化微生物颗粒有了较强的耐高温性和耐酸性,这是由于戊二醛与PVA载体形成了更佳稳定的网络结构,使得PVA载体稳定性得到加强。但由于戊二醛对微生物的毒性作用比硼酸更大,因此包埋微生物时,活性损失较为严重。

(2) 添加无机材料。

Chang等^[39]研究了PVA的类型(皂化率和分子量)和粉末活性炭(PAC)的添加对凝胶机械性能的影响。研究表明,随着皂化率和分子量的提高,凝胶的机械强度得到加强;PAC的加入增强了凝胶的强度,这是由于PAC阻断了PVA的羟基与水分子中OH-的氢键作用。同时,PVC增加了颗粒内部基质和氧气的传质系数,为微生物提供了合适的生长空间,增加了生物活性。

柳树文等^[40]通过在固定化过程中添加活性炭、二氧化硅、膨润土增加颗粒的机械强度。研究表明,向固定化载体中添加活性炭粉末可以显著提高颗粒的机械稳定性,添加量以0.8%最佳。

Mitsumata等^[41]研究了Na₂SiO₃的加入对PVA-冻融法制备的凝胶机械强度和水溶膨胀性的影响,结果表明随着Na₂SiO₃的加入量的增加,PVA凝胶机械强度不断增加,PVA凝胶水

溶膨胀性不断下降。这是由于Na₂SiO₃的加入促进了PVA内部羟基的内交联作用,降低了水溶膨胀系数。

2.3 增加固定化微生物颗粒的生物活性

增加固定化微生物颗粒的活性的研究主要从3个方面进行:一是降低交联剂对微生物的毒性作用;二是对固定化的微生物添加保护剂;三是增加颗粒的通透性,提高传质。

(1) 降低交联剂的毒性作用。

为了减轻硼酸对微生物的毒性作用,An和Lo^[42]将交联剂硼酸的pH值调为7,再进行交联。结果表明,改进后的方法使得固定化活性污泥的生物活性得到很大提高,同时颗粒的机械强度也得到了增加。由于PVA-硼酸法中的硼酸对微生物毒性作用较大,但没有硼酸又不能使颗粒成形。因此许多研究者尽量减少颗粒在硼酸中的交联时间,通过对微生物无毒的盐溶液进行再交联,例如PVA-磷酸盐法、PVA-硫酸盐法、PVA-硝酸盐法等。

(2) 添加微生物保护剂。

通过在PVA-冻融法固定化微生物过程中,引入一些表面活性剂,如寡聚乙烯醇,脱脂牛奶可以对微生物起到一定的保护作用,提高颗粒活性,同时颗粒强度不受影响。当添加的活性剂为甘油、乙二醇、丙二醇等时,虽然提高了被包埋微生物的活性,但由于添加剂存在大量的羟基,导致使用时颗粒水溶膨胀的增加,机械强度的下降^[43]。

(3) 增强颗粒通透性。

通过在固定化过程中添加可溶性淀粉,部分皂化的PVA以及碳酸氢钠的方法可以改善颗粒的通透性,增加传质系数来提高固定化微生物颗粒的生物活性。这些物质在固定化完成后,可以被清水冲洗出颗粒,使得颗粒留出较大的空隙,增强传质性能^[44]。

Chen等^[45]研究表明,在PVA-磷酸盐法制备的颗粒中,添加海藻酸钠可以增加颗粒的通透性,在固定化过程中,海藻酸钠与磷酸盐形成更稳定的沉淀,破坏原有的网络结构,改善颗粒通透性。经改善后,颗粒的传质性能提高了62%。

刘巍等^[12]通过在PVA-Ca(NO₃)₂-冻融法制备的颗粒中添加活性炭纤维,由于巨大的比表面积以及特殊的结构,有利于提升污染物的吸附和脱附,在吸附和生物反应的协同作用下,提升了固定化微生物颗粒的生化活性。并发现随着循环次数的增加,颗粒生物活性有了不同程度的提高。

3 PVA包埋固定化微生物的应用

PVA包埋固定化微生物技术由于其优越的特性,在难降解有机废水处理、含氮废水处理以及重金属离子的生物吸附法上有着广泛的应用。

3.1 难降解有机废水的处理

采用PVA包埋固定化微生物技术处理难降解有机废水,微生物经固定化后,其对毒害有机物的承受能力大大提升,对难降解有机污染物的降解能力也有了明显的提高^[17,18,46-48]。

Kim等^[49]利用PVA-冻融法固定化*Escherichia coli*处理杀虫剂废水,结构显示,经固定化后的微生物降解有毒有机污染物的速率大约是游离微生物的2倍,且具有较高的最大反应速率,和持久的机械稳定性。Wang等^[14]利用PVA-硼酸法固定*Pseudomonas sp.*处理邻苯二甲酸酯,结果显示,固定化微生物处理有机物的速率比游离微生物要高,降解的生物机理与游离微生物降解机理相同。李婷^[50]将循环冷冻/解冻法与硼酸法相结合,制备了PVA复合吸附载体,对间甲酚优势降解菌*Lysinibacillus cresolivorans*进行固定化,结果表明载体的稳定性、吸附容量以及微生物对底物的耐受度都有了显著提高。

Wang等^[51]利用PVA-冻融法固定化*Acinetobacter sp.*,结果表明固定化微生物在载体的保护下,不受pH和温度变化的影响,重复50次利用固定化微生物降解含酚废水性能不变。这现象主要是由于:1)固定化微生物对载体对微生物细胞起到一定的保护作用,载体会阻碍有毒有机污染物扩散,使得细胞接触到的有毒有机污染物的实际浓度降低。2)微生物在PVA固定化过程中,PVA逐渐渗入亲水性的微生物的细胞内,使得微生物紧密地在PVA载体上生长、繁殖,增加了细胞膜的稳定性。3)固定化微生物与游离的微生物所处的微环境不同,这种环境的改变可能导致了微生物生理结构、代谢活性的改变^[1]。

3.2 含氮废水的处理

传统的废水脱氮工艺包括好养硝化和厌氧反硝化这2个过程,因为这2个过程需要不同的控制条件,如pH值、溶解氧等,导致系统运行的效率很难得到提升。由于自养的硝化菌对氧的竞争能力小于异养菌,导致当系统内有机污染物浓度较高时,硝化菌便会处于劣势状态,因此,提高硝化菌的浓度是一个很有效的方法,既可用于脱氮工艺也可以用于活性污泥系统内的硝化过程。同时,利用固定化微生物技术的优势,可以选取优势菌种进行包埋,构建快速、高效的污水脱氮处理系统,还能减少污泥处理带来的二次污染。

用PVA载体将硝化菌固定化,可以使得固定化硝化菌保持较高的硝化活性,提高硝化菌浓度,并有良好的机械强度和耐酸碱性^[16,23,30,52]。将反硝化菌固定化在PVA载体内,可以保持较高的生物量,活性高,且反应过程易于控制,使得整个过程保持较高的反硝化速率。也有学者将硝化菌和反硝化菌共混包埋,实现系统内同时硝化反硝化。Cao等^[53]将硝化菌和反硝化菌共混包埋于PVA载体内,固定化微生物颗粒内部溶解氧梯度形成的内部厌氧环境和外部好养环境,混合固定的硝化菌和反硝化菌在运行一段时间后,会自然形成硝化菌集中在颗粒外部,反硝化菌集中在颗粒内部,实现在同一反应器内同时硝化反硝化。

3.3 重金属离子的生物吸附法处理

利用微生物生物吸附法处理废水中的重金属离子具有高吸附率、高选择性、投资成本少、环境友好等诸多优点,近年来受到广泛关注。但由于微生物本身特点:1)粒径小,不

易与液体分离,且分离后质量损失较多;2)机械强度较差,不利于长期使用。因此将微生物固定在PVA载体内可以提高机械强度,使得微生物易于回收再利用,同时,固定化的载体也可为内部微生物提供保护,尽量减少外部环境变化的影响。因此,PVA载体固定化微生物用于重金属离子的生物吸附得到了广泛应用^[8,20,24,36,54-57]。

4 结论

包埋固定化技术能够有效提高水体中优势微生物浓度与稳定性,保证微生物与污染物的接触时间与处理效率,降低毒害作用,减小二次污染,在水处理应用过程中显现出巨大的发展潜力。固定化微生物技术所采用载体的物理化学性质将直接影响到固定化微生物颗粒的生物活性、机械性能以及化学稳定性。PVA作为一种极具潜力的固定化载体,充分发挥了这些优势,显示出了广阔的应用前景。因此,对PVA固定化微生物技术进行深入研究,尤其是深入研究其优化工艺,开发出更适合于微生物固定化的高效生物反应器,对该技术的发展具有重要的理论和实际应用价值,这些工作将对水处理技术的研究与应用起到重要意义。

参考文献(References)

- [1] Wang J L. Biological immobilization technology and water pollution control[M]. Beijing: Science Press, 2002.
- [2] Shi G H, Liu Q S, Zhang X F, et al. Research progress of embedding immobilized microorganism technology in aquaculture water treatment[J]. Technology of Water Treatment, 2015, 40 (9): 28-32.
- [3] Qin S D, Guo J H, Liu Y C, et al. Research progress in immobilized microorganism technology and its application in water treatment[J]. Technology of Water Treatment, 2014, 40 (10): 6-11.
- [4] Lin J P, Jin H P. Experiment on rural domestic wastewater treatment by PVA immobilized microorganism and bamboo charcoal[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2015, 40 (19): 104-105.
- [5] Lozinsky V I, Plieva F M. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1998, 23(3-4): 227-242.
- [6] Szczesna A M, Galas E. *Bacillus subtilis* cells immobilised in PVA-cryogels[J]. Biomolecular Engineering, 2001, 17(2): 55-63.
- [7] Szczesna A M, Antczak T, Bielecki S. Stability of extracellular proteinase productivity by *Bacillus subtilis* cells immobilized in PVA-cryogel[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 34(2): 168-176.
- [8] Ting Y P, Sun G. Use of polyvinyl alcohol as a cell immobilization matrix for copper biosorption by yeast cells[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2000, 75(7): 541-546.
- [9] Shan G B, Xing J M, Liu H Z, et al. Biodesulfurization using *Pseudomonas delafieldii* in magnetic polyvinyl alcohol beads[J]. Letters in Applied Microbiology, 2005, 40(1): 30-36.
- [10] Wang Y J, Yang X J, Li H Y, et al. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* with complex of PVA and sodium alginate[J]. Polymer Degradation and Stability, 2006, 91(10): 2408-2424.
- [11] Wang Y J, Yang X J, Tu W, et al. High-rate ferrous iron oxidation by immobilized *Acidithiobacillus ferrooxidans* with complex of PVA and sodium alginate[J]. Journal of Microbiology Methods, 2007, 68(2): 212-

- 217.
- [12] Liu W, Hu Z H, Liu Y F, et al. Preparation of novel immobilized microbe beads and their performance in the treatment of synthetic aniline wastewater[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(6): 1195 - 1202
- [13] Hashimoto S, Furakawa K. Immobilization of activated sludge by PVA - boric acid method[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1987, 30 (1): 52 - 59.
- [14] Wang J L, Liu P, Qian Y. Biodegradation of phthalic acid esters by immobilized microbial cells[J]. *Environment International*, 1997, 23 (6): 775-782.
- [15] Park E J, Seo J K, Kim M R, et al. Salinity acclimation of immobilized freshwater denitrifier[J]. *Aquacultural Engineering*, 2001, 24(3): 169-180.
- [16] Seo J K, Jung I H, Kim M R, et al. Nitrification performance of nitrifiers immobilized in PVA(polyvinyl alcohol) for a marine recirculating aquarium system[J]. *Aquacultural Engineering*, 2001, 24(3): 181-194.
- [17] Quan X C, Shi H C, Wang J L, et al. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol in sequencing batch reactors augmented with immobilized mixed culture[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(8): 1069-1074.
- [18] Quan X C, Shi H C, Zhang Y M, et al. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol in an air-lift honeycomb-like ceramic reactor[J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38(11): 1545-1551.
- [19] He F, Hu W R, Li Y Z. Investigation of isolation and immobilization of a microbial consortium for decoloring of azo dye 4BS[J]. *Water Research*, 2004, 38(16): 3596-3604.
- [20] Yang J X, He M Y, Wang G J. Removal of toxic chromate using free and immobilized Cr(VI)-reducing bacterial cells of *Intrasporangium* sp Q5-1[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(9): 1579-1587.
- [21] Chen K C, Chen J J, Houg J Y. Improvement of nitrogen-removal efficiency using immobilized microorganisms with oxidation-reduction potential monitoring[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2000, 25(5): 229-234.
- [22] Chen K C, Wu J Y, Huang C C, et al. Decolorization of azo dye using PVA-immobilized microorganisms[J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 101 (3): 241-252.
- [23] Sasaki H, Nonaka J, Sasaki T, et al. Ammonia removal from livestock wastewater by ammonia-assimilating microorganisms immobilized in polyvinyl alcohol[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2007, 34(2):105-110.
- [24] Kao W C, Wu J Y, Chang C C, et al. Cadmium biosorption by polyvinyl alcohol immobilized recombinant *Escherichia coli*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1-3): 651-658.
- [25] Wang J L, Zhang Y X, Wang Y Y, et al. An innovative reactor-type biosensor for BOD rapid measurement[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 25 (7): 1705-1709.
- [26] Idris A, Zain N A M, Suhaimi M S. Immobilization of baker's yeast invertase in PVA-alginate matrix using innovative immobilization technique[J]. *Process Biochemistry*, 2008, 43(4): 331-338.
- [27] Zain N A M, Suhaimi M S, Idris A. Hydrolysis of liquid pineapple waste by invertase immobilized in PVA-alginate matrix[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2010, 50(3): 83-89.
- [28] Zain N A M, Suhaimi M S, Idris A. Development and modification of PVA-alginate as a suitable immobilization matrix[J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(11): 2122-2129.
- [29] Takei T, Ikeda K, Ijima H, et al. Fabrication of poly(vinyl alcohol) hydrogel beads crosslinked using sodium sulfate for microorganism immobilization[J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(2): 566-571.
- [30] Hsieh Y L, Tseng S K, Chang Y J. Nitrification using polyvinyl alcohol-immobilized nitrifying biofilm on an O₂-enriching membrane[J]. *Biotechnology Letters*, 2002, 24(4): 315-319.
- [31] Hsia T H, Feng Y J, Ho C M, et al. PVA-alginate immobilized cells for anaerobic ammonium oxidation (anammox) process[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2008, 35(7): 721-727.
- [32] Chang C C, Tseng S K. Immobilization of *Alcaligenes eutrophus* using PVA crosslinked with sodium nitrate[J]. *Biotechnology Techniques*, 1998, 12(12): 865-868.
- [33] Zhang L S, Wu W Z, Wang J L. Immobilization of activated sludge using improved polyvinyl alcohol (PVA) gel[J]. *Journal of Environment Science-China*, 2007, 19(11): 1293-1297.
- [34] Long Z E, Huang Y H, Cai Z L, et al. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by a PVA-boric acid method for ferrous sulphate oxidation[J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39(12): 2129-2133.
- [35] Dave R, Madamwar D. Esterification in organic solvents by lipase immobilized in polymer of PVA alginate boric acid[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(4): 951-955.
- [36] Poopal A C, Laxman R S. Hexavalent chromate reduction by immobilized *Streptomyces griseus*[J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(6): 1005-1010.
- [37] Li H Z. Study on optimization and application of the BOD biosensor [D]. Beijing: Tsinghua University 2002.
- [38] Jeon C, Park J Y, Yoo Y J. Novel immobilization of alginic acid for heavy metal removal[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2002, 11(2-3): 159-166.
- [39] Chang I S, Kim C I, Nam B U. The influence of poly-vinyl-alcohol (PVA) characteristics on the physical stability of encapsulated immobilization media for advanced wastewater treatment[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(9): 3050-3054.
- [40] Liu S W, Li H. Mechanical Strength Improvement of Immobilized Microbial Cell Granule[J]. *Journal of Microbiology*, 2005, 25(4): 32-34.
- [41] Mitumata T, Hasegawa C, Kawada H, et al. Swelling and viscoelastic properties of poly(vinyl alcohol) physical gels synthesized using sodium silicate[J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2008, 68(1): 133-140.
- [42] An M, Lo K V. Activated sludge immobilization using the PVA-alginate-borate method[J]. *Journal of Environmental Science and Health A*, 2001, 36 (1): 101-115.
- [43] Ariga O, Takagi H, Nishizawa H, et al. Immobilization of microorganisms with PVA hardened by iterative freezing and thawing[J]. *Journal of Fermentation Technology*, 1987, 65(6): 651-658.
- [44] Ichijo H, Nagasawa I, Yamauchi A. Immobilization of biocatalysts with poly(vinyl alcohol) supports[J]. *Journal of Biotechnology*, 1990, 14(2): 169-178.
- [45] Chen K C, Chen S J, Houg J Y. Improvement of gas permeability of denitrifying PVA gel beads[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1996, 18(7): 502-506.
- [46] Muftah H E N, Shaheen A A M, Souzan M. Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) gel[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2-3): 720-725.
- [47] Muftah H E N, Sulaiman A Z, Souzan M. Continuous biodegradation of phenol in a spouted bed bioreactor (SBBR) [J]. *Biochemical Engineering*

- neering Journal, 2010, 160(2): 565–570.
- [48] Wang J L, Quan X C, Han L P, et al. Microbial degradation of quinoline by immobilized cells of *Burkholderia pickettii*[J]. Water Research, 2002, 36(9): 2288–2296.
- [49] Kim J W, Rainina E I, Mulbry W W, et al. Enhanced-rate biodegradation of organophosphate neurotoxins by immobilized nongrowing bacteria[J]. Biotechnology Progress, 2002, 18(3): 429–436.
- [50] Li T. Preparation of polyvinyl alcohol composite carriers for the Immobilization of effective microorganisms[D]. Guangzhou: South China University of Technology Guangzhou, 2013.
- [51] Wang Y, Tian Y, Han B, et al. Biodegradation of phenol by free and immobilized *Acinetobacter* sp. strain PD12[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19 (2): 222–225.
- [52] Rostron W M, Stuckey D C, Yong A A. Nitrification of high strength ammonia wastewaters: Comparative study of immobilisation media[J]. Water Research, 2001, 35 (5): 1169–1178.
- [53] Cao G M, Zhao Q X, Sun X B, et al. Characterization of nitrifying and denitrifying bacteria coimmobilized in PVA and kinetics model of biological nitrogen removal by coimmobilized cells[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30(1): 49–55.
- [54] Khoo K M, Ting Y P. Biosorption of gold by immobilized fungal biomass[J]. Biochemical Engineering Journal, 2001, 8(1): 51–59.
- [55] Sheng P X, Wee K H, Ting Y P, et al. Biosorption of copper by immobilized marine algal biomass[J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 136(2–3): 156–163.
- [56] Pattanapitpaisal P, Brown N L, Macaskie L E. Chromate reduction by microbacterium liquefaciens immobilized in polyvinyl alcohol[J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(1): 61–65.
- [57] Poopal A C, Laxman R S. Chromate reduction by PVA–alginate immobilized *Streptomyces griseus* in a bioreactor[J]. Biotechnology Letters, 2009, 31(1): 1171–1176.

Methods and application of immobilized microorganism in PVA

LIU Yuankun^{1,2}, MAO Yunhan^{2,3}, WANG Jianlong²

1. College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

2. Laboratory of Environmental Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084, China

3. Datang Environment Industry Group Co., Ltd., Beijing 100097, China

Abstract The immobilized microorganism technology is advantageous in increasing the concentration of microorganism and improving the efficiency of the wastewater treatment in solutions. This paper reviews the characteristics and the advantages of the immobilized microorganism in the PVA and the methods of the immobilization. The shortages of common methods (the physical crosslinking method and the chemical crosslinking method) are pointed out and relevant optimization techniques are proposed. The applications of the immobilized microorganism of the PVA in the wastewater treatment are discussed, as well as the advantages and disadvantages of the PVA in this area. It is important for the sustainability of the wastewater treatment to develop a simple immobilized microorganism technology with good microbial activity, high mechanical strength, and water-absorbing and swelling behavior.

Keywords immobilization microorganism; PVA; environmental protection

(编辑 祝叶华)