

固定化混合菌处理含油废水优化实验

韩志勇 屈波 张东旭 张利军 李玲

(兰州理工大学 石油化工学院,甘肃 兰州 730050)

摘要:从受石油污染的土壤中筛选和驯化了两株耐低温石油降解菌 JA 和 JB,以核桃壳为吸附载体,制备固定化混合菌,采用响应面法对固定化混合菌处理含油废水的条件进行优化。结果表明,在石油降解菌 JA 和 JB 活菌数量比为 1:2,原油质量浓度 4 300 mg/L,pH 值 7.9,固定化混合菌投加量 27 g/L,固定化时间 28.5 h 条件下,固定化混合菌在 5 d 时间内对原油的降解率最高可达到 69.94%,与模型预测值 68.89% 非常接近。

关键词:含油废水;固定化混合菌;核桃壳;响应面;优化

中图分类号:TQ 085+.413;TQ 033;X 523 文献标识码:A 文章编号:1671-3206(2015)09-1714-05

DOI:10.16581/j.cnki.issn1671-3206.2015.09.037

The optimization experiment on disposing oily wastewater by immobilized mixed bacteria

HAN Zhi-yong, QU Bo, ZHANG Dong-xu, ZHANG Li-jun, LI Ling

(College of Petrochemical Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: JA and JB, low temperature oil-degrading bacterias, were selected and domesticated from soil contaminated by oil. With the walnut shell as adsorption carrier, immobilized mixed bacteria was prepared for disposing oily wastewater, which was optimized by using the response surface method. The results showed that the degradation rate of immobilized mixed bacteria from this experiment on crude oil could reach a maximum of 69.94% within 5 d, which is extremely close to the model predictive value of 68.89%, while the number ratio of oil degradation bacteria-JA and JB was 1:2, the mass concentration of crude oil was 4 300 mg/L, the pH value was 7.9, the dosage of immobilized mixed bacteria was 27 g/L and the immobilizing time was 28.5 h.

Key words: oily wastewater; immobilized mixed bacteria; walnut shell; response surface; optimization

石油在其开采、运输、加工和使用过程中产生的污染物会对生态环境和人类健康存在潜在的威胁^[1],其主要污染物有 *n*-烷烃(TNA)、放射性物质、苯、酚类化合物、腐殖酸和多环芳烃(PAHs)^[2-3]。核桃壳具有坚韧性大、耐磨抗压、吸附能力强、抗油浸、不含有毒物质、在酸、碱和水中溶解度很小、进入水体不会引起水质恶化等优点^[4-5],是油田、冶炼、环保化工等行业含油污水处理的理想材料。

固定化生物技术是采用物理或化学手段将游离细胞或酶限定于一定空间内,使其保持活性并可反复利用的一种方法^[6],已成功应用在水、大气和土壤污染防治领域,尤其对生物难降解有机物^[7-9]、高浓度有机废水^[10-11]和大气中 H₂S、NO_x 和 SO_x^[12-14] 均有较好的处理效果。

本研究选用核桃壳作为生物载体,探索固定化微生物降解原油的最佳条件,以期对固定化微生物

技术处理石油烃类污染物提供一定的科学依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

蛋白胨、酵母粉、NaCl、NH₄Cl、KH₂PO₄、MgSO₄·7H₂O、Fe₂(SO₄)₃、MnSO₄·H₂O、ZnSO₄·H₂O、CaCl₂均为分析纯;耐低温石油降解菌 JA 和 JB(从长庆油田长期受石油污染土壤中筛选和驯化);核桃壳(粉碎至 12~22 目)。

SKY-200B 恒温培养振荡器;SW-CJ-2F 型生物洁净工作台;DNP-9082 恒温培养箱;PHS-3C 精密 pH 计;AB204-L 型分析天平;UV-210PC 紫外可见分光光度计;YXQGOZ 型电热式蒸汽消毒器。

1.2 培养基配制

1.2.1 原油培养基 蛋白胨 10 g 酵母粉 5 g,NaCl 5 g,原油 1 mL,蒸馏水 1 L,调节 pH 值为 7.5。

收稿日期:2014-11-20 修改稿日期:2015-01-21

作者简介:韩志勇(1976-)男,山东潍坊人,兰州理工大学副教授,博士,从事地下水污染治理及石油污染土壤修复工作。电话:0931-7823188,E-mail:hazhy_009@sina.com

1.2.2 无机盐培养基 NH_4Cl 0.511 g, KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.04 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.05 g, CaCl_2 0.01 g 蒸馏水 1 L, 调节 pH 值为 7.5。

1.2.3 基础培养基 蛋白胨 10 g, 酵母粉 5 g, NaCl 5 g, 蒸馏水 1 L, 调节 pH 值为 7.5。配制固体培养基需加入 18~20 g 琼脂。

1.3 固定化混合菌的制备

称取一定量的核桃壳, 放入锥形瓶, 在 121 °C 下高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后, 加入 50 mL 活化 17 h 的混合菌液, 于 180 r/min 摇床中 15 °C 恒温固定 24 h。过滤, 用无菌生理盐水清洗 3 次, 即得到固定化混合菌。

1.4 实验方法^[6,16]

在 50 mL 无机盐培养基中加入 2.0 g JA 和 JB 复配比 1:2 的固定化菌, pH 7.5, 原油质量浓度 5 g/L 条件下, 于 180 r/min 摇床中 15 °C 恒温降解 5 d。采用超声-索氏萃取-重量法^[17] 测定原油降解率。

$$R = [(m_1 - m_2) / m_1] \times 100\% \quad (1)$$

式中 R ——原油降解率, %;

m_1 ——无机盐培养基中原油质量 g;

m_2 ——5 d 后原油质量 g。

2 结果与讨论

2.1 混合菌复配比

在 50 mL 无机盐培养基中加入 2.0 g 固定化菌, 在 pH 值为 7.5、温度 15 °C、原油质量浓度 5 g/L 条件下, 考察 JA 和 JB 复配比例对 R 的影响, 结果见图 1。

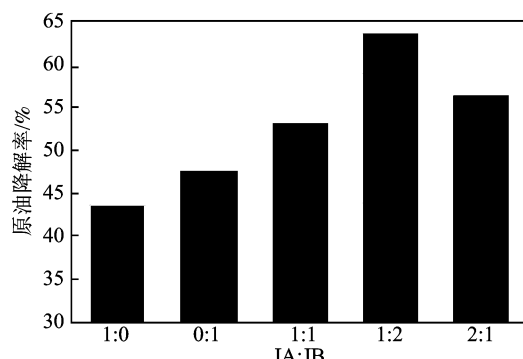


图1 固定化菌复配比对原油降解效果的影响
Fig.1 Effect of immobilized bacteria complex ratio on crude oil degradation result

由图 1 可知, 对原油的降解能力复配菌均高于单菌, JA 和 JB 的生物量以 1:2 复配后, 原油降解率达到 63.92%, 均高于 1:1 和 2:1 配比时的原油降解率。这是由于菌株按比例复配后, 有利于发挥菌株互助作用, 从而提高原油降解率^[18], 因此选择菌株复配比例为 1:2 进行后续实验。

2.2 原油质量浓度的影响

在 50 mL 无机盐培养基中加入 2.0 g JA:JB = 1:2 的固定化复配菌, 在 pH = 7.5、温度 15 °C 的条件下, 研究原油质量浓度对原油降解率的影响, 结果见图 2。

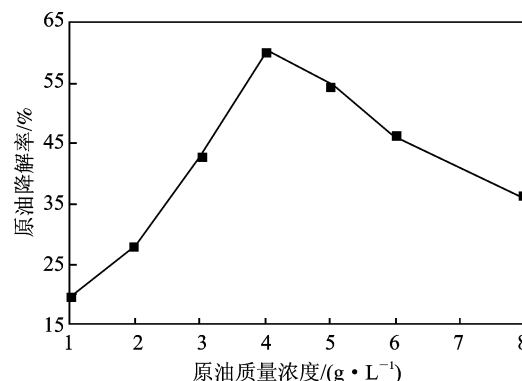


图2 原油质量浓度对原油降解率的影响
Fig.2 Effect of crude oil initial mass concentration on the degradation rate of crude oil

由图 2 可知, 当原油质量浓度 < 4 g/L 时, 原油降解率随着原油浓度的增加而直线上升; 当原油浓度 > 4 g/L 时, 原油降解率降低。这是由于原油浓度不高时, 培养液中底物浓度的增加可以促进菌株生长, 从而提高了原油降解率。原油浓度过高, 会降低原油在溶液中的分子扩散性能, 并抑制菌株的生长繁殖, 从而对原油的降解效果下降。选择原油质量浓度为 4 g/L 进行后续实验。

2.3 pH 值的影响

在 50 mL 无机盐培养基中, 加入 2.0 g JA:JB = 1:2 固定化复配菌, 在原油质量浓度 4 g/L、温度 15 °C 的条件下, 考察 pH 值对原油降解率的影响, 结果见图 3。

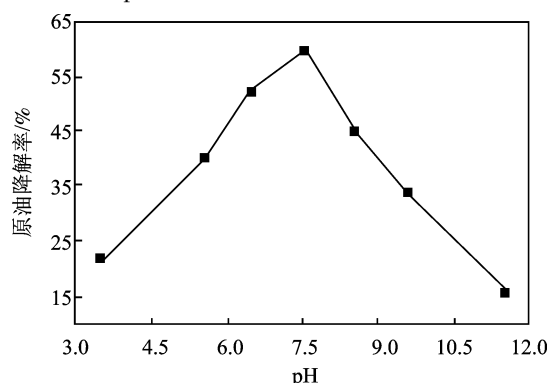


图3 pH 对原油降解率的影响
Fig.3 Effect of pH value on the degradation rate of crude oil

由图 3 可知, 当 pH < 7.5 时, 原油降解率随着 pH 的上升而增加; 当 pH > 7.5 时, 原油降解率随着 pH 的上升而降低。这是由于 pH 过高或过低, 均会影响细胞酶的稳定性和细胞酶活性中心重要基团的解离状态及原油基团的解离状态, 从而降低细胞代谢能力^[18]。在 pH 7.5 时细胞酶表现出最高的催化活性, 促进细胞对原油的代谢, 使原油降解率达到

最高。

2.4 固定化混合菌投加量的影响

在50 mL无机盐培养基中加入固定化复配菌,在原油质量浓度4 g/L、pH=7.5、温度15℃的条件下,考察固定化混合菌投加量对原油降解率的影响,结果见图4。

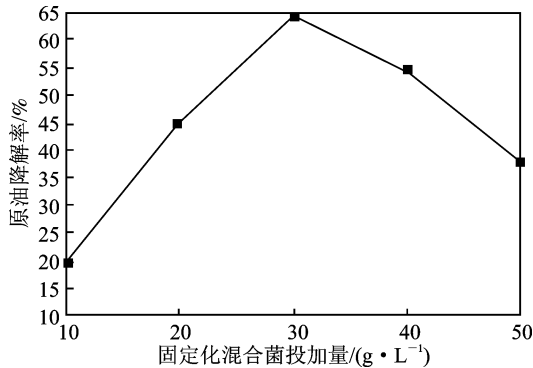


图4 固定化混合菌投加量对原油降解率的影响
Fig. 4 Effect of immobilized mixed bacteria dosage on the degradation rate of crude oil

由图4可知,当固定化混合菌投加量<30 g/L时,随着固定化混合菌投加量的增大,原油降解率升高;固定化混合菌投加量>30 g/L时,原油降解率下降。当固定化混合菌投加量低时,固定化微生物量较少,培养基为微生物提供了充足的营养物质,促进微生物的生长繁殖;随着固定化混合菌投加量的不断增大,固定化微生物量也逐渐增加,微生物之间为争夺营养物质而产生竞争和抑制关系,使原油降解率下降。

2.5 固定化时间的影响

在50 mL无机盐培养基中加入2 g固定化微生物,在原油质量浓度4 g/L、pH值为7.5、温度15℃的条件下,考察微生物固定化时间对原油降解率的影响,结果见图5。

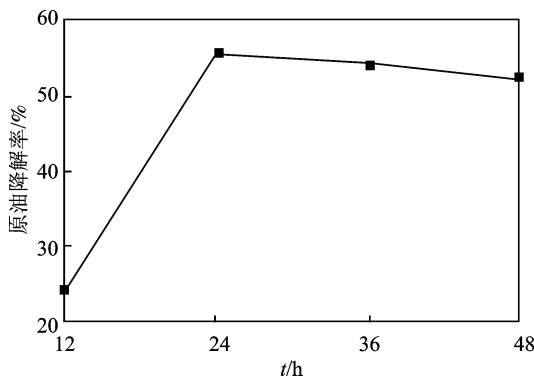


图5 固定化时间对原油降解率的影响
Fig. 5 Effect of immobilizing time on the degradation rate of crude oil

由图5可知,固定化时间<24 h,随着固定化时间的增加,原油降解率逐渐增大;固定化时间为24 h时,原油降解率达到最大值;而24 h后,随着固定化时间的增加,原油降解率反而下降。这是由于初始

阶段,核桃壳有效孔隙率较大,固定化微生物量不断增大;当固定时间超过24 h时,核桃壳孔隙中微生物过于密集,影响微生物活性的发挥,使原油降解率缓慢降低。

2.6 响应面优化实验^[20-21]

依据单因素实验结果,按Box-Behnken设计实验,其因素和水平见表1,结果见表2。

表1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	A	B	C	D
	原油质量浓度/(g·L ⁻¹)	溶液pH值	固定化混合菌投加量/(g·L ⁻¹)	固定化时间/h
-1	2	5.5	20	12
0	4	7.5	30	24
1	6	9.5	40	36

表2 实验结果
Table 2 Result of experiment

实验号	A	B	C	D	R/%	
					预测值	实测值
1	0	0	-1	1	47.73	50.62
2	-1	-1	0	0	29.46	32.10
3	0	0	1	1	47.99	53.84
4	0	0	0	0	66.54	64.72
5	0	1	0	-1	34.32	35.60
6	0	-1	1	0	36.81	35.64
7	0	1	0	1	53.17	53.69
8	-1	0	-1	0	49.14	47.50
9	1	0	-1	0	46.26	45.82
10	0	1	-1	0	56.26	56.78
11	1	0	0	-1	31.92	35.19
12	0	-1	0	-1	30.22	28.41
13	0	1	1	0	37.88	34.64
14	-1	1	0	0	41.38	43.00
15	-1	0	0	1	35.04	31.13
16	0	0	0	0	66.54	68.25
17	0	0	0	0	66.54	69.21
18	0	0	1	-1	25.45	24.50
19	1	0	0	1	57.19	54.41
20	0	0	0	0	66.54	65.16
21	0	-1	0	1	37.15	34.58
22	1	1	0	0	49.28	48.57
23	0	-1	-1	0	37.22	39.81
24	-1	0	1	0	27.10	26.25
25	0	0	0	0	66.54	65.37
26	0	0	-1	-1	44.50	40.58
27	-1	0	0	-1	34.54	36.68
28	1	-1	0	0	41.08	41.39
29	1	0	1	0	49.51	49.86

运用多元回归分析方法对表 2 数据拟合, 可得原油降解率模型: $Y = 66.54 + 4.88A + 5.03B - 4.70C + 6.44D - 0.93AB + 6.32AC + 6.19AD - 4.49BC + 2.98BD + 4.83CD - 12.64A^2 - 13.60B^2 - 10.90C^2 - 14.23D^2$ 。

对响应面二次模型方差分析和可信度估计及进行 F 检验, 结果见表 3。

表 3 响应面模型方差分析
Table 3 ANOVA for response surface model

项目	平方和	自由度	均方差	显著系数	显著性
模型	4 658.70	14	332.76	<0.000 1	++
A-p	285.97	1	285.97	0.000 2	++
B-pH	303.51	1	303.51	0.000 1	++
C-θ	264.89	1	264.89	0.000 3	++
D-T	498.07	1	498.07	<0.000 1	++
AB	3.46	1	3.46	0.589 0	-
AC	159.90	1	159.90	0.002 1	++
AD	153.39	1	153.39	0.002 5	++
BC	80.73	1	80.73	0.018 2	+
BD	35.52	1	35.52	0.098 1	-
CD	93.12	1	93.12	0.012 4	+
A ²	1 036.58	1	1 036.58	<0.0001	++
B ²	1 200.21	1	1 200.21	<0.000 1	++
C ²	770.51	1	770.51	<0.000 1	++
D ²	1 312.58	1	1 312.58	<0.000 1	++
残差项	158.37	14	11.31		
失拟项	141.73	10	14.17	0.124 4	-
误差	16.64	4	4.16		
总和	4 817.07	28			

注: -: $p > 0.05$ 不显著; +: $0.01 < p < 0.05$ 一般显著; ++: $p < 0.01$ 极显著。

由表 3 中模型的显著系数 ($p < 0.000 1$) 和失拟项显著系数 ($p = 0.124 4$) 可知, 该模型可以准确的预测不同组合条件下的原油降解率。该模型的复相关系数 $R = 0.983 4$, 表明预测值和实测值的拟合度较高, 可用于实际值的分析^[19]; $R_{adj}^2 = 0.934 2$ 说明只有 6.58% 的变异不能通过该模型解释, 所以可以用预测值代替实测值对实验结果进行分析和预测。除原油质量浓度和 pH 值、固定化时间和 pH 值的交互作用不显著, 其他所有回归系数都是显著的。其中, 单因素对原油降解率的影响程度由高到低的顺序为固定化时间、pH 值、原油质量浓度和固定化混合菌投加量; 交互作用对原油降解率的影响程度由高到低的顺序为原油质量浓度和固定化混合菌投加量、原油质量浓度和固定化时间、固定化混合菌投加量和固定化时间、pH 值和固定化混合菌投加量。通过 Design Expert 8.0.6 软件, 将 4 因素两两进行分

析比较, 做出响应面曲线图, 见图 6 ~ 图 11。

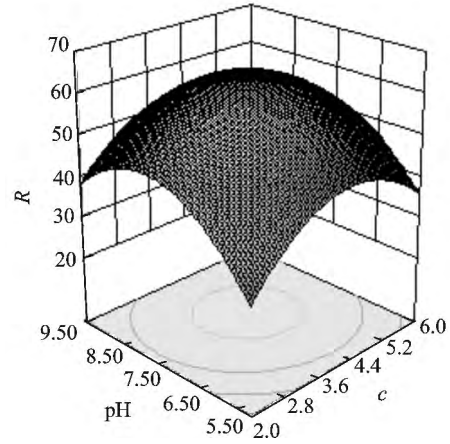


图 6 原油初始质量浓度和 pH 值对原油降解率的交互影响图

Fig. 6 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the mass concentration of crude oil and the pH value

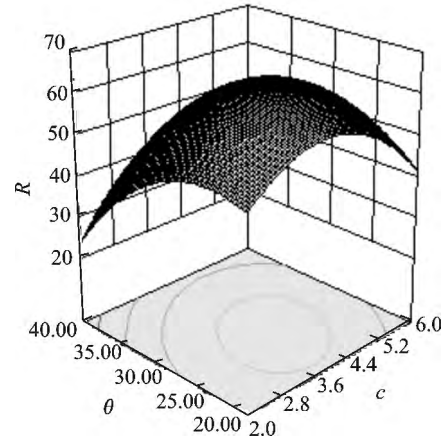


图 7 原油初始质量浓度和固定化混合菌投加量对原油降解率的交互影响图

Fig. 7 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the mass concentration of crude oil and the dosage of immobilized mixed bacteria

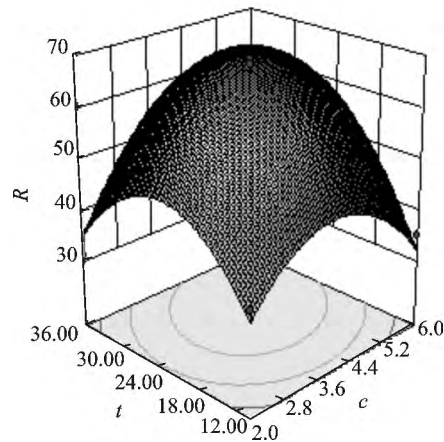


图 8 原油初始质量浓度和固定化时间对原油降解率的交互影响图

Fig. 8 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the mass concentration of crude oil and the immobilizing time

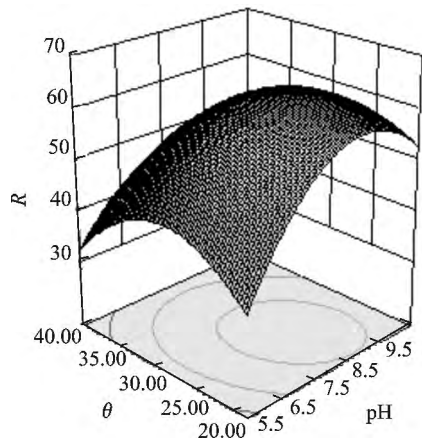


图 9 pH 值和固定化混合菌投加量对原油降解率的交互影响图

Fig. 9 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the pH value and the dosage of immobilized mixed bacteria

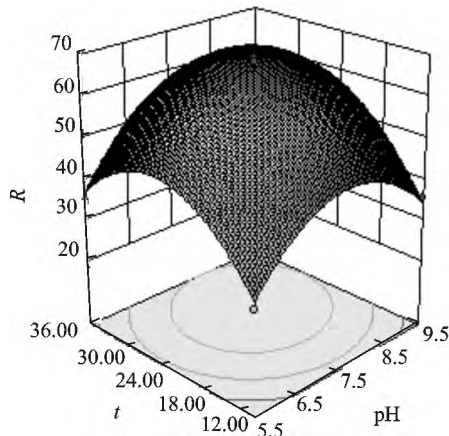


图 10 pH 值和固定化时间对原油降解率的交互影响图

Fig. 10 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the pH value and the immobilizing time

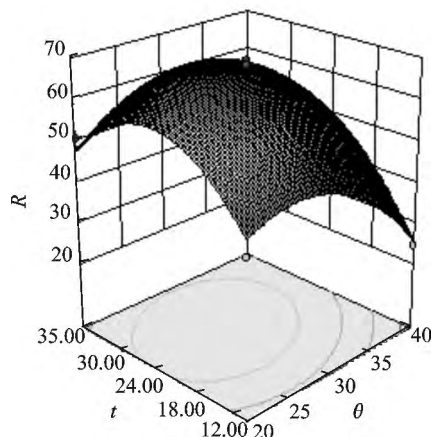


图 11 固定化混合菌投加量和固定化时间对原油降解率的交互影响图

Fig. 11 Response surface of crude oil degradation rate interaction between the dosage of immobilized mixed bacteria and the immobilizing time

2.7 预测模型的验证

为得到最优降解条件,借助 Matlab 软件对模型求解,得到固定化混合菌在原油质量浓度 4 300 mg/L, pH 值 7.9, 固定化混合菌投加量

27 g/L, 微生物固定化时间 28.5 h 时,理论最大原油降解率为 68.89%。为了验证模型的准确性,用最佳降解条件进行 3 次平行实验,得到固定化微生物对原油的平均降解率为 69.94%,可见该模型能够准确的预测实际降解条件。

3 结论

低温石油降解菌 JA 和 JB 对原油均具有良好的降解能力。固定化混合菌能显著提高微生物对原油的去除效果,固定化混合菌降解原油的最佳工艺条件为:原油质量浓度 4 300 mg/L, pH 值 7.9, JA: JB = 1:2, 固定化混合菌投加量 27 g/L, 固定化时间 28.5 h, 在该条件下,15% 处理 5 d 后,原油的降解率为 69.94%。

参考文献:

- [1] Li X B, Zhang C J, Liu J T. Adsorption of oil from waste water by coal: characteristics and mechanism [J]. Mining Science and Technology (China) 2010 20(5): 778-781.
- [2] Toril I R U. Chemical characterization of produced water from four off shore oil production platforms in the North Sea [J]. Chemosphere, 1999 39(15): 2593-2606.
- [3] Cormack P M, Jones P, Hetheridge M J, et al. Analysis of oilfield produced waters and production chemicals by electrospray ionization multi-stage mass spectrometry [J]. Water Res, 1998 35(15): 3567-3578.
- [4] 刘俊良,王琴,张杰,等. 水处理填料与滤料 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 96-97.
- [5] 张凤娥,赵洪键,董良飞,等. 前处理与核桃壳吸附耦合处理餐饮废水的实验研究 [J]. 中国农村水利水电, 2012(6): 19-21.
- [6] 李艳红,李英利,谢庆林,等. 固定化混合菌处理高盐含油废水 [J]. 环境工程, 2012 30(1): 18-21.
- [7] Wang S X, Li X J, Liu W, et al. Degradation of pyrene by immobilized microorganisms in saline-alkaline soil [J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(9): 1662-1669.
- [8] Ribeiro, Joyce B, de S R, et al. Immobilized microorganisms in the reduction of ethyl 4-chloro acetoacetate [J]. Tetrahedron: Asymmetry 2009 20(19): 2263-2266.
- [9] Wang Z Y, Ye Z F, Zhang M H, et al. Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by immobilized microorganism-biological filter [J]. Process Biochemistry, 2010 45(6): 993-1001.
- [10] Ye Z F, Yu H Y, Wen L L, et al. Treatment of landfill leachate by immobilized microorganisms [J]. Science in China Series B: Chemistry 2008 51(10): 1014-1020.
- [11] Takeno K, Yamaoka Y, Sasaki K. Treatment of oil-containing sewage wastewater using immobilized photosynthetic bacteria [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology 2005 21(8): 1385-1391.

(下转第 1722 页)

表 4 重复性实验结果($n=5$)
Table 3 Results of repeated experiment

次数	纯度/%	平均纯度/%	RSD/%
1	98.95		
2	98.89		
3	98.93	98.92	0.02
4	98.90		
5	98.92		

3 结论

(1) 开展了从歧化松香提取纯化脱氢枞酸的新工艺研究,在传统的胺化反应结晶法基础上进行了工艺改进,用 90% 乙醇溶解歧化松香,胺化反应后,用两种浓度乙醇-水重结晶,获得高得率和高纯度脱氢枞酸。

(2) 优化工艺条件:反应时间 20 min,反应温度 65 °C,分别用 50% 和 75% 乙醇-水溶剂重结晶 4 次和 3 次。在条件下,脱氢枞酸的纯度和得率分别为 98.9% 和 16.9%。

参考文献:

- [1] 阮付贤,周龙昌. 歧化松香的制备与应用[J]. 化工时刊, 2008, 22(8): 41-44.
- [2] Juan Carlos Souto P Y M L. Disproportionation of rosin on an industrial Pd/C catalyst: Reaction pathway and kinetic model discrimination [J]. *Bioresource Technology*, 2011 (102): 3504-3511.
- [3] 周梅村,宋胜梅,王亚明,等. 脱氢枞酸紫外光谱分析

(上接第 1718 页)

- [12] Liu C J, Liu J, Li J, et al. Removal of H₂S by co-immobilized bacteria and fungi biocatalysts in a bio-trickling filter [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2013, 91(1/2): 145-152.
- [13] Lin T M, Zhou Z M, Liu Y X, et al. Evaluation of Fe(III) EDTA and Fe(II) EDTA-NO reduction in a NO_x scrubber solution by magnetic Fe₃O₄-chitosan microspheres immobilized microorganisms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2014, 19(1): 175-182.
- [14] Zhou Z M, Jing G H, Zhou Q. Enhanced NO_x removal from flue gas by an integrated process of chemical absorption coupled with two-stage biological reduction using immobilized microorganisms [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2013, 91(4): 325-332.
- [15] 赵大传,张洪荣,贾洪斌. 核桃壳固定化微生物处理高浓度印染废水的研究[J]. *工业水处理*, 2004, 24(4): 17-19.
- [16] 张秀霞,吴佳东,滕芝,等. 响应面法优化固定化微生物

研究[J]. *昆明理工大学学报: 理工版*, 2005, 30(2): 75-77, 87.

- [4] 王敏. 歧化松香安全生产研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2009.
- [5] Virginia M, Loeblich R V L. Chromatographic investigation of disproportionated rosin [J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1956, 33(7): 320-322.
- [6] 李芳耀. 基于脱氢松香酸芳环二胺合成手性荧光衍生试剂的研究[D]. 南宁: 广西师范大学, 2006.
- [7] Suvi T, Häkkinen P L H N. Differential patterns of dehydroabietic acid biotransformation by *Nicotiana tabacum* and *Catharanthus roseus* cells [J]. *Journal of Biotechnology*, 2012, 157(2): 287-294.
- [8] 王琳琳, 陈小鹏, 刘幽燕, 等. 松香树脂酸的单离与应用[J]. *化工进展*, 2005, 24(11): 1301-1305.
- [9] 祝远姣, 陈小鹏, 陈月圆, 等. 逐级酸化法制备高纯度脱氢枞酸[J]. *现代化工*, 2007, 27(9): 38-41.
- [10] 陈祖芬, 祝远姣, 陈小鹏, 等. 脱氢枞酸单离方法的比较研究[J]. *生物质化学工程*, 2008, 42(3): 9-12.
- [11] 陈默, 白春华, 刘庆明. 乙醚-铝粉-空气混合物燃烧转爆轰的实验研究[J]. *北京理工大学学报*, 2011, 31(9): 1114-1117.
- [12] 陈祖芬. 脱氢枞酸单离及其溶解度的测定[D]. 南宁: 广西大学, 2008.
- [13] 刘雁. 歧化松香的制备与脱氢枞酸的提纯研究[D]. 南宁: 广西大学, 2004.
- [14] 李齐贤. 松脂加工工艺[M]. 北京: 中国林业出版社, 1983: 51.
- 降解石油污染物[J]. *石油学报: 石油加工*, 2012, 28(5): 876-882.
- [17] 王如刚, 王敏, 牛晓伟, 等. 超声-索氏萃取-重量法测定土壤中总石油烃含量[J]. *分析化学: 研究简报*, 2010, 28(3): 417-420.
- [18] 周群英, 王士芬. *环境工程微生物学*[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- [19] Pujari V, Chandra T S. Statistical optimization of medium components for enhanced riboflavin production by a UV-mutant of *eremothecium ashbyii* [J]. *Process Biochem*, 2000, 36(1): 31-37.
- [20] Han S J, Park H, Lee S G, et al. Optimization of cold-active chitinase production from the antarctic bacterium *san-guibacter antarcticus* KOPRI 21702 [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 89(3): 613-621.
- [21] Zhao L, Fan F, Wang P, et al. Culture medium optimization of a new bacterial extracellular polysaccharide with excellent moisture retention activity [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(7): 2841-2850.