武 哲,曾湘楚,王子儒,等.均相 Cu 基类 Fenton 氧化杀灭废水中耐环丙沙星沙雷氏菌的效能与分子机制 [J]. 中国环境科学, 2025,45(11):6366-6378.
Wu Z, Zeng X C, Wang Z R, et al. Efficacy and molecular mechanism of inactivating ciprofloxacin-resistant *Serratia marcescens* in wastewater using homogeneous Cu-based Fenton-like oxidation [J]. China Environmental Science, 2025,45(11):6366-6378.

均相 Cu 基类 Fenton 氧化杀灭废水中耐环丙沙星沙雷氏菌的效能与分子机制

武 哲[1],曾湘楚[1*],王子儒[3],梁金英[1],莫雪婷[1],刘 牧[2],张永欣[2],覃 玥[1**] (1.河池学院化学与生物工程学院,广西蚕桑生态学与智能化技术应用重点实验室,广西 河池 546300；2.陕西邦希化工有限公司,陕西 西安 710000；3.广东亚标生物材料有限公司南宁分公司,广西 南宁 530000)

摘要：以环丙沙星(CIP)为典型抗生素,在养殖废水三级氧化塘内筛选分离出耐环丙沙星沙雷氏菌(CRSM).通过三代测序平台对 CRSM 进行菌种鉴定及抗性基因分析.灭活率实验测定 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系产生的 Cu(Ⅲ)和•OH 对水中 CRSM 细胞及基因的杀灭性能.结合平板涂布、扫描电镜、透射电镜、三维荧光观测处理前后 CRSM 的菌落数、表面结构、内部结构及胞内外物质浓度阐明均相 Cu 基类 Fenton 氧化体系中高活性氧化物对 CRSM 的杀灭效果与分子机制.结果表明,Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中,CRSM 的杀灭效率尤为突出,相较于 PMS+CIP+CRSM 体系提高了约 8 倍,菌株存活数量从 3.2×10^7CFU/mL 降至 1.5×10^2CFU/mL.在 10min 内对 CRSM 的灭活效率约为 97%,并且在处理 30min 后灭活效率可超过 99.99%.Cu(Ⅲ)和•OH 通过破坏 CRSM 的细胞膜和细胞壁、损伤 DNA 碱基(T、A、C 和 G)、抑制抗性基因(包括细胞内和细胞外抗性基因)以及降解总 DNA(包括细胞内和细胞外 DNA)来实现其灭菌效果.

关键词：类 Fenton 氧化；环丙沙星；沙雷氏菌；三价铜；过氧单硫酸盐
中图分类号：X703,O611.2,O614.12 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)11-6366-13

Efficacy and molecular mechanism of inactivating ciprofloxacin-resistant *Serratia marcescens* in wastewater using homogeneous Cu-based Fenton-like oxidation. WU Zhe[1], ZENG Xiang-chu[1*], WANG Zi-ru[3], LIANG Jin-ying[1], MO Xue-ting[1], LIU Mu[2], ZHANG Yong-xin[2], QIN Yue[1**] (1.Guangxi Key Laboratory of Sericulture Ecology and Applied Intelligent Technology, School of Chemistry and Bioengineering, Hechi University, Hechi 546300, China；2.Shaanxi Bangxi Chemical Co., Ltd., Xi'an 710000, China；3.Guangdong Asian Standard Biomaterials Co., Ltd. Nanning Branch, Nanning 530000, China). *China Environmental Science*, 2025,45(11)：6366~6378

Abstract：Using ciprofloxacin (CIP) as a representative antibiotic, ciprofloxacin-resistant Serratia marcescens (CRSM) strains were isolated and characterized from the tertiary oxidation pond of an aquaculture wastewater treatment facility. The CRSM strains were systematically identified at the species level, and their resistance genes were comprehensively characterized using a third-generation sequencing platform. The inactivation efficiency was evaluated by examining the efficacy of Cu(III) and hydroxyl radicals (•OH) generated by a Cu complex-activated PMS-based Fenton-like oxidation system on CRSM cells and genetic material in aqueous environments. The cytotoxic effects and molecular mechanisms of highly reactive oxidants in the homogeneous Cu-based Fenton-like oxidation system on CRSM were systematically investigated through a comprehensive analysis employing plate coating, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, and three-dimensional fluorescence spectroscopy. The results indicated that in the Cu(II)+PMS+CIP+CRSM system, the bactericidal efficiency of CRSM was significantly enhanced, approximately 8-fold higher than that of the PMS+CIP+CRSM system. Specifically, the concentration of surviving bacteria decreased from 3.2×10^7CFU/mL to 1.5×10^2CFU/mL. The inactivation efficiency of CRSM reached approximately 97% within the initial 10-minutes, and exceeded 99.99% after a 30-minute treatment. Cu(III) and •OH achieved sterilization by compromising the integrity of CRSM cell membrane and cell wall, inducing damage to DNA bases (T, A, C, and G), inhibiting both intracellular and extracellular resistance genes, and degrading total DNA (both intracellular and extracellular).

Key words：Fenton-like oxidation；ciprofloxacin；*Serratia marcescens*；Cu(Ⅲ)；peroxymonosulfate

---

收稿日期：2025-05-12
基金项目：广西蚕桑生态学与智能化技术应用重点实验室运行补助项目(23-026-08);广西自然科学基金(2025GXNSFBA069527);广西人力资源与社会保障厅青苗人才普惠性支持政策;中国博士后科学基金(2024M751271);河池市本级财政科技计划项目(河科 AC231107)
* 责任作者, 副研究员, xiangchuzeng@163.com; ** 教授, qinyue1161@163.com

氟喹诺酮类抗生素作为常用的兽用饲料添加剂之一,已成为一种持久性水环境污染物[1].然而,比水体单一抗生素污染更严峻的是其介导的耐药细菌(ARB)和抗性基因(ARGs)污染问题[2].抗生素−耐药细菌基因共污染现象在养殖、医疗、制药等行业废水中已非常普遍[3].前期研究发现,养殖废水中四环素和耐四环素伤寒沙门氏杆菌的共污染现象[4].此外,养殖废水中还含有大量饲料中未被吸收而排出的无机盐离子[5].这些无机盐离子与有机抗生素长期接触会形成具有明显配位结构的饱和或(和)不饱和重金属络合物(HMCs)[6-7].吸附、沉淀、絮凝等传统工艺均无法有效去除这些重金属络合物[8-10].因此,HMCs 的形成以及 ARB、ARGs 的衍生成为养殖废水深度处理的难点与痛点[11-12].

基于过硫酸盐的类 Fenton 氧化体系能产生各种游离态活性氧化物(ROS)可有效氧化降解废水中的各种抗生素[13].此外,过硫酸盐基类 Fenton 氧化作为一种高效的水体消毒方法减轻细菌耐药风险已被不断证实.大豆秸秆生物炭/过硫酸盐体系可产生表面结合自由基及游离 $SO_4^{\bullet-}$,实现水中四环素的氧化降解及耐药大肠杆菌的杀灭[14].纳米零价铁/过硫酸盐体系产生的•OH 在 5min 内可全部杀灭水中耐药细菌(2×10^8CFU/mL)并且对抗性基因 *sul1*、*intI1* 的去除率达到 98.95、99.64%[15].硫化纳米零价铁/过氧单硫酸盐(PMS)体系能有效杀灭大肠杆菌 DH5α 和假单胞菌,15min 内对细胞内抗性基因 *sul1*、*intI1*、*tetA* 的去除效果达到 1.52、1.79、1.56log,并能有效抑制抗性基因的水平转移[16].然而,这类自由基主导的类 Fenton 氧化在实际水体中易被共存的有机质和无机盐离子消耗,极大影响耐药细菌基因的杀灭效率[17].因此,选择性杀灭目标耐药细菌将是一种理想的途径[18].

高价金属氧(HVMO)具有超高的氧化还原电位(>1.95V)、更长的寿命、更高的稳态浓度、对富电子型抗生素高选择性等优点[19].Co(IV)=O、Cu(Ⅲ)= O 对水体多种抗生素及共存的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌接近 100%的去除,且稳定性和通用性高,不受 pH、PMS 浓度、阴离子及天然有机质的影响[20]. HVMO 同样会攻击耐药细菌细胞膜中富含电子的组分(氨基酸、单糖等)、破坏细胞的防御系统,并导致耐药细菌的杀灭及胞内外遗传物质(碱基对、DNA 等)的破坏[21-22].通过单菌基因完成图及处理前后 ARGs 的丰度对比,识别其转移风险并阐明其杀灭的分子机制,是本文首要解决的关键科学问题.

均相 Cu 基(类)Fenton 氧化体系在抗生素降解及耐药细菌的杀灭中也有广泛的研究和应用[23-25].前期研究中发现 Cu^{2+}与水体共存的四环素、左氧氟沙星形成 Cu 络合物,在中性、偏碱性条件下活化 PMS 形成高价态 Cu(Ⅲ)络合物的分子内电子转移过程能实现抗生素及耐药细菌的靶向−协同净化[4,26-27].因此,养殖废水中固有 Cu 络合物在弱碱性条件下活化 PMS 的均相类 Fenton 氧化体系杀灭水中耐药细菌基因具有潜在的理论指导和应用价值.基于前期研究基础和成果[26],本文研究内容主要包括如下四方面:(1)以环丙沙星(CIP)为典型抗生素,在养殖废水三级氧化塘内筛选分离出耐环丙沙星沙雷氏菌(CRSM);(2)以养殖废水中固有微量 Cu(II)为催化剂活化 PMS 实现 CRSM 的原位杀灭,通过灭活率实验测定 Cu(II)−CIP−CRSM 三元水污染体系中 Cu 络合物活化 PMS 产生的高活性氧化物对 CRSM 的灭活效果;(3)结合平板涂布、扫描电镜、透射电镜、三维荧光观测处理前后 CRSM 的菌落数、表面结构、内部结构及胞内外物质浓度阐明类 Fenton 体系中高活性氧化物对 CRSM 的杀灭效果与分子机制;(4)测定 CRSM 的单菌基因组完成图辨别其抗性基因并通过实时定量基因扩增荧光检测系统(q−PCR)鉴定处理前后 CRSM 中抗性基因的活性,对处理后的 CRSM 进行再生性评估,以确定体系中高活性氧化物对 CRSM 抗性基因的杀灭作用及转移风险.本文为均相 Cu 基类 Fenton 氧化杀灭水中耐药细菌基因提供新的机制见解、理论基础及应用潜力.

1　实验部分

1.1　试剂与仪器

环丙沙星($C_{17}H_{18}FN_3O_3$,RHAWN 试剂);8211GR500 琼脂粉(BioFroxx 试剂);LB 肉汤(湖南比克曼控股有限公司);五水合硫酸铜($CuSO_4\cdot5H_2O$,天津市天力化学试剂有限公司);过氧单硫酸盐($KHSO_5\cdot0.5KHSO_4\cdot0.5K_2SO_4$)、甲醇(MeOH)、叔丁醇(*t*−BuOH)、氯仿($CHCl_3$)、呋喃甲醇(FFA)、高碘酸钠,上海麦克林生化科技股份有限公司;5,5−二甲

基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO)、2,2,6,6-四甲基-4-哌啶酮(TEMP),成都西亚化工股份有限公司.无菌水(取娃哈哈纯净水经高温灭菌得到);Biospin 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(杭州博日科技有限公司);2 倍 Phanta®Max 预混液(诺唯赞);琼脂糖(Invitrogen 试剂);超纯水、5 倍 TBE 缓冲液、6 倍甘油 DNA 装载缓冲液(南宁国拓生物科技有限公司).所有试剂均为分析纯.

ZHJH-C1209B 型超净工作台、LRH 型恒温培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司);SF-TGL-18R 型冷冻离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司);BCD-261WTGPM 型冷冻冰箱(合肥美的有限公司);G1000 型基因扩增仪(博日科技);5200Multi 型全自动化学发光/荧光图像分析系统(上海天能);DYY-8C 型电泳电源、DYCP-31DN 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);移液器(德国 Eppendorf);Hitachi Regulus8100 型扫描电镜(日本日立公司);FEI Tecnai F20 型透射电镜(美国 FEI 公司);SmartFluo-Pro 型三维荧光光谱仪(北京卓立汉光仪器有限公司).

1.2 耐环丙沙星细菌的筛选分离

1.2.1 水样采集 先将采集瓶用待取水样冲洗 2~3 次,距养殖废水三级氧化塘岸边 1~2m 处将采集瓶浸入水面下 20~50cm 处采样.

1.2.2 培养基配制 本实验所用培养基主要为 LB 培养基,其配制方法如下:胰蛋白胨 10.0g、酵母提取物 5.0g、NaCl 10.0g、琼脂粉 20.0g 加去离子水定容至 1000mL,用 5mol/L 的 NaOH 溶液调节溶液的 pH 至 7.0 后 121 ℃高压灭菌 20min.耐药细菌初筛所加的环丙沙星浓度为 10mg/L.

1.2.3 实验操作 配制 1000mL 的 LB 培养基,分装在 4 个 300mL 的锥形瓶中,121℃高压灭菌 20min.将灭过菌盛有 LB 培养基的锥形瓶放在超净工作台上,待冷却至 45℃左右时向每个培养基中添加 1mL 的环丙沙星溶液(5mg/L).倒入培养皿中,快速制作数个培养基平板(平板内 LB 培养基含量在 20mL 左右),在超净工作台内等待平板凝固后备用.

将提前准备好的水样品吸取 1mL 加入提前灭好菌的装有 9mL 无菌水的试管中,记为稀释 10^{-1}.振荡均匀后吸取 1mL 加入另一支装有 9mL 无菌水的试管中,记为稀释 10^{-2},以此类推直至稀释 10^{-6}.每个样品总共获得 6 个浓度梯度.分别吸取 10^{-3}~10^{-6} 浓度梯度的样品 100μL 至已晾干的 LB 培养基平板上,用已经过高温灭菌或灼烧冷却后的涂布棒均匀涂布后在工作台中等待干燥,放置于 32℃恒温培养箱中分别培养 1d.

1.2.4 耐药细菌分离纯化 挑选初筛时同一生长时间及温度下菌落形态、大小及颜色等方面较优的单菌落,挑选到 LB 培养基利用三区划线法进行扩大培养,以得到最终的单菌落.

1.3 细菌基因组完成图分析

细菌基因组完成图采用 PacBio 三代测序平台,一次性获得完整的细菌基因组图谱,实现没有 gap 和 N 碱基的组装,同时可以获得质粒基因组信息.DNA 提取及检测采用 SDS 或 STE 方法对样本的基因组 DNA 进行提取,然后用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和完整性,用 Qubit 进行定量.

经电泳检测合格的 DNA 样品用 Covaris 超声波破碎仪随机打断成长度约为 350bp 的片段.处理完成后的 DNA 片段,使用 NEBNext®Ultra™ DNA Library Prep KitforIllumina(NEB, USA)试剂盒,经末端修复、加 A 尾、加测序接头、纯化、PCR 扩增等步骤完成整个文库制备.文库构建完成后,先使用 Qubit 2.0 进行初步定量,稀释文库至 2ng/μL,随后使用 Agilent 2100 对文库的插入片段进行检测,insert size 符合预期后,使用 q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量,以保证文库质量.

采用 SMRT bell TM Template kit(version 1.0)试剂盒构建 10K SMRT Bell 文库.将经电泳检测合格的 DNA 样品用 Covaris g-TUBE 打断成构建文库所需大小的目的片段,经 DNA 损伤修复及末端补齐.使用 DNA 黏合酶将发卡型接头连接在 DNA 片段两端,并使用 AMpure PB 磁珠对 DNA 片段进行纯化,使用 BluePipin 片段筛选特定大小的片段,使用 AMpurePB 磁珠对 SMRT Bell 文库进行浓度筛选,随后修复 DNA 损伤,再次使用 AMpure PB 磁珠对 SMRT Bell 文库纯化.将构建好的文库经 Qubit 浓度定量,并利用 Agilent 2100 检测插入片段大小,最后用 PacBio 平台进行测序.

1.4 灭菌性能

通过在 CIP-CRSM 体系中加入 Cu(II)、PMS 或 Cu(II)+PMS,可有效实现 CRSM 及其抗性基因的杀

灭.采用平板计数法系统评估不同体系在各个时间点的微生物丰度,并利用 q-PCR 技术精确检测目标基因的表达变化.此外,还运用扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)以及三维荧光光谱技术,对细胞的外部形态及其内部结构的完整性进行系统的观察与分析.采用十二烷基硫酸钠法或 STE 缓冲液法提取基因组 DNA,并通过琼脂糖凝胶电泳评估其纯度与完整性.随后,利用 Qubit 荧光计对提取的 DNA 进行精确定量.

2　结果与讨论

2.1　菌种鉴定

使用 Prokka 预测的所有 16s 序列结果与 SILVA-16S 数据库进行 blastn 得到结果.同时,使用物种分类号(默认:16s 物种分类)从 NCBI 上下载同分类号的基因组序列.将组装好的序列与下载的基因组进行 ANI(average nucleotide identity)、AAI(amino acid identity)和 TETRA(tetra-nucleotide signature)比较,以确定组装出来的基因组物种归属.ANI 和 TETRA 是通过 pyani 得到的,AAI 是通过 CompareM 得到的[28].如表 1 所示,筛选分离得到的耐药细菌为沙雷氏菌(*Serratia marcescens*).

其中:max-AAI-score 为 AAI 结果最大的菌株名占比、max-TETRA-score 为 TETRA 结果最大的菌株名占比、max-ANI-score 为 ANI 结果最大的菌株名占比、ANI check 为与 16s 结果是否一致.

表 1　16S rRNA 基因测序的物种鉴定信息

Table 1　16S rRNA gene sequencing for species identification

16s 序列	16s 起始点(bp)	16s 结束点(bp)		物种名	NCBI 物种分类号
CP02798	4813570	4815120			
max-AAI-score (%)	max-TETRA-score (%)	max-ANI-score (%)	ANI check	*Serratia marcescens*	615
99.39	99.99	99.08	true		

2.2　抗性基因分析

综合抗生素耐药性数据库(CARD)是当前应用最为广泛的抗性基因数据库之一,现已收录了大约 4000 种抗性基因.利用 CARD 数据库作为参考数据库,对细菌的 ARGs 进行注释,并确定基因组中存在的抗性基因.如图 1(a)所示,CRSM 主要的免疫药物类别包括:氟喹诺酮类抗生素(145 例,占比 28.8%)、大环内酯类抗生素(106 例,占比 21%)、肽类抗生素(51 例,占比 10.1%)、氨基糖苷类抗生素(50 例,占比 9.9%)、四环素类抗生素(49 例,占比 9.7%)、碳青霉烯类抗生素(39 例,占比 7.7%)、磷酸酯类抗生素(20 例,占比 4%)、糖肽类抗生素(18 例,占比 3.6%)、氯霉素类抗生素(14 例,占比 2.8%)、头孢菌素类抗生素(12 例,占比 2.4%)等.如图 1(b)所示,沙雷氏菌耐药机制主要包括以下几种:抗生素外排泵机制(387 例,占比 65%)、抗生素失活酶作用(77 例,占比 13%)、靶点结构改变作用(109 例,占比 18%)、靶点保护机制(14 例,占比 2%)、细胞膜通透性降低效应(11 例,占比 2%)等.此外,抗微生物抗性基因家族主要包括以下几类:主要促进剂超家族抗生素外排泵(126 个)、抗性结节细胞分裂抗生素外排泵(149 个)、ATP 结合盒式抗生素外排泵(123 个)、NmcA β-内酰胺酶(31 个)以及 pmr 磷酸乙醇胺转移酶(20 个),具体如图 1(c)所示.根据最佳匹配抗生素抗性本体所识别的主要抗性基因如图 1(d)所示,包括 *AbaF*、*adeL*、*bacA*、*macB*、*RanA*、*tetA* 等.

通过运用 GO(Gene Ontology)数据库注释,系统定义和描述基因及蛋白质的功能特性,涵盖:1)细胞学组件(Cellular Component),描述亚细胞结构、位置和大分子复合物,如核仁、端粒和识别起始的复合物等;2)分子功能(Molecular Function),描述基因、基因产物个体的功能,如与碳水化合物结合或 ATP 水解酶活性等;3)生物学途径(Biological Process),描述分子功能的有序组合,达成更广的生物功能,如有丝分裂或嘌呤代谢等[30],具体如图 2(a)所示.KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库注释用于分析细菌代谢途径,包括细胞过程(Cellular Processes)、环境信息处理(Environmental Information Processing)、遗传信息处理(Genetic Information Processing)、人类疾病(Human Diseases)、新陈代谢(Metabolism)和生物体系统(Organismal System)[31],具体信息如图 2(b)所示.

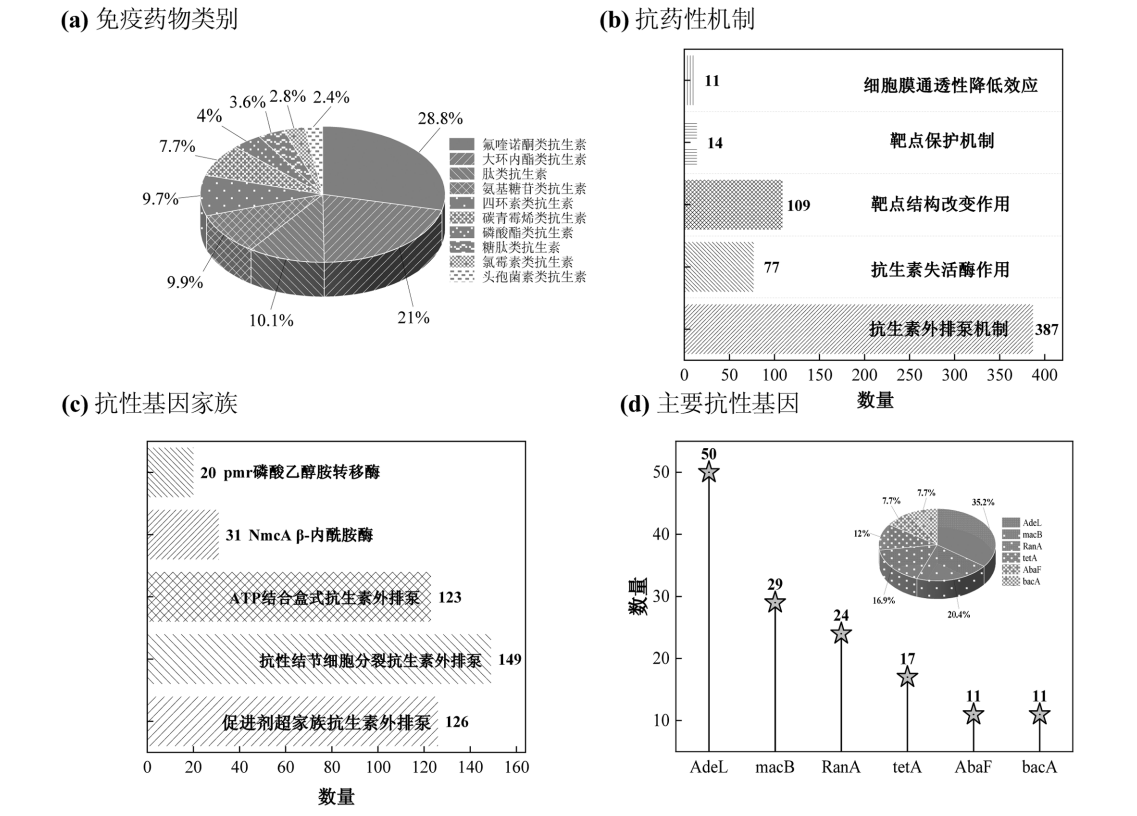


图 1 抗性基因分析

Fig.1 Analysis of resistance genes

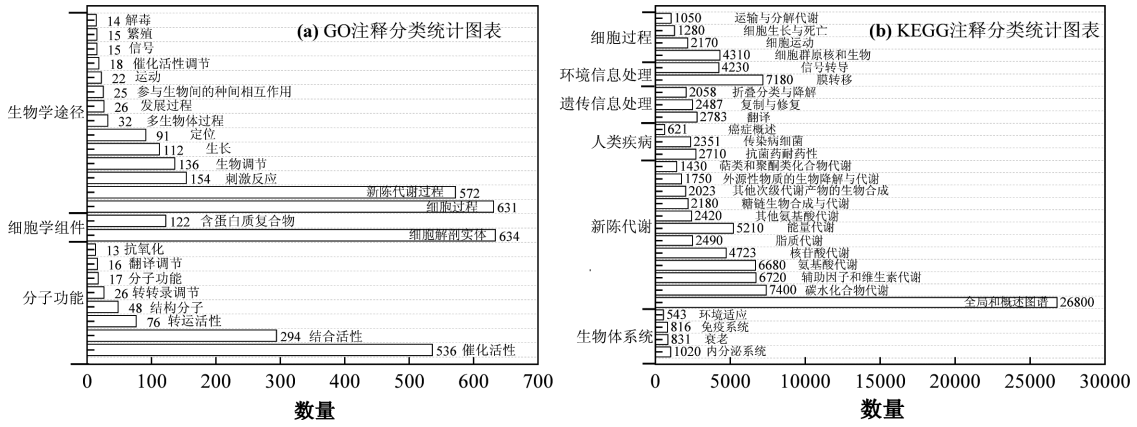


图 2 GO 注释分类统计图表与 KEGG 通路分类统计图表

Fig.2 GO annotation categorical statistics chart and statistical diagram of KEGG pathway classification

CAZy(Carbohydrate-active en-zymes)是一个专注于碳水化合物酶的专业数据库,系统收录了催化碳水化合物降解、修饰及生物合成的多个酶家族.涵盖了糖苷水解酶(GH)、糖基转移酶(GT)、多糖裂解酶(PL)、碳水化合物酯酶(CE)、辅助活性酶(AA)以及与碳水化合物发生结合作用的模块(CBM)等重要类别[32],具体如图 3(a)所示.国际生物化学与分子生物学联盟批准的转运蛋白分类系统(TCDB)被用于识别膜转运蛋白和离子通道,包括初级主动转运蛋白(Primary Active Transports)、电化学势能驱动的转运蛋白(Electrochemical Potential Driven Transporters)、通道或孔道(Channels or Pores)、未完全表征的转运系统(Incompletely Characterized Transport Systems)、群移位酶(Group Translocators)、跨膜电子载体(Transmembrance Electron Garriers)、参与运输的辅助因子(Accessory Factors Involved in

Transport)等[33],具体如图 3(b)所示.NR 数据库(Non-Redundant Protein Sequence Database)物种注释统计结果进一步证实了耐药细菌为沙雷氏菌,具体如图 3(c)所示.利用 Prokka 获得的细菌基因组蛋白质预测信息、功能注释信息(包括正负链、编码序列和 RNA 类型等信息)、数据库注释结果以及 GC 含量(鸟嘌呤和胞嘧啶的比例)和 GC 偏斜(G−C 的差异)的统计结果构建 Circos 环形图[34],具体如图 3(d)所示.

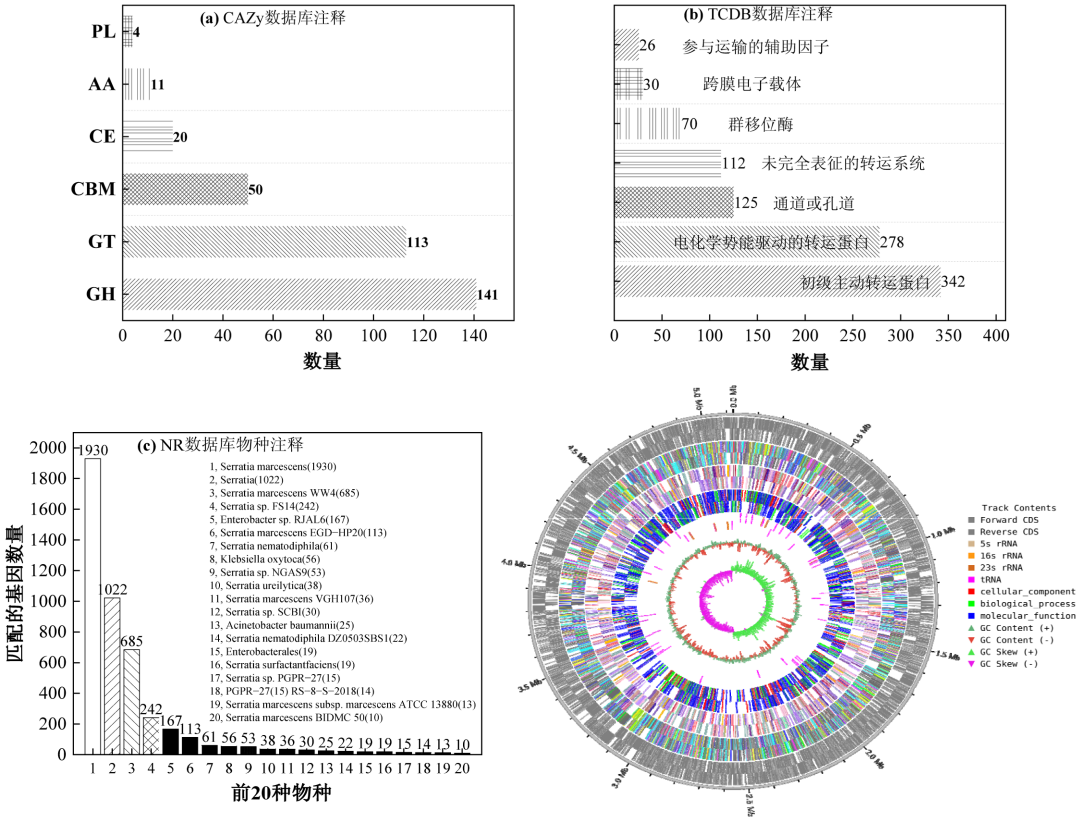


图 3　CAZy 数据库、TCDB 转运蛋白分类、NR 数据库物种注释统计图表及环形基因组周期

Fig.3　Statistical diagram of CAZy database annotation, TCDB transporter annotation classification and NR database species annotation, and the circos genomic cycle

2.3　耐药细菌杀灭性能

前期的研究发现,Cu(II)−CIP 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系产生的 Cu(Ⅲ)和•OH 在 CIP 的降解中起到主要和次要的作用[26].在此基础上,本文继续测定了 4 种体系(CIP+CRSM、Cu(II)+CIP+ CRSM、PMS+CIP+CRSM、Cu(II)+PMS+CIP+ CRSM)中 CRSM 的杀灭效率.如图 4(a)所示,在 CIP 溶液环境中(CIP+CRSM 体系),CRSM 表现出优异的生长与繁殖性能(3.2×10^7CFU/mL).而且 Cu(II)的添加(Cu(II)+CIP+CRSM 体系)对 CRSM 的影响也甚微(2.6×10^7CFU/mL).PMS 作为消毒剂对 CRSM 表现出显著的灭活效果(PMS+CIP+CRSM 体系),使其浓度降低至 1.2×10^5CFU/mL.此外,在 Cu(II)+ PMS+CIP+CRSM 体系中,CRSM 的杀灭效率尤为突出,相较于 PMS+CIP+CRSM 体系提高了约 8 倍,菌株存活数量降至 1.5×10^2CFU/mL.这表明在 Cu 络合物活化 PMS 的类 Fenton 氧化体系中,CRSM 的杀灭存在明显的自强化效应.图 5 和图 6 分别为 Cu(II)和 PMS 加入量对 CRSM 在 Cu(II)+CIP+CRSM 体系及 PMS+CIP+CRSM 体系中生长的影响.在较宽的浓度范围内:Cu(II)浓度为 1.0,1.5,2.0,3.0,5.0,10.0mg/L,PMS 浓度为 0.5,1.0, 1.5,2.0,2.5,3.0mg/L,两种物质的加入均表现出轻微的影响.溶液中的 Cu(II)可能与 CRSM 细胞的磷脂、脂质和蛋白质结合形成 Cu 络合物,浓度过高也会导致细胞脱水.然而,这种反应并不足以完全破坏细胞的磷脂双分子层并导致其死亡,因为 CRSM 细胞具备高效的自我

保护机制[35].如图 4(b)所示,PMS 剂量对 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系的影响表明,当 PMS 用量超过 1mg 时,该体系表现出显著的灭菌效果.此外,图 4(c)为 Cu(II)+PMS+ CIP+CRSM 体系中,CRSM 在 60min 内的灭活动力学.Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系在 5min 内即可反应,在 10min 内对 CRSM 的灭活率约为 97%,并且在处理 30min 后灭活率可超过 99.99%.

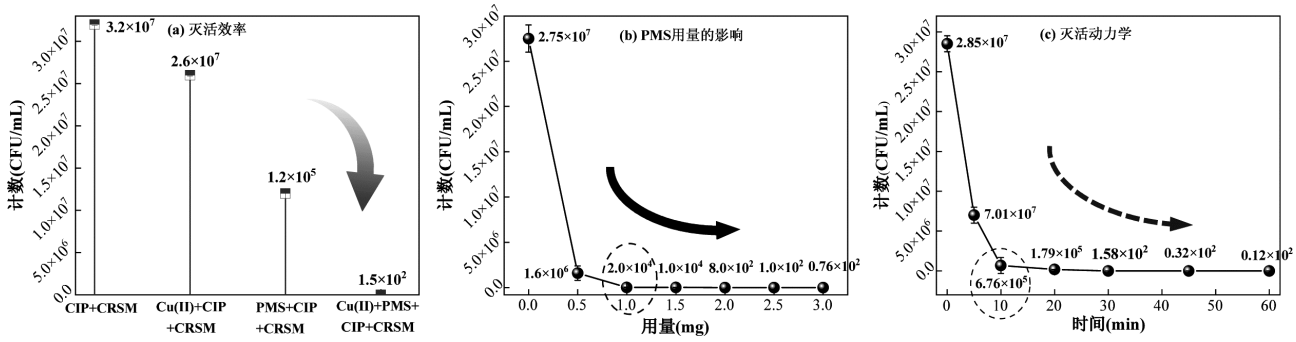


图 4 CRSM 的杀灭效率

Fig.4 Efficiency of CRSM inactivation

$C_{Cu(II)}$ = 1mg/L, C_{CIP} = 10mg/L, $V_{Cu(II)}$:V_{CIP} = 1:1, m_{PMS} = 0−3.0mg, V = 50mL, t = 0−60min

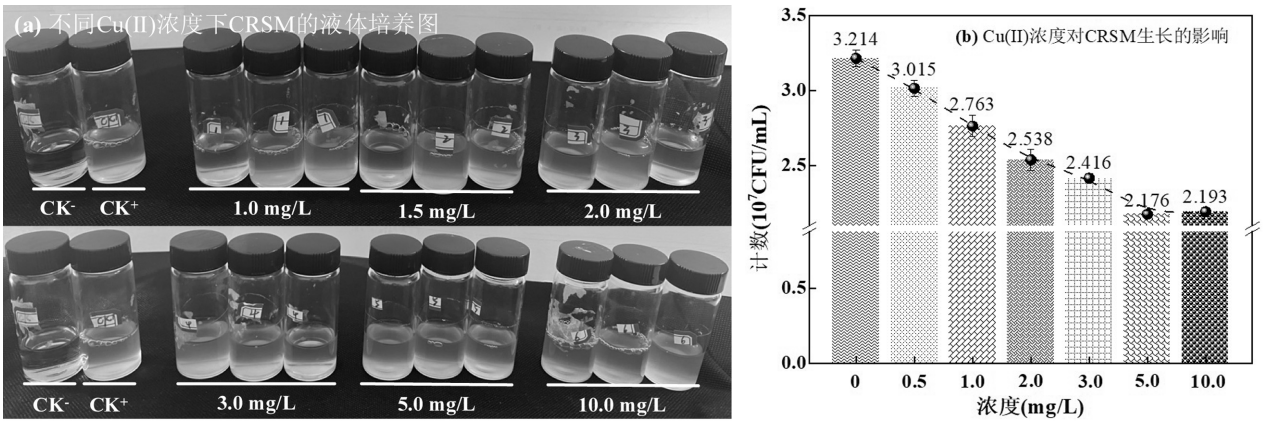


图 5 Cu(II)浓度对 Cu(II)+CIP+CRSM 体系中 CRSM 生长的影响

Fig.5 Effect of Cu(II) concentration on CRSM growth in Cu(II)+CIP+CRSM system

CK^-:仅 CIP,CK^+:CIP+CRSM,$C_{Cu(II)}$=0,0.5,1.0,1.5,2.0,3.0,5.0,10.0mg/L,C_{CIP} = 10mg/L,t = 30min

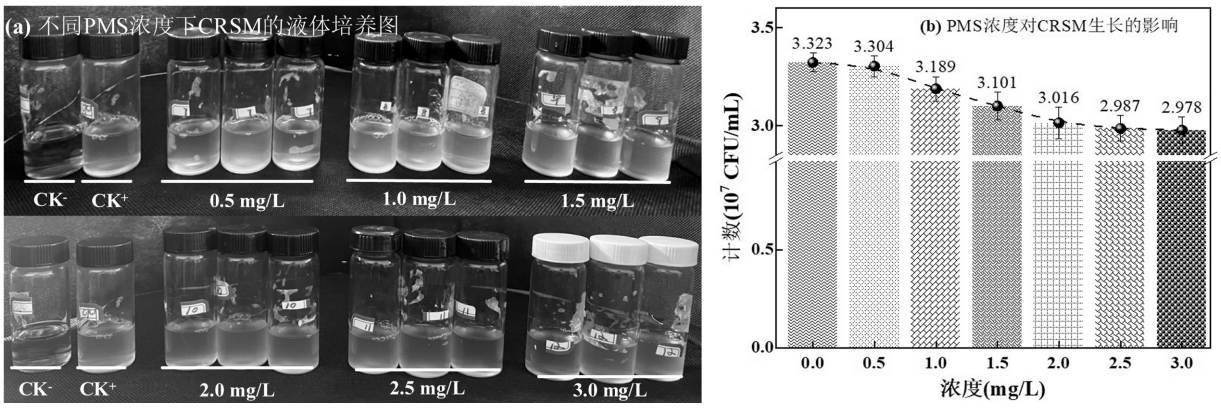


图 6 PMS 浓度对 PMS+CIP+CRSM 体系中 CRSM 生长的影响

Fig.6 Effect of PMS concentration on CRSM growth in PMS+CIP+CRSM system

CK^-:仅 CIP,CK^+:CIP+CRSM,C_{PMS} = 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0mg/L,C_{CIP} = 10mg/L,t = 30min

处理前后的有效 CRSM 平板计数、扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)及三维荧光照片如图 7 所示.在 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中,图 7(d−1)明显显示了 CRSM 的彻底杀灭.此外,图 7(d−2)和(d−3)中的 SEM 和 TEM 照片进一步证实了类 Fenton 氧化体系导致细胞破裂的现象.这些结果表明,在 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中,CRSM 显著的失活,主要机制为破坏其细胞膜和细胞壁结构,最终导致细胞破碎及胞内有机物(IOM)的释放[36].为了进一步验证 IOM 的释放情况,展示了 4 个体系中 CRSM 的三维荧光光谱特性.图 7(a−4)清晰地展示了细胞结构,其中暗色的IOM和亮色的胞外有机质(EOM)尤为显著.在图 7(b−4)所示的 Cu(II)+CIP+CRSM 体系中,IOM 的释放是由于溶液中 Cu(II)的添加导致其从细胞膜渗出.而在图 7(c−4)所示的 PMS+CIP+CRSM 体系中,IOM 的释放则是由于细胞膜局部受损所致,这一现象与图 7(c−3)中的 TEM 照片相吻合.图 7(d−4)中大量 EOM 的出现以及细胞结构的消失进一步证实了 IOM 的释放,并表明 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中 CRSM 细胞膜遭受了完全破坏[37].

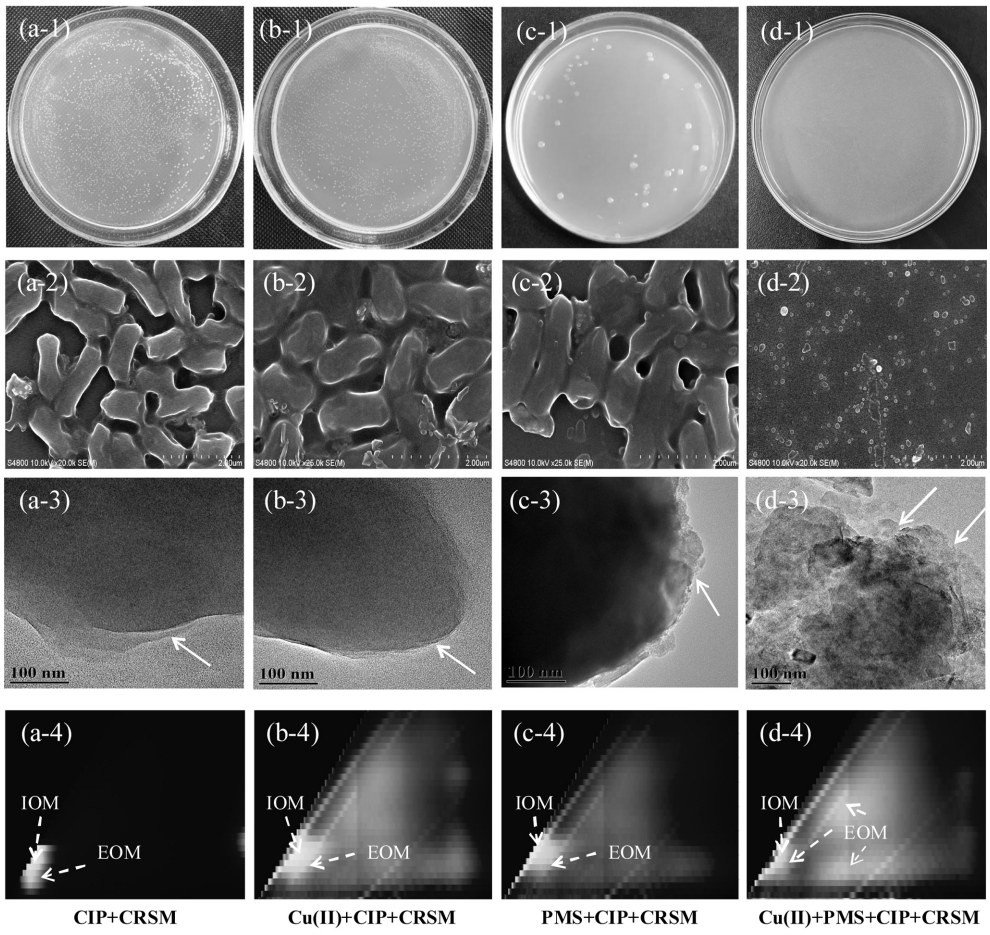


图 7　处理前后(T = 37 °C,牛肉浸膏蛋白胨培养基)CRSM 的活菌计数、扫描电子显微镜和透射电子显微镜图像以及三维荧光光谱

Fig.7　Count of viable CRSM, SEM and TEM images, and three−dimensional fluorescence spectra of the CRSM before and after processing (T = 37 °C, beef extract peptone medium)

2.4　抗性基因灭活性能

抗性基因(ARGs)主要由 DNA 碱基组成,包括鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)、腺嘌呤(A)和胞嘧啶(C).这些碱基在 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系诱导的抗性基因损伤过程中会发生特定的化学变化[38].对于细胞外抗性基因(eARGs)的传播,必须确保其彻底灭活,并采取措施防止抗性基因在灭活后的再生[39].如图 8(a)所示,在 CIP+CRSM 体系中引入 PMS(即 PMS+CIP+CRSM 体系)后,30min 内四种 DNA 碱基表现出轻微的灭活现象,具体表现为:T 约

为 9.1%,A 约为 4.3%,C 约为 10.6%,G 约为 9.4%.这一结果表明,PMS 作为氧化剂单独使用时具有一定的氧化能力.然而,实验结果显示,在加入 PMS 和 Cu(II)之后,灭活效果达到最优.此外,T、A、C 和 G 碱基的完全灭活分别在 10、30、5 和 5min 内实现.这一结果表明,Cu 络合物活化 PMS 的类 Fenton 氧化体系不仅对 CRSM 表现出优异的灭活效果,同时也能够有效灭活抗性基因中的 DNA 碱基.其中由于碱基胞嘧啶(C)和鸟嘌呤(G)的还原电位低于胸腺嘧啶(T)和腺嘌呤(A),因此它们更易发生氧化失活[40].

尽管已证实 DNA 基因完全失活,但处理前后细胞外 DNA(eDNA)的水平转移和环境风险仍需通过再生评估进一步分析[41].如图 8(b)所示,在 CIP+CRSM 体系中,耐药细菌平均再生浓度为 3.17×10^7CFU/mL.在 Cu(II)+CIP+CRSM 和 PMS+CIP+CRSM 体系中,耐药细菌浓度几乎没有变化,这表明添加 Cu(II)或 PMS 对 CRSM 的影响较小,尽管细胞膜受到了一定程度的损伤,但 eARGs 的活性仍然得以维持,从而保持了其再生能力和水平转移的风险[42].而在 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中,CRSM 未能实现再生,这表明 Cu 络合物活化 PMS 的类 Fenton 氧化体系能够使 CRSM 及其抗性基因失活.这一发现可能对去除实际水体中含耐药细菌和抗性基因的污染物具有重要意义.

鉴于染色体抗性基因能够通过转化和垂直传播途径扩散[43],本文选用从耐药菌株中提取的染色体 *kan*^{R} 基因作为模型抗性基因,对其降解性能进行了系统分析.此外,还对从 CRSM 中提取的完整 DNA 的降解情况进行了系统检测.在类 Fenton 氧化反应过程中,染色体上的 *kan*^{R} 基因以及 Cu 络合物活化 PMS 体系的定量是基于使用纯 *kan*^{R} 质粒构建的标准曲线计算得出的[44-45].如图 8(c)所示,在仅包含 PMS 的体系中,染色体上的 *kan*^{R} 基因表现出高度稳定性.在 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系中,染色体上的 *kan*^{R} 基因在 3min 内实现了完全降解(~8.5log).这一结果表明,该体系不仅能够有效降解 DNA 碱基,还能高效去除染色体中的抗性基因.此外,其降解动力学显著快于图 8(a)所示单个 DNA 碱基的降解速率.90s 内,CRSM 总 DNA(98.3ng/L)的 98.5%被有效降解.

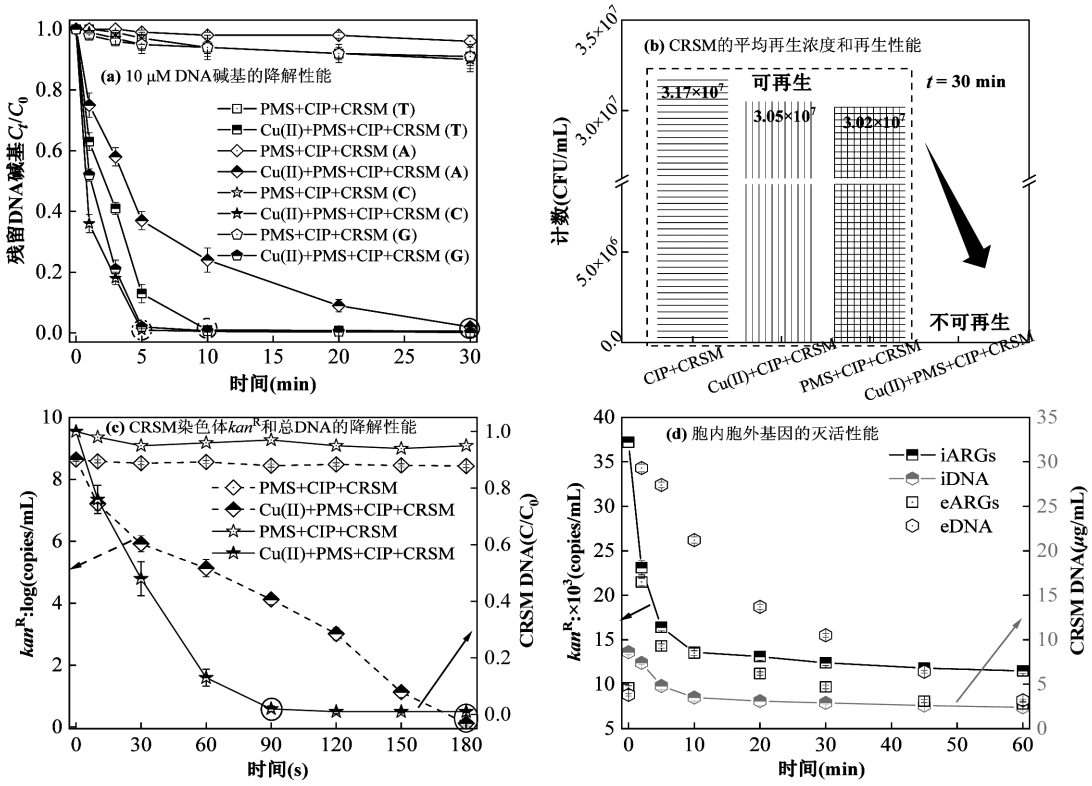


图 8 抗性基因灭活性能

Fig.8 The inactivation efficiency of antibiotic resistance genes

$C_{Cu(II)}$ = 1mg/L, C_{CIP} = 10mg/L, $V_{Cu(II)}$:V_{CIP} = 1:1, m_{PMS} = 2mg, V = 50mL

本研究还系统分析了细胞内抗生素抗性基因(iARGs)、细胞外抗生素抗性基因(eARGs)、细胞内 DNA(iDNA)以及细胞外 DNA(eDNA)的浓度.所有物质均得到了有效的降解.具体而言,由于细胞内 Cu 络合物活化 PMS 所产生的 Cu(Ⅲ)和•OH 对 iARGs 和 iDNA 具有降解作用[46-47],这两种物质的浓度随反应时间延长而逐渐减少.受损的细胞膜将 iARGs 和 iDNA 释放到细胞外溶液中,分别成为 eARGs 和 eDNA,在反应开始后的前 5min 内,其原始浓度增加,随后由于细胞外 ROS 的持续降解而迅速降低.如图 8(d)所示,在 60min 的反应时间内,iARGs 和 iDNA 的浓度分别显著下降了 69.09%和 46.35%.在灭活过程的前 5min 内,eARGs 和 eDNA 的浓度迅速增加,分别从 9.5×10^3 copies/mL 升至 21.5×10^3 copies/mL,以及从 3.8μg/mL 增至 29.3 μg/mL.随后,两者的浓度分别降至 2.8×10^3 copies/mL 和 3.2μg/mL.综上可知,在 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系中,DNA 碱基、ARGs(包括 iARGs 和 eARGs)以及总 DNA(包括 iDNA 和 eDNA)均经历了催化氧化灭活.

2.5　抗性基因灭活机制

以 5,5−二甲基−1−吡咯啉−N−氧化物(DMPO)和 2,2,6,6−四甲基哌啶氮氧化物(TEMP)为自旋捕获剂进行电子顺磁共振(EPR)分析类 Fenton 氧化体系中主要 ROS,并通过甲醇(MeOH)、三氯甲烷($CHCl_3$)、糠醇(FFA)的淬灭实验验证 ROS 的氧化能力[48-49].由图 9(a)可知,通过 DMPO 和 TEMP 捕获到 DMPO−•OH、DMPO−$SO_4^{\bullet-}$、DMPO−$\bullet O_2^-$、TEMP−$^1O_2$ 的弱信号峰,强度分别为 1.6、0.5、0.05、0.02a.u.,说明•OH、$SO_4^{\bullet-}$、$\bullet O_2^-$、$^1O_2$ 并非类 Fenton 氧化体系的主导 ROS.MeOH、$CHCl_3$、FFA 的淬灭实验结果如图 9(b)所示,淬灭剂的加入并没有显著影响耐药沙雷氏菌的杀灭率,由此可以初步确定类 Fenton 氧化体系对耐药沙雷氏菌的杀灭为其他高活性物质,有可能为 Cu(III)[50-51].基于以上假设,通过生成稳定的 Cu(III)−高碘酸盐络合物来验证 Cu(III)生成的主导作用.如图 9(c)和图 9(d)所示,该络合物在 415nm 处有明显紫外−可见吸收光谱,并且随着 Cu(II)浓度的增加而变强,由此说明类 Fenton 氧化体系中 Cu(III)的生成.与前期研究结果基本相符[4,24].Cu(III)−高碘酸盐络合物的 XRD 和 FT−IR 谱图如图 9(e−f)所示,Cu(III)−高碘酸盐络合物在 16.73°处有明显的衍射峰,在 1000~1400cm^{-1} 处有 Cu−O 配合物键的宽振动吸收特征峰.由此说明类 Fenton 氧化体系中 Cu(III)及 Cu(III)络合物的生成,Cu(III)在 Cu(II)+CIP+PMS 体系中主导耐药沙雷氏菌的杀灭.

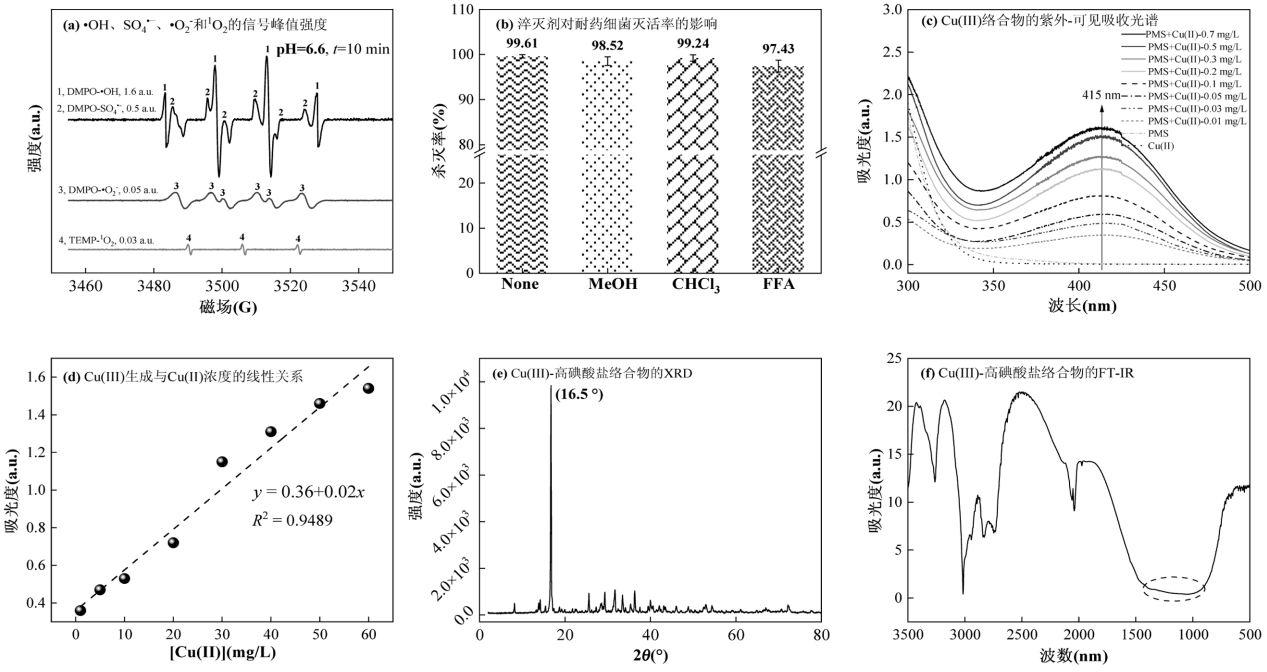


图 9　Cu(II)+CIP+PMS 反应体系中活性氧鉴定

Fig.9　Identification of reactive oxygen species in the Cu(II)+CIP+PMS reaction system

提出的耐药细菌基因灭活机制如图 10 所示.在 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 体系中,生成的 Cu(Ⅲ)和•OH 等 ROS 首先攻击 CRSM 的细胞膜,导致其结构和功能受到干扰与损伤.这不仅促使细胞质中的物质(包括 iARGs 和 iDNAs)泄漏,还进一步促进了 ROS 进入 CRSM 细胞内部,最终引发细胞内 DNA 断裂.更重要的是,环境中的抗性基因(eARGs 和 eDNAs)还会受到 CRSM 细胞外氧化物进一步的攻击和破坏,导致细胞外抗性基因的杀灭.

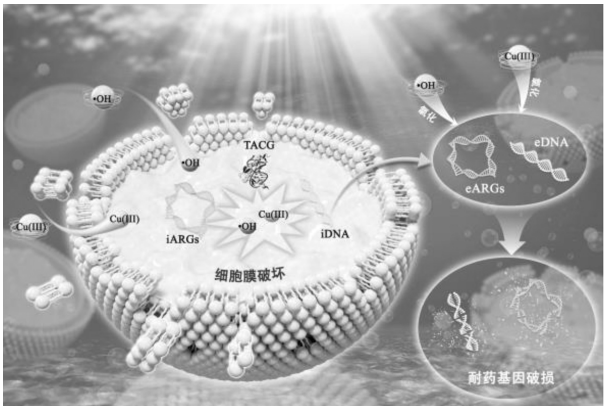


图 10 CRSM 和 ARGs 的灭活机制

Fig.10 Inactivation mechanism of CRSM and ARGs

3 结论

3.1 均相 Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系能显著杀灭废水中筛选分离的耐环丙沙星沙雷氏菌(CRSM).在 Cu(II)+PMS+CIP+CRSM 体系中,Cu 络合物活化 PMS 类 Fenton 氧化体系在 5min 内即可反应,在 10min 内对 CRSM 的灭活率约为 97%,在处理 30min 后灭活率接近 100%.

3.2 CRSM 显著的失活,主要机制为类 Fenton 氧化体系生成的 Cu(III)和•OH 等 ROS 破坏 CRSM 细胞膜和细胞壁结构,最终导致细胞破碎及胞内有机物的释放,进一步促进了 ROS 进入 CRSM 细胞内部,最终引发细胞内 DNA 断裂.

3.3 环境中的抗性基因(eARGs 和 eDNAs)还会受到 CRSM 细胞外氧化物的全面攻击和破坏,导致细胞外抗性基因的杀灭,即 DNA 碱基、ARGs(包括 iARGs 和 eARGs)以及总 DNA(包括 iDNA 和 eDNA)均经历了催化氧化灭活.本文为均相 Cu 基类 Fenton 氧化杀灭废水中耐药细菌基因提供新的机制见解、理论基础及应用潜力.

参考文献:

[1] Mulchandani R, Wang Y, Wang M, et al. Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030 [J]. Nature News, 2023,3:e0001305.

[2] Jiang L W, Zhai W Y, Wang J, et al. Antibiotics and antibiotics resistance genes in the watersources of the Wuhan stretch of the Yangtze river: Occurence, distribution, and ecological risks [J]. Environmental Research, 2023,239:117295.

[3] Schwarzenbach R P, Escher B I, Fenner K, et al. The challenge of micropollutants in aquatic systems [J]. Science, 2006,313(5790): 1072-1077.

[4] Yang X B, Zeng X C, Chen H C, et al. Coupled homogeneous/ hetrogeneous Fenton-like system to enhance the synergistic decontamination of aqueous tetracycline and Salmonella typhi [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,483:148697.

[5] Zeng X C, Zhu J F, Zhang G H, et al. Molecular-level understanding on complexation-adsorption-degradation during the simultaneous removal of aqueous binary pollutants by magnetic composite aerogels [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,468:143536.

[6] Chen X, Yin X L, Xu X Q, et al. Species-resolved profiling of antibiotic resistance genes in complex metagenomes through long-read overlapping with argo [J]. Nature Communications, 2025,16: 1744.

[7] Sun S H, Shan C, Yang Z C, et al. Self-enhanced selective oxidation of phosphonate into phosphate by Cu(II)/H_2O_2: Performance, mechanism, and validation [J]. Environmental Science & Technology, 2022,56:637-641.

[8] Zeng X C, Zhang G H, Wen J, et al. Simultaneous removal of aqueous same ionic type heavy metals and dyes by a magnetic chitosan/ polyethyleneimine embedded hydrophobic sodium alginate composite: Performance, interaction and mechanism [J]. Chemosphere, 2023, 318:137869.

[9] Zeng X C, Zhang G H, Zhu J F. Selective adsorption of heavy metals from water by a hyper-branched magnetic composite material: Characterization, performance, and mechanism [J]. Journal of Environmental Management, 2022,314:114979.

[10] Zeng X C, Zhang G H, Zhu J F, et al. Adsorption of heavy metal ions in water by surface functionalized magnetic composites: A review [J]. Environmental Science-Water Research & Technology, 2022,8:907-925.

[11] Zeng X C, Zhang G H, Li X L, et al. Selective removal of aqueous Hg^{2+} by magnetic composites sulfur-containing on the hyper-branched surface: Characterization, performance and mechanism [J]. Journal of Environmental Management, 2023,325:116621.

[12] Wu J Y, Gao J M, Guo J S, et al. Comprehensive analysis of the fates and risks of veterinary antibiotics in a small ecosystem comprising a pig farm and its surroundings in Northeast China [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,445:130570.

[13] Zhang Q Q, Ji X M, Tian G M, et al. Evolution of microbial community and antibiotic resistance genes in anammox process

stressed by oxytetracycline and copper [J]. Bioresource Technology, 2021,319:124106.

[14] Duan R, Ma S L, Xu S J, et al. Soybean straw biochar activating peroxydisulfate to simultaneously eliminate tetracycline and tetracycline resistance bacteria: Insights on the mechanism [J]. Water Research, 2022,218:118489.

[15] Zhu Z S, Wang Y T, Wang P T, et al. Multidimensional engineering of single−atom cobalt catalysts for ultrafast Fenton−like reactions [J]. Nature Water, 2025,3:211−221.

[16] Adedeji−Olulana A F, Wacnik K, Lafage L, et al. Two codependent routes lead to high−level MRSA [J]. Science, 2024,386(6721):573−580.

[17] Li J Y, Pham A N, Dai R, et al. Recent advances in Cu−Fenton systems for the treatment of industrial wastewaters: Role of Cu complexes and Cu composites [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020,392:122261.

[18] Chen J B, Zhou X F, Sun P Z, et al. Complexation enhances Cu(II)−activated peroxydisulfate: A novel activation mechanism and Cu(III) contribution [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(20):11774−11782.

[19] Miao J, Song J, Lang J Y, et al. Single−atom MnN_5 catalytic sites enable efficient peroxymonosulfate activation by forming highly reactive Mn(IV)−oxo species [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57:4266−4275.

[20] Wang S C, Deng Y, Shao B B, et al. Three kinetic patterns for the oxidation of emerging organic contaminants by Fe(Ⅵ): The critical role of Fe(V) and Fe(Ⅳ) [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55:11338−11347.

[21] Zhu J H, Yu F L, Meng J R, et al. Overlooked role of Fe(Ⅳ) and Fe(V) in organic contaminant oxidation by Fe(Ⅵ) [J]. Environmental Science & Technology, 2021,54:9702−9710.

[22] Ahmed Y, Zhong J X, Yuan Z G, et al. Simultaneous removal of antibiotic resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and micropollutants by a modifified photo−Fenton process [J]. Water Research, 2021,197:117075.

[23] 曾湘楚,宁海潮,武　哲,等.耦合均相−异相类芬顿体系强化水体耐药伤寒沙门氏菌的杀灭 [J]. 化工进展, 2024,43(12):7078−7094.
Zeng X C, Ning H C, Wu Z, et al. Coupled homogeneous/heterogeneous Fenton−like system for enhanced inactivating of tetracycline−resistance *Salmonella typhi* [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2024,43(12):7078−7094.

[24] 曾湘楚,叶雨婷,武　哲,等.pH 介导铜络合物活化过一硫酸盐选择性氧化水体四环素的分子内电子转移机制 [J]. 高等学校化学学报, 2024,45(12):20240337.
Zeng X C, Ye Y T, Wu Z, et al. Intramolecular electron transfer mechanism of pH−mediated cupric complexes activated peroxymonosulfate selective oxidation of aqueous tetracycline [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2024,45(12):20240337.

[25] 曾湘楚,莫镇榕,武　哲,等. N、S 共掺杂磁性生物炭对水体 Cu(II)和四环素的协同吸附机制 [J]. 化工进展, 2024,43(12):7004−7017.
Zeng X C, Mo Z R, Wu Z, et al. Synergistic adsorption mechanism of aqueous Cu(II) and TC by N and S co−doped biochar [J].Chemical Journal of Chinese Universities, 2024,43(12):7004−7017.

[26] 曾湘楚,丁以宣,武　哲,等.原位 Cu 络合调控类芬顿氧化强化水体痕量喹诺酮的选择性净化 [J]. 高等学校化学学报, 2025,46(3):20240358.
Zeng X C, Ding Y X, Wu Z, et al. In situ cupric complexation regulated Fenton−like oxidation to enhance the selective decontamination of trace aqueous quinolones [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2025,46(3):20240358.

[27] Zeng X C, Qin Y, Yang X B, et al. Molecular level decontamination of trace quinolones and Serratia marcescens in wastewater via in situ Cu(III) complexes mediated Fenton−like oxidation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,480:136266.

[28] Liu C C, Zhu X Y, You L H, et, al. Per/polyfluoroalkyl substances modulate plasmid transfer of antibiotic resistance genes: A balance between oxidative stress and energy support [J]. Water Research, 2023,240:120086.

[29] Zhao Y H, Hu Z, Xie H J, at al. Size−dependent promotion of micro(nano)plastic on the horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in constructed wetlands [J]. Water Research, 2023, 244:120520.

[30] Zhu L, Shuai X Y, Lin Z J, et al. Landscape of genes in hospital wastewater breaking through the defense line of last−resort antibiotics [J]. Water Research, 2022,209:117907.

[31] Cheng Z H, Luo X Y, Liu D F, et al. Optimized antibiotic resistance genes monitoring scenarios promote sustainability of urban water cycle [J]. Environmental Science & Technology, 2024,58(22):9636−9645.

[32] Yang Y X, Zhu J F, Zeng Q Z, et al. Enhanced activation of peroxydisulfate by regulating pyrolysis temperature of biochar supported nZVI for the degradation of oxytetracycline [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2023,145:104775.

[33] Zeng Q Z, Zhu J F, Xiong J J, et al. Removal of aqueous of oxytetracycline using copper−loaded biochar−activated peroxodisulfate: Synergistic mechanism of adsorption and nonradical $^1O_2$ [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024,12: 114302.

[34] Liu J H, Zhu J F, Ma X, et al. Cerium−regulated Mg_3FeO_4@biochar activated persulfate to enhance degradation of aqueous tetracycline: The dominant role of cerium [J]. Applied Surface Science, 2025, 680:161416.

[35] Ding Y Z, Sun Q Y, Ping Q, et al. Tracking the transformation of extracellular polymeric substances during the ultraviolet/peracetic acid disinfection process: Emphasizing on molecular−level analysis and overlooked mechanisms [J]. Water Research, 2024,218:118489.

[36] Wu S Y, Wu W, Fan J N, et al. Rapid activation of peroxymonosulfate with iron(III) complex for organic pollutants degradation via a non−radical pathway [J]. Water Research, 2023,233:119725.

[37] Mao Y, Chen Z, Lu Y, et al. Inactivation of bacteria in water by Ferrate(Ⅵ): Efficiency and mechanism [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(49):20893−20904.

[38] Lu X, Hou J, Yang K, et al. Binding force and site−determined desorption and fragmentation of antibiotic resistance genes from metallic nanomaterials [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55(13):9305−9316.

[39] Raza S, Shin H, Hur H G, et al. Higher abundance of core antimicrobial resistance genes in effluent from wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2022,208:117882.

[40] Zhang X, Li J, Fan W Y, et al. Enhanced photodegradation of extracellular antibiotic resistance genes by dissolved organic matter photosensitization [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(18):10732−10740.

[41] Sivalingam P, Poté J, Prabakar K. Extracellular DNA (eDNA): neglected and potential source of antibiotic resistance genes (ARGs) in the aquatic environment [J]. Pathogens, 2020,9(11):874.

[42] Zhang X, Li J, Yao M C, et al. Unrecognized contributions of dissolved organic matter inducing photodamages to the decay of extracellular DNA in waters [J]. Environmental Science & Technology, 2020,54(3):1614−1622.

[43] Li S, Zhang C, Li F, et al. Technologies towards antibiotics resistance genes (ARGs) removal from aquatic environment: A review [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,411:125148.

[44] Nie C Y, Hou Y H, Liu F Y, et al. Efficient peroxymonosulfate activation by magnetic MoS_2@Fe_3O_4 for rapid degradation of free DNA bases and antibiotic resistance genes [J]. Water Research, 2023,239:120026.

[45] 武 哲,曲树光,冯练享,等.海藻酸钠/微晶纤维素复合水凝胶对水中甲基橙和亚甲基蓝的吸附性能与机理 [J]. 化工进展, 2024,43(8): 4681−4693.
Wu Z, Qu S G, Feng L X, et al. Adsorption performance and mechanism of sodium alginate/microcrystalline cellulose composite hydrogel for aqueous methyl orange and methylene blue [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2024,43(8):4681−4693.

[46] Liu J H, Zhu J F, Gao Q, et al. Accelerate degradation of tetracycline via persulfate activation over S, N−Fe co−doped banana peel biochar: The role of pyrolysis temperature and $^1O_2$ evolution [J]. Chemical Engineering Journal, 2025,509:161425.

[47] Yang Y X, Zhu J F, Zeng Q Z, et al. Activation of persulfate by iron−loaded soybean straw biochar for effcient degradation of Azo dyes: Synthesis, performance, and mechanism [J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2023,42:e14190.

[48] Liu J H, Zhu J F, Zeng X C, et al. Enhanced activation of persulfate by bimetal and nitrogen co−doped biochar for efficient degradation of refractory organic contaminants: The role of the second metal [J]. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 2024,193:112191.

[49] 曾湘楚,黄红诚,宋 华,等.聚乙烯亚胺改性壳聚糖气凝胶对 Cr(Ⅵ)和 Cu(Ⅱ)的吸附性能及机理 [J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2023,55(5):47−58.
Zeng X C, Huang H C, Song H, et al. Adsorption and mechanism of Cr(Ⅵ) and Cu(Ⅱ) by polyethyleneimine modified chitosan aerogel [J]. Journal of South China Normal University (National Science Edition), 2023,55(5):47−58.

[50] 杨梦鑫,王静亚,刘文佳,等.生物炭活化两种过硫酸盐降解四环素比较分析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(2):810−819.
Yang M X, Wang Y J, Liu W J, et al. Comparative analysis of biochar activated peroxymonosulfate and persulfate degradation of tetracycline [J]. China Environmental Science, 2025,45(2):810−819.

[51] 韩 双,高梦娇,傅慧敏,等.碳基材料对厌氧氨氧化菌胞外电子传递的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(7):3692−3703.
Han S, Gao M J, Fu H M, et al. Mechanisms of carbon−based materials on extracellular electron transfer of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. China Environmental Science, 2025,45(7): 3692−3703.

作者简介：武 哲(1993−),女,陕西延安人,助理实验师,硕士,主要从事环境功能材料与水污染控制技术研究.发表论文 12 篇.hcxywz75@163.com.