

李宁宁,吕海慧,于得水,等.N-甲基吡咯烷酮(NMP)高效降解菌筛选及应用研究 [J]. 中国环境科学, 2025,45(4):2305-2313.

Li N N, Lv H H, Yu D S, et al. Screening and application of highly-efficient degrading strain for N-methyl-2-pyrrolidone (NMP). [J]. China Environmental Science, 2025,45(4):2305-2313.

N-甲基吡咯烷酮(NMP)高效降解菌筛选及应用研究

李宁宁^{1,2,3},吕海慧³,于得水³,李雨桐³,王 晔³,康建明^{1,2},薛宇昕³,金 艳¹,韩昀身^{1*},于建国^{2,3**} (1.华东理工大学国家盐湖资源综合利用工程技术研究中心,上海 200237; 2.华东理工大学钾锂战略资源国际联合实验室,上海 200237; 3.华东理工大学化工学院,上海 200237)

摘要: 以 N-甲基吡咯烷酮(NMP)为唯一碳源和氮源,从锂离子电池阴极浆料搅拌装置清洗废水中筛选获得一株 NMP 高效降解菌 NCSL-HH10,经 16S rDNA 测序及系统发育树分析,该菌属于污染伯克霍尔德氏菌.实验表明,该菌可在 1500mg/L NMP 废水体系,48h 内实现 100% NMP 去除及 94.3% TOC 去除,高矿化度说明该菌具有较为完整的 NMP 降解路径.此外,该菌可在高达 15000mg/L NMP 体系实现 NMP 完全降解(100%),达到国内外文献报道最高的 NMP 降解浓度,且可实现较高矿化度(63.2%).选取 10000mg/L NMP 废水作为进水,发现 *Burkholderia contaminans* NCSL-HH10 可在开放体系 60h 内去除 95.7% NMP 及 76.5% TOC,显著高于活性污泥(84h 内去除 39.0% NMP 和 30.2% TOC).

关键词: N-甲基吡咯烷酮(NMP); 锂离子电池; 废水; 生物降解; 活性污泥; 生物强化

中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2025)04-2305-09

Screening and application of highly-efficient degrading strain for N-methyl-2-pyrrolidone (NMP). LI Ning-ning^{1,2,3}, LÜ Hai-hui³, YU De-shui³, LI Yu-tong³, WANG Ye³, KANG Jian-ming^{1,2}, XUE Yu-xin³, JIN Yan¹, HAN Xu-shen^{1*}, YU Jian-guo^{2,3**} (1.National Engineering Research Center for Integrated Utilization of Salt Lake Resources, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2.Joint International Laboratory for Potassium and Lithium Strategic Resources, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 3.School of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China). *China Environmental Science*, 2025,45(4): 2305~2313

Abstract: N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) was selected as the sole carbon and nitrogen source, and a strain NCSL-HH10 that could efficiently degrade NMP was isolated from the cleaning wastewater of lithium-ion battery cathode slurry mixer. 16S rDNA sequencing and phylogenetic affiliation analysis showed that this strain belonged to *Burkholderia contaminans*. The results showed that 100% NMP removal and 94.3% TOC removal could be obtained in 1500mg/L NMP wastewater within 48h using this strain. Such a high mineralization degree indicated that the strain possessed a relatively complete NMP degradation pathway. In addition, the strain could completely degrade NMP with a concentration as high as 15000mg/L, which displayed the highest NMP degradation concentration with a high mineralization degree (63.2%) compared to the publicly available literatures. Finally, 10000mg/L NMP wastewater was treated by *Burkholderia contaminans* NCSL-HH10 and activated sludge under open environment, respectively. It was found that 95.7% NMP and 76.5% TOC were removed within 60h by NCSL-HH10, which was significantly higher than activated sludge (only 39.0% NMP and 30.2% TOC were removed within 84h).

Key words: N-methyl-2-pyrrolidone (NMP); lithium-ion battery; waste water; biodegradation; activated sludge; bioaugmentation

N-甲基吡咯烷酮(NMP)作为一种典型的含氮杂环化合物,因其优异的物理化学性能被广泛应用于锂电池制造、膜制备及医药、石油化工等行业^[1-4]。“双碳”背景下,中国新能源汽车行业的高速发展推动了锂离子电池产业的发展^[5-6].锂离子电池制造过程产生的废水主要包括浆液废水、车间地面及设备冲洗水、生活用水及废气处理废水等,不同锂离子电池生产工厂的废水水质存在较大差异,COD 浓度通常为 350~60000mg/L,氨氮(NH₄⁺-N)浓度通常

为 150~2200mg/L^[7-8].此外,锂浆废水中金属离子赋存状态复杂,对微生物的活性具有一定的抑制作用^[9],其中,废水中的主要有机污染物为 NMP^[7-8].据报道,锂电池生产废水中 NMP 浓度可达 5457mg/

收稿日期: 2024-09-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(52300085);中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(JKB01241707);国家级大学生创新创业训练计划项目(202310251078,202410251078)

* 责任作者, 副研究员, xushen.han@ecust.edu.cn; ** 教授, jgyu@ecust.edu.cn

L^[10],膜行业废水中 NMP 浓度可达 15000mg/L^[11].

NMP 及其降解中间产物的积累易对微生物的活性及污染物的去除效果产生不良影响^[7].此外, NMP 具有较高的生殖毒性与生物毒性,废水中残留的 NMP 易被人体吸收并在环境中积累,对人体健康及环境安全产生严重威胁^[12].NMP 废水的高效处理已经成为推动相关行业绿色发展的重要技术命题,研发 NMP 废水节能高效处理新技术,有助于推进相关行业的持续、健康发展.

目前,难降解有机废水的有机物降解方法主要包括化学法和生物法^[13-14].针对含 NMP 废水,国内外研究报道了光催化、臭氧氧化及多种生物降解工艺^[15-18].与化学法相比,生物法水处理技术通常具有矿化率高、成本较低、无二次污染等优势^[19].就 NMP 废水处理技术而言,工业上通常采用以生物法为主的组合工艺实现废水达标处理,因此普遍存在脱氮除碳分离、工艺流程较长、系统抗冲击性能较差等问题^[7,20].为克服传统工艺的局限,有必要采用生物强化方式予以强化^[13,21],以提高 NMP 废水的处理效率及工艺经济性.例如,有研究报道了从 NMP 废水处理系统中分离得到功能降解菌,并将其用于 NMP 废水的生物强化处理^[22-23],但是大部分功能菌株对高浓度 NMP 的耐受能力有限^[24-26],有关 NMP \geq 10000mg/L 的废水处理情况鲜有报道.已有研究报道的高浓度 NMP 降解菌株存在矿化率未知(中间体累积)、氮的释放/转移情况未知及开放环境中污染物去除情况不明等问题^[11,27].因此,亟需筛选具有高浓度 NMP 降解及矿化能力的菌株,用于高浓度 NMP 废水处理,或提高相关生化系统的抗冲击性.

本研究在锂离子电池制造设备清洗废水中筛选获得 NMP 降解菌株,探究其不同浓度 NMP 废水中的污染物去除效果,研究其对 NMP 的降解机制,并在开放体系与活性污泥进行对比.本研究报道的高效降解菌株可用于强化高浓度 NMP 废水处理系统.

1 材料与方法

1.1 化学试剂及母液配制

NMP 购置于上海创赛科技有限公司,分析纯(NMP $>$ 99%).

NMP 母液的配制:用移液管取 9.69mL NMP 至

100mL 的容量瓶,再用去离子水定容后得到浓度为 1mol/L 的 NMP 母液,于 4℃冰箱内储藏备用.

1.2 菌种筛选、培养及鉴定方法

1.2.1 NMP 降解菌的培养 (1)菌株来源 华东理工大学国家盐湖资源综合利用工程技术研究中心锂离子电池阴极浆料搅拌装置设备清洗废水.

(2)培养基 LB 培养基:胰蛋白胨 10g/L,酵母粉 5g/L, NaCl 10g/L,去离子水, pH 值 (7.0 \pm 0.2),若为固体培养基则添加 22.5g/L 琼脂.

富集培养基:NMP 2500mg/L, KH₂PO₄ 239.1mg/L, CaCl₂ 40mg/L, MgSO₄·7H₂O 37mg/L, FeSO₄·7H₂O 37mg/L,微量元素液 0.1mL/L^[28],去离子水,自然 pH 值,若为固体培养基则添加 22.5g/L 琼脂.

种子培养基 :NMP 10000mg/L, KH₂PO₄ 956.56mg/L, CaCl₂ 40mg/L, MgSO₄·7H₂O 37mg/L,酵母粉 0.5g/L,微量元素液 0.1mL/L,去离子水, pH 值 (7.0 \pm 0.2).

合成废水培养基:以 NMP 为唯一碳源、氮源,按照 COD:P = 100:1 比例添加 KH₂PO₄.此外,合成废水中还包括 CaCl₂ 40mg/L, MgSO₄·7H₂O 37mg/L, FeSO₄·7H₂O 37mg/L,微量元素液 0.1mL/L,去离子水, pH 值 (7.0 \pm 0.2).

(3) NMP 降解菌的分离纯化 富集:取长期放置的锂离子电池阴极搅拌装置废水 1mL 接种至装有 100mL 富集培养基的摇瓶中,于摇床中 160r/min, 30℃震荡培养 3d 后,取 1mL 富集液接种至新的富集培养基中,继续于摇床中 160r/min,30℃震荡培养 3d.重复上述转接培养操作 6 次,获得富集的 NMP 降解微生物群落.

菌株的分离与纯化:选用稀释涂布法与平板划线法对菌株进行分离纯化.移取 1mL 富集液于无菌离心管中,加入 9mL 无菌去离子水,涡旋震荡混匀后重复上述操作,将菌液稀释至不同梯度.分别移取上述菌液 0.1mL 于固体富集培养基上均匀涂布,然后将平板倒置于恒温培养箱中培养 2~3d,挑取平板上不同形态的单菌落于固体富集培养基上反复划线,纯化数次后得到单菌落.采用接种环挑取单菌落于 50mL LB 培养基中,摇床 160r/min, 30℃培养 24h 后,取纯菌液与 60%(体积分数)甘油各 0.9mL 加入无菌保种管,充分混合均匀后存于-80℃冰箱.

1.2.2 菌株 16S rDNA 测序和系统发育树构建 (1)

使用细菌基因组提取试剂盒(ω BIO-TEX)提取菌株 DNA.16S rDNA 的 PCR 引物序列为 27F: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG,1492R:TACGGCTACCTTGTACGACTT.PCR 反应体系如下:21 μ L PCR Mix,1 μ L Primer F(5p),1 μ L Primer R(5p),2 μ L 模板,总体积为 25 μ L.PCR 反应条件如下:96 $^{\circ}$ C 5min;96 $^{\circ}$ C 30s,56 $^{\circ}$ C 30s,72 $^{\circ}$ C 1min,循环 35 次;72 $^{\circ}$ C 5min;4 $^{\circ}$ C 保温.

(2) 测序送至北京六合华大基因科技有限公司武汉分公司完成.测序结果上传至 NCBI 数据库用 BLAST 在 Gene Bank 中进行同源性比较,并采用 MEGA-11 软件^[29-30]选择邻接法(neighbor-joining method)对菌株序列进行同源性分析,构建系统发育树^[31].

1.3 菌株在不同条件下的 NMP 降解特性测试

1.3.1 NCSL-HH10 菌株悬液的制备 将 NCSL-HH10 菌株从保种管转接至 LB 培养基中,于 160r/min,30 $^{\circ}$ C 摇床培养 24h 后于 LB 平板上划线 3 次进行活化.用接种环从 LB 平板上挑取单菌落转移至 100mL 一级种子培养基,于 160r/min,30 $^{\circ}$ C 摇床培养 24h 后移取 1mL 菌液至 100mL 二级种子培养基中,160r/min,30 $^{\circ}$ C 摇床培养 24h 后移取 1mL 菌液至 100mL 三级种子培养基中继续培养 18h 后得到 NCSL-HH10 菌株悬液用于后续实验.

1.3.2 不同初始 pH 值条件下 NMP 去除实验 将 NCSL-HH10 按照 1%(体积分数)接种量接入 NMP = 1500mg/L 的合成废水培养基中,合成废水培养基的初始 pH 值分别为(4.0 \pm 0.2)、(5.0 \pm 0.2)、(6.0 \pm 0.2)、(7.0 \pm 0.2)、(8.0 \pm 0.2),锥形瓶于 150r/min,25 $^{\circ}$ C 摇床中培养 48h,每隔 6h 取水样 4mL,8000r/min 离心 15min.分别测定水样的 NMP、TOC、pH 值及 NH₄⁺-N 含量.每组实验设置 2 组平行.

1.3.3 不同温度条件下 NMP 去除实验 将 NCSL-HH10 按照 1%(体积分数)接种于 NMP = 1500mg/L 的合成废水培养基中,合成废水培养基的 pH=(7.0 \pm 0.2),锥形瓶分别于 15,20,25,30 $^{\circ}$ C,150r/min 摇床中培养 48h,每隔 6h 取水样 4mL,8000r/min 离心 15min.分别测定水样的 NMP、TOC、pH 值及 NH₄⁺-N 含量.每组实验设置 2 组平行.

1.3.4 NMP=15000mg/L 时的降解特性 将 NCSL-HH10 按照 1%(体积分数)接种于 NMP=15000mg/L

的合成废水培养基中,合成废水培养基的 pH=(7.0 \pm 0.2).将装有培养基的锥形瓶置于 150r/min,25 $^{\circ}$ C 条件下震荡培养,每隔 2d 取水样 4mL,8000r/min 离心 15min,分别测定水样的 NMP、TOC、pH 值及 NH₄⁺-N 含量.每组实验设置 2 组平行.

1.4 中间代谢产物分析

在 1.3.2 实验中,取培养 36h 后的菌液(初始 pH 值 7.0),于超低温离心机中 8000r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 10min 后,取上清液,用等体积二氯甲烷萃取 3 次,收集有机相;旋转蒸发后收集浓缩物,将浓缩物重新溶解于等体积的甲醇中.采用 HPLC-MS(Thermo Scientific, Q Exactive, USA)测定中间代谢产物的组成.

1.5 开放环境中活性污泥与 NCSL-HH10 的污染物去除性能对比

活性污泥(AS)取自中国江苏省苏州市太仓市某污水处理站好氧池,空曝 48h 后接种至反应器中.反应器由有机玻璃组成,有效容积为 2L.将 4g/L 活性污泥与 4g/L NCSL-HH10 菌剂分别接种于 NMP = 10000mg/L 的合成废水培养基中,每隔 12h 取水样 20mL,5000r/min 离心 15min 后于 4 $^{\circ}$ C 冷藏.分别测定水样的 NMP、TOC 浓度.

1.6 水质检测方法

TOC 由 TOC 分析仪(Sievers InnovOx Laboratory, SUEZ, USA)测定;NH₄⁺-N 根据 HJ 535-2009 采用纳氏试剂分光光度法测定;pH 值使用 pH 计(Mettler Toledo, SevenExcellence, Switzerland)测定.

NMP 使用高效液相色谱(HPLC)(Thermo Scientific, UltiMate 3000, USA)进行测定,反向色谱柱的型号为 Thermo Scientific™ Acclaim™ 120C18 (5 μ m, 4.6mm \times 150mm),流动相为甲醇:超纯水=40:60(体积分数),检测波长为 230nm,柱温 40 $^{\circ}$ C,流速为 1mL/min,保留时间约为 3.69min.

1.7 数据统计与分析

数据处理采用 Origin 2024 软件.

2 结果与讨论

2.1 NMP 降解菌的筛选

以华东理工大学国家盐湖资源综合利用工程技术研究中心锂离子电池阴极浆料搅拌装置设备清洗废水为种源,经过富集、分离、纯化后得到 4 株具有 NMP 降解能力的菌株.将 4 株菌株按照 1%(体

积分数)接种于 1500mg/L NMP 合成废水培养基中,于 150r/min,25℃培养 48h 后测定废水中 NMP 浓度。如图 1 所示,4 株菌株对 NMP 的去除率分别为 100%、80.3%、79.2%、80.6%(NCSL-HH10、NCSL-HH11、NCSL-HH12、NCSL-HH14)。因此,选用 NMP 去除率最高的 NCSL-HH10 开展进一步研究工作。

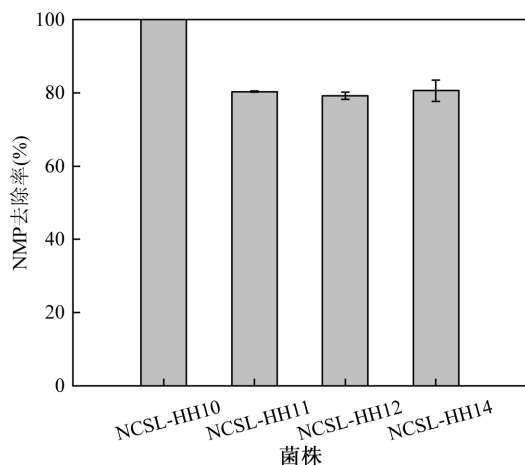


图1 NMP降解菌对NMP的去除效果

Fig.1 Removal of NMP by NMP degrading bacteria

2.2 NMP 高效降解菌株鉴定

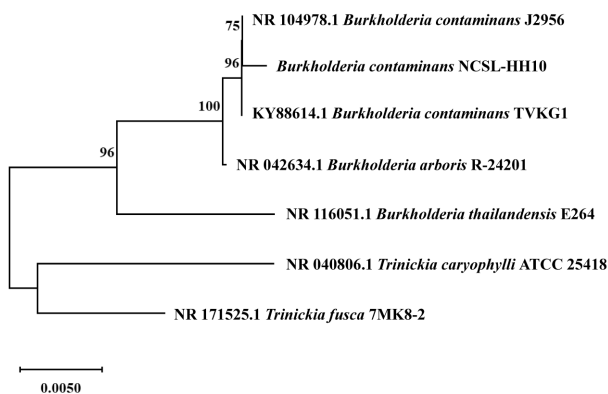


图2 NCSL-HH10 系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree of strain NCSL-HH10

对 NCSL-HH10 进行 DNA 提取、PCR 扩增、电泳产物鉴定,得到 16S rDNA 基因序列,将基因序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,发现其与 *Burkholderia contaminans* J2956 具有 99.86% 相似性。据前人研究可知,伯克霍尔德菌属的部分微生物具有良好的污染物降解特性,在生物修复和生物防治方面具有重要的生物技术潜力^[32]。Kumari 等^[33]研究发现伯克霍尔德氏菌属具有独特的基因组成,能在

有毒环境中存活并代谢有毒污染物。综上,预计该菌对废水中 NMP 的降解具有较大的潜力。

选取与 NCSL-HH10 相似度在 97% 以上的菌株序列,采用 MEGA 11 软件的 Clustal W 功能进行比对分析,并设置自展值 (Bootstrap) 为 1000,选用 Neighbor-joining 算法构建系统发育树如图 2 所示,确定其为 *Burkholderia contaminans*,命名为 *B. contaminans* NCSL-HH10。

2.3 NCSL-HH10 菌株形态研究

NCSL-HH10 菌株的菌落及扫描电镜形态如图 3 所示,菌落在 LB 平板上的形态为圆形、淡黄色、边缘光滑、不透明,在扫描电镜观察下呈规则的短棒状,大小约为 $0.47\mu\text{m} \times 1.56\mu\text{m}$,无鞭毛。

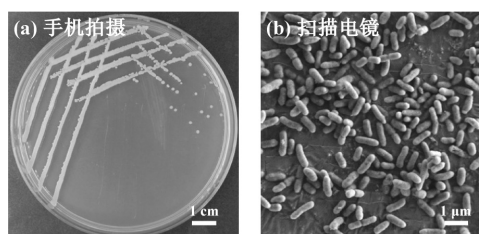


图3 NCSL-HH10 形态图

Fig.3 Morphology of NCSL-HH10

2.4 不同初始 pH 值条件下 NCSL-HH10 的 NMP 降解特性

如图 4 所示,初始 pH 值在 4.0~8.0 范围内,NMP 去除率、TOC 去除率与氨氮释放无明显差异;不同初始 pH 值条件下,反应 48h 后的 pH 值均趋向于 8.0。有研究报道,NMP 在生物降解过程中会释放出甲胺等物质^[24]。因此,溶液逐渐呈碱性。如图 4(a)、4(b)所示,接入 NCSL-HH10 菌株 18h 后,废水中 TOC 及 NMP 浓度逐渐降低,48h 后 NMP 去除率达到 100%,TOC 去除率超过 85%。如图 4(d)所示,接入菌株 30h 内,基本检测不到氨氮,30h 后各组逐渐释放氨氮,48h 后初始 pH=4.0 组氨氮浓度为 82.3mg/L,初始 pH=8.0 组氨氮浓度为 88.9mg/L,初始 pH=5.0、6.0、7.0 组氨氮释放量超过 91.7mg/L。与 NMP、TOC 的去除相比,氨氮的释放具有一定的滞后性,这是由于 NMP 的降解需要经历多个步骤,其中前面若干步的中间代谢产物为含氮有机物^[25]。据文献报道,菌株处理后的含氨氮废水经过氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO₂-oxidizing bacteria)作用后可转化为含 NO₃⁻-N 废水,在缺氧条件下,NO₃⁻可以

作为电子受体,在微生物作用下与 NMP(碳源)发生反硝化反应,实现较好的脱氮除碳效果^[34-35].

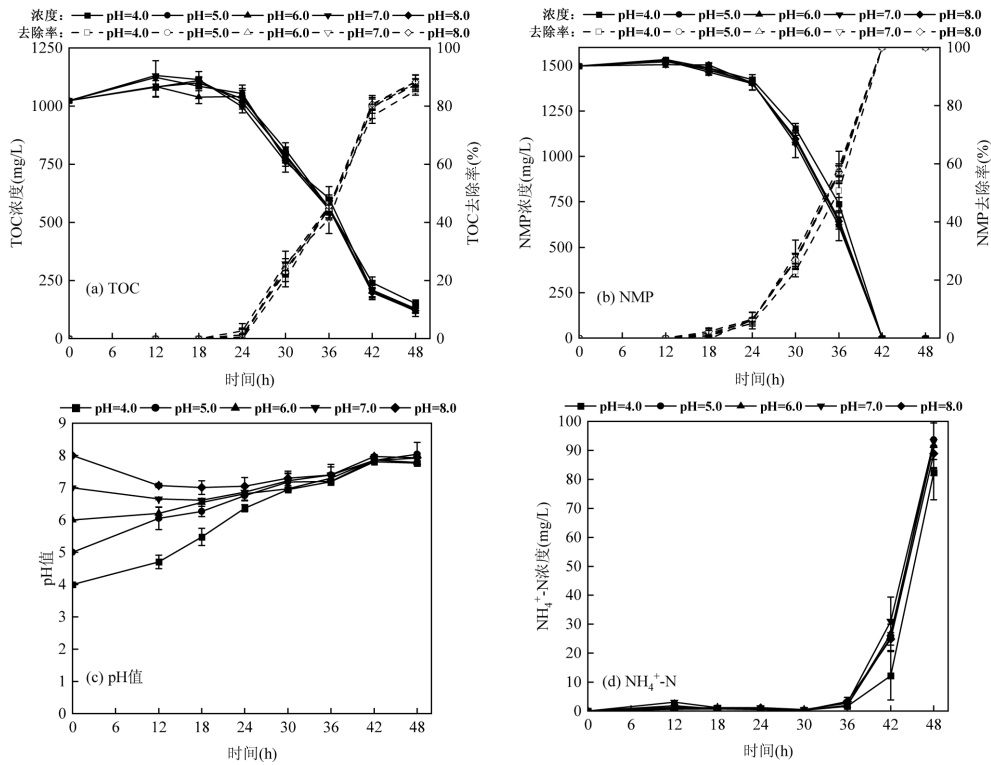


图4 不同初始 pH 值条件下 NCSL-HH10 对 1500mg/L NMP 废水处理效果

Fig.4 Effect of initial pH on treatment performance of synthetic NMP wastewater (1500mg/L) by NCSL-HH10

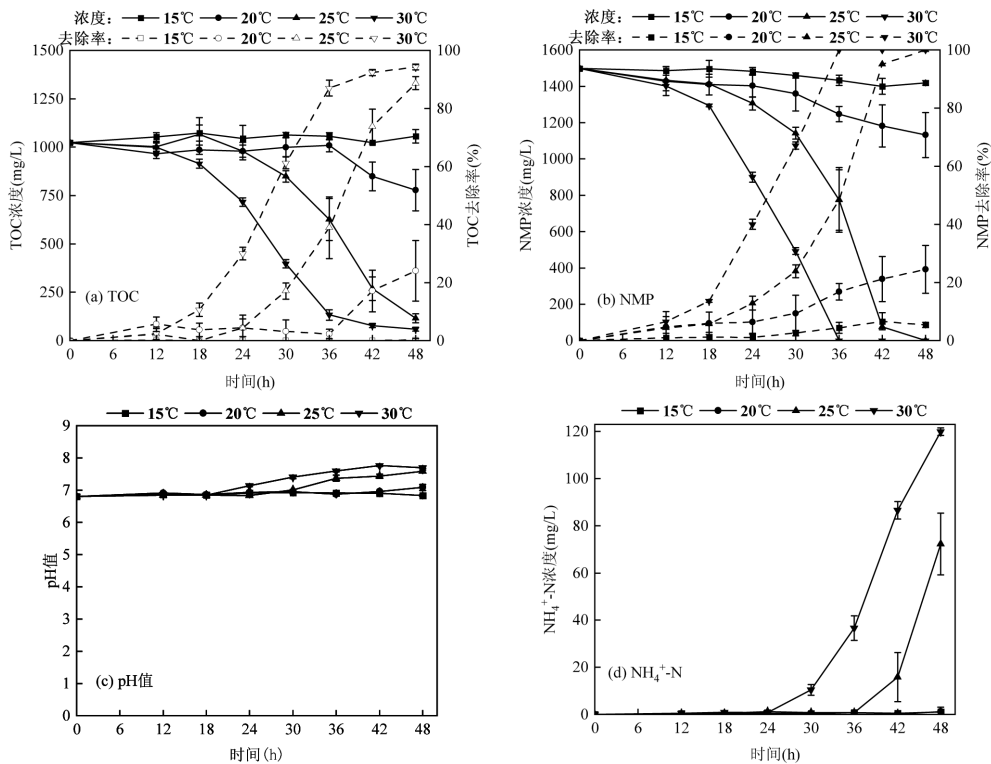


图5 不同温度条件下 NCSL-HH10 对 1500mg/L NMP 废水处理效果

Fig.5 Effect of different temperature on treatment performance of synthetic NMP wastewater (1500mg/L) by NCSL-HH10

2.5 不同温度下 NCSL-HH10 的 NMP 降解特性

如图 5(a)、5(b)所示,环境温度为 15℃时,NCSL-HH10 对 NMP 基本无降解作用;随着环境温度的升高,NMP 及 TOC 的去除率逐渐增高;当环境温度为 30℃时,NCSL-HH10 菌株 NMP 及 TOC 的去除率最佳,分别为 100%及 94.3%。如图 5(c)、5(d)所示,不同温度条件下 pH 值及氨氮的变化趋势也与上述实验结果相吻合.温度通过影响酶活进而影响污染物的降解效果^[36],预计 25 和 30℃时,与 NMP 降解代谢相关的酶活性较高,NMP 代谢效果也较好。

2.6 NMP 浓度为 15000mg/L 时 NCSL-HH10 的 NMP 降解特性

鉴于 NCSL-HH10 菌株在 NMP = 1500mg/L 时表现出优异的污染物去除能力,进一步探究该

菌株对于更高 NMP 浓度的降解能力.如图 6 所示,当 NMP 浓度为 15000mg/L 时,NCSL-HH10 菌株 12d 可以完全去除 NMP(~100%),此时 TOC 去除率为 63.2%,氨氮释放量为 363.6mg/L,最终 pH 值趋近于 9.0.前人研究表明,NMP 降解过程中会产生具有生物毒性的 N-甲基琥珀酰亚胺、2-吡咯烷酮等中间产物,其中,N-甲基琥珀酰亚胺的生物毒性超过 NMP 本身^[37].NMP 浓度越高,NMP 降解中间体累积越多,生物毒性越强,导致高浓度 NMP 废水中 TOC 去除率降低.另外,降解过程显著上升的 pH 值也会抑制菌株的代谢.尽管如此,该菌在 15000mg/L NMP 条件下展现出优异的 NMP 去除率和良好的矿化能力,是国内外首次报道的具备上述性能的菌株。

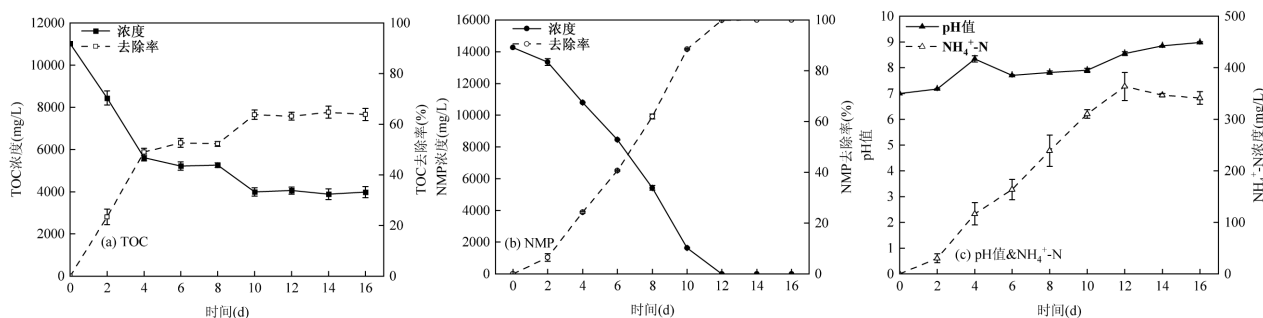


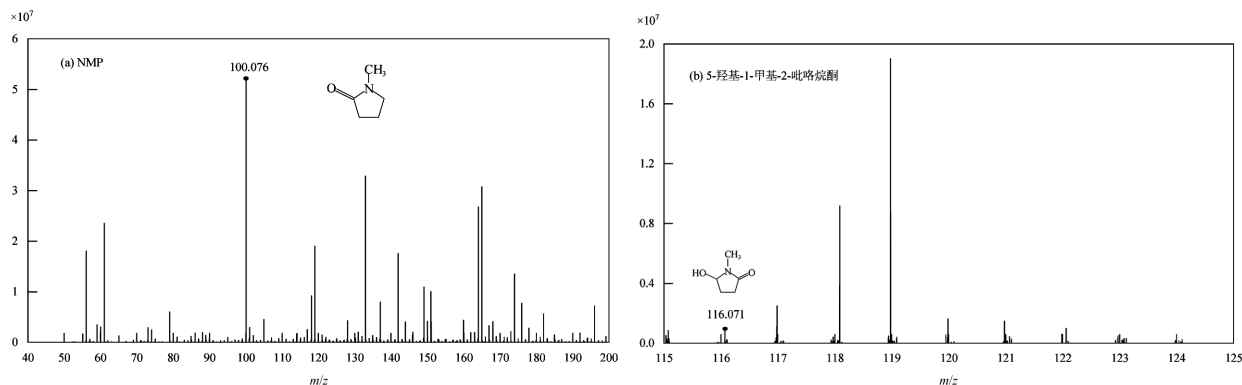
图 6 NCSL-HH10 对 15000mg/L NMP 废水的去除效果

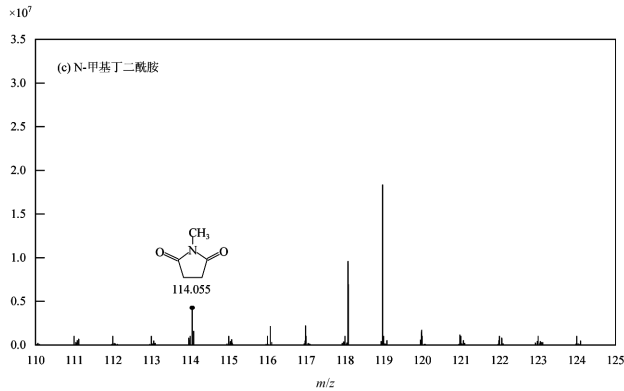
Fig.6 The removal performance of synthetic NMP wastewater (15000mg/L) by NCSL-HH10

2.7 中间代谢产物分析

通过 HPLC-MS 分析菌株 NCSL-HH10 降解 NMP 的中间代谢产物,如图 7(a~c)所示,3 种物质分别为 NMP、5-羟基-1-甲基-2-吡咯烷酮和 N-甲基丁二酰胺.由图 7(d)可知,在 NMP 逐步降解的过程中产生了 5-羟基-1-甲基-2-吡咯烷酮和 N-甲基丁二酰胺.Cai 等^[24]报道了 N-甲基丁二酰胺可以被生物降解为琥珀酸和甲胺,琥珀酸进入三羧酸循环进一

步代谢,甲胺的生物降解会释放氨氮^[38].尽管本研究未测定到琥珀酸等后续降解产物^[24],但该菌在 1500mg/L NMP 废水体系的高矿化度(94.3%),意味着其具有较为完整的 NMP 降解路径.N-甲基丁二酰胺的降解或许是 NMP 降解过程的关键限速步骤之一,针对其降解路径,以该菌株为底盘微生物的代谢工程改造,或可进一步提高该菌株对于高浓度 NMP 废水处理的矿化度。





(d) 代谢路径分析

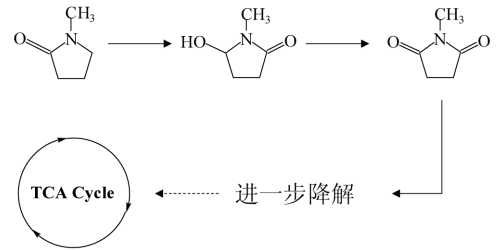


图 7 NCSL-HH10 降解 NMP 的中间代谢产物及代谢路径分析

Fig. 7 Intermediate metabolites and NMP metabolism pathway of strain NCSL-HH10

2.8 开放环境下 NMP 废水生化处理效能

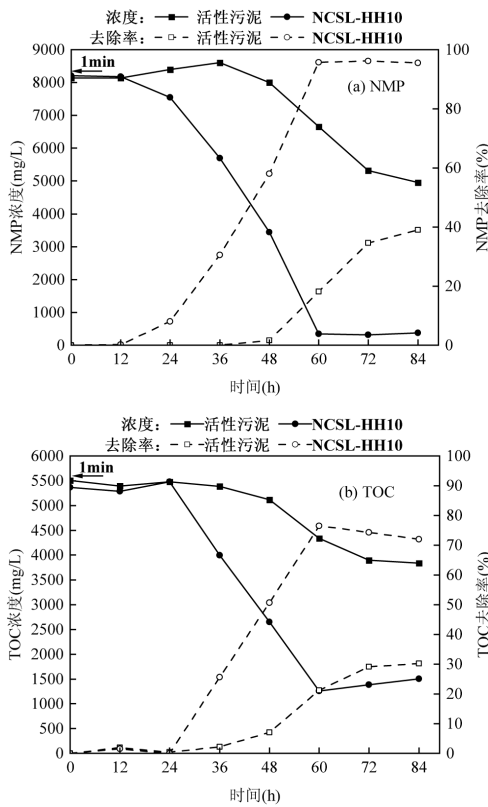


图 8 开放环境下活性污泥及 NCSL-HH10 对 10000mg/L NMP 废水处理效果

Fig.8 The removal performance of synthetic NMP wastewater (10000mg/L) by activated sludge and NCSL-HH10under open environment

为了探究 NCSL-HH10 菌株在开放环境中的污染物去除效果,比较了相同接种量下 NCSL-HH10 菌株与活性污泥对 10000mg/L NMP 废水的处理效能.如图 8 所示,活性污泥与 NCSL-HH10 菌株初始接种量为 4g/L 时,NCSL-HH10 菌株对污染物的去

除效果优于活性污泥;60h 后,NCSL-HH10 系统中 NMP 及 TOC 去除率基本达到稳定,分别为 95.7%与 76.5%.60h~84h,趋于稳定的 NCSL-HH10 系统中 NMP 去除率为 95.8%,TOC 的去除率为 74.3%,而 84h 时趋于稳定的活性污泥系统中 NMP 的去除率仅为 39.0%,TOC 的去除率仅为 30.2%.

上述结果表明,NCSL-HH10 对 NMP 的降解效果远优于普通活性污泥.就难降解有机废水而言,生物强化技术通常可以起到缩短启动周期、增强污染物去除能力的效果^[39-40],与活性污泥作为种源直接启动相比,NCSL-HH10 菌株作为高浓度 NMP 废水处理系统的种源预计可以发挥较好的处理效果.

2.9 NCSL-HH10 处理 NMP 废水的优势

如表 1 所示,国内外研究报道的 NMP 降解菌的 NMP 处理浓度一般不超过 10000mg/L,大多为 300~500mg/L.仅有如下 2 例研究了 10000mg/L NMP 体系的菌株降解情况,Jeon 等^[27]探究了 *Pseudomonas* sp. SMIC-3 在 100mmol (9913mg/L) NMP 体系的降解特性,结果表明 72h 后 NMP 去除率 90%;Bhojani 等^[11]研究表明 *B. cereus* APS1 在 96h 内可完全去除 10000mg/L NMP.然而,上述研究均基于 NMP 的浓度变化,未检测 TOC 或 COD 的变化情况,不能有效说明 NMP 在单菌株作用下的矿化是否彻底.

菌株对污染物的降解效果通常取决于接种量及反应条件,相较反应速率而言,污染物降解率与矿化度更能反应菌株本身的降解能力.如表 1 所示, *B. contaminans* NCSL-HH10 菌株对于 1500 及 15000mg/L NMP 的去除率均达 100%,TOC 去除率分别为 94.3%和 63.2%.该菌株的 NMP 处理浓度、去除率及矿化度均优于现有报道.同时,该菌具有广

泛的 NMP 浓度适应性,表明该菌具有良好的抗冲击性能及实际应用前景.

表 1 不同 NMP 降解菌株特性
Table 1 Characteristics of different NMP degrading strains

NMP 降解菌株	电子受体	NMP 浓度(mg/L)	NMP 降解率(%)	TOC 浓度(mg/L)	TOC 去除率(%)	参考文献
<i>Pseudomonas</i> sp. SMIC-3	O ₂	9913	90	-	-	[27]
<i>Bacillus cereus</i> APS1	O ₂	10000	100	-	-	[11]
<i>Methylobacterium organophilum</i>	O ₂	297.4	100	-	-	[25]
<i>Sphingomonas melonis</i>	O ₂	297.4	100	-	-	[25]
<i>Paracoccus</i> sp. NMD-4	O ₂	500	95 ± 5	-	-	[24]
<i>Burkholderia contaminans</i> NCSL-HH10	O ₂	1500	100	1024	94.3	本研究
		15000	100	11025	63.2	

注:“-”表示文献未具体提及或根据文献中现有数据无法计算出该指标.

3 结论

3.1 从长期放置的锂离子电池设备清洗废水中分离得到了一株 NMP 降解菌,经 16S rDNA 基因测序、系统发育树构建,鉴定 NCSL-HH10 菌株为 *Burkholderia contaminans*.

3.2 *B. contaminans* NCSL-HH10 在 pH 值为 4.0~8.0,温度为 25 和 30℃ 时具有较好的 NMP、TOC 去除效果,最佳条件 30℃、pH = 7.0 时,该菌对 1500mg/L NMP 废水的 NMP 降解率为 100%, TOC 去除率为 94.3%.

3.3 该菌对 NMP 高达 15000mg/L 的废水具有较好的污染物去除能力,25℃、pH = 7.0 时该菌对 NMP 的去除率高达 100%,对 TOC 的去除率为 63.2%,为文献报道最高的 NMP 有效降解浓度.

3.4 就 NMP 代谢路径而言,NCSL-HH10 首先将 NMP 降解为 5-羟基-1-甲基-2-吡咯烷酮,5-羟基-1-甲基-2-吡咯烷酮被氧化为 N-甲基丁二酰胺,随后 N-甲基丁二酰胺进一步降解并参与三羧酸循环.

3.5 与活性污泥相比,针对 10000mg/L 的 NMP 废水,该菌在 60h 内可去除 95.7% 的 NMP,76.5% 的 TOC,84h 时 NMP 及 TOC 去除效果分别优于活性污泥 141.3%、128.3%,预计该菌可作为 NMP 废水生化处理系统的接种物.

参考文献:

- [1] Benhabbour S R, Kovarova M, Jones C, et al. Ultra-long-acting tunable biodegradable and removable controlled release implants for drug delivery [J]. *Nature Communications*, 2019,10(1):4324.
- [2] Sönmez Ö, Yıldız Ö, Çakır M Ö, et al. Influence of the addition of various ionic liquids on coal extraction with NMP [J]. *Fuel*,

2018,212:12-18.

- [3] Zeng W H, Li B B, Li H, et al. Mass produced NaA zeolite membranes for pervaporative recycling of spent N-Methyl-2-Pyrrolidone in the manufacturing process for lithium-ion battery [J]. *Separation and Purification Technology*, 2019,228:115741.
- [4] Zhou L, Zhang H C, Ahmad A L, et al. Hierarchical structure design of electrospun membrane for enhanced membrane distillation treatment of shrimp aquaculture wastewater [J]. *Separation and Purification Technology*, 2023,306:122591.
- [5] 于建国,孙 庆,裘晟波,等.支撑国家新能源战略发展的锂资源开发 [J]. *无机盐工业*, 2023,55(1):1-14.
Yu J G, Sun Q, Qiu S B, et al. Lithium resources development supporting national new energy strategy development [J]. *Inorganic Chemicals Industry*, 2023,55(1):1-14.
- [6] 何 婷,孔 娇,崔景植,等.退役锂离子电池电化学还原浸出及热力学研究 [J]. *无机盐工业*, 2022,54(12):34-43.
He T, Kong J, Cui J, et al. Study on leaching and thermodynamic of spent lithium-ion batteries with electrochemical reduction [J]. *Inorganic Chemicals Industry*, 2022,54(12):34-43.
- [7] Ni H C, Arslan M, Liang Z S, et al. Mixotrophic denitrification processes in basalt fiber bio-carriers drive effective treatment of low carbon/nitrogen lithium slurry wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2022,364:128036.
- [8] 徐治伟,申魁文,马腾越,等.锂离子电池废弃正极浆料回收废水处理工程实例 [J]. *水处理技术*, 2023,49(11):147-149,156.
Xu Z W, Shen K W, Ma T Y, et al. Research and design of wastewater treatment process for waste cathode slurry recycling of Li-ion batteries [J]. *Technology of Water Treatment*, 2023,49(11):147-149, 156.
- [9] Yoo K, Shin S M, Yang D H, et al. Biological treatment of wastewater produced during recycling of spent lithium primary battery [J]. *Minerals Engineering*, 2010,23(3):219-224.
- [10] Zhang X Y, Chen D, Jiang N, et al. New insights into algal-bacterial sludge granulation based on the tightly-bound extracellular polymeric substances regulation in response to N-Methylpyrrolidone [J]. *Water Research*, 2024,257:121754.
- [11] Bhojani G, Jani S, Saha N K. Facile biodegradation of N, N-dimethylformamide, N, N-dimethylacetamide and N-methyl-2-pyrrolidone by source-derived *Bacillus* strain APS1 for water reclamation and reuse [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022,334: 130098.
- [12] Sherwood J, Farmer T J, Clark J H. Catalyst: Possible consequences of

- the N-Methyl Pyrrolidone REACH restriction [J]. Chem, 2018, 4(9):2010-2012.
- [13] 黄莉婷,韩响身,金 艳,等.煤化工反渗透浓水的高效降解菌株筛选、鉴定及应用研究 [J]. 化工学报, 2021,72(9):4881-4891.
Huang L T, Han X S, Jin Y, et al. Isolation, identification and application of highly efficient halotolerant strains for coal chemical reverse osmosis concentrate treatment [J]. CIESC Journal, 2021,72(9): 4881-4891.
- [14] Chen S Y, Wang X Y, Shi X Y, et al. Integrated system of electro-catalytic oxidation and microbial fuel cells for the treatment of recalcitrant wastewater [J]. Chemosphere, 2024,354:141754.
- [15] Wu J J, Muruganandham M, Chang L T, et al. Ozone-based advanced oxidation processes for the decomposition of N-methyl-2-pyrrolidone in aqueous medium [J]. Ozone: Science and Engineering, 2007,29(3): 177-183.
- [16] Zolfaghari A, Mortaheb H R, Meshkini F. Removal of N-methyl-2-pyrrolidone by photocatalytic degradation in a batch reactor [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2011,50(16):9569-9576.
- [17] Kumar P, Verma S, Kaur R, et al. Enhanced photo-degradation of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP): Influence of matrix components, kinetic study and artificial neural network modelling [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,434:128807.
- [18] Loh C H, Wu B, Ge L Y, et al. High-strength N-methyl-2-pyrrolidone-containing process wastewater treatment using sequencing batch reactor and membrane bioreactor: A feasibility study [J]. Chemosphere, 2018,194:534-542.
- [19] 于建国,韩响身,金 艳.页岩气压裂返排液生物处理技术研究进展 [J]. 石油与天然气化工, 2022,51(5):131-138.
Yu J G, Han X S, Jin Y. Biological treatment of shale gas flowback and produced water: a review [J]. Chemical Engineering of Oil&Gas, 2022, 51(5):131-138.
- [20] 田 锐,陈 威,王宗平,等.锂电池生产废水处理及中水回用工程案例 [J]. 水处理技术, 2019,45(6):127-130.
Tian R, Chen W, Wang Z P, et al. Engineering project of Lithium battery production wastewater treatment and reuse [J]. Technology of Water Treatment, 2019,45(6):127-130.
- [21] Herrero M, Stuckey D C. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review [J]. Chemosphere, 2015,140:119-128.
- [22] Wang J, Liu X L, Jiang X B, et al. Nitrate stimulation of N-Methylpyrrolidone biodegradation by *Paracoccus pantotrophus*: Metabolite mechanism and Genomic characterization [J]. Bioresource Technology, 2019,294:122185.
- [23] Wang J, Chi Q, Zhang R R, et al. Evaluation of N-methylpyrrolidone bio-mineralization mechanism and bacterial community evolution under denitrification environment [J]. Journal of Cleaner Production, 2022,343:130945.
- [24] Cai S, Cai T M, Liu S Y, et al. Biodegradation of N-Methylpyrrolidone by *Paracoccus* sp. NMD-4 and its degradation pathway [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 93:70-77.
- [25] Gao Y Y, Chen T, Hou Y F, et al. The roles of *Methylobacterium organophilum* and *Sphingomonas melonis* for accelerating N-methyl pyrrolidone (NMP) biodegradation [J]. Journal of Water Process Engineering, 2023,56:104327.
- [26] Li N N, Han X S, Lv H H, et al. Biodegradation of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) in wastewater: A review of current knowledge and future perspectives [J]. Journal of Cleaner Production, 2025,486: 144452.
- [27] Jeon B Y, Yi J Y, Park D H. Estimation on metabolic pathway of *Pseudomonas* sp. SMIC-3 for 1-methyl-2-pyrrolidinone based on physiological and biochemical analyses [J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2014,31:475-484.
- [28] Tang R, Han X S, Jin Y, et al. Do increased organic loading rates accelerate aerobic granulation in hypersaline environment? [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2022,10(6):108775.
- [29] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms [J]. Molecular Biology and Evolution, 2018,35(6):1547-1549.
- [30] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011,28(10):2731-2739.
- [31] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice [J]. Nucleic Acids Research, 1994,22(22):4673-4680.
- [32] O'Sullivan L A, Mahenthalingam E. Biotechnological potential within the genus *Burkholderia* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2005,41(1):8-11.
- [33] Kumari S, Das S. Bacterial enzymatic degradation of recalcitrant organic pollutants: Catabolic pathways and genetic regulations [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023,30(33):79676-79705.
- [34] Chen S Y, Zhu X H, Zhu G, et al. N-methyl pyrrolidone manufacturing wastewater as the electron donor for denitrification: From bench to pilot scale [J]. Science of the Total Environment, 2024,912:169517.
- [35] 楼超楠,韩响身,金 艳,等.不同碳源对微生物反硝化性能的影响 [J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2023,49(5):660-669.
Lou C N, Han X S, Jin Y, et al. Effect of different carbon sources on microbial denitrification performance [J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2023,49(5):660-669.
- [36] Daniel R M, Peterson M E, Danson M J, et al. The molecular basis of the effect of temperature on enzyme activity [J]. Biochemical Journal, 2010,425(2):353-360.
- [37] Campbell H L, Striebig B A. Evaluation of N-methylpyrrolidone and its oxidative products toxicity utilizing the microtox assay [J]. Environmental Science & Technology, 1999,33(11):1926-1930.
- [38] 张文涛,胡友彪,高良敏,等.甲胺废水资源化探究 [J]. 环境科学与技术, 2011,34(1):180-183.
Zhang W T, Hu Y B, Gao L M, et al. Reutilization of methylamine wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2011,34(1): 180-183.
- [39] Han X S, Jin Y, Yu J G. Rapid formation of aerobic granular sludge by bioaugmentation technology: A review [J]. Chemical Engineering Journal, 2022,437:134971.
- [40] Han X S, Huang L T, Jin Y, et al. Bioaugmentation treatment of coal chemical reverse osmosis concentrate in biological contact oxidation system coupled with ozone pretreatment [J]. Journal of Cleaner Production, 2023,428:139455.

作者简介: 李宁宁(1999-),女,山东烟台人,华东理工大学硕士研究生,主要从事锂电池行业废水处理与资源化技术研究.发表论文 3 篇. ningningli19@163.com.