

# 微生物螯合剂的合成及其条件优化研究

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2017.05.005

吴 岭 汤建新 李 文  
戴慧康 曾晓希

湖南工业大学  
绿色包装与生物纳米技术  
应用实验室  
湖南 株洲 412007

**摘 要:** 螯合剂被广泛应用在造纸、印染、食品等行业, 化学螯合剂的不稳定性和毒性会对环境和人类产生危害, 因此寻找一种绿色环保的新型螯合剂极为重要。利用微生物菌株 WJ-3 发酵合成铁载体螯合剂, 采用单因子法, 在摇床培养条件下, 分别研究了不同的碳源、氮源、培养温度、摇床转速以及初始培养基的 pH 值, 对菌株生长以及微生物螯合剂铁载体合成率的影响。研究发现: 菌株 WJ-3 在固体和液体培养基中均能合成铁载体, 在碳源为葡萄糖、氮源为酵母浸粉、温度为 30 ℃、转速为 180 r/min 以及初始培养基 pH 值为 7.0 的发酵条件下, 培养 48 h 后微生物产生的铁载体螯合剂的合成率可达 64.12 %; 优化后的合成条件更加有利于微生物铁载体的合成。

**关键词:** 微生物发酵; 螯合剂; 铁载体; 条件优化

**中图分类号:** R318.08      **文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-7100(2017)05-0028-07

## 1 研究背景

螯合剂是指分子骨架上带有螯合功能基团以及多个配位原子功能基团的高分子化合物。它对多种重金属离子具有选择性的螯合能力, 并且能与某种单一金属离子形成杂环复合物<sup>[1]</sup>。螯合剂在印染、生物能源、医疗、环境治理以及食品保藏方面发挥着重要的作用<sup>[2-4]</sup>。

铁载体是由微生物分泌的一种螯合剂, 可以与铁离子以及其它二价金属离子形成非常稳定的化合物, 是一种绿色环保的螯合剂<sup>[5]</sup>。一方面, 铁载体可以螯合二价金属离子, 因此可以作为螯合剂螯合二价金属离子, 改变金属离子对染料的负面影响。另一方面, 由于其本身无毒性而且能够与环境中细菌生长必需

的三价铁离子高效结合, 因此还可以作为防腐剂和保鲜剂, 对食品起到抑菌保鲜的作用<sup>[6]</sup>。铁载体在纸浆和造纸行业也具有巨大的潜在作用。有研究表明, 白色和棕色腐烂真菌合成的铁载体, 在过氧化氢存在的条件下, 能够降解来源于海洋和陆地的纤维素和半纤维素, 这些特性可以用于纸浆漂白<sup>[7]</sup>。还有研究表明, *poria medula-panis* 和 *trametes versicolor* 合成的铁载体能使蓝色铬天青 (chromeazurol S, CAS) 试剂变为紫色, 这种铁载体可以用来漂白桉树纸浆<sup>[8]</sup>。

检测铁载体常用的方法是 CAS 检测法<sup>[9]</sup>, 其主要原理如下: 金属滴定指示剂 CAS 溶于水后形成蓝色的 CAS-Fe<sup>3+</sup>-HTDMA 络合物溶液, 当样品中含有

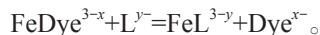
收稿日期: 2017-08-06

基金项目: 国家科技支撑计划基金资助项目 (2015BAD05B02), 湖南省科技计划基金资助重点项目 (2016NK2096), 中国博士后面上基金资助项目 (2016M592456), 湖南省自然科学基金资助项目 (2015JJ2049), 长沙市科技计划基金资助重点项目 (kh1601106), 湖南省教育厅科学研究基金资助项目 (15C0412)

作者简介: 吴 岭 (1993-), 男, 湖南娄底人, 湖南工业大学硕士生, 主要研究方向为环境微生物,  
E-mail: 821816802@qq.com

通信作者: 曾晓希 (1972-), 女, 湖南娄底人, 湖南工业大学教授, 主要从事环境微生物方面的教学与研究,  
E-mail: zengxiaoxi2003@163.com

铁载体时, 铁载体能与铁离子高效络合, 络合物被破坏, 游离出红色的 CAS, 在固体检测中形成黄色或橙红色晕圈<sup>[10]</sup>。其络合反应为



这种检测方法不依赖于铁载体的结构, 而是基于铁载体对  $\text{Fe}^{3+}$  的亲合性。把一种对  $\text{Fe}^{3+}$  有更高亲和力的配体(如铁载体)添加到铁染料复合物中, 复合物中的  $\text{Fe}^{3+}$  转移到配体上, 从而释放出游离的染料, 同时溶液的颜色由蓝色变为橙红色, 在 630 nm 波长下光吸收值下降<sup>[10]</sup>。因此, 根据溶液颜色的变化可以定性、定量检测铁载体的存在以及合成量。

本文利用微生物菌株 WJ-3 发酵合成铁载体螯合剂, 采用单因子法, 在摇床培养条件下, 分别研究了不同碳源、氮源、摇床温度、摇床转速以及初始培养基的 pH 值, 对菌株生长以及微生物螯合剂铁载体合成率的影响, 最终优化得出微生物合成铁载体螯合剂的最佳发酵条件。

## 2 试验材料与方法

### 2.1 材料及试剂

芽孢杆菌菌株 WJ-3: 本课题组从苕麻体内分离的内生菌; 胰蛋白胨: 北京奥博星生物技术有限责任公司生产; 氯化钠、氯化铵、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、琼脂、硫酸镁、酸水解酪素: 国药集团化学试剂有限公司生产; 酵母浸粉: 北京陆桥技术有限责任公司生产; 蔗糖溶液: 广东光华科技股份有限公司生产; 氯化钙: 西陇化工股份有限公司生产; 氯化铁: 天津市科密欧化学试剂有限公司生产; 镉天青: 上海笛柏化学品技术有限公司生产; 十六烷基三甲基溴化胺: 天津市光复精细化工研究所生产。

LB (luria-bertani) 培养基: 每升培养基由 10 g 胰蛋白胨、5 g 氯化钠、5 g 酵母浸粉、20 g 琼脂配制而成, 调节 pH 值至 7.2。

磷酸缓冲液: 由 24.270 g 磷酸氢二钠、0.754 g 磷酸二氢钾、1.250 g 氯化钠、5.905 g 磷酸二氢钠和 2.507 g 氯化铵配制而成。

CAS 检测平板系列试剂<sup>[7]</sup>: 由浓度为 1 mmol/L 的硫酸镁, 质量分数为 20% 的蔗糖溶液(过滤灭菌), 浓度为 1 mmol/L 的氯化钙, 质量分数为 10% 的酸水解酪素, 浓度为 1 mmol/L 的氯化铁(含 10 mL 的稀盐酸防止水解), 浓度为 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液配制而成。

CAS 检测液: 由浓度为 1 mmol/L 的镉天青、浓度为 0.1 mmol/L 的氯化铁、浓度为 4 mmol/L 的十六烷基三甲基溴化胺配制而成。

CAS 检测平板<sup>[7]</sup>: 由每 100 mL 含质量分数为 20% 的蔗糖溶液 1 mL、质量分数为 10% 的酸水解酪素 10 mL、浓度为 1 mmol/L 的氯化钙 100  $\mu\text{L}$ 、浓度为 1 mmol/L 的硫酸镁 2 mL、琼脂 1.8 g 在约 60  $^{\circ}\text{C}$  时缓慢加入盐溶液和染液各 5 mL 配制而成。

所有溶液均用去离子水配制。

### 2.2 试验方法

#### 2.2.1 微生物螯合剂的合成

挑取由本课题组从苕麻体内分离的内生菌 WJ-3, 接种于 LB 液体培养基中, 在温度为 28  $^{\circ}\text{C}$ 、摇床转速为 150 r/min 以及初始 pH 值为 7.0 的发酵条件下培养 48 h 后, 检测培养液中铁载体的存在并计算合成率。

#### 2.2.2 微生物螯合剂的检测

定性检测<sup>[12]</sup>: 一方面, 将发酵完成后的发酵液倒入 5 mL 离心管中, 10 000 r/min 转速下离心 10 min, 除去菌体。用移液枪吸取 3 mL 上清液, 加入含有 3 mL CAS 检测液的 PC 管中混合均匀, 静置 1 h, 观察颜色变化。如果混合液变红, 则表明发酵液中有铁载体合成。另一方面, 用移液枪吸取少量的发酵液点接于蓝色 CAS 检测平板上, 培养 48 h 后, 如果菌落周围有淡黄色或者黄色晕圈, 则表示发酵液中含铁载体。

定量测定<sup>[12]</sup>: 挑取由本课题组从苕麻体内分离的内生菌 WJ-3 接种于 LB 培养基中, 于 28  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养 48 h 后, 将菌液倒入 5 mL 离心管中, 10 000 r/min 离心 10 min, 除去菌体。用移液枪吸取 3 mL 上清液, 加入含有 3 mL CAS 检测液的 PC 管中, 混合均匀静置 1 h, 观察颜色变化, 并在 630 nm 处检测其吸光度  $A_1$ 。另取 3 mL CAS 检测液与 3 mL 未接种的 LB 液体培养基上清液充分混匀, 采用同样的方法测定其吸光度做为参比值  $A_0$ 。铁载体合成率的计算公式为

$$\text{铁载体合成率} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

#### 2.2.3 菌株 WJ-3 产铁载体培养条件的优化

菌株产铁载体合成率受培养基中碳源、氮源、培养温度、初始 pH 值以及摇床转速的影响<sup>[13]</sup>, 因此可以通过对上述各种影响因素进行探讨, 提高菌株 WJ-3 铁载体的合成率。

### 1) 碳源的优化

将培养至对数生长期的菌液按照 10% 的接种率, 分别接种于碳源质量浓度为 10 g/L 的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉以及胰蛋白胍的培养基中, 于 29 °C 下 150 r/min 摇床培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定其生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率。

### 2) 氮源的优化

将培养至对数生长期的菌液按照 10% 的接种率, 分别接种于氮源质量浓度为 0.5 g/L 的硫酸铵、硝酸铵、氯化铵以及 5 g/L 的酵母浸粉的培养基中, 于 29 °C 下 150 r/min 摇床培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定它们的生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率。

### 3) 培养温度的优化

将培养至对数生长期的菌液按照 10% 的接种率, 接种于优化好的碳源和氮源的培养基中, 分别放于不同温度 (15, 20, 25, 30, 35 °C) 下, 150 r/min 摇床培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率。

### 4) 摇床转速的优化

将培养至对数生长期的菌液按照 10% 的接种率, 接种于含上述优化好的碳源和氮源的培养基中, 分别放于不同的摇床转速 (100, 120, 150, 180, 200 r/min) 下, 30 °C 摇床培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率。

### 5) 初始 pH 值的优化

将培养至对数生长期的菌液按照 10% 的接种率, 接种于含上述优化好的碳源和氮源的培养基中, 利用 pH 计调整培养液的初始 pH 值 (6.5, 7.0, 7.5, 8.5, 9.0), 30 °C 下 180 r/min 摇床培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率。

#### 2.2.4 微生物合成铁载体最佳发酵条件的验证

将微生物接种于未优化的 LB 培养基 (胰蛋白胍的质量浓度为 10 g/L, 酵母浸粉的质量浓度为 5 g/L, 氯化钠的质量浓度为 5 g/L, 琼脂的质量浓度为 20 g/L, pH 值为 7.2) 以及上述优化条件优化的培养基中, 培养 48 h 后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值和铁载体合成率。比较两种情况下的铁载体合成率, 验证微生物合成铁载体最佳发酵条件。

## 3 结果与讨论

### 3.1 微生物合成铁载体的定性检测

将供试菌株培养至对数生长期, 然后点接于

CAS 蓝色检测平板上, 于 29 °C 恒温培养箱培养 2~3 d, 同时采用液体检测法测试, 实验结果如图 1 和图 2 所示。

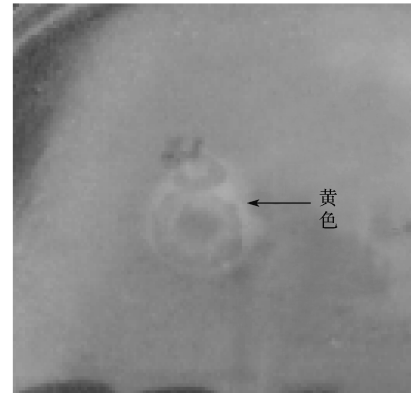


图 1 固体培养合成铁载体

Fig. 1 Siderophore synthesis in solid medium

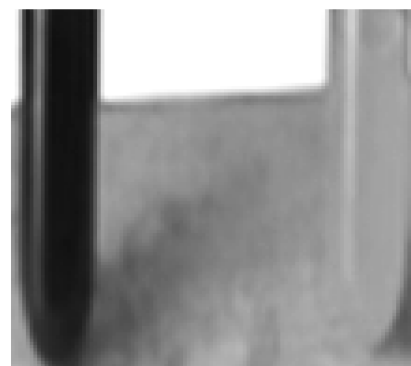


图 2 液体培养合成铁载体

Fig. 2 Siderophore synthesis in liquid medium

由图 1 和图 2 可以看出, WJ-3 菌落周围可以看到有明显的淡黄色晕圈产生。空白对照 (大肠杆菌) 培养液加入 CAS 检测液之后, 颜色还是原来的蓝色, 而 WJ-3 菌发酵液则由原来的蓝色变为了橙红色, 因此可以确定发酵液中有铁载体合成。

### 3.2 微生物合成铁载体培养条件的优化

#### 3.2.1 碳源的优化

利用质量浓度为 10 g/L 的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖以及可溶性淀粉作为碳源代替质量浓度为 10 g/L 的胰蛋白胍, 菌液培养 48 h 后紫外分光光度计测定生长 OD630 值并计算铁载体合成率, 测定结果如图 3 所示。

由图 3 中微生物合成铁载体碳源的优化结果可以看出: 菌株 WJ-3 不能够在含乳糖和麦芽糖的培养基中生长, 48 h 后生长 OD630 值依然为 0; 在以可溶性淀粉作为碳源的培养基中, 菌株生长比较缓



慢, 生长 OD630 值较低, 几乎不产生铁载体; 在葡萄糖、蔗糖以及胰蛋白胍为碳源的培养基中, 菌株生物量增长比较快, 培养 48 h 后生长 OD630 值可达 1.5 以上, 也有铁载体合成, 而且在以葡萄糖为碳源的情况下, 菌株生长速度最快, 铁载体合成率达到了 61.27%, 是所用碳源中的最高水平。因此, 选用质量浓度为 10 g/L 的葡萄糖作为菌株 WJ-3 产铁载体的最优碳源。

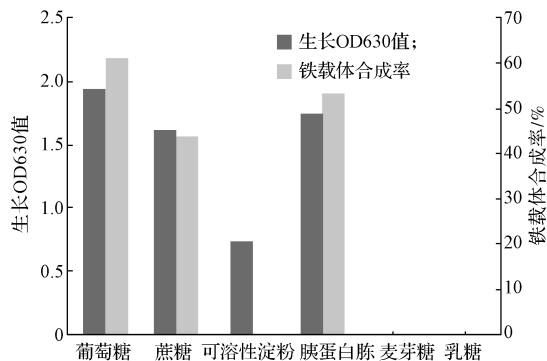


图 3 不同碳源对铁载体合成的影响  
Fig. 3 The effect of carbon source on siderophore synthesis

### 3.2.2 氮源的优化

利用质量浓度为 0.5 g/L 的硫酸铵、硝酸铵、氯化铵作为氮源代替质量浓度为 5 g/L 的酵母浸粉, 培养 48 h 后紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率, 测定结果如图 4 所示。

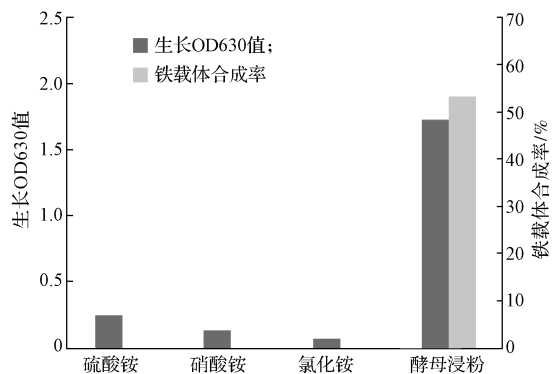


图 4 不同氮源对铁载体合成的影响  
Fig. 4 The effect of nitrogen source on siderophore synthesis

从图 4 中微生物合成铁载体氮源的优化结果可以看出: 菌株 WJ-3 均不能够在氮源为硫酸铵、硝酸铵以及氯化铵的培养基中良好生长, 48 h 后生长 OD630 值依然很低, 铁载体合成率为 0, 几乎不产生铁载体, 可能原因是酵母浸粉中含有多种生长刺激因

子, 而且胰蛋白胍中含有各种营养元素, 菌株 WJ-3 的生长和铁载体的合成与它们密切相关。因此, 选用质量浓度为 5 g/L 酵母浸粉作为最优氮源。

### 3.2.3 培养温度的优化

将菌株 WJ-3 接种于含上述优化后的碳源和氮源的培养基中, 分别放于不同的温度 (15, 20, 25, 30, 35 °C) 下培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算铁载体合成率, 测定结果如图 5 所示。

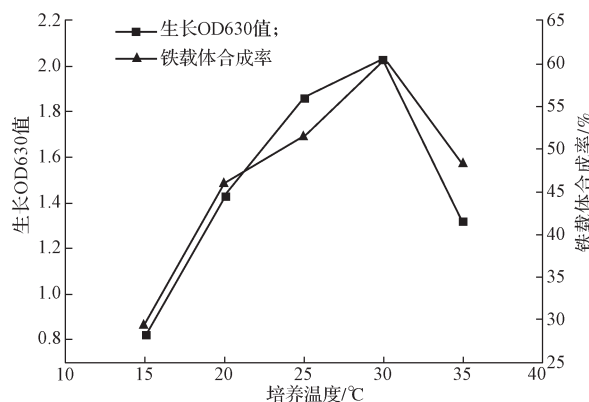


图 5 不同培养温度对铁载体合成的影响  
Fig. 5 The effect of temperature on siderophore synthesis

由图 5 中培养温度对微生物铁载体合成率的影响结果可以看出, 微生物铁载体的合成受温度的影响较大。温度过低, 菌株生长极其缓慢, 当培养温度在 15 °C 时, 菌株 WJ-3 生长 OD630 值仅为 0.817, 铁载体的合成率仅为 29.71%, 可能原因是: 温度过低使菌体生长缓慢且抑制了菌株体内与铁载体表达相关酶的活性, 从而降低铁载体的合成率。当培养温度为 30 °C 时, 菌株 WJ-3 生长情况最好, 铁载体合成能力最强, 铁载体合成率达 60.58%。当培养温度达到了 35 °C 时, 生长 OD630 值和铁载体合成率分别为 1.316 和 48.14%, 相比 30 °C 下的生长 OD630 值和铁载体合成率大大减小, 可能的原因是: 温度过高影响了菌株体内酶的活性, 抑制了菌株的生长以及铁载体的合成。由此可见, 菌株生长及铁载体合成的最优温度为 30 °C。

### 3.2.4 摇床转速的优化

将菌株 WJ-3 接种于含上述优化好的碳源和氮源的培养基中, 在最优温度 30 °C 下, 分别放于不同的摇床转速 (100, 120, 150, 180, 200 r/min) 下培养 48 h, 然后以紫外分光光度计测定生长 OD630 值, 并计算



铁载体合成率,测定结果如图6所示。

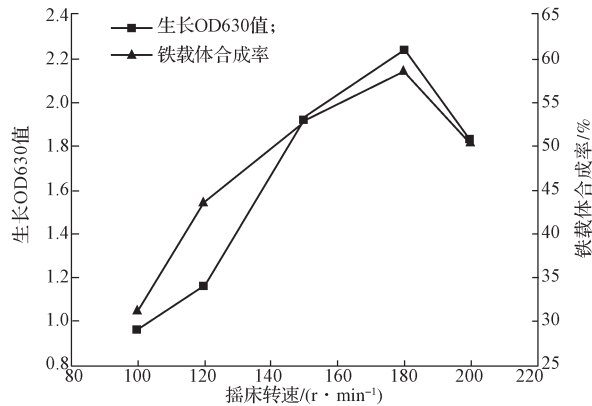


图6 不同摇床转速对铁载体合成的影响  
Fig. 6 The effect of shaking speed on siderophore synthesis

由图6中摇床转速对微生物铁载体合成率的影响结果可以看出,随着摇床转速的增大,生长OD630值和铁载体合成率先逐渐增大,然后减小。低转速情况下,菌株生长和铁载体的合成率都很低,可能原因是:摇床转速过低时会导致溶氧率不足,使发酵体系中各物质混合不匀,无法正常利用在生长过程中产生的大量有机酸,从而使生长OD630值和铁载体合成率降低。当转速提高到180 r/min时菌株生长最快,生长OD630值达到了2.246,而且铁载体的合成率也达到了最高值58.67%。当摇床转速超过180 r/min时,生长OD630值和铁载体合成率反而下降,与150 r/min的情况下相差不大,其可能原因是:摇床转速过高时,溶氧量急剧上升,同时会产生大量的代谢物,同样会影响菌株的生长以及铁载体的合成。因此,试验采用180 r/min的摇床转速作为最佳的发酵条件。

### 3.2.5 初始pH值的优化

将菌株接种于上述优化好的碳源和氮源的培养基中,利用pH计调整培养基的初始pH值(6.5, 7.0, 7.5, 8.5, 9.0),在最优温度30℃和摇床转速180 r/min下,培养48 h,然后以紫外分光光度计测定生长OD630值,并计算铁载体合成率,测定结果如图7所示。

由图7中初始pH值对铁载体合成的影响结果可以看出,菌株的生长和铁载体的合成受培养液初始pH值的影响较大。当培养液的初始pH值为6.5~7.5时,菌株的生长OD630值和铁载体合成率都较高,生长OD630值在1.8以上,铁载体合成率在50%以上。在培养液的初始pH值为7.0的中性环境下,

生长OD630值最高,且铁载体合成率达到最高。当pH值为8.5和9.0时,铁载体合成率分别为40.39%和35.17%,相比于pH值为7.0的环境下降低了许多。此时铁载体合成率大大降低的可能原因是:pH值过高会导致菌株体内部分与生长和铁载体表达相关的酶失去活性,从而使菌体生长极其缓慢,铁载体合成率大大降低。由此可见,当培养液的pH值为7.0时,WJ-3菌株的生长最快,铁载体的合成率最高。

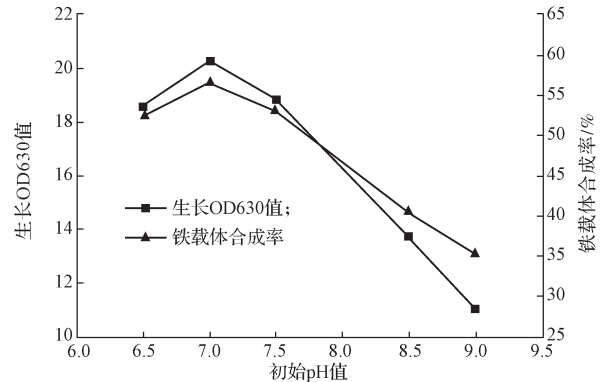


图7 不同初始pH值对铁载体合成的影响

Fig. 7 The effect of initial pH on siderophore synthesis

### 3.3 微生物铁载体最佳合成条件的验证

将微生物接种于未优化的LB培养基(碳源为胰蛋白胨、氮源为酵母浸粉、温度为25℃、转速为150 r/min、初始pH值为7.0)以及上述优化条件下的LB培养基(碳源为葡萄糖、氮源为酵母浸粉、温度为30℃、转速为180 r/min、pH值为7.0)中,培养48 h后以紫外分光光度计测定生长OD630值和铁载体合成率,测定结果如图8所示。

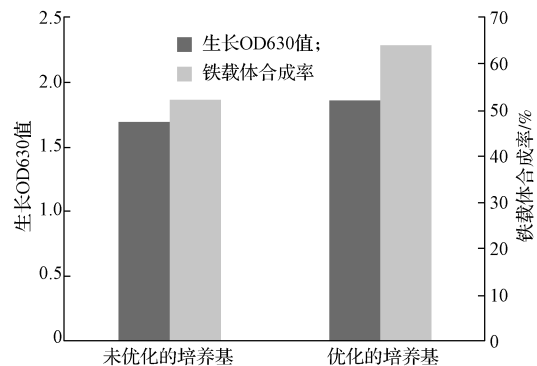


图8 微生物铁载体最佳合成条件的验证

Fig. 8 The verification of siderophore synthesis under optimization of fermentation

由图8中微生物铁载体最佳合成条件的验证结果可以看出,经过优化后的培养基明显提高了生长OD630值以及铁载体合成率,铁载体合成率达到了

64.12%。因此经过优化后的发酵条件有利于微生物铁载体的合成。

## 4 结论

本文利用微生物菌株 WJ-3 发酵合成铁载体螯合剂, 采用单因子法, 在摇床培养条件下, 分别研究了不同的碳源、氮源、摇床温度、摇床转速以及初始培养基的 pH 值对菌株生长以及微生物螯合剂铁载体合成率的影响。研究表明, 菌株 WJ-3 在固体和液体培养基中均能合成铁载体, 在碳源为葡萄糖, 氮源为酵母浸粉, 温度为 30 ℃, 转速为 180 r/min 以及初始 pH 值为 7.0 的条件下, 培养 48 h 后微生物产生的铁载体螯合剂的合成率可达 64.12 %。实验验证结果表明, 优化后的合成条件更加有利于微生物铁载体的合成。

### 参考文献:

- [1] 王 玥, 钱 星, 李朋朋, 等. 螯合剂在土壤铅污染植物修复中的应用 [J]. 环境研究与监测, 2016, 29(3): 10-12.  
WANG Yue, QIAN Xing, LI Pengpeng, et al. Chelating Agent Application of Lead Pollution in Soil[J]. Environmental Research and Monitoring, 2016, 29(3): 10-12.
- [2] 邵泽强, 王开爽, 李翠兰, 等. 螯合剂在植物修复铅污染土壤中应用的研究现状及展望 [J]. 环境科学与管理, 2013, 38(12): 31-34.  
SHAO Zeqiang, WANG Kaishuang, LI Cuilan, et al. Present Situation and Outlook on Application of Chelator in Phytoremediation of Lead Contaminated Soils[J]. Environmental Science and Management, 2013, 38(12): 31-34.
- [3] 周纯洁, 王 帅, 郑 茹. 高分子螯合剂的制备及应用研究进展 [J]. 应用化工, 2016, 45(10): 1946-1949.  
ZHOU Chunjie, WANG Shuai, ZHENG Ru. Progress in Preparation and Application of Polymeric Chelants[J]. Applied Chemical Industry, 2016, 45(10): 1946-1949.
- [4] 王开爽, 吉 凡, 王 莉, 等. 螯合诱导技术强化植物修复铅污染土壤的研究现状及展望 [J]. 安徽农学通报, 2014, 20(9): 100-102.  
WANG Kaishuang, JI Fan, WANG Li, et al. Present Situation and Prospect on Application of Chelate-Induced Phytoremediation of Lead Contaminated Soils[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2014, 20(9): 100-102.
- [5] 门晋名. 铁载体高产菌的筛选及铁载体的分离纯化 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2013.  
MEN Jinming. The Selection of High-Yield Siderophores Producing Strains and Separation and Purification of the Siderophores[D]. Qingdao: Qingdao University Science and Technology, 2013.
- [6] 宋永胜, 段洪东. 螯合剂及其在食品中的应用 [J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(2): 147-150.  
SONG Yongsheng, DUAN Hongdong. Chelating Agent and Application in Food[J]. Guangzhou Food Science and Technology, 2004, 20(2): 147-150.
- [7] GUAN L L, KANO H K, KAMINO K. Effect of Exogenous Siderophores on Iron Uptake Activity of Marine Bacteria Under Iron-limited Conditions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(4): 1710-1717.
- [8] NEILANDS J B. Microbial Iron Compounds[J]. Annual Review of Biochemistry, 1981(50): 715-731.
- [9] 王卫星, 周晓伦, 李忠玲, 等. CAS 平板覆盖法检测氢氧化细菌铁载体 [J]. 微生物学通报, 2014, 41(8): 1692-1697.  
WANG Weixing, ZHOU Xiaolun, LI Zhongling, et al. Detection of Siderophore Production from Hydrogen-Oxidizing Bacteria with CAS Overlay Plate Method[J]. Microbiology China, 2014, 41(8): 1692-1697.
- [10] 林天兴, 唐 梅, 黄明远, 等. 高产铁载体棉田土壤细菌 SS05 的筛选与鉴定 [J]. 微生物学通报, 2012, 39(5): 668-676.  
LIN Tianxing, TANG Mei, HUANG Mingyuan, et al. Screening and Identification of a High Yield Siderophores-Producing Bacteria SS05 Isolated from Cotton Soil[J]. Microbiology China, 2012, 39(5): 668-676.
- [11] 魏本杰, 曾晓希, 刘志成, 等. 产铁载体菌的筛选鉴定及活化镉的性能探究 [J]. 环境科学与技术, 2014, 37(11): 26-31.  
WEI Benjie, ZENG Xiaoxi, LIU Zhicheng, et al. Isolation, Identification and Study on Cadmium-Mobilization Ability of Siderophores-Producing Bacteria[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 37(11): 26-31.
- [12] 王 平, 董 飏, 李阜棣, 等. 小麦根圈细菌铁载体的检测 [J]. 微生物学通报, 1994, 21(6): 323-326.  
WANG Ping, DONG Biao, LI Fudi, et al. Detection and Determination of the Siderophores Produced by Wheat Rhizobacteria[J]. Microbiology China, 1994, 21(6): 323-326.

[13] 陈 伟, 舒健虹, 陈 莹, 等. 黑麦草根际铁载体产生菌 WN-H3 的分离鉴定及其产铁载体培养条件的优化 [J]. 生物技术通报, 2016, 32(10): 219-226.  
CHEN Wei, SHU Jianhong, CHEN Ying, et al.

Screening, Identification and Fermentation Condition Optimun of a Siderophore-Producing Bacteria WN-H3 from Rhizosphere of Ryegrass[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(10): 219-226.

## Study on Synthesis of Microorganisms Chelator and Optimization of Fermentation Conditions

WU Ling, TANG Jianxin, LI Wen, DAI Huikang, ZENG Xiaoxi

( Key Laboratory of Green Packaging and Application of Biological Nanotechnology  
Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China )

**Abstract:** Chelating agent is widely used in industries such as papermaking, dyeing and food etc.. The instability and toxicity of it are harmful to environment and human beings. It is important and significant to find an environmentally friendly chelating agent. Strain WJ-3 was used to synthesize siderophore. The effects of carbon source, nitrogen source, temperature, shaking speed, and pH on the initial medium and siderophore were studied by single factor method. The results showed that strain WJ-3 could synthesize siderophore both in solid and liquid medium. The optimal carbon and nitrogen source were glucose and yeast extract powder. The optimal cultivation conditions were with temperature at 30 °C , 180 r/min for shaking speed, and pH 7.0 in the initial medium. The synthetic rate of microbial siderophore could reach 64.12% after shaking culture for 48 h. It suggested that the optimal conditions could increase the synthesis of microbial siderophore.

**Keywords:** microbial fermentation; chelating agent; siderophore; optimal condition