



阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系同步去除多重耐药细菌及抗性基因

张晓晖¹, 孙威¹, 卞静¹, 谢沐杉², 钟艺华³, 赵纯^{1,✉}

1. 重庆大学, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045; 2. 西南大学生命科学学院, 重庆 400715;

3. 重庆大学医学院附属重庆大学肿瘤医院消化内科, 重庆 400030

摘 要 抗生素耐药性的问题已在全球范围内引起广泛关注, 特别是在水环境中的传播。为了应对这一挑战, 本研究建立了阴极穿透式反应器, 探究了电活化高锰酸钾 (PM) 对抗生素去除、多重耐药大肠杆菌灭活以及抗性基因削减的效果和作用机制。探究了 PM 投加量、电流密度、初始 pH 及实际水体和水体中常见物质 (HA、Cl⁻、HCO₃⁻、HPO₄²⁻) 对多重耐药大肠杆菌灭活的影响。结果表明, 当 PM 浓度仅为 7 μmol·L⁻¹、电流密度为 12.55 mA·cm⁻²、初始 pH 为 5 时, 电阴极-高锰酸钾体系具有明显的协同消毒效果, 反应 15 min 时大肠杆菌去除率可达 4.92 log。同时对该细菌携带的抗性基因具有显著的去除效果, 对 5 种抗性基因实现高达 3.89 log 的对数去除率 (99.99%), 并且可同时高效去除水中抗生素, 可达 96.4% 的盐酸四环素去除率。利用扫描电镜可观察到处理后的细菌受到严重损伤, 细胞膜完整性受到破坏。通过细胞表征进一步发现细胞膜上的脂质被氧化, 同时胞内物质逐渐释放并被降解, 大肠杆菌完全失活。通过活性锰物种检测和掩蔽实验分析该体系中起主要消毒作用的活性物种为 Mn(III)_{aq}。该体系在实际水体中表现出优异的多重耐药大肠杆菌去除能力。Cl⁻ 对多重耐药大肠杆菌的灭活几乎没有影响, HA、HCO₃⁻、HPO₄²⁻ 对其灭活存在抑制作用。以上研究结果可对遏制抗生素耐药性在水环境中的传播提供参考。

关键词 耐药细菌; 消毒; 抗性基因; 高锰酸钾; 电化学

抗生素在医疗、农业以及水产养殖等领域发挥至关重要的作用。然而, 近年来抗生素的过度使用和滥用导致大量抗生素残留排入水体, 促进抗性细菌 (antibiotic resistance bacteria, ARB) 和抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的传播和扩散^[1-2], 目前已在我国污水处理厂、医院污水中普遍检出^[3-4]。水中的 ARB 可能导致人类感染抗生素耐药疾病, 传统的抗生素无法有效对其治疗^[5]。ARGs 可通过整合子等可移动遗传元件在细菌群落内进行水平基因转移, 进一步加剧新型 ARB 的产生^[6-7]。抗生素耐药性问题已被世界卫生组织列为 21 世纪人类健康面临的重要挑战之一, 抗生素耐药性去除已迫在眉睫^[8]。

传统的水消毒技术, 如氯消毒、紫外消毒和臭氧消毒等, 虽然能够有效灭活水环境中的 ARB, 但对 ARGs 的去除效果有限, 甚至存在消毒后会出现 ARGs 被富集的现象^[9-11]。因此, 开发新型消毒方式去除 ARB 和 ARGs 并协同去除水中的抗生素具有重要意义。电化学消毒技术因其操作简单、环境友好、安全性高、不受浊度影响且占地面积小等优势备受关注。目前常用的电氯化消毒技术成本较低且具有较强的消毒能力, 但产生的含氯消毒副产物严重威胁人类健康^[12]; 电芬顿消毒技术存在易产生含铁污泥且反应需在酸性条件下进行的局限性^[13]; 纳米电穿孔消毒技术可依靠电穿孔原理实现高效消毒且不产生消毒副产物, 但其高能耗和设备复杂性限制其广泛应用^[14]。

电活化高锰酸钾 (PM) 技术是近年来新兴的电化学氧化技术, PM 经电场活化后可产生活性中间价态锰 (RMnS), 目前已被应用于去除水中多种有机污染物^[15]。与其他电化学消毒技术相比, 电活化 PM 技术具有氧化能力强、不产生卤代副产物和 pH 适用性更广的优势^[16], 但其用于去除 ARB 和 ARGs 的相关研究还十分有限。此外, 虽然该技术已被证明对去除多种有机污染物有效, 但其氧化效率受所用平板式电极反应器较

收稿日期: 2024-04-09; 录用日期: 2024-05-30

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (22076015); 重庆市医学科研项目 (2021MSXM083)

第一作者: 张晓晖 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为高级氧化消毒, 1178114537@qq.com ✉通信作者: 赵纯 (1982—), 男, 博士, 教授, 研究方向为高级氧化技术, pureson@163.com

厚扩散层的限制^[17-18]。相比之下,阴极穿透式反应器具有更优的液体流态和传质效率,能够实现更高效的消毒效能^[19-20]。基于此,我们合理推测阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系可能可以通过高效产生 RMnS 并提高其氧化效率,以有效去除水中 ARB 和 ARGs。

综上所述,本研究构建了阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系(电阴极-高锰酸钾体系),考察了其目标微生物多重耐药大肠杆菌(AR *E. coli*)的灭活效果,并对体系同时去除抗生素、ARB 及 ARGs 的效能和抗水质干扰能力进行评估,探究了 AR *E. coli* 的灭活机理以及 PM 浓度、电流密度和溶液初始 pH 对 AR *E. coli* 灭活的影响,以期为基于高锰酸钾的电化学消毒技术应用于水体抗生素耐药性污染防控提供理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验菌种与菌液

实验菌种:大肠杆菌 BL21(DE3)由北京百欧博伟生物技术有限公司购得通用菌株。通过抗生素平板筛选实验,发现该菌株对多种抗生素具有抗性。通过全基因组测序,获得了该菌株抗性基因相关的序列。本文使用的抗生素抗性基因和整合酶基因在 NCBI 中的序列编号信息如表 1 所示。

实验菌液:将-80℃超低温冷冻冰箱保存的冰冻菌种融化后接种于 LB 琼脂培养基,37℃恒温培养 36 h 后保存于-4℃冰箱内。将菌株接种于 100 mL 的 LB 肉汤培养基中,于 37℃、220 r·min⁻¹ 下振荡培养 18 h,再以 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,将沉淀重新悬浮于无菌水中,重复 3 次以去除培养基,将最终的沉淀溶于 12 mL 无菌水中得到菌悬液。根据实验要求配制初始浓度为 10⁷ CFU·mL⁻¹ 的无菌水菌液作为实验菌液。

1.2 主要材料与仪器

主要材料:高锰酸钾(KMnO₄)、硫代硫酸钠(Na₂S₂O₃)、硫酸钠(Na₂SO₄)、氢氧化钠(NaOH)、硫酸(H₂SO₄)、焦磷酸钠(Na₄P₂O₇)均为分析纯;碘化丙啶(PI)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;SYTO9 购自赛默飞世尔科技公司;碳纤维毡(直径 4 cm,厚度 2 mm)购自内蒙古万兴碳素有限公司;LB 肉汤培养基(氯化钠 10 g·L⁻¹,蛋白胨 10 g·L⁻¹,酵母浸粉 5 g·L⁻¹)、LB 琼脂培养基(氯化钠 10 g·L⁻¹,蛋白胨 10 g·L⁻¹,酵母浸粉 5 g·L⁻¹,琼脂 30 g·L⁻¹)由实验室制备。

主要实验仪器:高速离心机(TG16-WS,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);洁净工作台(SW-CJ-1FD,苏州安泰空气技术有限公司);高压灭菌锅(DSX-280B,上海申安医疗器械厂);恒温培养箱(SPX-250B-G,上海迅博实业有限公司医疗设备厂);振荡培养箱(ZWY-103D,上海智城分析仪器制造有限公司);涡旋混合仪(CY-30S,上海楚悦机电科技有限公司);直流电源(PS-303DM,深圳市龙威电源有限公司);蠕动泵(FZI-101K,重庆杰恒蠕动泵有限公司)。

1.3 实验方法

电阴极-高锰酸钾体系灭活多重耐药大肠杆菌的实验装置如图 1 所示。采用钛镀铂电极为阳极,钛网支撑碳纤维毡为阴极,电极间距为 2 cm。配制 500 mL 实验菌液至无菌玻璃烧杯中,添加 50 mmol·L⁻¹ 无水硫酸钠电解质(本研究已验证该电解质浓度下细菌活性未降低),使用磁力搅拌器充分混合。反应时,先将实验菌液均匀流过反应装置,再打开直流电源,然后投加 PM,使实验水样

表 1 各基因在 NCBI 中的序列编号

Table 1 Sequences ID of each gene in NCBI

基因	序列编号
<i>intI3</i>	GBIAPNBH_00602
<i>CpxA</i>	GBIAPNBH_01930
<i>Kpne_OmpK37</i>	GBIAPNBH_03022
<i>EmrA</i>	GBIAPNBH_02504
<i>PmrF</i>	GBIAPNBH_03040
<i>YojI</i>	GBIAPNBH_04059

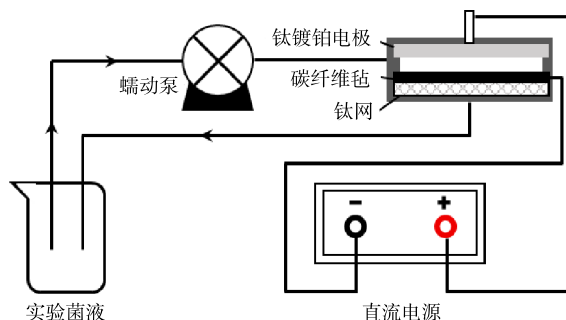


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental device

从阳极端流过，阴极端流出。实验中，AR *E. coli* 初始浓度约为 10^7 CFU·mL⁻¹，PM 浓度为 $7\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，电流密度为 $12.55\ \text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ ，菌液初始 pH 为 5，取样时间为 0、3、5、8、10、15 min，从反应装置的阴极端取 1 mL 菌液加入 30 μL 质量浓度为 4% 的硫代硫酸钠溶液淬灭后进行分析。

1.4 检测分析方法

1) 细菌计数方法。将取样淬灭后的 1 mL 菌液用 $50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸钠溶液以 10 倍浓度梯度连续稀释至适当浓度，取 100 μL 后用无菌涂布棒均匀涂布在 LB 琼脂培养基 (含 $16\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 四环素) 上，于 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h 后计数。大肠杆菌对数去除率根据式 (1) 计算。

$$n = \log(N_0/N) \quad (1)$$

式中： n 为对数去除率， $\log$ ； N_0 和 N 为反应前和反应后的菌液大肠杆菌的浓度，CFU·mL⁻¹。

2) qPCR 分析。使用 Bacteria Genomic DNA Kit 试剂盒 (CW BIO, China) 提取样品中的 DNA 并测定基因序列，通过荧光定量 PCR 对该株多重耐药大肠杆菌所携带的 5 种抗性基因 *CpxA*、*Kpne_OmpK37*、*EmrA*、*PmrF*、*YojI* 和整合子 *int I 3* 进行定量检测。qPCR 反应体系为 20 μL ，其中 2×SYBR qPCR Mix (ABclonal, China) 10 μL ，引物 FIR 各 1 μL ，DNA 模版 1 μL ，ddH₂O 7 μL ，各基因引物序列见表 2；qPCR 扩增条件为 $95\ ^\circ\text{C}$ 预变性 1 min 后， $95\ ^\circ\text{C}$ 变性 20 s， $55\ ^\circ\text{C}$ 退火 20 s， $72\ ^\circ\text{C}$ 延伸 35 s，共 40 个循环。荧光定量 PCR 反应在 QuantStudio 1 实时荧光定量 pCR 系统 (Thermo Fisher Scientific, USA) 中进行。

表 2 各基因引物序列
Table 2 Primer sequence of each gene

基因	引物	序列	扩增片段/bp	$R^2(P<0.05)$	扩增率/%
<i>int I 3</i>	<i>int I 3</i> -F	TGAACAGAGTAAAGCACGAA	455	0.9962	98.48
	<i>int I 3</i> -R	GCTCACTGGACCGAATAA			
<i>CpxA</i>	<i>CpxA</i> -F	GTGGTGGCGGCGTCTATT	425	0.9993	100.67
	<i>CpxA</i> -R	GGCGGTTCGGCGTGGATAAAG			
<i>Kpne_OmpK37</i>	<i>Kpne_OmpK37</i> -F	ATTCCAGGATGTGGGTTC	393	0.9991	89.95
	<i>Kpne_OmpK37</i> -R	CGTTGTGGTAAGGCAGGT			
<i>EmrA</i>	<i>EmrA</i> -F	AGCGTCTGCTCCTCTCTCA	382	0.9885	91.46
	<i>EmrA</i> -R	GGCACACGGCGTTGTAGTC			
<i>PmrF</i>	<i>PmrF</i> -F	ATTATGGCGGGATTTCAGT	444	0.9857	106.14
	<i>PmrF</i> -R	ATGTAAGCAGCGGTGTTC			
<i>Yoj I</i>	<i>Yoj I</i> -F	CCTGTCAGCGCGAACAACC	400	0.9975	105.18
	<i>Yoj I</i> -R	GCTGGCGTAAGTTCCCT			

3) 有机物浓度测定。使用高效液相色谱仪 (Waters 2695) 测定有机污染物盐酸四环素 (TCH) 的浓度。仪器色谱柱型号为 COSMOSIL 3C18-MS-II，紫外检测器型号为 Waters 2487，检测条件为：柱温为 $25\ ^\circ\text{C}$ ，流动相为 20% 的乙腈和 80% 的 0.5% 冰乙酸，波长为 356 nm。将菌液样品用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的膜过滤器过滤至棕色小瓶中待测。

4) 活性锰测定。采用紫外-可见光光度计 (T6 新世纪，北京普析通用仪器有限公司) 测定反应中产生的活性锰物种。在实验水样中添加适量焦磷酸钠 (PP) 捕获产生的三价锰，然后用紫外-可见光光度计在 200~700 nm 进行全波长扫描，并检测 258 nm 下的 Mn(III)-PP 的特征吸收峰。

5) 细菌表征方法。细胞形态观察：采用扫描电子显微镜 (Quattro S，美国赛默飞世尔公司) 观察处理前后大肠杆菌的表面形态。细胞膜通透性：采用 SYTO9 和 PI 2 种染料对大肠杆菌染色，在倒置荧光显微镜 (IX71-12FL/PH-DP70，日本奥林巴斯公司) 下观察大肠杆菌细胞膜通透性变化。将菌液样品离心后弃上清

液, 加入 50 μL SYTO9 或 PI 染料, 在室温下避光染色 30 min, 用倒置荧光显微镜观察绿色和红色荧光。细胞膜脂质过氧化: 将收集的菌液样品在超声波破碎仪 (JY96-IIN, 宁波新芝生物科技公司) 中以 60% 的功率破碎 1 min, 按照《微量丙二醛测定试剂盒》(南京建成生物工程研究所) 说明书测定反应过程中丙二醛浓度变化。细胞蛋白质降解: 采用福林酚法测定反应过程中总蛋白质含量变化。细胞 ATP 浓度: 采用多功能酶标仪 (SpectraMax i3x, 美国 Molecular Devices) 测定全体系处理过程中总 ATP、胞外 ATP、胞内 ATP 的浓度, 其中测定胞外 ATP 时需用 0.22 μm 的膜过滤器过滤, 按照 BacTiter-Glo™ 生物发光法试剂盒 (普洛麦格生物技术有限公司) 说明书进行测定。

2 结果与讨论

2.1 不同体系对 AR *E. coli* 的灭活效果

在 AR *E. coli* 浓度约为 10^7 CFU·mL⁻¹, PM 投加量为 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 电流密度为 12.55 mA·cm⁻², 初始 pH 为 5, 反应时间 15 min 的条件下, 研究了电解、碳毡、电-碳毡、高锰酸钾、电-高锰酸钾、碳毡-高锰酸钾以及电-碳毡-高锰酸钾体系对 AR *E. coli* 的灭活效果, 其中在非碳毡体系中阴极为钛网。如图 2 所示, 电解、碳毡和电-碳毡体系对 AR *E. coli* 几乎无去除效果, 表明碳毡对 AR *E. coli* 的吸附去除以及电解杀菌效果均较弱; 高锰酸钾、电-高锰酸钾和电-碳毡-高锰酸钾对 AR *E. coli* 的对数去除率分别为 2.03、2.44 和 4.92 log, 电-碳毡-高锰酸钾相较于单独高锰酸钾提高了 2.89 log, 表明当碳毡作为阴极时, 电活化 PM 能够有效提升消毒效果。这一方面可能是由于电活化 PM 产生具有较高氧化还原电位的活性中间价态锰^[15], 能够迅速灭活 AR *E. coli*; 另一方面, 碳毡阴极具有丰富的孔隙结构和较大的比表面积^[21], 可增加与 AR *E. coli* 的接触面积, 从而缩短传质距离, 进而提高了体系的传质效率。

此外, 对比了平板式电极反应器与阴极穿透式反应器对 AR *E. coli* 的灭活效果。其中平板式电极反应器的电极材料、极板间距与阴极穿透式反应器完全相同, 电极浸没至菌液中。由图 2 可知, 阴极穿透式反应器 (电-碳毡-高锰酸钾) 对 AR *E. coli* 的对数去除率比平板式电极高出 1.24 log。这可能是由于阴极穿透式反应器内菌液的连续流动提高了 PM 向阴极电化活性位点的传质效率, 从而更有效促进 RMnS 的生成, 并增强其与 AR *E. coli* 的接触。此外, 有研究^[22]表明, 穿透式电极孔隙的边界层厚度小于平均孔半径, 因此, 阴极穿透式反应器能够通过压缩边界层厚度提高电化学反应过程的传质效率。

2.2 体系同时去除抗生素、ARB 及 ARGs 的效能

进一步探究了电阴极-高锰酸钾体系在最优工况时, 同时去除不同浓度盐酸四环素 (TCH)、AR *E. coli* 及其携带 ARGs 的效能。如图 3(a) 所示, TCH 投加浓度为 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 反应 5 min 时, TCH 去除率迅速达到 86.2%, 反应 15 min 时提高至 96.4%, 且对 AR *E. coli* 的对数去除率仍可维持 4.61 log 左右, 达到 99.99% 的去除率。当 TCH 投加浓度为 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 电阴极-高锰酸钾体系对 TCH 仍能达到 89.5% 的去除率。这表明电阴极-高锰酸钾体系对 TCH 和 AR *E. coli* 具有良好的同时去除效果。

采用 qPCR 技术评估了该体系削减 ARGs 的效能。由于 DNA 损伤速度比 ARB 灭活速度慢且更困难, 以往研究者在进行 ARGs 削减分析时, 通常会提高氧化剂浓度并延长反应时间^[23-24]。因此, 本研究将 PM 投加量由 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高至 140 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应时间延长至 90 min, 对该株 AR *E. coli* 携带的 5 个抗性基因多重耐药基因 *Kpne_OmpK37*、*CpxA*, 氟喹诺酮类抗生素 *EmrA*, 肽类抗生素 *PmrF*、*YojI* 和整合子基因 *int I3* 的去除情况进行分析。如图 3(b) 所示, 该体系在短时间内即可实现显著的 ARGs 去除效果, 反应 5 min 时, 即对 ARGs 达到 2.56~2.89 log 的显著削减效果, 反应时间 90 min 时对数去除率进一步提高至

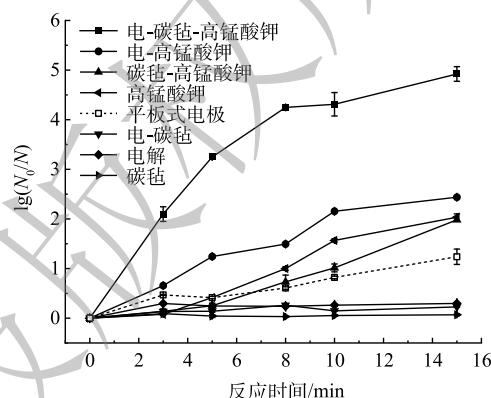


图 2 不同体系、反应器对多重耐药大肠杆菌的对数去除率

Fig. 2 Inactivation of AR *E. coli* by different processes and reactors

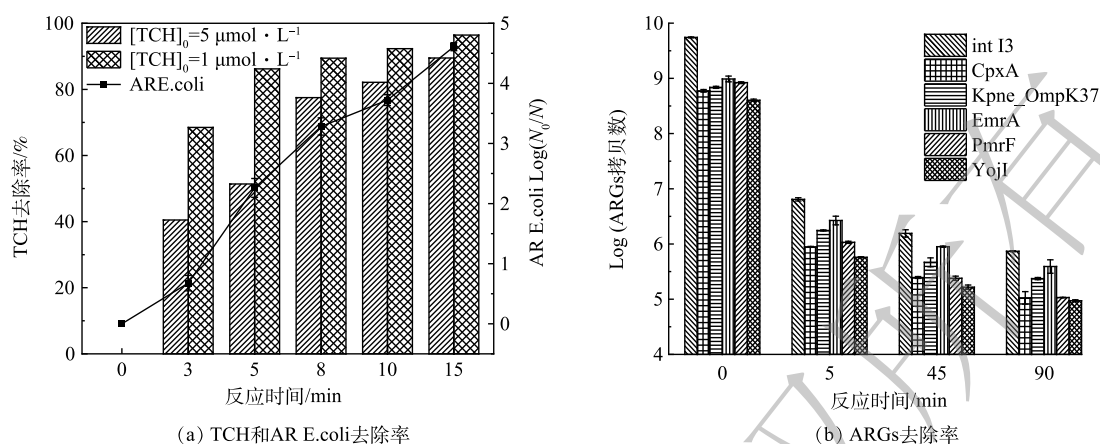


图3 电阴极-高锰酸钾体系对 TCH、AR *E. coli* 和 ARGs 的同时去除情况

Fig. 3 Simultaneous removal of TCH, AR *E. coli* and ARGs by electric cathode-permanganate process

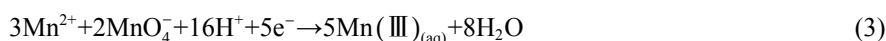
3.39~3.89 log, 表明该体系中产生的 RMnS 对 ARGs 损伤有重要贡献。整合子是一类重要的可移动基因元件, 其中 I、II、III 型整合子介导的 ARGs 水平转移已被证实是环境中抗生素耐药性传播的重要途径^[25]。由图 3(b) 可知, 该体系对 *int I3* 可高达 3.87 log 的高效削减, 达到 99.99% 的去除率, 这说明 RMnS 对 ARGs 的水平转移有显著抑制效果。

该体系对 ARGs 削减的机理可能解释为: 电活化 PM 产生的 RMnS 诱导细胞发生氧化应激反应, 进而生成胞内活性氧 (ROS), 如超氧阴离子、过氧化氢等^[26]。随着细胞活性的降低, RMnS 得以进入细胞内部, 与胞内 ROS 共同氧化攻击 ARGs 碱基对之间的氢键或破坏含 ARGs 的 DNA 片段^[27], 从而有效去除 ARGs。以上结果表明, 该体系对 ARGs 具有显著的去除效果, 有效抑制 ARGs 的水平转移和抗生素耐药性的传播风险。综上所述, 电阴极-高锰酸钾体系能够同时处理水中抗生素、ARB 和 ARGs, 并实现显著的去除效果。

2.3 AR *E. coli* 的灭活机理

1) 主要活性物种检测。研究表明, 在电活化 PM 体系中, Mn(III)_{aq} 是最主要的活性物种, 羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 和硫酸根自由基 ($\text{SO}_4^{\cdot-}$) 几乎不发挥作用^[15,28]。叔丁醇常作为 $\cdot\text{OH}$ 的淬灭剂 (反应速率常数为 $6 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)^[29], 甲醇常作为 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的淬灭剂 (反应速率常数为 $9.7 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 和 $2.5 \times 10^7 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)^[30]。控制实验条件不变, 向体系中投加 0.1、1 mmol · L⁻¹ 的叔丁醇和甲醇检测 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 是否存在。结果如图 4(a) 所示, 投加淬灭剂对体系中 AR *E. coli* 的灭活无影响, 表明该体系中, $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 并未参与 AR *E. coli* 的灭活。因此, 电阴极-高锰酸钾体系灭活 AR *E. coli* 的反应中起主要作用的是活性 Mn(III)_{aq}, 而非 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ^[15,28]。

为证明该体系中起主要作用的是活性 Mn(III)_{aq}, 进行 Mn(III)_{aq} 络合实验。焦磷酸钠 (PP) 与 Mn(III)_{aq} 的稳定络合物 Mn(III)_{aq}-PP 在波长 258 nm 处会显示特征吸收峰^[31]。虽然本实验投加的 PM 浓度较低, 全扫描时检测到特征吸收峰, 但由于吸光度较低可能存在误差, 因此在全扫描检测 Mn(III)_{aq}-PP 时, 所投加 PM 浓度为 100 μmol · L⁻¹。扫描结果如图 4(c) 和图 4(d) 所示, 溶液流经阴极后, 在 258 nm 处立即出现特征吸收峰, 且随着反应时间增加, 烧杯内的特征吸收峰不断增强, 这表明电阴极-高锰酸钾体系中确实产生了 Mn(III)_{aq} 且 Mn(III)_{aq} 是由 PM 在阴极还原产生。为进一步验证 Mn(III)_{aq} 的氧化作用, 向体系中投加不同浓度的 PP。从图 4(b) 可以看出, 随着加入的 PP 浓度从 7 μmol · L⁻¹ 到 700 μmol · L⁻¹, AR *E. coli* 的灭活效果显著降低。这表明 Mn(III)_{aq} 为 AR *E. coli* 灭活的主要活性物种。综上所述, 电阴极-高锰酸钾体系生成 Mn(III)_{aq} 的途径如式 (2)~(4) 所示。



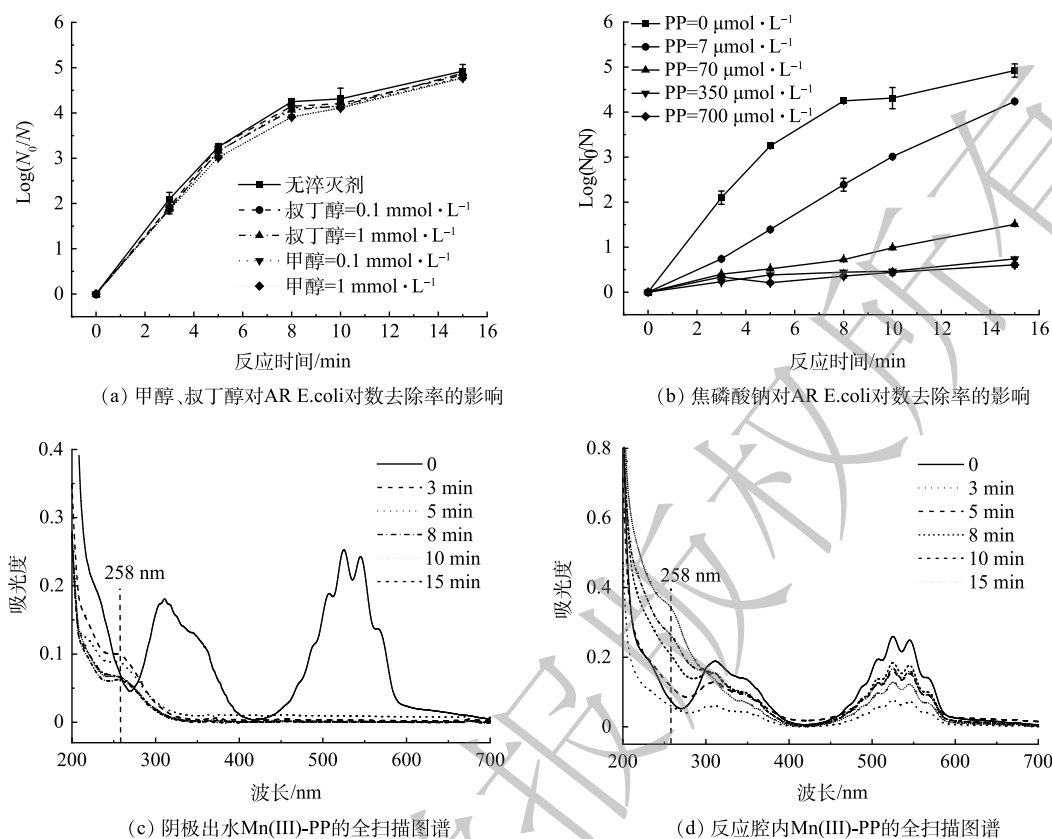


图4 不同淬灭剂/络合剂对 AR *E. coli* 对数去除率的影响及反应过程中阴极出水和烧杯内 Mn(III)-PP 的全扫描图谱

Fig. 4 Effect of various quenching and complexing agents on the inactivation of AR *E. coli* and UV-vis spectra of Mn(III)-PP in cathode effluent and beaker

2) AR *E. coli* 灭活过程探究。为探究反应过程中 AR *E. coli* 细胞膜的通透性变化, 采用 SYTO9 和 PI 染料对反应前后 AR *E. coli* 染色后在荧光显微镜下观察。SYTO9 是一种可以穿透细胞的绿色荧光核酸染料, 能同时标记活细菌和死细菌, PI 是一种可以穿透破损细胞的红色荧光核酸染料, 只能标记死细菌^[32]。因此, 红色荧光代表细胞膜通透性改变后的大肠杆菌, 而绿色荧光代表具有完整细胞膜的大肠杆菌。如图 5(a)~(c) 所示, 反应前, 由于细胞结构完整, 绿色荧光非常强烈; 反应 8 min 后, 红色荧光逐渐增多; 反应 15 min 后, 几乎全部细胞都呈现出红色荧光。表明电阴极-高锰酸钾体系能够有效增加细胞膜的通透性, 从而使染料对细胞进行染色。

为进一步探究反应过程中 AR *E. coli* 形态变化, 采用扫描电镜观察反应前后 AR *E. coli* 的表面形态。如图 5(d)~(f) 所示, 反应前, 大肠杆菌结构完整、表面光滑且呈杆状; 反应 8 min 后, 部分大肠杆菌结构遭到破坏, 表面开始出现褶皱、收缩, 且有部分菌体破碎交联; 反应 15 min 后, 大肠杆菌表面出现严重塌陷、萎缩, 菌体破碎, 细胞内物质流出。说明电阴极-高锰酸钾体系产生的 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 可以有效破坏 AR *E. coli* 的结构形态, 使胞内物质流出, 从而逐渐失去活性, 这与荧光显微镜表征结论一致。

当细胞膜的脂质分子被活性物种氧化时, 会发生脂质过氧化^[33], 丙二醛 (MDA) 是脂质过氧化的重要产物^[32], 因此, 测定了反应过程中 MDA 的浓度变化。如图 6(a) 所示, MDA 的浓度先上升后降低。MDA 浓度升高一方面是由于反应过程中产生的 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 从外部破坏细胞膜脂质双分子层; 另一方面, $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 诱发细胞内氧化应激, 导致胞内 ROS 异常升高, 从内部氧化细胞膜中的脂质成分^[34]。反应 8 min 后, 由于 MDA 被活性物种氧化, 浓度逐渐降低。

此外, 测定了反应过程中总蛋白质质量浓度变化, 如图 6(b) 所示, 总蛋白质质量浓度先降低后上升, 原因可能是反应前期蛋白质释放速度较慢, 且小于蛋白质降解速度, 因此, 总蛋白质质量浓度逐渐降低, 然而反应 5 min 后, 由于蛋白质持续大量释放, 降解速度小于释放速度, 总蛋白质质量浓度逐渐升高。以上结果

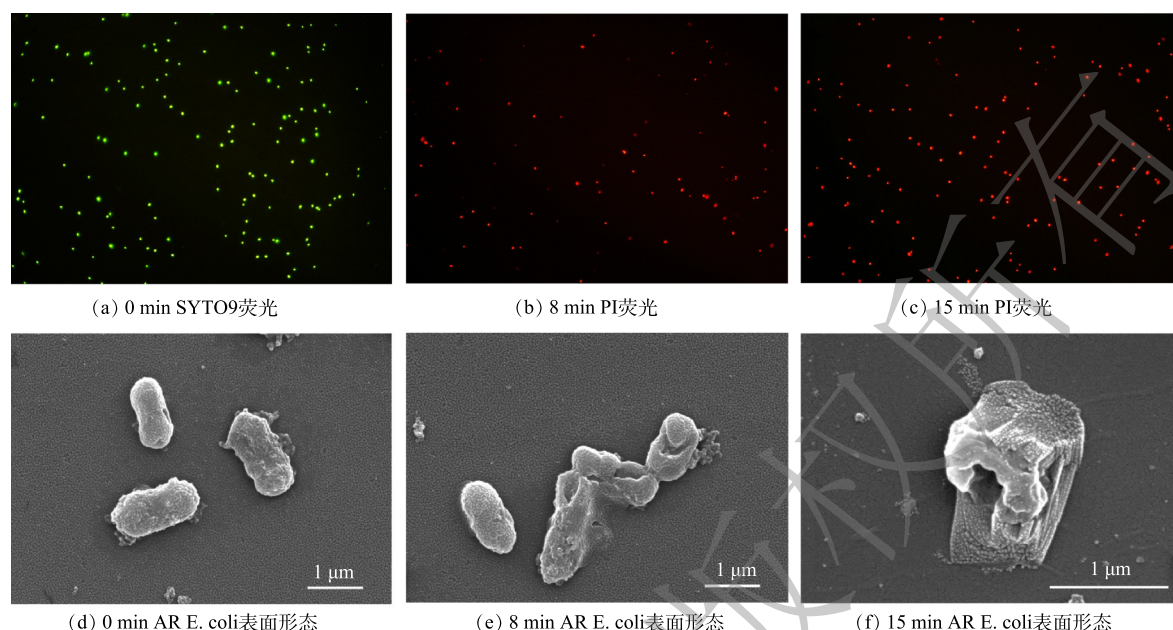
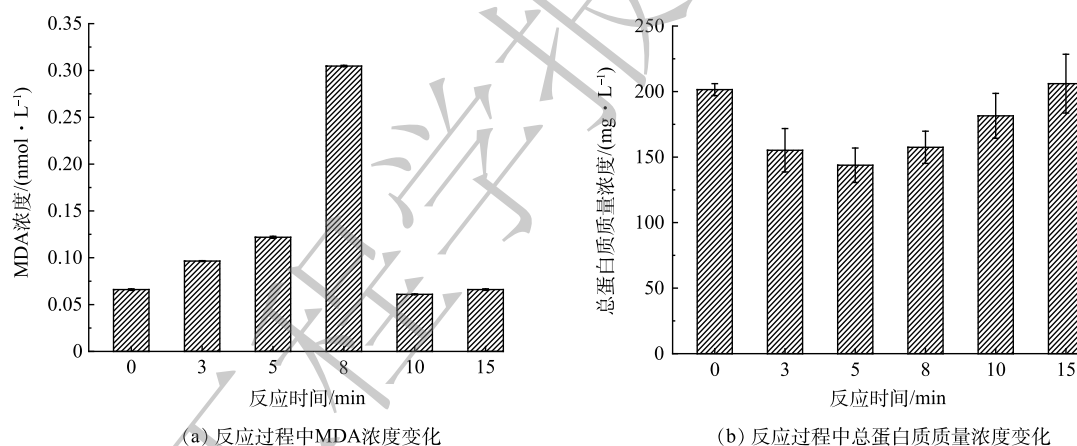
图5 电阴极-高锰酸钾体系中 AR *E. coli* 的荧光显微镜图和扫描电镜图Fig. 5 Fluorescence microscope and SEM images of AR *E. coli* in electric cathode-permanganate process

图6 电阴极-高锰酸钾体系反应过程中的MDA和总蛋白质质量浓度变化

Fig. 6 The change in MDA and total protein concentration during the electric cathode-permanganate process

进一步说明电阴极-高锰酸钾体系产生的 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 导致大肠杆菌细胞膜完整性受损, 通透性改变。

ATP 是衡量细胞活性的指标^[35], 采用酶标仪进一步测定反应过程中 ATP 浓度变化。总 ATP 是胞内 ATP 和胞外 ATP 的总和, 如图 7 所示, 反应开始至反应 5 min 时, 总 ATP 浓度和胞内 ATP 浓度含量迅速下降, 胞外 ATP 浓度上升, 这表明反应前期, 在 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 的刺激下, ATP 合成受到间接或直接抑制^[34], 细胞活力显著下降, 同时, 由于细胞完整性受损, 胞内 ATP 释放, 反应 8 min 后, 总 ATP 和胞外 ATP 浓度几乎相等且持续下降, 表明反应过程中细胞逐渐死亡, 无法合成新的 ATP 并且胞外 ATP 不断被氧化降解^[36]。

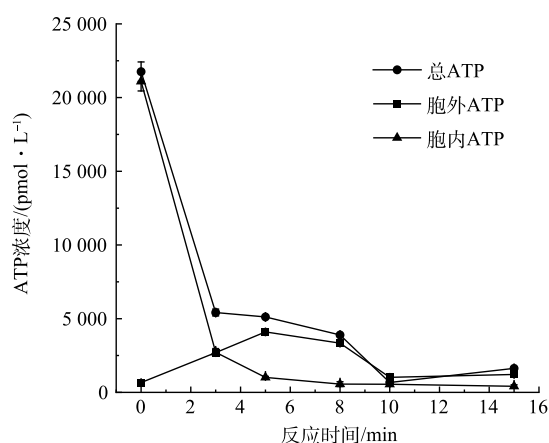


图7 电阴极-高锰酸钾体系反应过程中的ATP浓度变化

Fig. 7 The change in ATP concentration during the electric cathode-permanganate process

根据上述实验结果,通过图 8 归纳了电阴极-高锰酸钾体系去除 AR *E. coli* 及其 ARGs 的机理和过程。在电场作用下,PM 在碳纤维毡阴极还原生成活性 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$, PM 与 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 共同破坏细胞膜,导致细胞内蛋白质等胞内物质逐渐泄露。同时,细胞内 ATP 合成受阻,细胞活力下降, $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 得以侵入细胞破坏 ARGs。随着反应持续进行,细胞内容物逐渐被氧化,细胞结构破损,大肠杆菌完全失活。

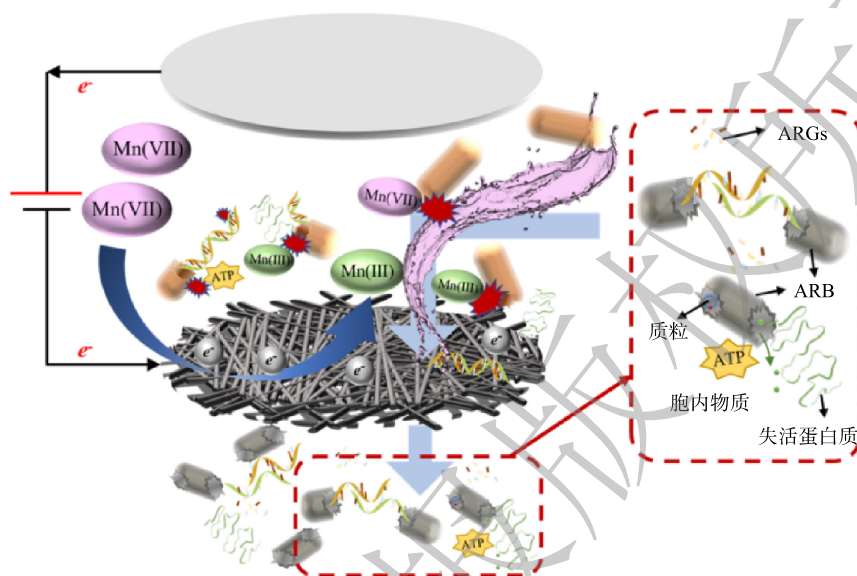


图 8 电阴极-高锰酸钾体系消毒机理示意图

Fig. 8 Schematic representation of the disinfection mechanism of electric cathode-permanganate process

2.4 灭活 AR *E. coli* 的最佳实验条件

在室温条件下,保持其他实验条件不变,分别考察 PM 投加量、初始 pH 和电流密度对 AR *E. coli* 灭活的影响。如图 9(a) 所示,随着 PM 投加量由 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, AR *E. coli* 的对数去除率由 0.86 log 增加到 4.92 log,这是由于 PM 浓度的提高增加了其在阴极得电子的几率,促使更多活性物种产生,从而更有效地灭活 AR *E. coli*。但当 PM 浓度由 $7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, AR *E. coli* 的对数去除率几乎不变,可能因为部分 PM 不能被充分利用,从而无法提高体系对 AR *E. coli* 的灭活效果。

由图 9(b) 可知,酸性条件更有利于电阴极-高锰酸钾体系对 AR *E. coli* 的去除,且 pH 为 5 时大肠杆菌对数去除率最高,这可能是由于 PM 在酸性条件下的氧化还原电位高于碱性条件,且更容易被活化^[37]。同时, $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 在碱性条件下易发生歧化反应^[38],导致 AR *E. coli* 的灭活效能降低。如图 9(d) 所示,该大肠杆菌的等电点在 3.4 左右,当环境 pH 小于 3.4 时其表面呈正电性。检测了反应过程中反应腔内 pH 变化,发现菌液在流经阳极时,因阳极表面发生析氧反应,菌液 pH 值降低至 3.4 以内,推测细菌表面可能带正电,更容易被阴极电吸附^[19]。因此,该体系在较广 pH 条件下仍有良好的 AR *E. coli* 去除效果。

由图 9(c) 可以看出,当电流密度由 $4.18 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 增加到 $12.55 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时, AR *E. coli* 的对数去除率由 3.24 log 增加到 4.92 log,但当电流密度增加到 $16.74 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时,其对数去除率降低至 4.34 log。这主要是由于随着电流密度增加,反应中的电子数量增加,电场对 PM 的活化效率提高。但当电流密度增加到一定程度,体系中氧化剂含量有限,过高的电流密度不能被有效利用,此外,过高的电流会增强电极表面析氢(式(5))和析氧(式(6))反应,与电活化 PM 竞争,从而导致电流效率降低^[39-40]。综合考虑,确定最佳 PM 投加量为 $7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,溶液初始 pH=5,电流密度为 $12.55 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。



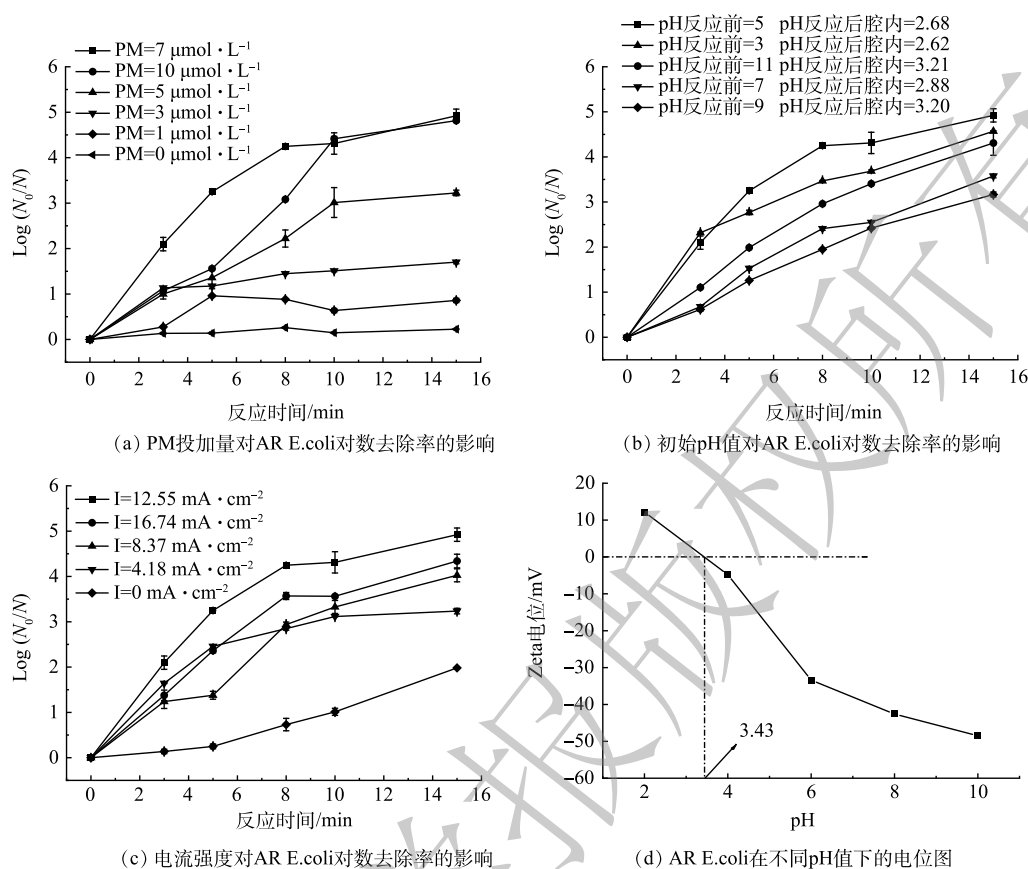


图9 高锰酸钾浓度、初始pH值及电流强度对AR *E. coli*对数去除率的影响及AR *E. coli*在不同pH下电位图

Fig. 9 Effect of permanganate dosage, initial pH and current intensity on the inactivation of AR *E. coli* and potentials of AR *E. coli* at different pHs

2.5 体系的应用潜能评估

实际水体中可能含有无机阴离子(Cl^- 、 HPO_4^{2-} 、 HCO_3^-)和天然有机物(以HA为代表),这些物质可能影响体系的消毒效果,因此,分析了几种水体中常见物质对AR *E. coli*灭活的影响。如图10(a)所示,当体系中存在 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cl^- 时,AR *E. coli*的对数去除率由 4.92 log 降低至 4.54 log ,说明添加一定浓度的 Cl^- 对体系灭活AR *E. coli*的影响较小。当体系中分别存在 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HPO_4^{2-} 、 HCO_3^- 和 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的HA,其对数去除率分别降低至 4.15 、 3.05 和 3.12 log ,说明 HPO_4^{2-} 、 HCO_3^- 和HA抑制了AR *E. coli*的灭

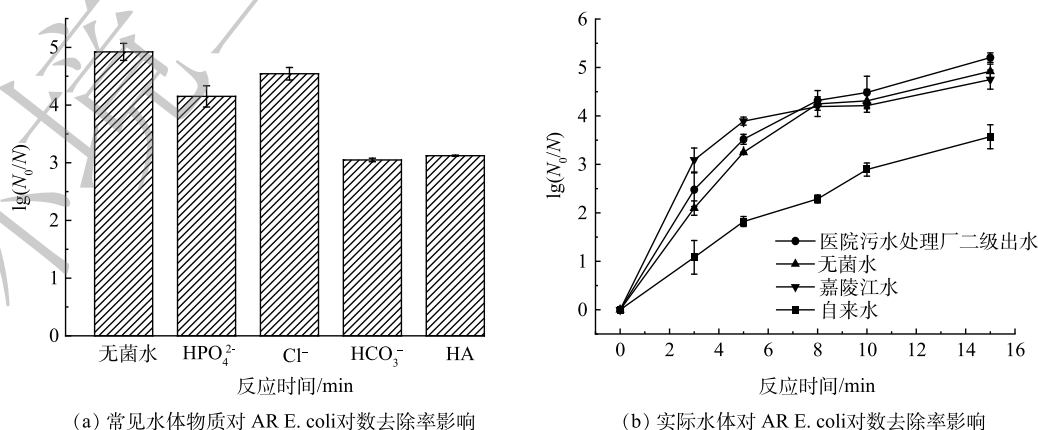


图10 不同常见水体物质和实际水体对AR *E. coli*对数去除率的影响

Fig. 10 Effect of different water matrices and actual water bodies on the inactivation of AR *E. coli*

活,这可能是因为 HPO_4^{2-} 能够捕获体系产生的活性锰物种^[37,41],并且 HPO_4^{2-} 和 HCO_3^- 是常见的缓冲盐,能够通过影响溶液的 pH 条件抑制 AR *E. coli* 的灭活。高剂量的 HA 会竞争还原 PM,导致 AR *E. coli* 去除率降低^[42]。

为探究反应体系在实际水体中去除 AR *E. coli* 的适用性,测试了该体系在 3 种实际水体,重庆市肿瘤医院污水处理厂二级出水、嘉陵江水和自来水中的灭活效果。如图 10(b) 所示,与无菌水相比,反应 15 min 后医院污水处理厂二级出水中 AR *E. coli* 的对数去除率增加至 5.20 log,而在嘉陵江水和自来水中,其对数去除率降低至 4.75 log 和 3.57 log。自来水和嘉陵江水中存在更多无机阴离子和天然有机质,可能会消耗或影响体系中的氧化剂^[43],而医院污水处理厂二级出水中可能存在共离子和共氧化剂^[36],从而促进体系对 AR *E. coli* 的灭活。即便如此,该体系仍然能够达到 99.9% 的 AR *E. coli* 去除率。并且,该体系反应后的总锰残留浓度为 $1.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,低于国家要求排放标准^[44]。综上所述,该体系具有较强的抗水质干扰能力,且不存在锰超标风险,有良好的消毒应用前景。

采用现今消毒技术普遍使用的每阶电能消耗 (electrical energy per order, E_{EO}) 计算该体系的能耗,公式见式 (7)^[36],去除每 log 大肠杆菌能耗仅为 $0.122 \text{ kWh} \cdot \text{m}^{-3}$ 。通过对比目前常用消毒技术所需能耗 (表 3),发现电阴极-高锰酸钾体系具有低耗节能的优势,有望成为高效、低耗去除水中抗生素耐药性的消毒技术。

$$E_{\text{EO}} = \frac{U_{\text{cell}} I t}{V \log \left(\frac{N_0}{N_t} \right)} \quad (7)$$

式中: E_{EO} 为单位 log 大肠杆菌的电能消耗量, $\text{kWh} \cdot \text{m}^{-3}$; U_{cell} 为消毒电压, V; V 消毒水量体积, L; N_0 和 N_t 分别为初始和时刻 t 的大肠杆菌浓度, $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

表 3 不同消毒技术的效果和能耗比较

Table 3 Comparison of effects and energy consumption of different disinfection technologies

消毒技术	目标污染物	反应条件	去除效果	能耗/ $\text{kWh} \cdot \text{m}^{-3}$	参考文献
Ti/Sb-SnO ₂ /PbO ₂ 电阳极氧化	大肠杆菌	电流密度=30 mA·cm ⁻²	3.5 log (12 min)	4.978	[36]
电芬顿	大肠杆菌	电流=1A; [Fe]=10 mg·L ⁻¹	7 log (60 min)	3.8~4.0	[45]
UV/H ₂ O ₂	总大肠菌群	UV=4×8 W; [H ₂ O ₂]=5 mg·L ⁻¹	4 log(全部灭活所需时间)	6.95	[46]
电阴极-高锰酸钾	抗生素、ARB和ARGs	电流密度=12.55 mA·cm ⁻²	96.4% TCH、4.92 log ARB和 3.89 log ARGs (15 min)	0.122	本研究

3 结论

1) 阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系在 PM 浓度仅为 $7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 初始 pH 为 5, 电流密度为 $12.55 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时具有明显的协同消毒效果, 反应 15 min 时对 AR *E. coli* 可达 4.92 log 的去除率, 比平板式反应器的去除率提高了 3.68 log。

2) 阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系产生的 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 是 ARB 灭活和 ARGs 削减的主要活性物种。 $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 首先攻击细胞表面, 细胞膜发生脂质过氧化, 细胞膜完整性受损, 使细胞内蛋白质、ATP 逐渐释放并被降解, 导致细胞活力显著下降; 随着细胞膜通透性上升, $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ 逐渐进入细胞内部破坏细胞质和 DNA, 细胞正常生长代谢过程受阻, 大肠杆菌完全失活。

3) 阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系能够同时高效去除水中四环素 (96.5%)、AR *E. coli* (4.61 log), 并且对 ARGs 具有显著的削减效果, 反应 5 min 时即可高达 2.93 log 的去除率, 90 min 可提高至 3.89 log, 达到 99.99% 的去除率, 因此, 该体系在同时降解抗生素、灭活 ARB 和削减 ARGs 方面具有较强的潜能。

4) 阴极穿透式反应器耦合电活化高锰酸钾体系在实际水体中仍具有高效的 AR *E. coli* 去除率, HPO_4^{2-} 、 HCO_3^- 、HA 对该体系灭活 AR *E. coli* 具有一定抑制作用, Cl⁻ 对该体系灭活 AR *E. coli* 几乎没有影响, 体现出良好的消毒应用前景。

参考文献

- [1] LI S, ONDON B S, HO S H, et al. Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156544.
- [2] PEI M, ZHANG B, HE Y, et al. State of the art of tertiary treatment technologies for controlling antibiotic resistance in wastewater treatment plants[J]. *Environment International*, 2019, 131: 105026.
- [3] LAMBA M, GRAHAM D W, AHAMMAD S Z. Hospital wastewater releases of carbapenem-resistance pathogens and genes in urban India[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(23): 13906-13912.
- [4] MANAIA C M, ROCHA J, SCACCIA N, et al. Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: tackling the black box[J]. *Environment International*, 2018, 115: 312-324.
- [5] CASSINI A, HÖGBERG L D, PLACHOURAS D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: A population-level modelling analysis[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2019, 19(1): 56-66.
- [6] ALLEN H, DONATO J, WANG H, et al. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments[J]. *Nature reviews. Microbiology*, 2010, 8: 251-259.
- [7] YU W, ZHAN S, SHEN Z, et al. Efficient removal mechanism for antibiotic resistance genes from aquatic environments by graphene oxide nanosheet[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 313: 836-846.
- [8] MANOHARAN R K, ISHAQUE F, AHN Y H. Fate of antibiotic resistant genes in wastewater environments and treatment strategies: A review[J]. *Chemosphere*, 2022, 298: 134671.
- [9] JIA S, SHI P, HU Q, et al. Bacterial community shift drives antibiotic resistance promotion during drinking water chlorination[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12271-12279.
- [10] ALEXANDER J, KNOPP G, DÖTSCH A, et al. Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 559: 103-112.
- [11] HILLER C X, HÜBNER U, FAJNOROVA S, et al. Antibiotic microbial resistance (AMR) removal efficiencies by conventional and advanced wastewater treatment processes: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 685: 596-608.
- [12] ALEX T, CHOW, ANTHONY T, O'GEEN, RANDY A, et al. Reactivity of litter leachates from California oak woodlands in the formation of disinfection by-products[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2011, 40(5): 1607-1616.
- [13] WANG K, ZHAO K, QIN X, et al. Treatment of organic wastewater by a synergic electrocatalysis process with Ti³⁺-self-doped TiO₂ nanotube arrays electrode as both cathode and anode[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127747.
- [14] WANG T, CHEN H, YU C, et al. Rapid determination of the electroporation threshold for bacteria inactivation using a lab-on-a-chip platform[J]. *Environment International*, 2019, 132: 105040.
- [15] ZHU Y, ZHAO C, LIANG J, et al. Rapid removal of diclofenac in aqueous solution by soluble Mn(III)_(aq) generated in a novel Electro-activated carbon fiber-permanganate (E-ACF-PM) process[J]. *Water Research*, 2019, 165: 114975.
- [16] XU Q, FU Q, LIU X, et al. Mechanisms of potassium permanganate pretreatment improving anaerobic fermentation performance of waste activated sludge[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 406: 126797.
- [17] CHEN M, LEI Q, REN L, et al. Efficacy of electrochemical membrane bioreactor for virus removal from wastewater: Performance and mechanisms[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 330: 124946.
- [18] LIU Y, LEE J H D, XIA Q, et al. A graphene-based electrochemical filter for water purification[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2014, 2(39): 16554-16562.
- [19] LIU H, NI X Y, HUO Z Y, et al. Carbon fiber-based flow-through electrode system (FES) for water disinfection via direct oxidation mechanism with a sequential reduction-oxidation process[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(6): 3238-3249.
- [20] YANG C, WEN L, LI Y, et al. Fabrication of SnO₂-Sb reactive membrane electrodes for high-efficiency electrochemical inactivation of bacteria and viruses in water[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 446: 137327.
- [21] 辛蕾, 霍正洋, 倪欣业等. 过滤式碳纤维电极消毒效果比较与机理研究[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(3): 940-946.
- [22] GUO L, JING Y, CHAPLIN B P. Development and characterization of ultrafiltration TiO₂ Magnéli phase reactive electrochemical membranes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(3): 1428-1436.
- [23] HU Y, ZHANG T, JIANG L, et al. Removal of sulfonamide antibiotic resistant bacterial and intracellular antibiotic resistance genes by UVC-activated peroxymonosulfate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 368: 888-895.
- [24] YAO S, HU Y, YE J, et al. Disinfection and mechanism of super-resistant *Acinetobacter* sp. and the plasmid-encoded antibiotic resistance gene bla_{NDM-1} by UV/peroxymonosulfate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 433: 133565.
- [25] HERRAIZ-CARBONÉ M, COTILLAS S, LACASA E, et al. A review on disinfection technologies for controlling the antibiotic resistance spread[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 797: 149150.
- [26] WANG W, WANG H, LI G, et al. Catalyst-free activation of persulfate by visible light for water disinfection: Efficiency and mechanisms[J]. *Water Research*, 2019, 157: 106-118.
- [27] YAO M C, ZHANG X, HUANG Q, et al. Chlorine oxide radical (ClO[•]) enables the enhanced degradation of antibiotic resistance genes during UV/chlorine treatment by selectively inducing base damage[J]. *Environment International*, 2023, 178: 108121.
- [28] ZHU Y, WANG X, ZHANG J, et al. Generation of Active Mn(III)_(aq) by a novel heterogeneous electro-permanganate process with manganese(II) as promoter and stabilizer[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(15): 9063-9072.
- [29] SONG H, YAN L, MA J, et al. Nonradical oxidation from electrochemical activation of peroxydisulfate at Ti/Pt anode: Efficiency, mechanism and influencing factors[J]. *Water Research*, 2017, 116: 182-193.
- [30] LIU Z, ZHAO C, WANG P, et al. Removal of carbamazepine in water by electro-activated carbon fiber-peroxydisulfate: Comparison, optimization, recycle,

- and mechanism study[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 343: 28-36.
- [31] WANG Z, XIONG W, TEBBO B M, et al. Oxidative UO_2 dissolution induced by soluble Mn(III)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(1): 289-298.
- [32] ZHANG L, JIN H, MA H, et al. Oxidative damage of antibiotic resistant *E. coli* and gene in a novel sulfidated micron zero-valent activated persulfate system[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 381: 122787.
- [33] PIGEOT-RÉMY S, SIMONET F, ATLAN D, et al. Bactericidal efficiency and mode of action: A comparative study of photochemistry and photocatalysis[J]. *Water Research*, 2012, 46(10): 3208-3218.
- [34] YAN Y, ZHOU X, YU P, et al. Characteristics, mechanisms and bacteria behavior of photocatalysis with a solid Z-scheme Ag/AgBr/g-C₃N₄ nanosheet in water disinfection[J]. *Applied Catalysis A: General*, 2020, 590: 117282.
- [35] OSIMANI A, GAROFALO C, CLEMENTI F, et al. Bioluminescence ATP monitoring for the routine assessment of food contact surface cleanliness in a university canteen[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2014, 11(10): 10824-10837.
- [36] RATHINAVELU S, DIVYAPRIYA G, JOSEPH A, et al. Inactivation behavior and intracellular changes in *Escherichia coli* during electro-oxidation process using Ti/Sb-SnO₂/PbO₂ anode: Elucidation of the disinfection mechanism[J]. *Environmental Research*, 2022, 210: 112749.
- [37] SONG Y, ZHAO C, WANG T, et al. Simultaneously promoted reactive manganese species and hydroxyl radical generation by electro-permanganate with low additive ozone[J]. *Water Research*, 2021, 189: 116623.
- [38] KLEWICKI J K, MORGAN J J. Kinetic behavior of Mn(III) complexes of pyrophosphate, EDTA, and citrate[J]. *Environmental Science & Technology*, 1998, 32(19): 2916-2922.
- [39] PANIZZA M, CERISOLA G. Removal of organic pollutants from industrial wastewater by electrogenerated Fenton's reagent[J]. *Water Research*, 2001, 35(16): 3987-3992.
- [40] 张妮, 任松宇, 张燕羽, 等. 缓释铁源耦合气体扩散电极强化电芬顿降解环丙沙星[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(11): 3596-3605.
- [41] JIANG J, PANG S Y, MA J. Role of Ligands in permanganate oxidation of organics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(11): 4270-4275.
- [42] ZHANG C, TIAN S, QIN F, et al. Catalyst-free activation of permanganate under visible light irradiation for sulfamethazine degradation: Experiments and theoretical calculation[J]. *Water Research*, 2021, 194: 116915.
- [43] YUAN Y, WANG W, NIE M, et al. Visible light-mediated activation of periodate for bisphenol A degradation in the presence of Fe^{3+} and gallic acid at neutral pH[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 479: 147541.
- [44] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准: 城镇污水处理厂污染物排放标准: GB 18918-2002[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [45] KOURDALI S, BADIS A, BOUCHERIT A, et al. Electrochemical disinfection of bacterial contamination: Effectiveness and modeling study of *E. coli* inactivation by electro-Fenton, electro-peroxi-coagulation and electrocoagulation[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 226: 106-119.
- [46] RUBIO-CLEMENTE A, CHICA E, PEÑUELA G. Total coliform inactivation in natural water by UV/H₂O₂, UV/US, and UV/US/H₂O₂ systems[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(5): 4462-4473.

(责任编辑: 曲娜)

Simultaneous removal of ARB and ARGs by cathode flow-through reactor coupled with electro-activated permanganate process

ZHANG Xiaohui¹, SUN Wei¹, BIAN Jing¹, XIE Mushan², ZHONG Yihua³, ZHAO Chun^{1,*}

1. Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 2. School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China; 3. Department of Gastroenterology, Chongqing University Cancer Hospital, School of Medicine, Chongqing University, Chongqing 400030, China

*Corresponding author, E-mail: pureson@163.com

Abstract The issue of antibiotic resistance has received worldwide attention, especially its spread in water environment. To address this challenge, a cathode flow-through reactor was established in this study, then the effects and mechanisms of electro-activated permanganate on antibiotic removal, inactivation of antibiotic resistant *Escherichia coli* (AR *E. coli*), and reduction of resistance genes (ARGs) were investigated. The effects of permanganate dosage, current density, initial pH value, actual water bodies and water matrices, including humic acid (HA), chloride ion (Cl^-), bicarbonate (HCO_3^-), hydrogen phosphate (HPO_4^{2-}), on the inactivation of AR *E. coli* were investigated. The results showed electric cathode-permanganate process had significant synergistic disinfection effects at the permanganate concentration of only $7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the current density of $12.55 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, and the initial pH 5, achieving 4.92 log removal rate after 15 minutes. Meanwhile, the process exhibited a significant removal effect on the ARGs carried by the bacteria, resulting in a 3.89 log reduction (99.99%) in five ARGs. In addition, this process can also efficiently remove antibiotics, and could remove 96.4% tetracycline. Scanning electron microscopy images revealed that the treated bacteria were severely damaged and their cell membrane integrity was disrupted. Through further confirmation, it was found that lipid on the cell membrane were oxidized, while intracellular substances were gradually released and degraded, resulting in complete inactivation of AR *E. coli*. Detection of reactive manganese species and masking experiments identified $\text{Mn(III)}_{\text{aq}}$ as the primary disinfecting active species. In actual water, the process showed an excellent removal ability of AR *E. coli*. The presence of Cl^- had no effect on the inactivation of AR *E. coli*, while HA, HCO_3^- and HPO_4^{2-} all inhibited the inactivation process. The above result provides a reference for inhibit the spread of antibiotic resistance in aquatic environments.

Keywords AR *E. coli*; disinfection; ARGs; permanganate; electrochemistry