

异养硝化——好氧反硝化的耐抗生素菌对制药废水中氨氮的去除特性

林冬庆¹ 罗晓² 刘云琦¹ 李小曼¹ 吕鹏翼²

1 河北科技大学建筑工程学院, 河北石家庄, 050018;

2 河北科技大学环境科学与工程学院, 河北石家庄, 050018;

摘要: 从制药废水好氧池的活性污泥中分离出几株新的耐抗生素细菌, 通过纸片扩散法对五种抗生素的耐药性进行了测试, 并通过往好氧反硝化培养基中添加抗生素的方式验证其在含抗生素环境下的脱氮效果。结果表明, 筛选出的菌体对多种抗生素具有抗生素耐药性, 并且对氨氮和硝氮具有良好的去除效果

关键字: 异养硝化; 好氧反硝化; 多重耐药性; 脱氮效能

DOI: 10.69979/3060-8767.25.04.037

引言

抗生素是具有抑菌或杀菌作用的由微生物产生的具有抗病原体或者其他活性的代谢产物, 或者是人工合成的化合物。近年来, 全球抗生素使用量呈现显著上升趋势。自20世纪40年代青霉素投入临床应用之后, 全球抗生素的用量就呈现持续增长态势。但随之而来的耐药性问题, 已成为当前公共卫生领域的重大挑战。因此, 定向培育耐抗生素脱氮菌群对处理抗生素废水具有重要价值。

1 材料和方法

1.1 培养基

异养硝化-好氧反硝化培养基(NDM): 1.8 g/L KN₀₃, 1.18 g/L (NH₄)₂SO₄, 32.68 g/L 柠檬酸钠, 微量元素溶液。微量元素溶液: 6.5 g/L K₂HPO₄·3H₂O, 2.5 g/L MgSO₄·7H₂O, 2.5 g/L NaCl, 0.05 g/L FeSO₄·7H₂O, 0.04 g/L MnSO₄·H₂O (添加量1ml/L)。

在NDM的基础上加入红霉素20 μg/ml、萘啶酸20 μg/ml、利福平10 μg/ml、环丙沙星1 μg/ml、盐酸头孢他啶5 μg/ml、四环素10 μg/ml、土霉素10 μg/ml、氨苄西林10 μg/ml、青霉素G钠20 μg/ml、阿莫西林10 μg/ml。

1.2 菌株的富集和分离

将225 mLNDM、ADM、NDMK和ADMK培养基分别装到锥形瓶中, 高温灭菌后在超净工作台中将每个锥形瓶中分别接种25 mL活性污泥并放10颗玻璃珠, 采用无菌透气膜封口后, 于30℃、150 r/min恒温摇床培养。每48 h在无菌条件下更换50mL新鲜相应的培养基。将富集驯化过程中取出的细菌悬浮液在4℃条件下以8000r/

min离心10min, 取上清液分别测定NH₄⁺-N、NO₃⁻-N和NO₂⁻-N的浓度。

在超净工作台内, 选择细菌生长密度合适的固体筛选培养基, 在其中挑选具有不同形态特点的菌落用于进一步的划线分离。反复纯化直至菌落单一, 在划线分离的LB固体培养基中挑选形态不同的单菌落作为后续实验的目标菌株。

1.3 菌株的鉴定

通过稀释涂布并分离之后, 成功获得了4株纯化的菌株。将这些纯化后的菌株分别提取DNA后, 采用16S rRNA基因测序技术进行鉴定。BLAST结果表明, 这4株菌株分别为卓贝尔氏菌属、芽孢杆菌属和盐单胞菌属。

1.4 抗生素的种类对菌株脱氮性能的影响

通过对比不同抗生素处理下菌株的脱氮效率, 分析抗生素种类对脱氮性能的具体影响, 揭示其作用机制。同时, 考察不同菌株在不同抗生素环境中的适应性和脱氮效果, 为优化抗生素废水处理工艺提供科学依据。

2 结果与讨论

A5在三种不同抗生素的影响下的脱氮效果如图3-1所示。结果显示, A5菌株在含青霉素的环境中脱氮的效果为NH₄⁺-N去除率85.7%, NO₃⁻-N去除率为81.2%; 在含红霉素的环境中, NH₄⁺-N去除率为94.5%, NO₃⁻-N去除率为92.8%; 在含头孢他啶的环境中, NH₄⁺-N去除率为94.5%, NO₃⁻-N去除率为96.7%。

脱氮过程中, A5功能菌在青霉素G钠、红霉素和头孢他啶三种抗生素环境下, 体系中的NH₄⁺-N和NO₃⁻-N浓度均先呈上升趋势, 随后逐渐下降, 最终趋于稳定。但是, 三种含不同抗生素体系中的NH₄⁺-N和NO₃⁻-N浓度上升幅度明显不同, 其中, 头孢他啶环境下NH₄⁺-N

和 NO_3^- -N 浓度上升最少，下降速度最快，青霉素 G 钠

环境下 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 浓度上升最多，下降最慢。

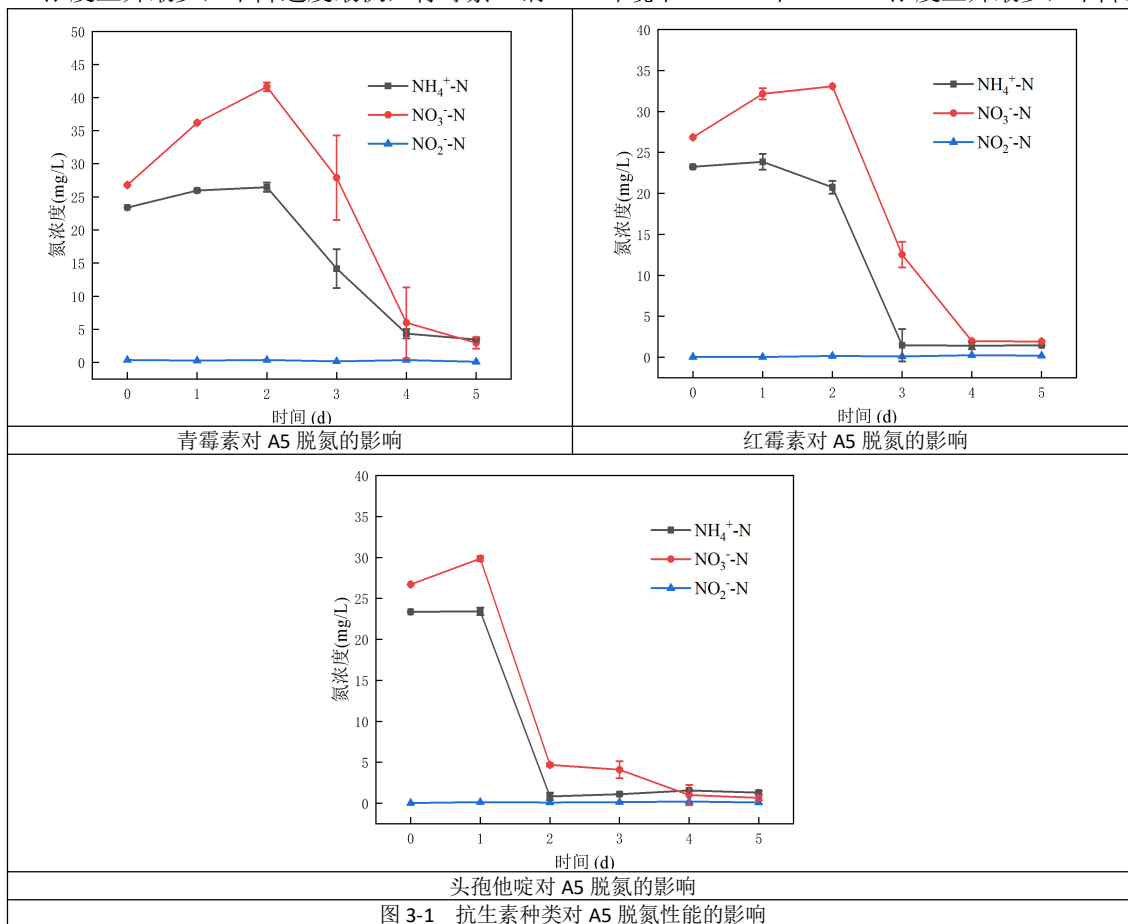
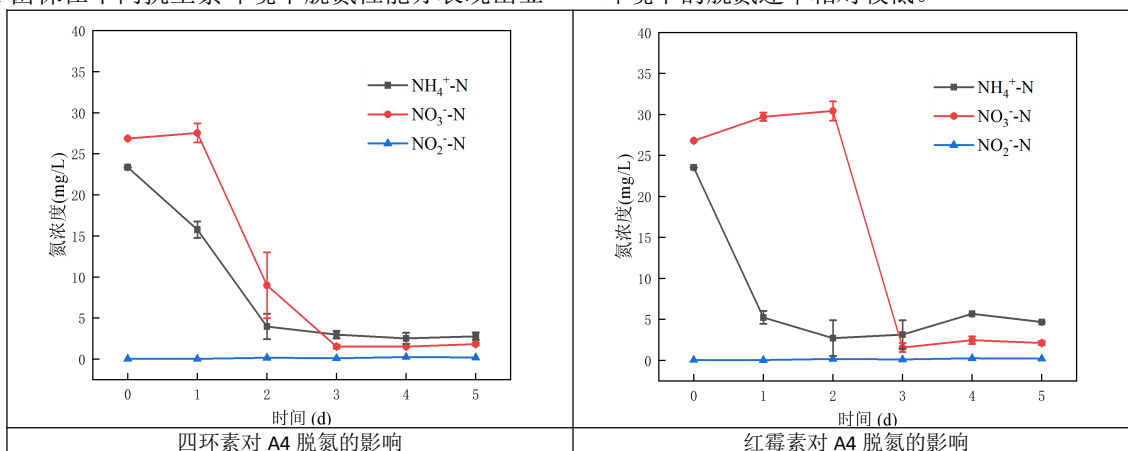


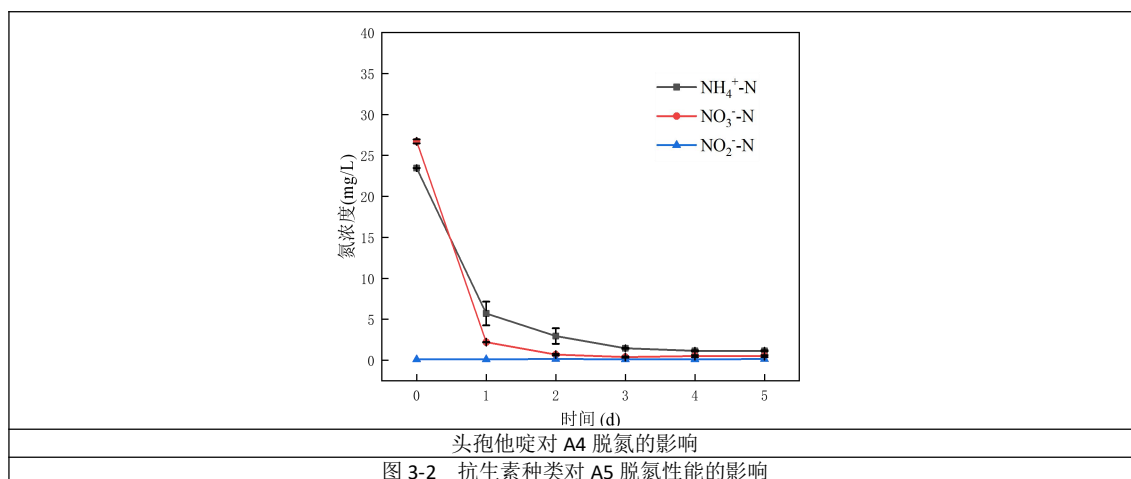
图 3-1 抗生素种类对 A5 脱氮性能的影响

A4 在三种不同抗生素的影响下的脱氮效果如图 3-2 所示。结果显示，A4 菌株在含四环素的环境中脱氮的效果为 NH_4^+ -N 去除率 87.19%， NO_3^- -N 去除率为 94.33%；在含红霉素的环境中， NH_4^+ -N 去除率为 89.41%， NO_3^- -N 去除率为 93.5%；在含头孢他啶的环境中， NH_4^+ -N 去除率为 93.74%， NO_3^- -N 去除率为 98.53%。

A4 菌株在不同抗生素环境下脱氮性能亦表现出显

著差异，尤其在头孢他啶环境中效果最佳， NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 去除率均超过 90%，显示出其对头孢他啶环境的强适应性。四环素和红霉素环境下脱氮效果相对较弱，可能与抗生素对菌株生长和代谢的抑制作用有关。此外，A4 菌株在头孢他啶环境中的快速脱氮能力，提示其在实际污水处理中具有潜在应用价值。但在四环素和红霉素环境下的脱氮速率相对较低。

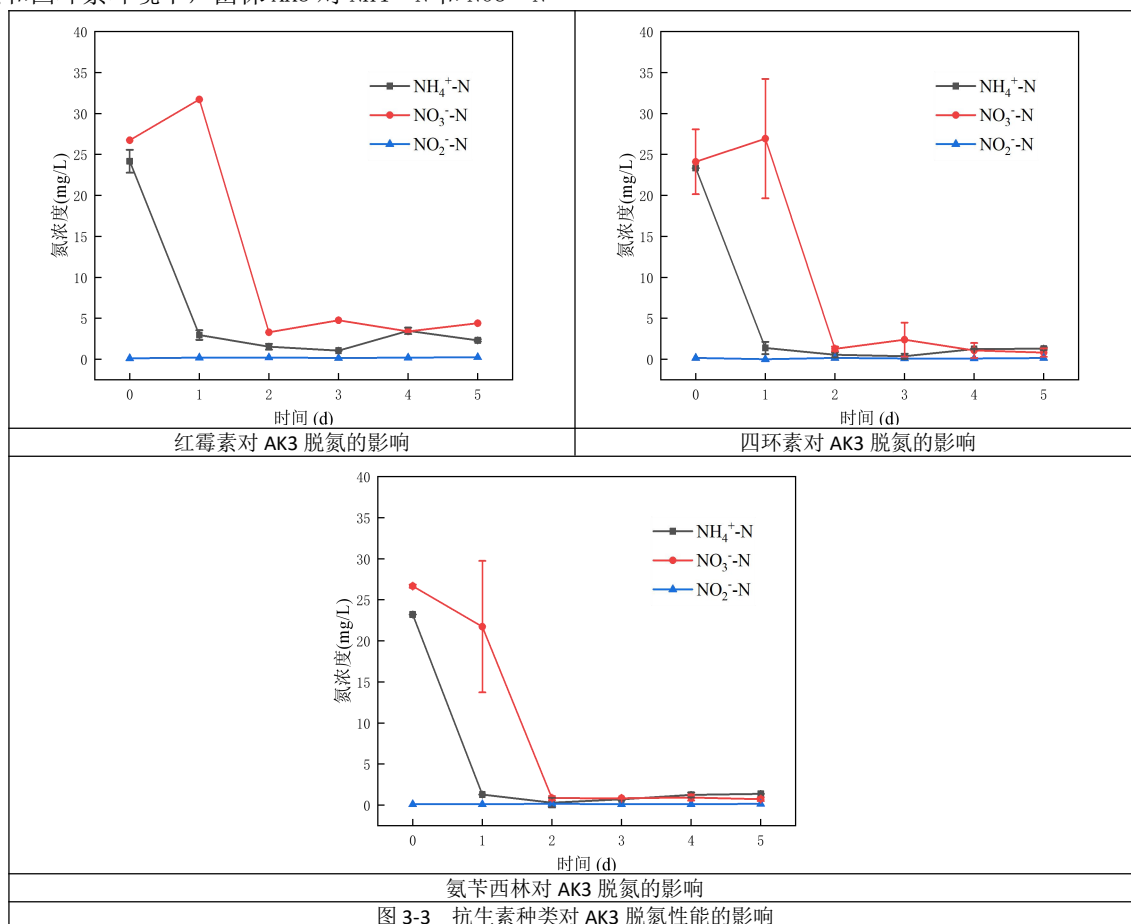




AK3 在三种不同抗生素的影响下的脱氮效果如图 3-3 所示。结果显示, AK3 菌株在含红霉素的环境中脱氮的效果为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率 91.73%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率为 94.35%; 在含四环素的环境中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率为 95.92%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率为 94.41%; 在含氨苄西林的环境中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率为 95.68%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率为 96.99%。

菌株 AK3 在三种不同抗生素的环境下表现出相对一致的脱氮效果, 尤其在氨苄西林环境中表现出的脱氮效果最佳, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率均超过了 95%。在红霉素和四环素环境中, 菌株 AK3 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$

的去除趋势相对一致。在培养的初始阶段, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度下降较快, 但随着硝化作用的进行, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度逐渐上升, 随着 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度即将被耗尽, 反硝化作用开始变得显著, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度随后下降, 之后趋于稳定。在氨苄西林的环境中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在第一天迅速下降至较低水平, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度有所下降, 在第三天 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度均达到最低点。这一结果表明, AK3 菌株在三种不同抗生素环境下均表现出较强的脱氮能力, 显示出其对多种抗生素环境的适应性。



N2 在三种不同抗生素的影响下的脱氮效果如图 3-4 所示。结果显示, N2 菌株在含青霉素的环境中脱氮的效

果为 NH_4^+-N 去除率 94.73%, NO_3--N 去除率为 98.09%; 在含氨苄西林的环境中, NH_4^+-N 去除率为 93.54%, NO_3--N 去除率为 97.13%; 在含红霉素的环境中, NH_4^+-N 去除率为 95.45%, NO_3--N 去除率为 92.75%。

N2 菌株在青霉素和氨苄西林环境中脱氮效果显著, NH_4^+-N 和 NO_3--N 去除率均在 95% 左右。在红霉素环境中, N2 菌株适应期明显提升, NH_4^+-N 浓度在第三天降

低至较低水平, 在 NH_4^+-N 基本被消耗完后, NO_3--N 浓度迅速下降至较低水平, 前三天 NO_3--N 浓度一直保持在初始水平。N2 菌株在三种不同抗生素环境下均展现出高效脱氮能力, 但其适应性和脱氮效率在不同抗生素中有所差异, 尤其在红霉素环境中表现出更长的适应期, 这一特性为实际应用中优化菌株提供了重要参考。

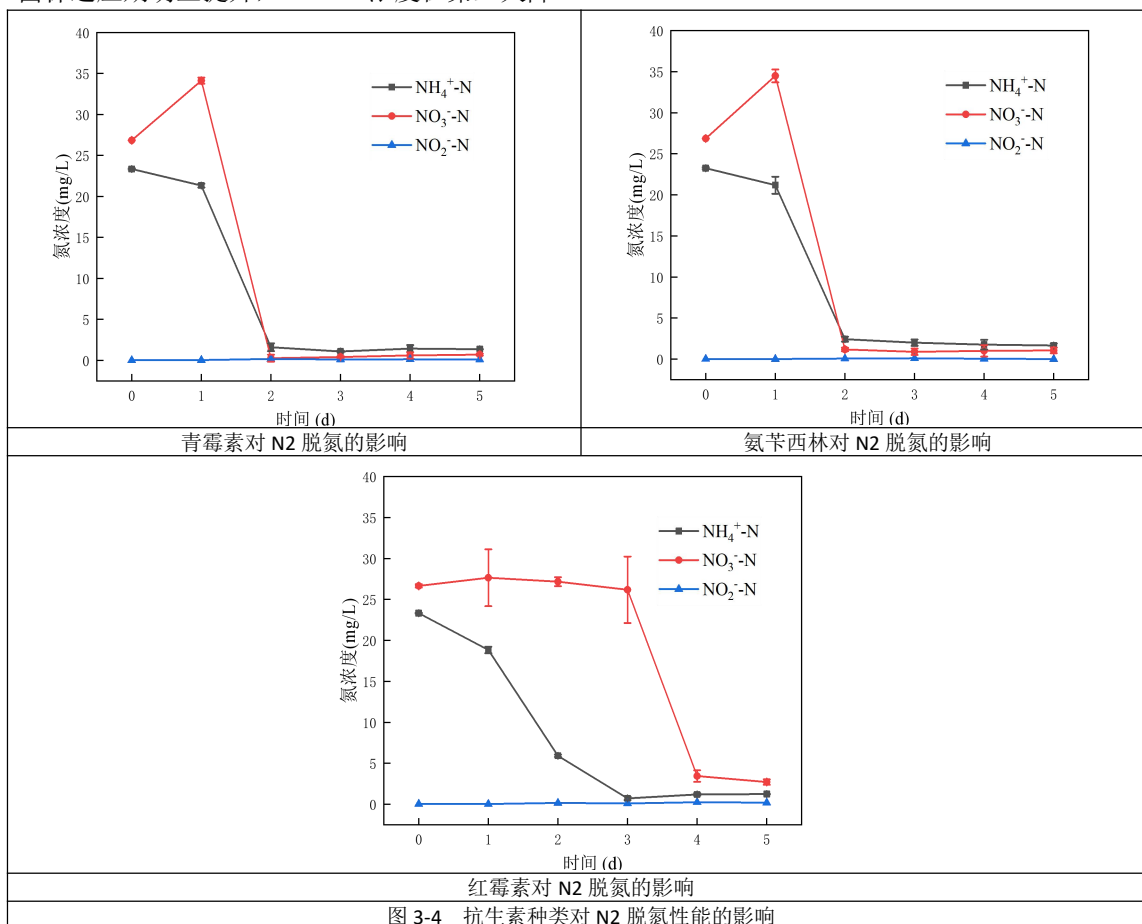


图 3-4 抗生素种类对 N2 脱氮性能的影响

在加入抗生素的脱氮效能研究中, NO_3--N 的去除速率往往比 NH_4^+-N 的去除速率要慢, 这说明在抗生素的胁迫下与硝化过程相比, 反硝化过程更容易受到抗生素的影响。

3 结论

通过实验研究了不同抗生素环境下菌株的脱氮性能, 重点探讨了单一抗生素、混合抗生素以及混合菌株在不同抗生素条件下的脱氮效果。主要结论如下: 单一抗生素对菌株脱氮性能的影响: 不同菌株在不同抗生素环境中的脱氮效果存在显著差异。A5 菌株在头孢他啶环境中表现出最佳的脱氮效果, NH_4^+-N 和 NO_3--N 去除率均超过 90%。A4 菌株在头孢他啶环境中的脱氮效果也较为显著, NH_4^+-N 去除率达到 93.74%, NO_3--N 去除率达

到 98.53%。AK3 菌株在氨苄西林环境中表现出最强的脱氮能力, NH_4^+-N 和 NO_3--N 去除率均超过 95%。N2 菌株在青霉素和氨苄西林环境中脱氮效果显著, NH_4^+-N 和 NO_3--N 去除率均在 95% 左右。

参考文献

- [1] 周瑜桥, 高胜普, 贺泽, 等. 耐药基因在食品链中的传播及风险管控[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 410-416
- [2] 王钰楷. 一体式厌氧氨氧化工艺处理金霉素制药废水的研究[D]. 北京交通大学, 2014.
- [3] 张海涛. 抗生素使用与抗生素抗性传播研究[J]. 中国畜牧业, 2025, (02): 63-64.