

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.81088

# 基于普鲁士蓝纳米花光催化降解 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的研究

张甜钰<sup>1,2</sup> 谢新辉<sup>1,2</sup> 吕艳<sup>1,2</sup> 鲁迨<sup>1,2,3,4</sup> 石星波<sup>1,2</sup>

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128; 3. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 4. 中医药民族医药国际联合实验室, 湖南 长沙 410208)

**摘要:** [目的] 实现黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 的高效、绿色降解。[方法] 利用核酸介导法制备具有高效光芬顿性能的普鲁士蓝纳米花 (PBNFs), 探究其对 AFB<sub>1</sub> 的光降解性能及机理。[结果] 在近红外光 (NIR) 照射下, PBNFs 表现出优异光芬顿性能, 4 h 内可完全去除 0.5 μg/mL 的 AFB<sub>1</sub>。经优化试验, 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 浓度、PBNFs 浓度和光照强度增加对光催化降解 AFB<sub>1</sub> 均有促进作用。PBNFs 经 NIR 照射触发 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解产生的活性氧破坏了 AFB<sub>1</sub> 的末端呋喃双键和苯环侧链。利用质谱分析 AFB<sub>1</sub> 的降解产物, 并通过细胞毒性试验证明了 AFB<sub>1</sub> 降解产物的毒性明显降低。将该方法用于 3 种葡萄酒样品中 AFB<sub>1</sub> 的降解, 降解率分别为 66.6%, 90.8%, 63.4%。[结论] NIR 驱动的 PBNFs 光催化降解 AFB<sub>1</sub> 的效率较高且具有绿色、无二次污染的优势。

**关键词:** 普鲁士蓝纳米花; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 近红外光; 过氧化氢; 降解

## Photocatalytic degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> based on prussian blue nanoflower

ZHANG Tianyu<sup>1,2</sup> XIE Xinhui<sup>1,2</sup> LU Yan<sup>1,2</sup> LU Dai<sup>1,2,3,4</sup> SHI Xingbo<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science and Technology Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha, Hunan 410128, China;

3. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

4. TCM and Ethnomedicine Innovation & Development International Laboratory, Changsha, Hunan 410208, China)

**Abstract:** [Objective] To achieve efficient and environmentally friendly degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>). [Methods] This work employs a nucleic acid-mediated methodology to synthesize Prussian Blue Nanoflowers (PBNFs) characterized by highly efficient photo-Fenton catalytic activity, investigating their photodegradation efficacy and mechanisms against Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>). [Results] The findings reveal that, under near-infrared light irradiation (NIR), 0.5 μg/mL of AFB<sub>1</sub> can be completely eliminated within 4 h, which is attributed to the exceptional photo-Fenton performance of the PBNFs photocatalyst. Optimization experiments indicate that increasing the concentrations of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and PBNFs, along with enhancing light intensity, significantly facilitates the photocatalytic degradation of AFB<sub>1</sub>. Reactive oxygen species generated from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposition, triggered by NIR irradiation of PBNFs, effectively disrupt the terminal furan double bond and the benzene ring side chain of AFB<sub>1</sub>. Mass spectrometry analysis was conducted to elucidate the degradation products of AFB<sub>1</sub>, and cytotoxicity assays demonstrated a significant reduction in the toxicity of the AFB<sub>1</sub> degradation products. The proposed method was applied to the degradation of AFB<sub>1</sub> in three wine samples, achieving degradation rates of 66.6%, 90.8%, and 63.4%, respectively. [Conclusion] This method provides an efficient and environmentally benign approach to the degradation of AFB<sub>1</sub> in food samples.

**Keywords:** prussian blue nanoflowers; aflatoxin B<sub>1</sub>; near infrared light; hydrogen peroxide; degradation

**基金项目:** 湖南省自然科学基金青年项目 (编号: 2024JJ6337); 中国博士后资助计划 (编号: GZB20230206); 湖南省教育厅优秀青年项目 (编号: 23B0380)

**通信作者:** 鲁迨 (1996—), 女, 湖南中医药大学在站博士后。E-mail: x944084134ld@163.com

**收稿日期:** 2024-10-03 **改回日期:** 2024-10-22

黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>) 是霉菌产生的最具代表性的生物污染物之一,因其致突变性、致畸性和致癌性而被国际癌症研究机构列为一级致癌物<sup>[1]</sup>。由于 AFB<sub>1</sub> 具有较高的热稳定性和化学稳定性,难以去除,可通过农产品加工废水转移到水生环境中,而且会通过食物链迁移到动物和人类体内<sup>[2-3]</sup>。因此,开发有效的 AFB<sub>1</sub> 降解技术对于改善环境和保护动物/人类健康具有重要意义。

AFB<sub>1</sub> 的降解可通过物理(高温、辐射等)、化学(碱处理、臭氧处理等)和生物(微生物、酶等)方法实现<sup>[4-5]</sup>。这些方法在一定程度上去除了 AFB<sub>1</sub>,但也有其自身的局限性。物理方法需要较长的降解时间,并且会破坏食品中的营养物质<sup>[6-7]</sup>。化学方法可能会留下残留物,造成二次污染<sup>[8-9]</sup>。生物方法需要较长的生长期和严格的环境条件<sup>[10-11]</sup>。近年来,先进氧化工艺(AOPs)因其通过生成高活性氧化自由基实现对难降解污染物的非选择性降解,被普遍认为是最高效的处理有机污染物的技术,其中芬顿反应和光催化反应是 AOPs 最突出的代表<sup>[12-13]</sup>。芬顿反应是过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)与 Fe<sup>2+</sup> 在酸性条件下相互作用,产生大量的强氧化性的羟自由基(·OH)。因此,Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> 的转化率严重影响了芬顿反应的降解效率<sup>[14]</sup>。光催化反应与芬顿技术的结合,可以实现 Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> 的循环,加速芬顿反应生成·OH,而且具有反应条件温和、在有机污染物降解过程中无二次污染等优点<sup>[15-17]</sup>。此外,·OH 的产生可破坏 AFB<sub>1</sub> 的两个主要剧毒位点,分别是末端咪唑环和甲氧基的双键<sup>[18-19]</sup>。

高效催化剂的设计是构建光芬顿降解系统的关键问题。普鲁士蓝纳米颗粒(prussian blue nanoparticles, PBNPs)最早被报道为一种通过在水中共沉淀 Fe<sup>3+</sup> 盐和 [Fe<sup>2+</sup>(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> 制备的配位化合物,其中交替的 Fe<sup>3+</sup> 和 Fe<sup>2+</sup> 通过氰基配体桥连,形成面心立方晶胞结构<sup>[20-21]</sup>。特殊的 Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> 交替的化学成分使 PBNPs 成为芬顿反应降解有机污染物的催化剂<sup>[22]</sup>。同时,PBNPs 在 500~1 100 nm 的近红外光(near-infrared light irradiation, NIR)区域也表现出显著的光学吸收,这表明 PBNPs 可用于开发近红外光催化剂<sup>[23]</sup>。这些特性使 PBNPs 成为光芬顿降解材料的良好选择。到目前为止,已有利用 PBNPs 的光芬顿性能来降解各种有机污染物的研究报道,这些报道主要侧重于 PBNPs 的应用和光芬顿催化机制研究<sup>[24-26]</sup>。尽管晶体形态的调整通常被认为是增强光芬顿降解活性的有效策略,但很少有研究探讨 PBNPs 形态的控制与其光芬顿催化性能之间的关系。课题组<sup>[27]</sup>前期开发了一种 DNA 介导的普鲁士蓝纳米花(prussian blue nanoflowers, PBNFs)的系统可预测合成,与 PBNPs 相比,其光芬顿催化性能得到增强。

研究拟开发一种利用 DNA 介导的 PBNFs 在近红外光催化下降解 AFB<sub>1</sub> 的新方法。通过优化降解条件,探索

AFB<sub>1</sub> 降解过程中生成的活性基团,并分析降解产物的类型及其细胞毒性。同时,研究 PBNFs 在葡萄酒中降解 AFB<sub>1</sub> 的应用潜力,期望为 AFB<sub>1</sub> 的去除提供一种高效、安全的技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

亚铁氰化钾(K<sub>4</sub>Fe[CN]<sub>6</sub>):分析纯,阿拉丁生化科技股份有限公司;

葡萄酒 1、葡萄酒 2、葡萄酒 3:市售;

甲基噻唑基四唑细胞增殖和细胞毒性测定试剂盒(MTT 试剂盒):上海生工生物技术有限公司;

甲醇:色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

AFB<sub>1</sub> 标准品(≥99%)、AFB<sub>1</sub> 试剂盒:美正生物科技有限公司;

DNA(CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC):上海生工生物技术有限公司;

盐酸(HCl)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、叔丁醇、对苯醌、草酸铵:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

扫描电子显微镜:JSM-7900F 型,日本电子光学公司;

透射电子显微镜:FEI Talos 200X/Talos F200i 型,美国赛默飞公司;

电子天平:CP114 型,奥豪斯仪器上海有限公司;

微量离心机:Heracus Pico 17 型,赛默飞世尔科技有限公司;

高效液相色谱仪:Waters Acquity 型,沃特世科技上海有限公司;

多功能酶标仪:SPARK 20M 型,瑞士帝肯公司;

数显恒温水浴锅:HH-WO 型,常州拓兴实验仪器厂;

色谱柱:Venusil MP C<sub>18</sub> 型,博纳艾杰尔科技有限公司;

液相质谱联用仪:XEVO-TQS 型,沃特世科技上海有限公司;

激光器:LSR808H-7W-FC 型,吉腾电子科技有限公司;

真空干燥箱:DZF-0B 型,上海龙跃仪器设备有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 普鲁士蓝纳米花(PBNFs)的制备 采用一锅法<sup>[27]</sup>。在含有 200 nmol/L 单链 DNA 的 4.25 mL 水溶液中加入 500 μL K<sub>4</sub>Fe[CN]<sub>6</sub>(100 mmol/L)溶液,摇匀后,加入 250 μL HCl(5 mol/L),混合液在 60 °C 烘箱中孵育 6 h,5 000 r/min 离心 10 min 收集得到蓝色固体,用去离子水清洗 3 次,将悬浮液在真空干燥箱中于 60 °C 下干燥 12 h 后获得 PBNFs。

1.2.2 光催化降解水溶液中的 AFB<sub>1</sub> 研究 PBNFs 在 NIR

照射下对 AFB<sub>1</sub> 进行降解的光催化性能。光照前,将 1.5 mg PBNFs 分散于 5 mL 的 AFB<sub>1</sub> 溶液(0.5 μg/mL)中,在黑暗中搅拌 30 min 使其达到吸附平衡,然后在持续搅拌下向反应体系中加入 25 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液(9.8 mol/L)置于 NIR 下进行照射,待一定时间后,取 1 mL 悬浮液,用 0.22 μm 过滤器过滤,煮沸 5~10 min,去除残留 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, -20 °C 保存,用于 HPLC 分析。按式(1)计算 AFB<sub>1</sub> 降解率。

$$R = (1 - C_t / C_0) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$R$ ——降解率, %;

$C_0$ ——AFB<sub>1</sub> 初始质量浓度, μg/mL;

$C_t$ ——降解后 AFB<sub>1</sub> 质量浓度, μg/mL。

### 1.2.3 光催化降解 AFB<sub>1</sub> 的条件优化单因素试验设计

(1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度: 固定 PBNFs 质量浓度 0.300 mg/mL, 激光光照强度 2.8 W/cm<sup>2</sup>, 分别选取 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度为 10, 20, 50, 100 mmol/L 进行试验, 确定最佳 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度。

(2) PBNFs 质量浓度: 固定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 50 mmol/L, 激光光照强度 2.8 W/cm<sup>2</sup>, 分别选取 PBNFs 质量浓度为 0.075, 0.150, 0.300, 0.600 mg/mL 进行试验, 确定最佳 PBNFs 质量浓度。

(3) 激光光照强度: 固定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 50 mmol/L, PBNFs 质量浓度 0.300 mg/mL, 分别选取激光光照强度为 0.7, 1.4, 2.8, 4.0 W/cm<sup>2</sup> 进行试验, 确定最佳激光光照强度。

1.2.4 AFB<sub>1</sub> 测定及其降解产物分析 AFB<sub>1</sub> 浓度由 Waters Acquity HPLC 系统与荧光检测器连接测定。根据文献[28], 修改如下: 样品采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 3 μm 直径)进行分离。流动相为醋酸铵水溶液(5 mmol/L)–甲醇( $V_{\text{醋酸铵水溶液}}:V_{\text{甲醇}}=30:70$ )。荧光检测器的激发波长 360 nm, 发射波长 440 nm。流量 1.0 mL/min, 柱温 40 °C。注入样品提取物(10 μL), 通过峰面积测定样品提取物中 AFB<sub>1</sub> 浓度。为了考察处理后 AFB<sub>1</sub> 的降解产物, 对含有 0.5 μg/mL AFB<sub>1</sub> 的水溶液进行处理。通过液相色谱–质谱联用仪(LC-MS)进行电喷雾电离质谱法(ESI-MS)研究, 以确定 AFB<sub>1</sub> 转化产物的  $m/z$ 。ESI 接口采用正离子模式, 高分辨率全质谱扫描。设备条件设定: 雾化器压力 275.8 kPa; 气体温度 350 °C; 脱溶气流量 10 L/min; 锥孔电压 65 V。所得的  $m/z$  值与标准 AFB<sub>1</sub> 及其可能转化产物的相对分子质量进行比较。

1.2.5 AFB<sub>1</sub> 及其降解产物的毒性分析 采用 MTT 法定量测定 AFB<sub>1</sub> 及其降解产物的细胞毒性<sup>[29]</sup>。将肝癌细胞样细胞 HepG2 添加至含有 10% 胎牛血清(FBS)的 RPMI 1640 培养基中, 并在 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C 的环境下培养。将 HepG2 细胞( $1 \times 10^5$  个/孔)接种于 96 孔培养板中培养 24 h。然后用不同质量浓度的 AFB<sub>1</sub>(0.05~0.60 μg/mL)及其降解产物处理稳定的细胞 24 h。根据酶标仪测定的 570 nm 处的吸光度值分析细胞毒性。

1.2.6 葡萄酒样品中 AFB<sub>1</sub> 的降解 从当地超市购买 3 种不同品牌的葡萄酒, 分别作为 AFB<sub>1</sub> 降解的食品基质。取 1 mL 葡萄酒样品稀释 4 倍; 向其中加入 PBNFs(0.3 mg/mL)和 AFB<sub>1</sub> 标品(0.5 μg/mL), 在黑暗环境中搅拌 30 min 使降解体系达到吸附平衡, 然后在持续搅拌的条件下向反应体系中加入 25 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液(9.8 mol/L)置于 NIR 下照射一段时间后, 取 2 mL 悬浮液, 用 0.22 μm 的滤膜过滤掉 PBNFs; 并将滤液煮沸 5~10 min, 去除残留 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。从中取 1 mL 降解 AFB<sub>1</sub> 后的样本与 2 mL 三氯甲烷混合, 振荡 3 min, 于 4 000 r/min 离心 5 min; 取下层有机相溶液 1 mL, 旋转蒸干后加 1 mL 10% 甲醇复溶, 最后通过 HPLC 分析 AFB<sub>1</sub> 含量。

1.2.7 数据处理 利用 ChemDraw20.0 绘制 AFB<sub>1</sub> 及其降解产物结构式; 使用 Origin2021 统计分析软件进行线性拟合并作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 PBNFs 的表征

PBNFs 的合成过程如图 1 所示。采用扫描电镜(SEM)和高分辨率透射电镜(HAADF-STEM)对 PBNFs 进行形貌表征, 如图 2 所示, PBNFs 呈约为 2 μm 的实心花状结构; PBNFs 中的 Fe、N、P 元素分布均匀。其中 P 元素来源于 DNA, 证实了 PBNFs 的成功合成。

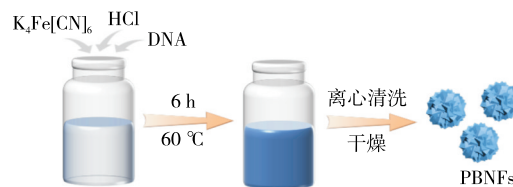


图 1 PBNFs 的合成示意图

Figure 1 Schematic of PBNFs synthesis

### 2.2 PBNFs 光催化降解 AFB<sub>1</sub> 的可行性研究

如图 3(a) 所示, 随着 AFB<sub>1</sub> 质量浓度的增加, 保留时间为 9.5 min 对应的峰面积逐渐增加。图 3(b) 显示, 在 0.05~0.60 μg/mL 范围内 AFB<sub>1</sub> 质量浓度与峰面积呈很强的线性关系, 其标准方程为:  $y = 6.70 \times 10^{-6}x - 13\ 892$ ,  $R^2 = 0.998$ 。PBNFs 在不同反应体系中对 AFB<sub>1</sub> 去除的影响如图 4 所示。在 NIR 照射下, AFB<sub>1</sub> 不能被去除(线 1); PBNFs 去除 AFB<sub>1</sub> 的效率不明显(线 3); 当 PBNFs 与 NIR 同时存在时, 降解 AFB<sub>1</sub> 的效果仍然较差(线 2); 仅加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 时能去除一定量的 AFB<sub>1</sub>(线 4), 主要归因于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的自分解产生的活性氧。当反应体系中同时存在 PBNFs 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 时, AFB<sub>1</sub> 的降解效率显著提高(线 5)。进一步引入 NIR 后, 降解体系在 4 h 内对 AFB<sub>1</sub> 的去除效率接近 100%(线 6)。说明 PBNFs 的催化作用在 AFB<sub>1</sub> 降解过程中起主导作用, 而 NIR 在 AFB<sub>1</sub> 降解中起协同作用。

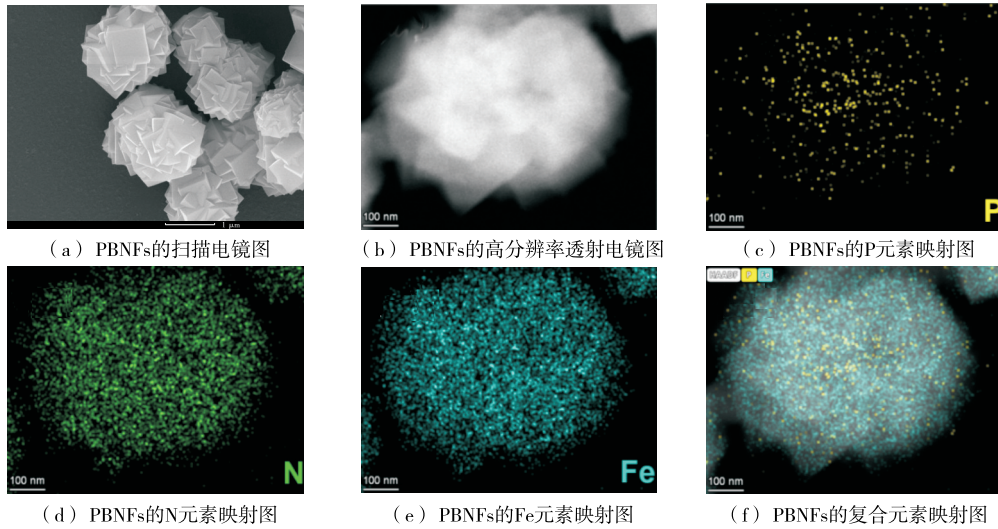


图 2 PBNFs 的形貌表征

Figure 2 Morphological characterization of PBNFs

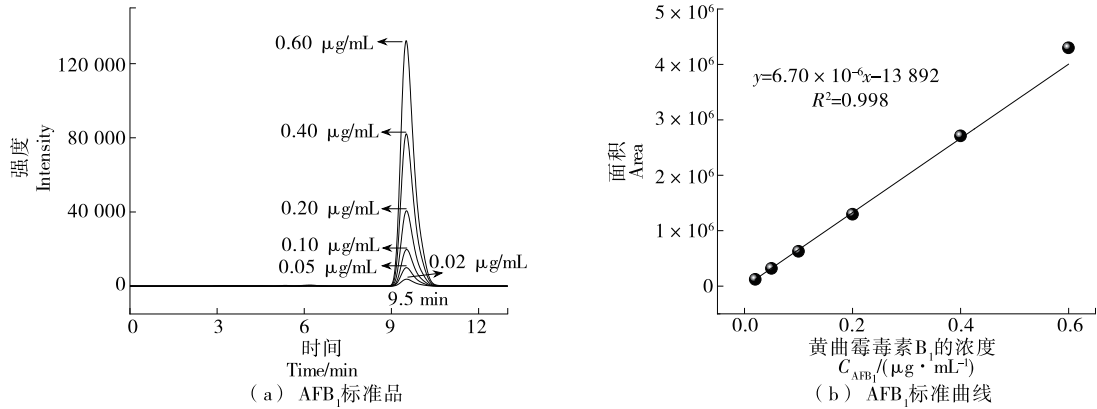


图 3 AFB<sub>1</sub> 的 HPLC 图及标准曲线

Figure 3 HPLC diagram and standard curve of AFB<sub>1</sub>

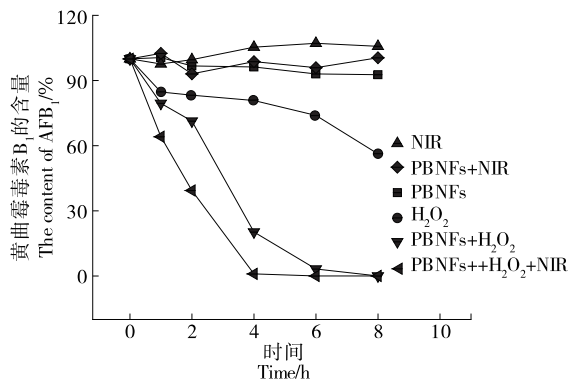


图 4 不同降解体系中 AFB<sub>1</sub> 含量随时间的变化

Figure 4 The content of AFB<sub>1</sub> in different degradation systems with time

2.3 PBNFs 光芬顿降解 AFB<sub>1</sub> 的条件优化

由图 5(a) 可知, PBNFs 的催化性能与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度呈正

相关关系, 这是因为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为 ·OH 的前驱体, 其浓度增加会促进 ·OH 产量上升, 从而增强 AFB<sub>1</sub> 降解效果。但 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度较低时, PBNFs 对 AFB<sub>1</sub> 的降解能力较弱, 需要借助 NIR 的辅助作用提升降解效果。图 5(b) 表明, PBNFs 质量浓度的增大有助于吸附、催化和光催化性能的提升, 这归因于 PBNFs 的吸附位点以及光催化反应的活性中心增多。此外, 如图 5(c) 所示, 随着光照强度的增加, 光催化辅助能力明显增强, 说明较大的光照强度有利于 AFB<sub>1</sub> 的去除。这是因为光照强度的增加使降解体系的透过率增大, 从而提高了光子的利用率。综上, PBNFs 在吸附、光辅助和催化之间存在一个“权衡”。从降解效果以及节省材料的角度出发, 选择 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度为 50 mmol/L, PBNFs 质量浓度为 0.3 mg/mL 以及 NIR 光照强度为 2.8 W/cm<sup>2</sup> 作为后续试验的降解条件。

2.4 PBNFs 光芬顿降解 AFB<sub>1</sub> 的机理探究

分别以叔丁醇和苯醌为清除 ·OH 和过氧羟基自由基

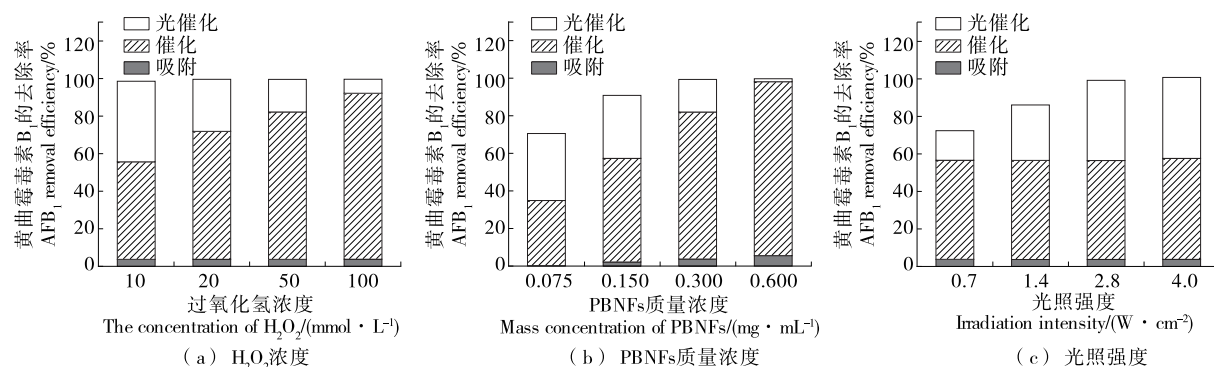


图5 PBNFs光芬顿降解AFB<sub>1</sub>的单因素试验结果

Figure 5 Single factor test results of PBNFs photo-Fenton degradation AFB<sub>1</sub>

(·OOH)的清除剂。如图6所示,加入叔丁醇后PBNFs对AFB<sub>1</sub>的光催化效率下降至33.5%,加入苯醌后光催化效率下降至64.8%。说明·OH在AFB<sub>1</sub>的光降解过程中起主要作用,其次是·OOH。

此外,通过MS进一步研究了PBNFs光催化AFB<sub>1</sub>的降解产物。如图7所示,AFB<sub>1</sub>标准样品的质谱特征峰为 *m/z* 313.32。而在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在下,经NIR光照后,3种降解产物的质谱特征峰明显增加,分别为 *m/z* 295.16(P1), *m/z* 325.14(P2)和 *m/z* 345.12(P3)。加成和脱甲基化是AFB<sub>1</sub>的主要降解途径。与AFB<sub>1</sub>相比,C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>8</sub>(P3)在 *m/z* 345.12主要多了两个氧原子,这种结构是由于氧在末端呋喃环上发生氧化反应而形成的;而C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>(P2)是通

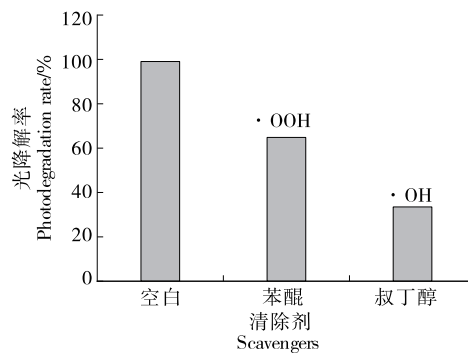
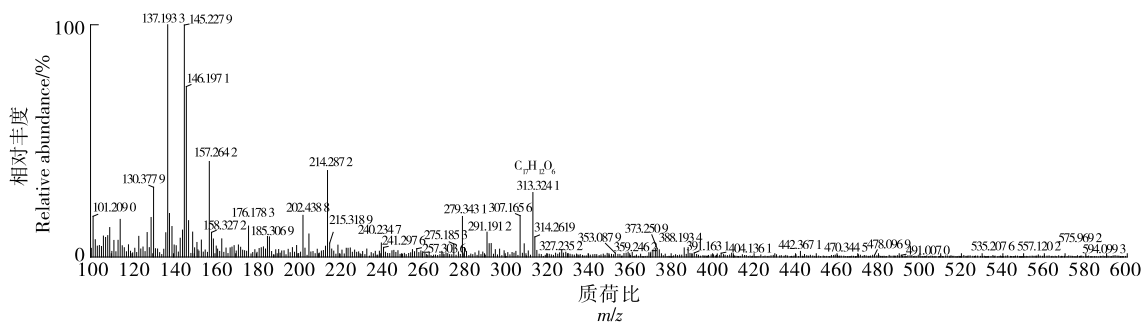
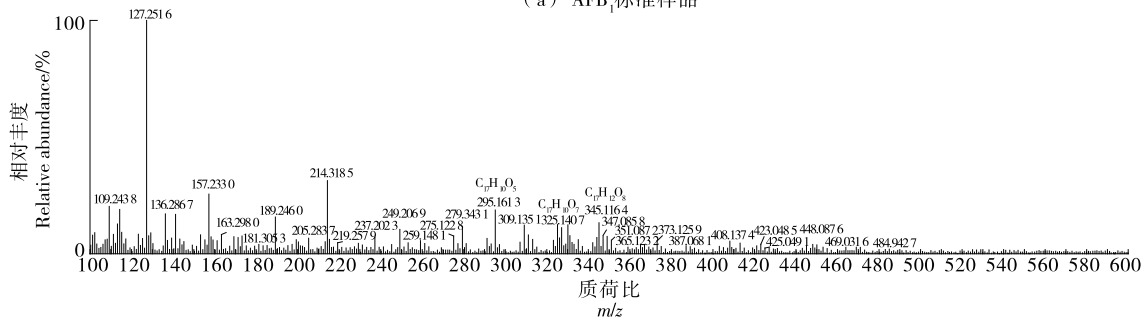


图6 不同的清除剂条件下PBNFs对AFB<sub>1</sub>降解的影响

Figure 6 The degradation of AFB<sub>1</sub> by PBNFs in the presence of different scavenger conditions



(a) AFB<sub>1</sub>标准样品



(b) 降解产物

图7 正ESI模式下AFB<sub>1</sub>标准样品和降解产物的质谱图

Figure 7 MS spectra of AFB<sub>1</sub> standard samples and degradation products in the positive ESI mode

过  $C_{17}H_{12}O_8$  (P3) 脱去一分子水形成。Zhang 等<sup>[30]</sup> 推测的降解途径中的这两种降解产物, 是由于末端呋喃环或甲氧基的双键被破坏, 并且细胞毒性试验证明了这些降解化合物的毒性明显低于 AFB<sub>1</sub>。  $m/z$  295.16 (P1) 上与  $C_{17}H_{10}O_5$  相关的离子峰可能是 P2 结构中呋喃环脱羧基反应, 以及苯环侧链去甲基化而形成的, 由于末端环中 C8 和 C9 碳之间的双键被破坏, 推测其毒性小于 AFB<sub>1</sub>。末端呋喃环上的双键和苯环侧链的甲基被认为是 AFB<sub>1</sub> 毒性和诱变活性的原因。 AFB<sub>1</sub> 的解毒和突变活性的消除可能是由末端呋喃双键的破坏和苯环侧链去甲基化引起的<sup>[31]</sup>。基于以上分析, 图 8 提出了 PBNFs 对 AFB<sub>1</sub> 降解可能的光催化机理。在 NIR 光照下, 电子转移能将 PBNFs 中的  $Fe^{3+}$  转化为  $Fe^{2+}$ , 较高含量的  $Fe^{2+}$  与  $H_2O_2$  产生芬顿反应生成大量  $\cdot OH$ 。  $Fe^{3+}$  将  $H_2O_2$  分解为中间物  $\cdot OOH$ , 同时还还原为  $Fe^{2+}$ , 有利于  $Fe^{2+}$  的循环利用。随后,  $\cdot OOH$  与  $H_2O_2$  迅速反应, 进一步生成活性  $\cdot OH$ 。

2.5 AFB<sub>1</sub> 降解产物的毒性分析

从图 9 可以看出, 0.05~0.60  $\mu g/mL$  的 AFB<sub>1</sub> 对 HepG2 均有毒性作用, 使 HepG2 的存活率大幅度降低, 并且随着 AFB<sub>1</sub> 浓度的增加, 细胞毒性越强, HepG2 的存活率越来越低; 而光催化降解产物对 HepG2 的存活率影响较小, 细胞毒性大幅度下降。

2.6 基于 PBNFs 降解葡萄酒中的 AFB<sub>1</sub>

如图 10 所示, AFB<sub>1</sub> (0.01~1.00  $\mu g/mL$ ) 标准样品的液

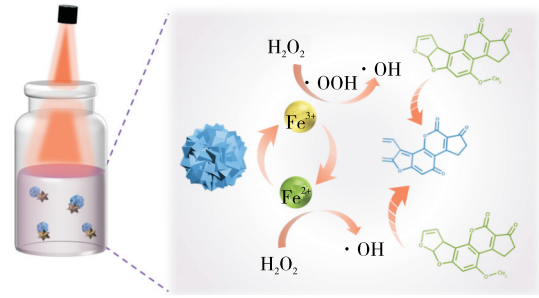


图 8 近红外催化 PBNFs 降解 AFB<sub>1</sub> 的示意图

Figure 8 Schematic illustration of NIR-catalyzed PBNFs for AFB<sub>1</sub> degradation

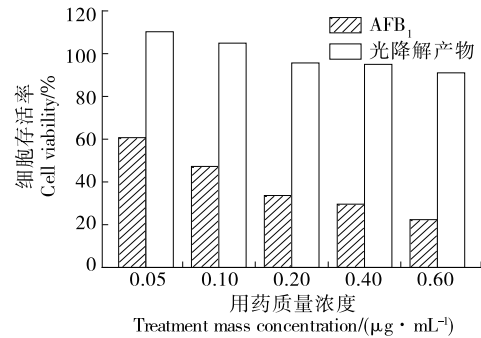


图 9 AFB<sub>1</sub> 和 AFB<sub>1</sub> 光催化降解产物的体外细胞毒性研究

Figure 9 In vitro cytotoxicity of AFB<sub>1</sub> and AFB<sub>1</sub> photocatalytic degradation products

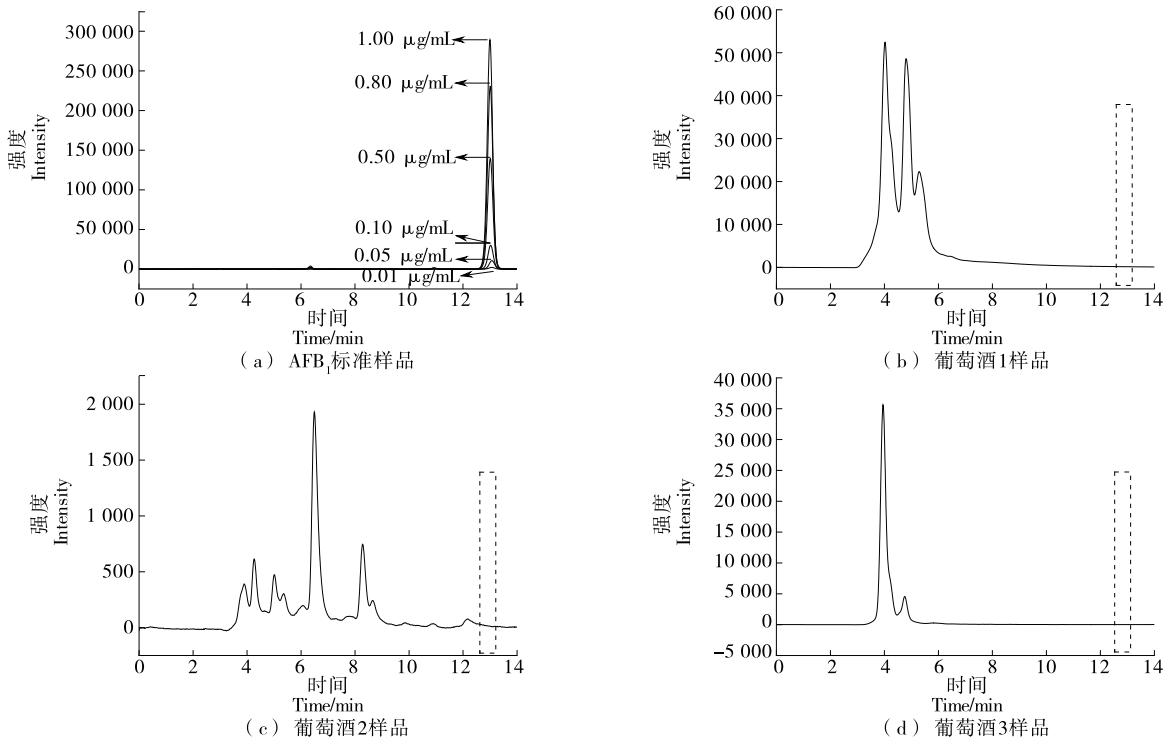


图 10 AFB<sub>1</sub> 标准样品和 3 种市售葡萄酒样品的液相色谱图

Figure 10 The liquid chromatograms of AFB<sub>1</sub> standard sample and three wine samples

相色谱图,出峰时间在13 min左右;3种葡萄酒样品在13 min左右并未出现特征峰,表明未检出AFB<sub>1</sub>。将AFB<sub>1</sub>标样加入未检出AFB<sub>1</sub>且未处理过的葡萄酒中,在光催化体系作用4 h后,3种葡萄酒中的AFB<sub>1</sub>含量分别下降66.6%,90.8%,63.4%(图11)。推测这些样品经过降解处理后,毒性显著下降,该光催化体系具有优异的实际应用性。然而,葡萄酒1和葡萄酒3样品中AFB<sub>1</sub>的去除率未达到预期效果,这可能是葡萄酒中多种营养物质及复杂成分的干扰,这些成分可能会与PBNFs表面发生非特异性吸附导致部分活性位点被掩蔽,甚至这些物质还会直接影响光透过率,从而降低了PBNFs的光催化效率。

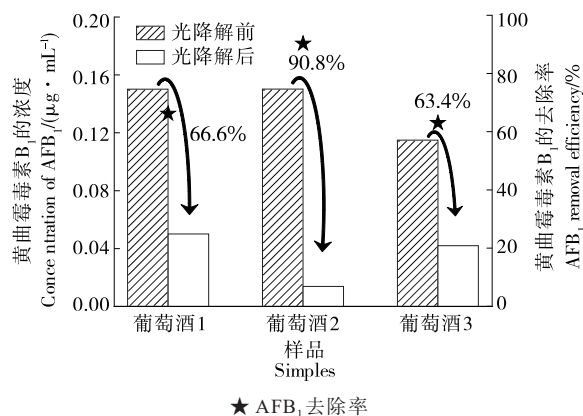


图11 光催化降解3种市售葡萄酒中的AFB<sub>1</sub>

Figure 11 Photocatalytic degradation of AFB<sub>1</sub> in three different brands of wine

### 3 结论

以普鲁士蓝纳米花作为光催化剂,在4 h内实现了黄曲霉毒素B<sub>1</sub>的完全降解,并探究了光降解机理。结果表明,光催化降解黄曲霉毒素B<sub>1</sub>的效率随过氧化氢浓度、普鲁士蓝纳米花浓度、光照强度的增加而增强。羟自由基和过氧羟基自由基活性物质直接作用于黄曲霉毒素B<sub>1</sub>末端呋喃双键和苯环侧链,近红外光起辅助作用。进一步分析了黄曲霉毒素B<sub>1</sub>降解过程的中间产物,并通过细胞毒性试验验证了降解产物毒性明显低于黄曲霉毒素B<sub>1</sub>。与现有的传统降解方法相比,近红外光驱动的普鲁士蓝纳米花光催化降解黄曲霉毒素B<sub>1</sub>具有绿色、无二次污染的优势。但是普鲁士蓝纳米花在食品应用中仍有一定的局限性,可进一步优化光催化剂的表面结构和光催化性能以减少食品体系中复杂基质的干扰及缩短降解时间,研发出更稳定高效的光催化剂用于食品中真菌毒素污染控制。

#### 参考文献

[1] GONDA M, RUFO C, GONZALEZ-ANDUJAR J L, et al.

Mitigating aflatoxin B<sub>1</sub> in high-moisture sorghum silage: *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B<sub>1</sub> prediction[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1360343.

[2] ZABETI N, KEYHANIZADEH A K, FARAJI A R, et al. Activate hydrogen peroxide for facile and efficient removal of aflatoxin B<sub>1</sub> by magnetic Pd-chitosan/rice husk-hercynite biocomposite and its impact on the quality of edible oil[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 254: 127897.

[3] SONG C G, YANG J, WANG Y D, et al. Mechanisms and transformed products of aflatoxin B<sub>1</sub> degradation under multiple treatments: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2024, 64(8): 2 263-2 275.

[4] PENG Z, CHEN L K, ZHU Y L, et al. Current major degradation methods for aflatoxins: a review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 80: 155-166.

[5] DENG L Z, TAO Y, MUJUMDAR A S, et al. Recent advances in non-thermal decontamination technologies for microorganisms and mycotoxins in low-moisture foods[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 106: 104-112.

[6] SU H C, XIE Y X, CHENG X, et al. The effect of dual-frequency ultrasound on synergistic sonochemical oxidation to degrade aflatoxin B<sub>1</sub>[J]. *Food Chemistry*, 2024, 457: 139708.

[7] 连胜青, 钱鑫, 刘楚岑, 等. 微生物法针对毒性位点降解黄曲霉毒素B<sub>1</sub>的研究进展[J]. *食品与机械*, 2023, 39(3): 226-232.

LIAN S Q, QIAN X, LIU C C, et al. Research progress on degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> by microbial method according to toxicity sites of aflatoxin B<sub>1</sub>[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(3): 226-232.

[8] LONCAR J, BELLICH B, PARRONI A, et al. Oligosaccharides derived from tramesan: their structure and activity on mycotoxin inhibition in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius*[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 243.

[9] TEMBA B A, SULTANBAWA Y, KRITICOS D J, et al. Tools for defusing a major global food and feed safety risk: nonbiological postharvest procedures to decontaminate mycotoxins in foods and feeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(47): 8 959-8 972.

[10] VERHEECKE C, LIBOZ T, MATHIEU F. Microbial degradation of aflatoxin B<sub>1</sub>: current status and future advances [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 237: 1-9.

[11] ZHOU W T, ZHANG W X, CAI Y P. Laccase immobilization for water purification: a comprehensive review[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 403: 126272.

[12] XU L J, DUAN L, PAN Y W, et al. Mechanistic study of cobalt and iron based prussian blue analogues to activate peroxymonosulfate for efficient diclofenac degradation[J]. *Separation and Purification Technology*, 2022, 303: 122137.

[13] XIE Z H, HE C S, PEI D N, et al. Review of characteristics, generation pathways and detection methods of singlet oxygen

- generated in advanced oxidation processes (AOPs) [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 468: 143778.
- [14] XIE L X, ZHANG T S, WANG X Y, et al. Facile construction of  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  mediated charge transfer pathway in MIL-101 for effective tetracycline degradation[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 359: 131808.
- [15] AN W J, WANG H, YANG T, et al. Enriched photocatalysis-fenton synergistic degradation of organic pollutants and coking wastewater via surface oxygen vacancies over Fe-BiOBr composites[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 451: 138653.
- [16] LI J Q, MEI Y Q, MA S C, et al. Internal-electric-field induced high efficient type-I heterojunction in photocatalysis-self-fenton reaction: enhanced  $\text{H}_2\text{O}_2$  yield, utilization efficiency and degradation performance[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 608: 2 075-2 087.
- [17] SUN S M, ZHAO R, XIE Y L, et al. Photocatalytic degradation of aflatoxin  $\text{B}_1$  by activated carbon supported  $\text{TiO}_2$  catalyst[J]. *Food Control*, 2019, 100: 183-188.
- [18] MAO J, LI P W, WANG J M, et al. Insights into photocatalytic inactivation mechanism of the hypertoxic site in aflatoxin  $\text{B}_1$  over clew-like  $\text{WO}_3$  decorated with CdS nanoparticles[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2019, 248: 477-486.
- [19] PEREZ-GOMEZ E O, GARCIA-ROSALES G, LONGORIA-GANDARA L C, et al. Obtention of biochar-Ca nanoparticles using citrus tangerina: a morphological, surface and study remotion of aflatoxin AFB1[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127339.
- [20] GAO Y, YU G C, XING K R, et al. Finely tuned prussian blue-based nanoparticles and their application in disease treatment [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(32): 7 121-7 134.
- [21] ZHANG W, HU S, YIN J J, et al. Prussian blue nanoparticles as multienzyme mimetics and reactive oxygen species scavengers[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2016, 138(18): 5 860-5 865.
- [22] LIN H B, FANG Q, WANG W, et al. Prussian blue/PVDF catalytic membrane with exceptional and stable Fenton oxidation performance for organic pollutants removal[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2020, 273: 119047.
- [23] HAO Y, DENG S M, WANG R X, et al. Development of dual-enhancer biocatalyst with photothermal property for the degradation of cephalosporin[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 429: 128294.
- [24] LIU X, WANG W, LIN H B, et al. Construction of hierarchical Prussian blue microcrystal with high sunlight absorption for efficient photo-thermal degradation of organic pollutants[J]. *Separation and Purification Technology*, 2021, 269: 118724.
- [25] FENG K Z, WANG Z Z, WANG S, et al. Elucidating the catalytic mechanism of prussian blue nanozymes with self-increasing catalytic activity[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 5 908.
- [26] FU J J, WU B, WEI M Y, et al. Prussian blue nanosphere-embedded in situ hydrogel for photothermal therapy by peritumoral administration[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2019, 9(3): 604-614.
- [27] LU D, JIANG H, GAO W L, et al. DNA-dependent prussian blue nanoflowers for biosensing, catalysis and imaging[J]. *Advanced Functional Materials*, 2023, 33(4): 2208897.
- [28] SUN S M, ZHAO R, XIE Y L, et al. Reduction of aflatoxin  $\text{B}_1$  by magnetic graphene oxide/ $\text{TiO}_2$  nanocomposite and its effect on quality of corn oil[J]. *Food Chemistry*, 2021, 343: 128521.
- [29] LIU Y L, MAO H J, YOHANNES K W, et al. Degradation of aflatoxin  $\text{B}_1$  by a recombinant laccase from *Trametes* sp. C30 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*: a mechanism assessment study in vitro and in vivo[J]. *Food Research International*, 2021, 145: 110418.
- [30] ZHANG Y Q, SUN Y M, MAN Y, et al. Highly efficient adsorption and catalytic degradation of aflatoxin  $\text{B}_1$  by a novel porous carbon material derived from Fe-doped ZIF-8[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 440: 135723.
- [31] BENKERROUM N. Chronic and acute toxicities of aflatoxins: mechanisms of action[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(2): 423.