

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2015.10.2015052805

徐颖超, 徐筑君, 常晓杰, 等. 聚乙烯醇固定化新方法包埋细菌复合胶体颗粒在毒性检测领域中的应用[J]. 环境化学, 2015, 34(10): 1860-1866

XU Yingchao, XU Zhujun, CHANG Xiaojie, et al. Applications of a new immobilizing method for doped polyvinyl alcohol-bacteria composite in the field of toxicity test[J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(10): 1860-1866

聚乙烯醇固定化新方法包埋细菌复合胶体颗粒 在毒性检测领域中的应用*

徐颖超 徐筑君 常晓杰 刘 畅**

(辽宁医学院药学院, 锦州, 121000)

摘 要 本文将聚乙烯醇(PVA)分别与添加剂碳酸钙(CaCO_3)、活性炭(AC)、二氧化硅(SiO_2)以及海藻酸钠(SA)掺杂,并对大肠杆菌(*E. coli*)进行包埋,形成4种PVA包埋细菌复合胶体颗粒.同时,采用以铁氰化钾为探针的电化学方法监测被包埋菌体的活性变化,进而对各复合颗粒中的添加剂含量进行择优筛选.在最优条件下,研究各复合颗粒的储藏时间和方式对菌体的活性影响及各种包埋材料的机械稳定性.将筛选出的最优活性下各包埋细菌复合胶体颗粒应用于3,5-二氯苯酚(DCP)的毒性检测,其对DCP的灵敏度排序依次为 $\text{SA} > \text{AC} > \text{CaCO}_3 > \text{SiO}_2$.因此,以PVA-SA固定微生物的复合胶体颗粒与PVA固定微生物胶体颗粒分别应用于1—5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙醚酚水样的毒性检测,得其抑制率范围分别为6.38%—21.44%和3.21%—16.98%.由此表明,加入添加剂后的PVA固定法对毒物毒性的灵敏度有显著提高,在固定化微生物水质毒性检测领域具有一定的实际应用价值.

关键词 聚乙烯醇, 添加剂, 固定化微生物, 微生物传感器, 毒性检测.

Applications of a new immobilizing method for doped polyvinyl alcohol-bacteria composite in the field of toxicity test

XU Yingchao XU Zhujun CHANG Xiaojie LIU Chang**

(College of Pharmacy, Liaoning Medical University, Jinzhou, 121000, China)

Abstract: In this paper, polyvinyl alcohol (PVA) was doped with calcium carbonate (CaCO_3), activated carbon (AC), silica (SiO_2) and sodium alginate (SA), respectively. And then these entrapped PVAs were used to embed *Escherichia coli* (*E. coli*) and produce four type of entrapped PVA-bacteria agents. Potassium ferricyanide was used as a probe to monitor the changes of bacterial activities, and the optimum contents of additives were selected based on the results of the above activity tests. Thus the effects of storage, mechanical stability of various composites on the bacterial activities were further studied under the optimum contents of additives. Based on the optimum conditions, embedded bacteria in all 4 types of composites were employed to detect the toxicity of 3, 5 dichlorophenol (DCP). The experimental results showed that the sensitivity of embedded bacteria in different composites to DCP was $\text{SA} > \text{AC} > \text{CaCO}_3 > \text{SiO}_2$. Therefore, the embedded bacteria in PVA-SA composite and PVA were used separately to detect the toxicities of ethirimol water samples in 1—5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The obtained ranges of inhibition rate were 6.38%—21.44% for PVA-SA composite embedding bacteria and 3.21%—16.98% for PVA embedding bacteria. These results indicated that

2015年5月28日收稿.

* 辽宁省自然科学基金(2014022037); 辽宁医学院博士启动基金(Y2012B006)资助.

** 通讯联系人, E-mail: liuchang_198006@163.com

the doped additives effectively improved the sensitivity of PVA immobilizing method and provided an alternative for the technique of bacterial immobilization in the field of toxicity test.

Keywords: polyvinyl alcohol, annexing agent, immobilized microorganism, microbial sensor, toxicity.

随着工农业的快速发展,化学药品及有害物质的使用日益增多,不仅导致各类急性环境污染事故的频发,破坏水环境生态系统,更长期、潜在地影响人们的健康和日常生活^[1-5].因此,寻找改善水体质量,完善水质长期监测及实时检测的优良方法刻不容缓.

目前水体治理的方法众多,而固定化微生物技术因其生物稳定性好、耐受性强、活性高及过程简单等一系列优点,在废水生物处理,尤其是含毒、含难降解物质的特种废水处理领域应用广泛^[6-9].同时,成本低廉、保存容易及操作简单等特点也促使微生物固定化技术成为近年来迅速发展的生物传感技术的研究热点之一^[10-12].聚乙烯醇(PVA)-硼酸包埋固定法更因其机械强度高、化学稳定性好、抗微生物分解性强、对细胞无毒且价格低廉等优点备受关注^[13-17].然而,PVA包埋法也存在着一些缺陷,如PVA-硼酸的交联强度较低,阻碍了包埋细菌的扩散,交联后的细菌活性丧失较大且固定化颗粒易粘连等^[18-21].

因此,本研究尝试采用廉价易得的碳酸钙(CaCO_3)、活性炭(AC)、二氧化硅(SiO_2)以及海藻酸钠(SA)等4种添加剂分别与PVA进行掺杂,以增加PVA-硼酸的交联强度,改善固定化颗粒的硬度及提高包埋细菌的生物活性^[22-28].同时,采用低危害大肠杆菌(*E. coli*)作为包埋微生物,建立以铁氰化钾为探针的生物电化学检测方法^[29].通过监测铁氰化钾还原产物的量的变化,考察微生物呼吸作用的改变,从而对添加剂的浓度进行择优选择.在添加剂的最优掺杂浓度下,确定已包埋细菌的胶体复合材料的储藏时间、方式对菌体活性的影响及各复合胶体颗粒的机械强度,并将其应用于3,5-二氯苯酚(DCP)的毒性检测,筛选灵敏度最高的包埋方法.最后,PVA-SA固定微生物的复合胶体颗粒作为最灵敏方法被应用于含杀虫剂乙嘧酚的水样中进行实际样品的毒性检测.结果表明,掺杂添加剂后的PVA固定化颗粒对毒性的灵敏度有显著提高.该法简便快捷,可应用于工农业废水的毒性检测领域.

1 材料与方法

1.1 实验材料

菌种:*E. coli* 从辽宁医学院附属第一医院采集,纯化后用15%甘油冷冻保存.

LB培养基:酵母粉 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NaCl $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 调节 pH 值为 7.0, 于 120°C 下灭菌 20 min 后备用.

磷酸缓冲溶液(PBS): KH_2PO_4 $0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2HPO_4 $0.12 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 于 120°C 下灭菌 20 min 后使用.

DCP 和乙嘧酚母液浓度均为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以灭菌蒸馏水配制.

葡萄糖-谷氨酸(GGA)标准溶液:葡萄糖 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 谷氨酸 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以灭菌蒸馏水当天使用当天配制.

除蛋白胨和酵母提取物以外,所用试剂均为分析纯.

1.2 实验仪器

CHI832C 电化学分析仪(上海辰华仪器有限公司);KYC-100B 空气恒温摇床(上海福玛实验室设备有限公司);721 可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司).

1.3 菌种的处理

取 $200 \mu\text{L}$ 解冻的甘油保藏 *E. coli* 菌种接入 330 mL 的 LB 培养基中,于恒温摇床中培养 14 h (37°C , $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),平行培养 6 份.将培养后的菌液在 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 10 min,弃去上层培养基,菌体沉淀用 PBS 洗涤 2 次后,悬浮于 20 mL PBS 中.采用 721 可见分光光度计于 600 nm 处检测菌悬液的光密度值(OD_{600}),并将其调节为 10.0 后,放于 4°C 冰箱中备用.

1.4 固定微生物的复合胶体颗粒的制备

制备流程如图 1,将 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ PVA 分别与 CaCO_3 、 SiO_2 、AC 和 SA 充分热融,冷却后与 1.3 中的备用

菌悬液均匀混合,控制总体积为 10 mL,*E. Coli* OD₆₀₀ = 10. 0,添加剂 CaCO₃ 及 SiO₂ 的终浓度分别为 5、7.5、10、12.5、15 g·L⁻¹,AC 和 SA 的终浓度分别为 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5 g·L⁻¹.随后用针管注射器将 *E. coli* 和 PVA 混合物中分别掺杂 CaCO₃、SiO₂ 及 AC 的悬液滴入 100 mL 饱和硼酸溶液 (pH 6.7),不断搅拌,形成直径为 1.5 mm 的固定化颗粒.*E. coli* 和 PVA 混合物中掺杂 SA 的悬液则另需滴入至含 2% CaCl₂ 的 100 mL 饱和硼酸溶液中.于 4 ℃ 冰箱内,固定微生物的复合胶粒在硼酸或 CaCl₂-硼酸溶液中持续交联 24 h 后,滤出胶粒,用 PBS 洗涤后备用.

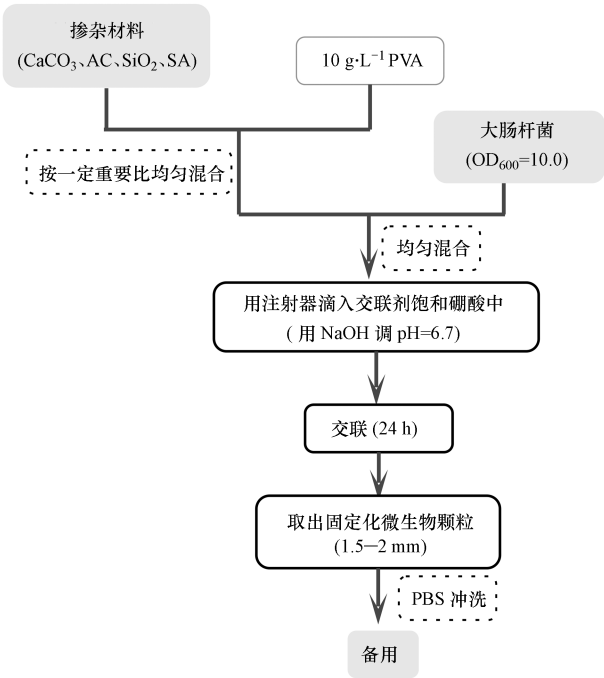


图 1 固定微生物的复合胶体颗粒制备流程

Fig.1 The preparation process of immobilized bacteria in particles with composite colloida

1.5 分析方法

将固定微生物的复合胶体颗粒置于已通氮 20 min 的 10 mL 混合培养液 (45 mmol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆、220 mg·L⁻¹ GGA) 中,继续于 37 ℃ 水浴中通氮培养 1 h 后,每份样品中平行取 3 份 1 mL 培养液,并在 8000 r·min⁻¹ 下离心 3 min 以终止可能由颗粒中泄露的 *E. coli* 所引起的二次反应.

微生物因呼吸作用产生的电子可借助 Fe(CN)₆³⁻ 转移至体外,因此 K₃Fe(CN)₆ 可作为探针,结合电化学分析仪,外加 +450 mV 电压,通过检测氧化电流强度,即可衡量各复合胶体颗粒中包埋的微生物的活性^[29-30],进而筛选固定化条件.被包埋微生物的活性计算方法如式 (1) 所示:

$$\text{Ratio}\% = \frac{i_m}{i_0} \times 100\% \tag{1}$$

其中: i_m 为氧化微生物呼吸产物 Fe(CN)₆⁴⁻ 的极限电流值; i_0 为空白对照电流,即复合胶体颗粒中不含任何微生物.

毒性采用毒物对微生物呼吸作用的抑制率表示,如式 (2) 所示:

$$I_{\text{inhibition}}\% = \frac{I_{\text{nor}} - I_{\text{tox}}}{I_{\text{nor}}} \times 100\% \tag{2}$$

其中: I_{nor} 为氧化正常微生物呼吸作用产物 Fe(CN)₆⁴⁻ 的极限电流值; I_{tox} 为氧化受毒物影响的微生物呼吸作用产物 Fe(CN)₆⁴⁻ 的极限电流值; $I_{\text{inhibition}}$ 为毒物对固定化微生物的抑制率.

2 结果与讨论

2.1 添加剂浓度对固定化微生物活性的影响

各取分别掺杂 SA、AC、CaCO₃ 和 SiO₂ 的复合胶体颗粒 3 颗,分别于混合培养液中通氮保温培养 1 h 后,采用电化学方法检测添加剂的使用量对 *E. coli* 的活性影响.所得结果如图 2 所示,SA、AC、CaCO₃ 和 SiO₂ 的掺杂浓度较低时,极限电流随着浓度的增加而增大,被包埋微生物活性比值也随之显著增加.但当 4 种添加剂的浓度达到某一限值($C_{CaCO_3}=10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_{AC}=1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_{SiO_2}=10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_{SA}=1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 时,极限电流呈下降趋势,相对应的活性比值也随之下降.其原因可能是,随着添加剂浓度的增加复合胶体颗粒间的空隙也随之增大,在低浓度时,使得能够包埋的细菌逐渐增多,当浓度达到某一值后,复合胶体颗粒间的空隙的增大导致交联时更多的硼酸进入,致使微生物死亡,从而活性降低.根据上述结果,本研究后续试验中采用的 PVA 浓度皆为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,相对应的添加剂 CaCO₃ 和 SiO₂ 的浓度为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,AC 和 SA 的浓度为 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

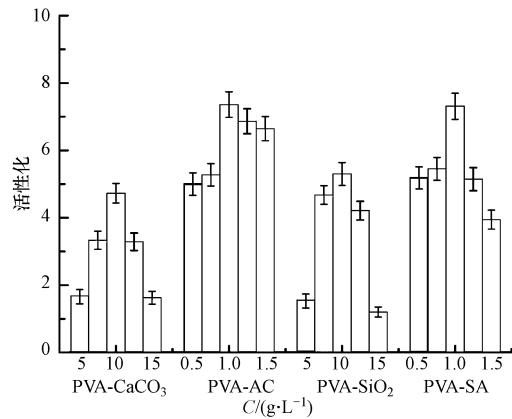


图 2 不同浓度的添加剂对 *E. coli* 活性的影响
Fig.2 Effects of different concentrations of additives on *E. coli* activities

2.2 储藏方式和添加剂对固定化微生物活性的影响

分别选取 SA、AC、CaCO₃ 和 SiO₂ 最佳使用浓度用于 PVA 固定 *E. coli*,每种材料制备 60 粒包埋微生物胶体复合颗粒并存贮于 PBS 中,其中 30 粒置于 4 ℃ 冰箱保藏,另 30 粒保藏于恒温温 (25 ℃) 条件.每隔 5d 各取 3 粒于不同方式下保藏的不同包埋材料的复合胶体颗粒,检测包埋微生物活性,所得结果如图 3 所示.由图 3 可见, $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA- $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCO₃、 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA- $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ AC、 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA- $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ SiO₂ 及 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVA- $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ SA 的混合比例下,4 ℃ 保存条件下的包埋微生物的活性要明显高于室温储存.这主要是由于 4 ℃ 可以抑制酶活性,降低微生物的代谢速度,延长其存活周期.同时,4 ℃ 时水密度最大,体积最小,可以减少其对组织的破坏.而相对于掺杂 CaCO₃ 或 SiO₂ 两种材料,PVA-AC 和 PVA-SA 复合胶体材料能够更加有效的保持被包埋的 *E. coli* 的活性,其原因可能是 AC 与 SA 更易成颗粒,增强了 PVA 的通透性,便于营养物质和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的转移运输;相对于其它掺杂物,AC 表面和 SA 分子内含有大量—COOH 及—OH 官能团,具有更好的生物相容性.

2.3 不同添加剂复合颗粒的机械强度

基于 SA、AC、CaCO₃ 和 SiO₂ 优化浓度制备 PVA 包埋 *E. coli* 复合胶体颗粒,随机抽取每种类小球各 30 粒分别置于已加入 100 mL PBS 的玻璃培养池,在 25 ℃ 下以 $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 均匀搅拌 12 h,观察各种类小球的完整程度,确定掺杂材料对 PVA 包埋微生物球体的机械强度的影响.以各固定化微生物颗粒完好的球体占原球体总数的比率表示其机械稳定性,添加剂对胶体颗粒机械强度影响的顺序依次为 $\text{AC} > \text{SA} > \text{CaCO}_3 > \text{SiO}_2$ (如表 1 所示).显然,AC 和 SA 不仅提供了较好的包埋活性,更有效提高了固定化微生物颗粒整体的机械强度.综合前人研究结果认为,AC 表面大量的含氧官能团增强了交联作用,进而增加了颗粒的机械强度^[31];而 SA 作为粘度较强的大分子有机材料,自身即具有较好的机械强度.

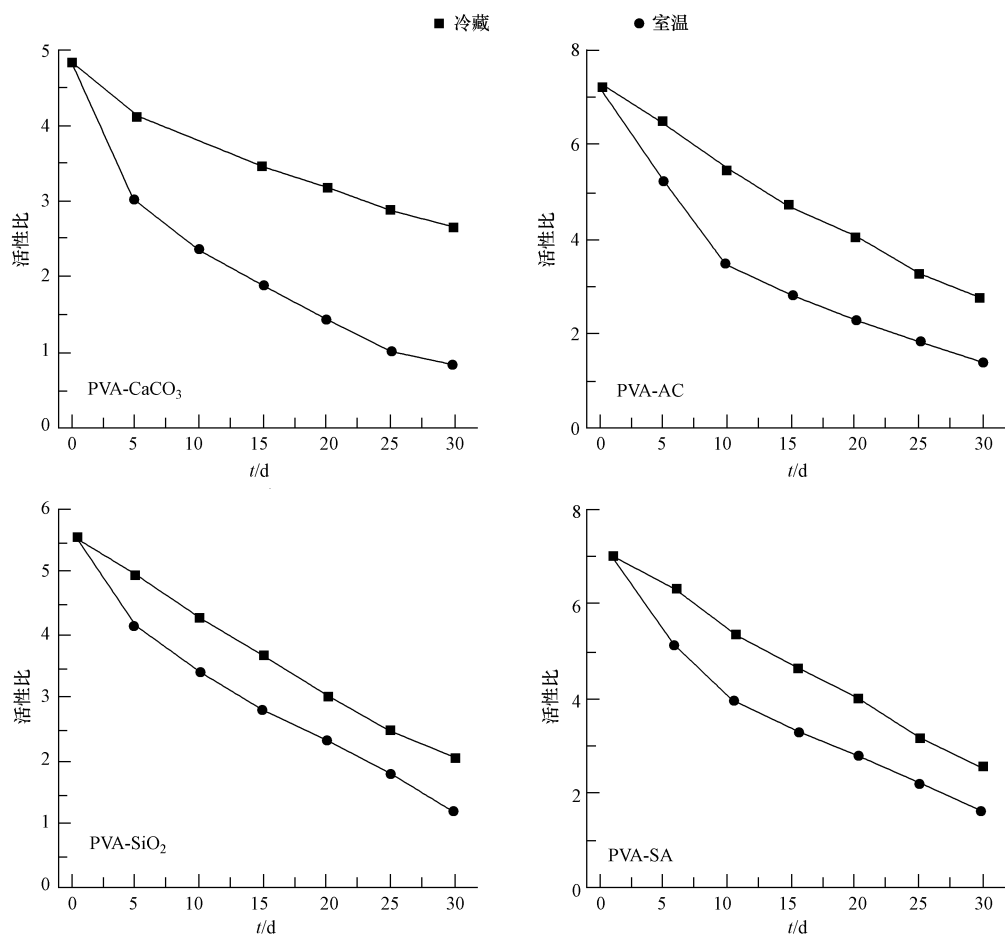


图 3 储藏方式和添加剂种类对固定化 *E. coli* 活性的影响

Fig.3 Effects of different storage methods and additives on the activities of immobilized *E. coli*

表 1 25 ℃, 120 r·min⁻¹磁力搅拌下,经 12 h 各包埋材料固定化颗粒的机械稳定性

Table 1 37 ℃, 120 r·min⁻¹ under magnetic stirring, mechanical stability through 12 h each embedding material immobilized particles

包埋载体	初始活性比 *	12 h 颗粒破裂个数/颗	机械稳定性/%
PVA-CaCO ₃	4.83	18	40.00
PVA-AC	7.21	13	56.67
PVA-SiO ₂	5.56	21	30.00
PVA-SA	7.02	16	46.67

注: * 来自图 3.

2.4 固定化微生物对毒物 DCP 的灵敏度

分别选取基于 SA、AC、CaCO₃和 SiO₂最优浓度制备的 PVA 包埋 *E. coli* 复合胶体颗粒置于含有不同浓度 DCP(2—16 mg·L⁻¹)的混合培养液中,37 ℃水浴通氮反应 1 h 后,以时间电流曲线(获得极限电流值)考察各类固定化微生物小球对 DCP 的灵敏度.图 4 展示了 DCP 对经 4 种不同复合胶体材料包埋的 *E. coli* 的抑制率随 DCP 浓度变化曲线.结果表明,尽管研究中采用的包埋材料有所不同,但 DCP 对 *E. coli* 的抑制率曲线的趋势基本一致.但经 PVA-AC 和 PVA-SA 包埋的 *E. coli* 对 DCP 的毒性显然更加灵敏,其原因可能是由于 AC 与 SA 更易成颗粒,增强了球体的通透性,增加了 *E. coli* 与 DCP 的接触,因此菌体的活性降低幅度更大.以毒性检验常用标准-半数抑制率(50% Inhibiting concentration, IC₅₀)进一步衡量其灵敏度,结果显示,PVA-SiO₂、PVA-AC、PVA-SA 和 PVA-CaCO₃等 4 种材料包埋 *E. coli* 对 DCP 的 IC₅₀值分别为 15.76、9.32、7.28、13.83 mg·L⁻¹.显然,IC₅₀值越小说明菌体对毒物的敏感性越强,故采用 PVA-SA 包埋的 *E. coli* 对毒物的灵敏度明显优于其他 3 种混合材料,而 PVA-SiO₂包埋的 *E. coli* 对毒物

的灵敏度最低.因此,本研究选定 PVA-SA 包埋 *E. coli* 应用于实际水样的毒性检测中.

2.5 优化的包埋载体在含杀虫剂乙嘧酚的水样中的应用

以 10 g·L⁻¹ PVA-1 g·L⁻¹ SA 混合胶体包埋的 *E. coli* 为受试微生物,构建微生物电化学传感平台,应用于含乙嘧酚水样的毒性检测,并以仅用 10 g·L⁻¹ PVA 包埋的大肠杆菌颗粒为对照,结果如图 5 所示.在 1—5 mg·L⁻¹ 的乙嘧酚水样中,PVA-SA 包埋的 *E. coli* 呼吸作用所受的抑制范围为 6.38%—21.44%,对照组的呼吸作用抑制范围为 3.21%—16.98%.由此表明,相对于单纯的 PVA 包埋材料,PVA-SA 提供了更好的通透性,因此菌体与乙嘧酚接触更加充分,表现为固定化微生物小球的灵敏度显著提高.

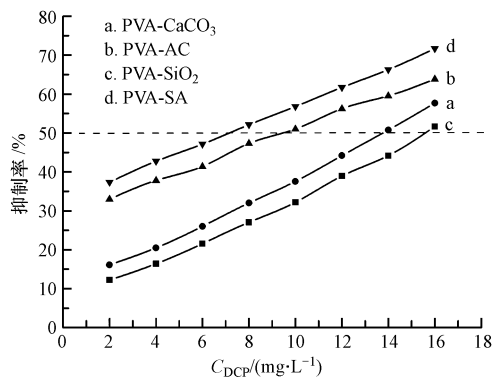


图 4 不同浓度的 DCP 对大肠杆菌呼吸活动的抑制率

Fig.4 Inhibition rate of different concentrations of DCP on the respiratory activities of *E. coli*

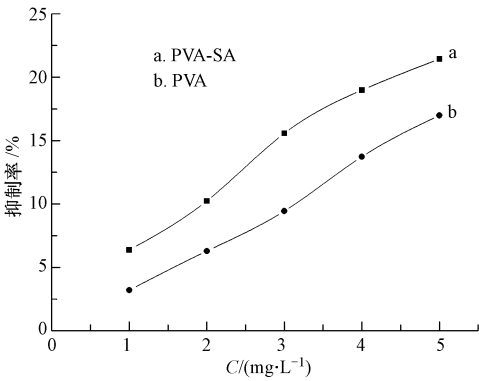


图 5 乙嘧酚对 PVA 或 PVA-SA 固定 *E. coli* 呼吸活动的影响

Fig.5 Effects of ethirimol on the respiration of immobilized *E. coli* by PVA or PVA-SA

3 结论

本文采用 4 种不同添加剂掺杂 PVA 对 *E. coli* 进行包埋,制备多种固定微生物的复合胶体颗粒,并采用计时电流法对各胶体颗粒的整体活性进行检测.结果表明:当 PVA 浓度固定为 10 g·L⁻¹时,CaCO₃、AC、SiO₂和 SA 的浓度依次为 10、1.0、10、1 g·L⁻¹时,各固定化微生物颗粒展现的总体活性最强.在机械强度测试中,PVA 掺杂 AC 或 SA 胶体颗粒的强度明显优于掺杂 CaCO₃或 SiO₂的颗粒,因此在实际应用中可回收性更强;同时,AC 和 SA 更好地提高了球体的通透性,增加了培养液和 K₃Fe(CN)₆与菌体的接触,相应地固定微生物小球的生物活性也更好.同理,AC 和 SA 也可增加毒物与被包埋微生物的接触,因此各类复合胶体颗粒对 DCP 的毒性灵敏度排序为 SA > AC > CaCO₃ > SiO₂. 将 PVA-SA 包埋的固定化微生物颗粒用于含杀虫剂乙嘧酚水样的毒性检测,其对毒性的敏感度明显高于 PVA 单独包埋的微生物颗粒.总之,本研究通过优化添加剂的添加量改变了 PVA 材料成球的通透性和机械强度,提高了固定化微生物小球的总体活性和球体的可回收性,证明了 PVA 固定化微生物在水质毒性检测领域的应用价值.

参 考 文 献

[1] Zhu Y D, Yang Y Y, Liu M X, et al. Concentration, distribution, Source, and risk assessment of PAHs and heavy metals in surface water from the three gorges reservoir, China[J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2015, 1(6): 1593-1607

[2] Yang X F, Duan J M, Wang L, et al. Heavy metal pollution and health risk assessment in the Wei River in China[J]. Environ Monit Assess, 2015, 187(3): 1-11

[3] Lu Y L, Song S, Wang R S, et al. Impacts of soil and water pollution on food safety and health risks in China[J]. Environment International, 2015, 77: 5-15

[4] Gaur N, Flora G, Yadav M, et al. A review with recent advancements on bioremediation-based abolition of heavy metals[J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2014, 16: 180-193

[5] 谢欣. 突发性水污染事件应急监测的探讨[J]. 科技与创新, 2015, 3: 117-118

[6] Qian J, Li J M, Fang D Y, et al. A disposable biofilm-modified amperometric biosensor for the sensitive determination of pesticide biotoxicity

- in water[J].RSC Advances,2014,4:55473-55482
- [7] 俞卫忠,陈建.生物传感器及其在环境监测中的应用[J].污染防治技术,2014,27(2):66-68
- [8] 冯冲.微生物传感器研究进展及在环境监测中的应用[J].资源节约与环保,2015,(1):52-52
- [9] 王晓辉,赵丽霞,姜丹,等.污染物毒性检测的微生物传感器研究进展[J].河北工业科技,2009,26(3):200-204
- [10] Liu C,Sun T,Xu X L,et al.Direct toxicity assessment of toxic chemicals with electrochemical method[J].Analytica Chimica Acta,2009,641(1-2):59-63
- [11] Pramanik S,Khan E.Effects of cell entrapment on growth rate and metabolic activity of pure cultures commonly found in biological wastewater treatment[J].Biochemical Engineering Journal,2009,46(3):286-293
- [12] Martins S C S,Martins C M,Santaella S T.Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater[J].Afr. J. Biotechnol,2013,12(28):4412-4418
- [13] 王杏佳,徐丽,高静,等.PVA 固定化微生物凝胶小球的制备及性能研究[J].塑料工业,2014,42(2):89-92
- [14] 金军,刘希.固定化微生物法处理活性染料印染废水的研究[J].安徽农业科学,2015,43(6):236-237
- [15] Takei T,Zkeda K,Ijima H,et al. A comparison of sodium sulfate, sodium phosphate, and boric acid for preparation of immobilized *Pseudomonas putida*F1 in poly(vinyl alcohol) beads[J].Polym.Bull,2012,69(3):363-373
- [16] Takei T,Zkeda 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
- [17] 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
- [18] 胡俊.固定化微球菌降解废水中邻苯二甲酸酯的研究[D].北京:中国地质大学博士学位论文,2014.
- [19] Bai X,Ye Z F,Li Y F,et al.Preparation of crosslinked macroporous PVA foam carrier for immobilization of microorganisms[J].Process Biochemistry,2010,45(1):60-66
- [20] 茆云汉,王建龙.聚乙烯醇固定化微生物新方法的研究[J].环境科学学报,2013,33(2):370-376
- [21] Bai X,Ye Z F,Li Y F,et al.Macroporous poly(vinyl alcohol) foam crosslinked with epichlorohydrin for microorganism immobilization[J].Journal of Applied Polymer Science,2010,117(5):2732-2739
- [22] 孙丽慧,沈爱萍,何宝龙,等.海藻酸钠聚乙烯醇活性炭共固定化重组大肠杆菌细胞[J].中国食品学报,2015,15(2):21-27
- [23] 李洪昌,王春江,李锡伯,等.海藻酸钙/聚乙烯醇复合医用敷料的制备和性能[J].上海纺织科技,2014,42(12):14-17
- [24] 邹孔标,王伟,卢庆文,等.PVA 控制合成球形碳酸钙[J].南京师范大学学报(工程技术版),2008,8(1):64-68
- [25] Zain N A M,Suhaimi M S,Idris A,et al.Development and modification of PVA-alginate as a suitable immobilization matrix[J].Process Biochemistry,2011,46(11):2122-2129
- [26] Wu S J,Li F T,Xu R,et al.Preparation of poly(vinyl alcohol)/silica composite nanofibers membrane functionalized with mercapto groups by electrospinning[J].Materials Letters,2010,64(11):1295-1298
- [27] 胡章文,李瑞菲,卓甲明,等.纳米 CaCO_3 /PVA 复合材料的制备与表征[J].矿冶工程,2008,28(3):102-109
- [28] 张雅旋,王京刚,陈良杰,等.活性污泥的固定化及其性能研究[J].化工环保,2007,27(2):125-128
- [29] 刘畅.基于铁氰化钾的微生物传感技术的研究[D].沈阳:东北大学博士学位论文,2009.
- [30] 徐筑君,徐颖超,常晓杰,等.以表面处理大肠杆菌为模型的电化学微生物传感器在毒性检测领域的应用[J].环境化学,2015,34(5):897-903
- [31] 冒爱琴,王华,谈玲华,等.活性炭表面官能团表征进展[J].应用化工,2011,40(7):1266-1270