

DNA 吸附消除黄曲霉毒素 G₁

马琼, 李军生*, 黄国霞, 阎柳娟, 马纪

(广西科技大学生物与化学工程学院, 广西柳州 545006)

摘要: 鉴于黄曲霉毒素 G₁ (AFG₁) 的毒性强, 难降解和有效去除, 利用 AFG₁ 与 DNA 的嵌插结合, 构建选择性吸附消除 AFG₁ 的有效方法。AFG₁ 嵌入 DNA 的最佳反应条件为 pH 7.4 及 30 °C, 其 DNA 结合饱和值和去除率为 1.66、88.14%。添加 NaCl、CaCl₂、L-天冬氨酸、葡萄糖、尿素、亮氨酸、赖氨酸、维生素 C 等后, DNA 结合饱和值分别为 1.45、1.45、1.29、1.05、1.95、1.95、2.32 和 2.90。去除率分别为 78.08%、76.44%、75.92%、75.16%、88.41%、88.67%、88.87%、90.27%。NaCl、CaCl₂、L-天冬氨酸、葡萄糖等负电基团或者离子强度较高不利于 AFG₁-DNA 嵌插结合, 而尿素、亮氨酸、赖氨酸、维生素 C 等带正电基团和相似基团的物质利于 AFG₁-DNA 的嵌插结合。花生油中的 AFG₁ 的去除率达到 80% 以上。动力学相关系数和吸附容量可知, 该吸附过程符合准二级动力学模型, 表明吸附过程的限速步骤为化学相互作用。吸附过程遵循 Freundlich 等温吸附模型, 该吸附过程为多层吸附。热力学结果显示 DNA 对 AFG₁ 的吸附是自发的放热过程。综上, DNA 能选择性吸附 AFG₁, 因此, 可进一步开发 DNA 新型材料, 在去除食品中黄曲霉毒素方面有重要意义。

关键词: 黄曲霉毒素 G₁; DNA; 嵌插结合; 影响因素; 吸附

文章编号: 1673-9078(2022)10-272-282

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.10.1361

Removal of Aflatoxin G₁ by DNA Adsorption

MA Qiong, LI Junsheng*, HUANG Guoxia, YAN Liujuan, MA Ji

(College of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: In view of the high toxicity of aflatoxin G₁ (AFG₁) and the difficulty in decomposing and effectively removing it, an effective method for selective adsorption and elimination of AFG₁ was established *via* intercalation of AFG₁ and DNA. The optimum reaction conditions for intercalating AFG₁ into DNA molecules were pH 7.4 and 30 °C, and the DNA binding saturation value and removal rate were 1.66 and 88.14%. After the addition of sodium chloride, calcium chloride, L-aspartic acid, glucose, urea, leucine, lysine or vitamin C, the DNA binding saturation values were 1.45, 1.45, 1.29, 1.05, 1.95, 1.95, 2.32 and 2.90 respectively, with the removal rates being 78.08%, 76.44%, 75.92%, 75.16%, 88.41%, 88.67%, 88.87% and 90.27% respectively. A negatively charged group (such as sodium chloride, calcium chloride, L-aspartic acid and glucose), or a relatively high ionic strength, was not conducive to the intercalation of AFG₁ and DNA, whilst substances carrying positively charged groups and similar groups (such as urea, leucine, lysine, and vitamin C) were conducive to the AFG₁-DNA intercalation. The removal rate of AFG₁ in peanut oil reached over 80%. The kinetic correlation coefficient and adsorption capacity showed that the adsorption process conformed to the pseudo-second-order order model, indicating that the rate-limiting step of the adsorption process was chemical interaction. The adsorption process followed the Freundlich isotherm adsorption model, thus the adsorption process was multilayer adsorption. Thermodynamic results showed that the adsorption of AFG₁ by DNA was a spontaneous exothermic process. In conclusion, DNA can selectively adsorb AFG₁. Therefore, new DNA materials can be further developed, which is of great significance in the removal of aflatoxin in food.

Key words: aflatoxin G₁; DNA; intercalation; influencing factors; adsorption

引文格式:

马琼,李军生,黄国霞,等.DNA 吸附消除黄曲霉毒素 G₁ [J].现代食品科技,2022,38(10):272-282

MA Qiong, LI Junsheng, HUANG Guoxia, et al. Removal of aflatoxin G₁ by DNA adsorption [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(10): 272-282

收稿日期: 2021-12-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21966008); 广西自然科学基金项目 (2018GXNSFDA281030); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFAA159021)

作者简介: 马琼 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物分子的化学修饰与功能, E-mail: 1963247543@qq.com

通讯作者: 李军生 (1963-), 男, 博士研究生, 教授, 研究方向: 生物分子的化学修饰与功能, E-mail: junshenglee63@aliyun.com

黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AFT) 是由黄曲霉和寄生曲霉产生的双呋喃环类毒素。衍生物约有 20 多种, 具有极强的致畸性、致癌性和致突变性, 对肺部、肝脏、神经系统等器官具有极强的毒性^[1]。1993 年, 黄曲霉毒素被世界卫生组织癌症研究机构列为一类致癌物, 常见的黄曲霉毒素 (B₁、B₂、G₁、G₂), AFG₁ 的毒性仅次于 AFB₁^[2,3]。玉米、花生、大豆等农作物在种植、收获、储藏、加工等过程中易滋生毒素。常采用物理、化学、生物等传统方法去除黄曲霉毒素^[4-8]。虽然吸附、热处理、萃取等物理方法可以去除黄曲霉毒素, 但存在去除效率较低、成本高、对温度的要求较高等问题。经酸碱、氧化还原等化学方法处理易产生副产物以及残留试剂, 导致二次污染。生物方法主要采用微生物或其产生的酶及其制剂来对黄曲霉毒素进行去除, 过程中有可能产生新的有毒物质。所以研究一种高效去除黄曲霉毒素的方法十分必要。DNA 是生物体内主要的遗传物质, 广泛存在于自然界中, 具有极高的生物安全性。黄曲霉毒素属呋喃香豆素的衍生物, 是一类典型 DNA 嵌入剂分子, 因此, 通过生物安全的 DNA 选择性主动俘获消除黄曲霉毒素的创新构想, 正好为更加安全高效地消除黄曲霉毒素提供了新思路 and 借鉴。

DNA 主要由含氮碱基、戊糖和磷酸骨架组成, 具有独特的双螺旋结构, 对许多平面芳香结构的化合物具有很好的亲和力^[9]。1961 年, Lerman^[10]发现吡啶分子可以通过疏水作用、氢键、离子相互作用、范德华力等非共价作用方式嵌入 DNA 双螺旋结构中。类似吡啶的多环小分子化合物能与 DNA 通过非共价相互作用嵌入 DNA 碱基对之间并与之形成嵌插复合物, 诸如吡啶、溴化乙锭、道诺霉素以及蒽醌类复合物等多环类化合物^[11-13], 通过对这些多环类化合物的深入研究, 构建了成熟的 DNA 嵌入理论。利用嵌入剂所具有的嵌入性质, 可以设计出高效的 DNA 嵌入剂, 用于选择性去除有害的多环类化合物。同时, 本实验室通过共振散射光谱对 AFB₁、多环芳烃、茜草色素光泽汀以及大黄素等多种平面小分子与 DNA 的相互作用进行研究^[14-18]。依据 DNA 嵌入理论设计的一系列新型吸附材料, 如磁珠负载 DNA、DNA 凝胶珠、DNA 组装的聚砜颗粒等 DNA 嵌插材料^[19-21], 用以选择性去除溴化乙锭、多环芳烃、吡啶橙等有害物质。

紫外光谱、共振散射光谱、圆二色谱等实验已经充分证明 AFG₁ 与 DNA 之间的相互作用是典型嵌插结合模式^[22]。为此, 本文首先通过共振散射光谱检测 AFG₁ 的 DNA 结合饱和值, 并通过 AFG₁ 的 DNA 结合饱和值进一步评价 AFG₁ 嵌入 DNA 分子的能力大

小。然后, 再通过检测 AFG₁ 的 DNA 结合饱和值变化, 揭示温度、pH、氯化钠、氯化钙、L-天冬氨酸、葡萄糖、尿素、亮氨酸、赖氨酸等外部因素的变化对 AFG₁ 嵌入 DNA 分子能力的影响, 据此构建和进一步优化 DNA 选择性吸附消除 AFG₁ 的有效方法。最后通过吸附动力学、等温吸附模型以及吸附热力学等进一步探究 DNA 选择性吸附 AFG₁ 过程, 为探索构建一种新型高效去除黄曲霉毒素的方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

AFG₁ (Pribolab 公司) 溶液的配制: 利用适量的 $\varphi=98\%$ 无水乙醇溶解 AFG₁ 粉末后用 Tris-HCl 缓冲溶液稀释至所需浓度待用。DNA (Solarbio Science 公司) 溶液的配制: 超纯水溶解 DNA 粉末, 于 0~4 °C 下保存, 其纯度以 260 nm 与 280 nm 吸光度的比值检测 ($A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}=1.87>1.8$, 符合试验要求), 由公式 $C=A/\varepsilon L$ ($\varepsilon=6\ 600\ \text{L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$) 确定浓度。活性炭的配制: 取 1.25 mg 活性炭用 Tris-HCl 浸泡活化一段时间稀释待用。Tris-HCl 缓冲液的配制: 按照不同比例将 0.1 mol/L Tris(三羟甲基氨基甲烷)与 0.1 mol/L HCl 溶液混合配制成一系列的缓冲液待用。环境共存物的配制: 环境共存物均以 0.1 mol/L 配制稀释成所需浓度待用。绑定液的配制: 按比例将 0.01 mol/L Tris-HCl (pH 值 8.0)与 0.001 mol/L EDTA 配制成绑定液待用。磁珠, 富生物科技有限公司。

荧光分光光度计, Cary Eclipse Agilent; 紫外分光光度计, Cary 60 Agilent Technologies; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; 恒温振荡器, IS-RDV3 CRYSTAL; TGL-16G 高速离心机, 上海市安亭科学仪器厂。

1.2 DNA 结合饱和值

1.2.1 共振散射光谱与 DNA 结合饱和值检测

在 30 °C 条件下, 首先向 1.0×1.0 cm 的石英比色皿中加入 2 mL 的 AFG₁ 溶液 (pH 值为 7.40, $5.31\times 10^{-7}\ \text{mol/L}$) 待溶液稳定时于荧光分光光度计上进行同步扫描并记录。随后每次滴加 10 μL DNA 溶液于 AFG₁ 溶液, 充分混匀后静置 10 min 扫描共振光散射光谱, 当溶液共振光散射强度不再发生变化时, 此时达到饱和, 根据公式计算 DNA 结合饱和值。

1.2.2 环境因素对 AFG₁-DNA 结合饱和值的效果

向试管中分别加入 0.5 mL AFG₁、0.5 mL DNA、1 mL 环境因素、1 mL pH 值 7.40 的 Tris-HCl 缓冲液,

经恒温振荡器摇匀, 静置 5 min 待溶液稳定后, 扫描并记录共振散射光谱。选择对 AFG₁-DNA 影响最大的共振散射强度对应的环境因素的浓度, 测定 DNA 结合饱和值。

1.3 吸附因素对 AFG₁ 去除率计算

1.3.1 AFG₁ 标准曲线

以不同浓度的 AFG₁ 为横坐标, 对应的荧光强度为纵坐标, 绘制出 AFG₁ 的标准曲线, 如图 1。

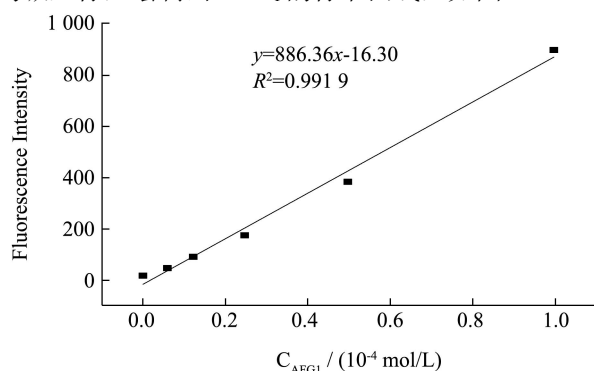


图 1 荧光光谱测定 AFG₁ 的标准曲线

Fig.1 Standard curve for determination of AFG₁ by fluorescence spectroscopy

1.3.2 DNA 和活性炭在去除 AFG₁ 效果的比较

首先将 100 μL AFG₁ 和 100 μL DNA 混匀后在 30 °C 下反应 10 min、随后依次加入 100 μL 磁珠、200 μL 绑定液等放置于 EP 管内, 摇匀, 然后放置于恒温振荡器中反应 60 min, 用磁铁分离上清液, 经离心后, 扫描上清液的荧光光谱 (Ex=370 nm; 扫描范围: 220~600 nm; 扫描速度: 快; Ex slit=10 nm; Em slit=10 nm) 并记录。代入标准曲线 (荧光强度与 AFG₁ 浓度的线性曲线) 求出 C_t。其中, AFG₁ 与 DNA 结合的量由 AFG₁ 吸附量 (Q) 和 AFG₁ 去除率 (%) 确定, 其计算公式如下^[23]。将活性炭替代 DNA 做类似处理, 其中活性炭在 pH 值为 7.40 的 Tris-HCl 缓冲液中活化一段时间后, 加入 AFG₁ 溶液反应, 实验条件以及计算方法同 DNA。

$$Q = \frac{C_0 - C_t}{m} \times V \quad (1)$$

$$F = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

Q——吸附剂的吸附容量, mg/g;

F——AFG₁ 去除率, %;

C₀——AFG₁ 的初始浓度, mol/L;

C_t——AFG₁ 的平衡浓度, mol/L;

V——溶液体积, L;

m——吸附剂的质量, g。

1.3.3 共存物对 AFG₁ 去除率的效果

向 EP 管内分别加入 100 μL AFG₁ 溶液、100 μL DNA 溶液、100 μL 磁珠、100 μL 环境因素、200 μL 绑定液, 其操作条件以及方法同 1.3.2, 计算共存物对 AFG₁ 去除率。

1.4 DNA 对 AFG₁ 吸附行为的研究

1.4.1 速率模型

吸附动力学描述了吸附剂的吸附速率。测定不同时间下每单位质量的吸附剂的吸附量, 常用 Pseudo-first Order Kinetics 模型 (3) 和 Pseudo-second Order Kinetics 模型 (4) 来描述。用线性公式表示如下^[24]:

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - K_1 t \quad (3)$$

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t \quad (4)$$

式中:

Q_e——平衡时每单位质量的吸附剂的吸附质量, mg/g;

Q_t——在 t 时刻每单位质量的吸附剂的吸附质量, mg/g;

t——时间, min;

K₁——准一阶吸附速率常数, 1/min;

K₂——准二阶吸附速率常数, g/(mg·min)。

1.4.2 等温吸附模型

用 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线来分析等温吸附过程^[24], 评价吸附剂的吸附特性、吸附容量和表面性质。Langmuir 和 Freundlich 等温线的一般形式由式 (5)、(6) 给出。

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{Q_{max}} + \frac{1}{Q_{max} K_L} \quad (5)$$

$$\ln Q_e = \ln K_f + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (6)$$

式中:

Q_e——单位重量吸附剂对 AFG₁ 的吸附量, mg/g;

Q_{max}——AFG₁ 的最大吸附量, mg/g;

C_e——达到吸附平衡时对 AFG₁ 的吸附量, mg/g;

K_L——与吸附能相关的 Langmuir 常数, L/mg;

K_f——Freundlich 常数, mg/g;

1/n——吸附剂表面的不均匀程度。

1.4.3 热力学模型

在 30、35、40、45 和 50 °C 的温度下, 分析吸附热过程。利用 Vant Hoff 方程 (7) ~ (9) ^[25] 确定吸附过程的 ΔH₀ 和 ΔS₀。

$$K = \frac{Q_e}{C_e} \quad (7)$$

$$\ln K = \frac{\Delta S_0}{R} - \frac{\Delta H_0}{RT} \quad (8)$$

$$\Delta G_0 = \Delta H_0 - T\Delta S_0 \quad (9)$$

式中:

K ——吸附分布常数;

ΔH_0 ——焓变;

ΔS_0 ——熵变;

T ——开尔文温度;

R ——气体常数 8.314 J/(K·mol);

ΔH_0 ——由斜率计算;

ΔS_0 ——由 $\ln K$ 和 $1/T$ 拟合的曲线 (9) 的截距计算。

1.5 去除花生油中的 AFG₁

向花生油样品中加入适量 AFG₁ 标准液, 得到 AFG₁ 浓度为 84.75 μg/L 的花生油样品。用 DNA (25.00×10⁻³ μg/mL) 吸附去除污染花生油中的 AFG₁。在最佳吸附温度和吸附时间下, 加入磁珠, 反应 80 min, 经磁铁分离磁珠, 洗脱后萃取, 然后用荧光光谱法测定洗脱液中 AFG₁ 的荧光强度。AFG₁ 浓度的计算方法同 1.3。

1.6 数据处理

本试验中采用 Excel 2016 以及 SPSS 19.0 进行数据分析处理, 采用 Origin 2018 绘制分析图以及模型拟合的分析处理。

2 结果与分析

2.1 DNA 结合饱和值

2.1.1 DNA 结合饱和值的检测

DNA 结合饱和值可以用来评价平面小分子与 DNA 嵌插结合能力的大小。平面小分子与 DNA 分子的结合的位点和数量是确定的, 其结构决定了嵌入 DNA 的能力强弱。当平面小分子的浓度过量时, 共振光散射信号随着 DNA 浓度的增加而增强。然而, 当

DNA 浓度达到极限时, 即使 DNA 浓度增加, 共振散射信号也不再增加。此时的 DNA 浓度为饱和 DNA 浓度 (计算公式如 (10))。图 2 可知, 在 30 °C, pH 值 7.4 条件下, 当 AFG₁ 的浓度一定时, 随着 DNA 浓度的增加, 共振散射信号也逐渐增加, 但是当 DNA 的浓度达到 3.19×10⁻⁷ mol/L, 共振散射峰信号强度不再增强。此时, 认为 AFG₁ 与 DNA 的结合达到饱和, DNA 结合饱和值为 1.66。溴化乙锭和补骨脂素是非常典型的 DNA 嵌入剂, 实验室前期人员还对溴化乙锭、黄曲霉毒素 B₁、补骨脂素的 DNA 结合饱和值 (表 1) 进行了测定。从表中可以看出 AFG₁ 与 DNA 的结合和饱和值小于溴化乙锭和 AFB₁ 的结合饱和值, 但是大于补骨脂素的 DNA 的结合饱和值。所以, AFG₁ 与 DNA 的结合能力小于溴化乙锭和 AFB₁, 大于补骨脂素。

$$Z = \frac{C_m}{C_n} \quad (10)$$

式中:

Z ——DNA 结合饱和值 (BSV);

C_m ——平面小分子的浓度, mol/L;

C_n ——饱和 DNA 的浓度, mol/L。

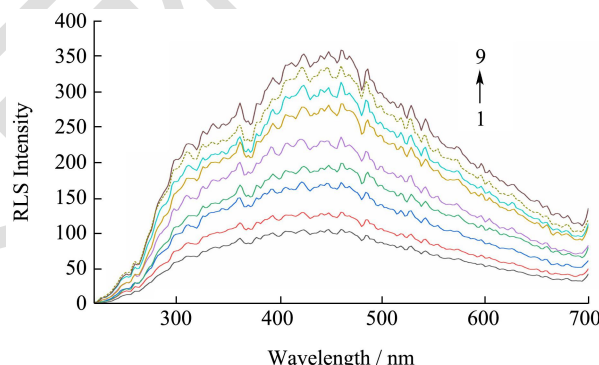


图 2 DNA 浓度对 AFG₁-DNA 共振散射光谱的影响

Fig.2 Effect of DNA concentration on resonance scattering spectra of AFG₁-DNA

注: 30 °C, pH 值 7.4。[AFG₁]=5.31×10⁻⁷ mol/L; [DNA]=0、0.05×10⁻⁷、0.09×10⁻⁷、1.37×10⁻⁷、1.83×10⁻⁷、2.28×10⁻⁷、2.73×10⁻⁷、3.65×10⁻⁷、3.19×10⁻⁷ mol/L。

表 1 不同试剂与 DNA 相互作用的 DNA 结合饱和值

Table 1 DNA binding saturation values of interaction between different reagents and DNA

试剂	DNA 结合饱和值	试剂的结合饱和值与溴化乙锭的结合饱和值之比/%	参考文献
溴化乙锭	15.59	100.00	[26]
黄曲霉毒素 B ₁	2.14	13.72	[26]
黄曲霉毒素 G ₁	1.66	10.65	本实验
补骨脂素	0.74	4.75	[26]

2.1.2 环境因素对 AFG₁-DNA 结合饱和值的影响

2.1.2.1 温度和 pH 对 AFG₁-DNA 结合饱和值的影响

由图 3a 可知, 随着温度的升高, 信号强度先增大

后下降, 开始时分子与分子之间的相对运动加快。30 °C 时, 共振散射峰信号强度最大, 温度的升高, DNA 双链受热解旋, 结构不稳定, 不利于 AFG₁-DNA 结合。

25 °C、30 °C 以及 35 °C 的饱和值分别为 1.38、1.66、1.23。30 °C 时饱和值最大，AFG₁-DNA 的结合能力最强，因此 30 °C 为 AFG₁-DNA 的相互作用的适宜温度^[27]。

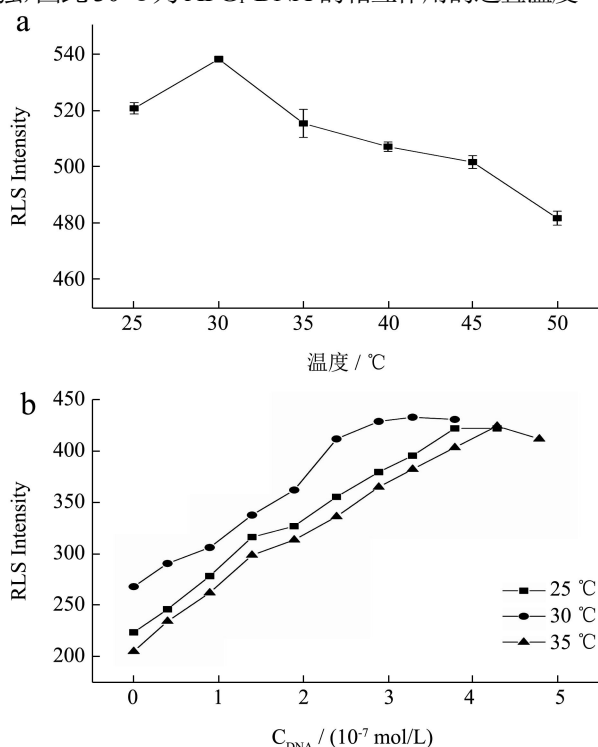


图 3 (a) 温度对 AFG₁-DNA 共振散射峰信号的影响, (b) 不同 DNA 浓度下对 AFG₁-DNA 的共振散射强度的影响

Fig.3 (a) Effect of temperature on the resonance scattering peak intensity of AFG₁-DNA; (b) Effect of DNA concentration on resonance scattering intensity ($p < 0.05$)

注: [AFG₁]=5.31×10⁻⁷ mol/L; [DNA]=3.71×10⁻⁷ mol/L。

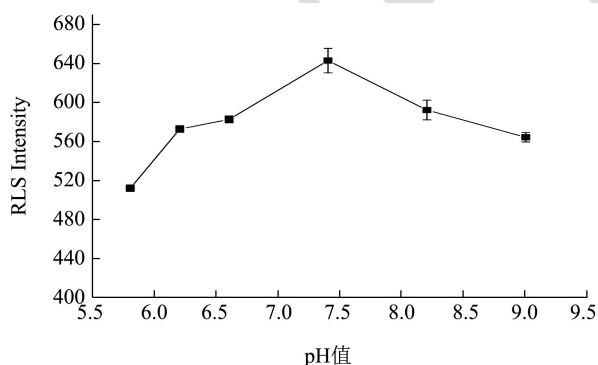


图 4 pH 对 AFG₁-DNA 共振散射峰信号的影响

Fig.4 Effect of pH on resonance scattering peak signal of AFG₁-DNA ($p < 0.05$)

注: [AFG₁]=5.31×10⁻⁷ mol/L; [DNA]=3.71×10⁻⁷ mol/L。

图 4 为 pH 值对 AFG₁-DNA 嵌插结合的影响, 在 pH 值 5.80~7.40 之间, 体系溶液呈现酸性, 共振散射峰信号强度逐渐增大, DNA 双链中的氢键在酸性条件下, 不稳定且易断裂, 同时溶液中的氢离子与 DNA 中带负电的磷酸基团相互吸引, 大量的氢离子聚集在 DNA 碱

基周围, 阻碍了 AFG₁ 与 DNA 相互结合。在 pH 值 7.40~9.00 之间, 体系溶液呈现碱性, 使得 DNA 变性解旋, 导致 AFG₁ 与 DNA 相互结合的部位减少, 共振散射峰信号逐渐减弱^[28]。在 pH 值 5.80、7.40 和 9.00 的条件下, AFG₁-DNA 结合饱和值分别为 1.47、1.66、1.65, pH 值 7.40 时, AFG₁-DNA 结合饱和值最大, 因此, pH 值 7.40 为 AFG₁-DNA 的相互作用的适宜 pH 值。

2.1.2.2 氯化钠、氯化钙、L-天冬氨酸和葡萄糖对 AFG₁-DNA 结合饱和值的影响

图 5a 中, NaCl 的浓度在 0~1.00×10⁻⁵ mol/L 之间时, AFG₁-DNA 共振散射峰信号先增大后减小。原因可能是由于在低离子强度时钠离子与 DNA 中带负电的磷酸基团反应, 静电相互吸引从而有利于 AFG₁-DNA 的相互作用, 随着离子强度的增加, DNA 断裂, 破坏了 DNA 分子的稳定性, DNA 的结构发生变化^[29]。固定氯化钠和 AFG₁ 的浓度分别为 1.00×10⁻⁵ mol/L 和 5.31×10⁻⁷ mol/L 时, AFG₁-DNA 结合饱和值为 1.45。

图 5b 所示, 0~1.00×10⁻⁷ mol/L 之间, 随着钙离子浓度的增加, 遂导致 AFG₁-DNA 的共振散射峰信号强度增加, 钙离子对磷酸盐有高化学亲和性, 不是在 DNA 表面简单的缩合, 而是在 DNA 碱基中的磷酸基团点状吸附, 逐渐聚集在 DNA 的周围。在 1.00×10⁻⁷ mol/L~1.00×10⁻⁴ mol/L 范围内, 随着钙离子浓度的增加, 体系溶液富含大量钙离子, 钙离子与 DNA 的这种极化效应不会一直增加, 所以, AFG₁-DNA 的共振散射峰信号强度减弱。由于钙离子吸附在 DNA 的周围, 阻碍了 AFG₁-DNA 的结合^[30]。固定氯化钙和 AFG₁ 的浓度为 1.00×10⁻⁷ mol/L 和 5.31×10⁻⁷ mol/L 时, AFG₁-DNA 结合饱和值为 1.45。

如图 5c, 0~1.28×10⁻⁸ mol/L 时, AFG₁-DNA 的相互作用的共振散射峰信号强度逐渐增加, 在浓度 1.28×10⁻⁸ mol/L~1.60×10⁻⁶ mol/L 范围内变化时, AFG₁-DNA 的相互作用的共振散射峰信号强度逐渐减弱。原因可能是天冬氨酸带负电与 DNA 中带负电的磷酸基团相互排斥从而影响结构的稳定性, 不利于 AFG₁ 与 DNA 相互作用^[31]。固定 L-天冬氨酸的浓度为 1.28×10⁻⁸ mol/L, AFG₁-DNA 结合饱和值为 1.29。

由图 5d 可知, 葡萄糖浓度在 0~6.10×10⁻⁷ mol/L 范围内变化时, 共振散射信号先增大后减小。原因可能是蛋白质在体内和体外都容易发生糖基化, 与蛋白质类似, 糖基化也可能会影响 DNA 的结构。在体外, 葡萄糖的羰基与 DNA 中的碱基的反应与葡萄糖的羰基和蛋白质的氨基发生的非酶促反应类似, 破坏 DNA 双链的完整性, 使得 DNA 结构不稳定, 不利于 AFG₁

与 DNA 的相互作用^[32]。固定葡萄糖的浓度为 6.10×10^{-7} mol/L, AFG₁-DNA 结合饱和值为 1.05。

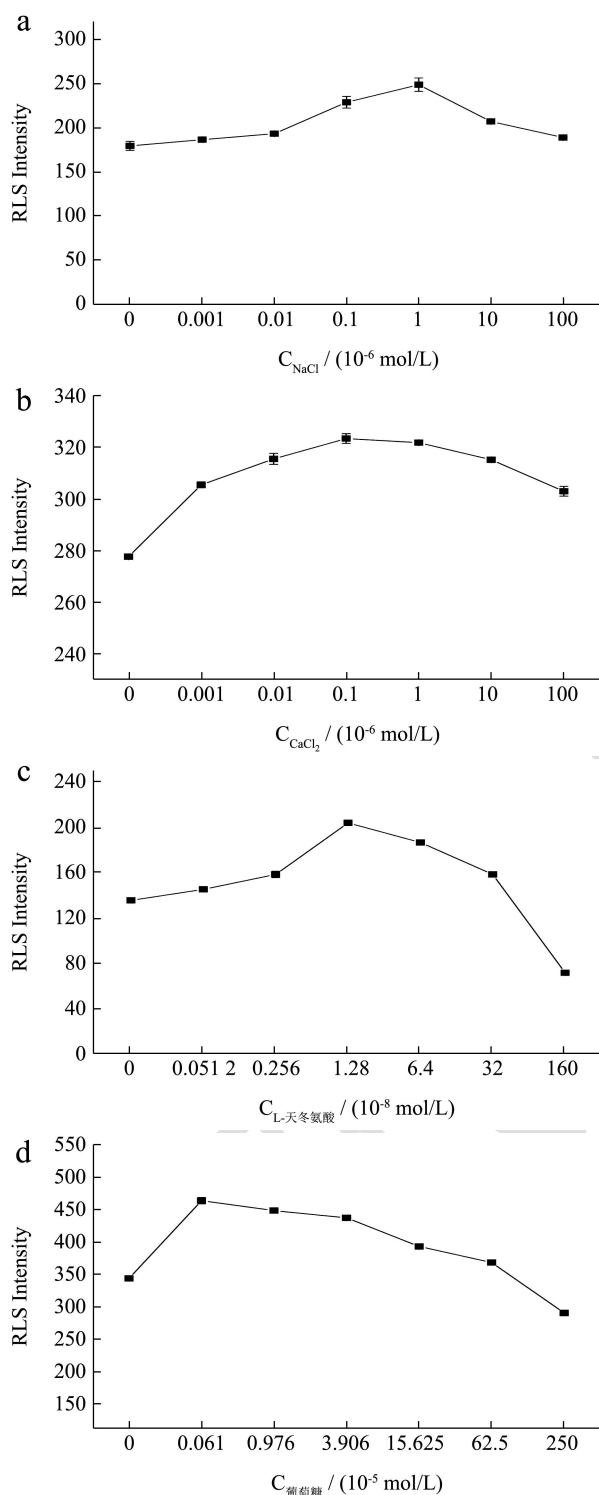


图5 氯化钠 (a)、氯化钙 (b)、L-天冬氨酸 (c)、葡萄糖 (d) 的浓度变化对 AFG₁-DNA 共振散射峰强度的影响

Fig.5 Effects of the concentration changes of sodium chloride (a), calcium chloride (b), L-aspartic acid (c) and glucose (d) on the intensity of AFG₁-DNA resonance scattering peak

注: 30 ℃、pH 值 7.4, $p < 0.05$ 。[AFG₁]= 5.31×10^{-7} mol/L, [DNA]= 3.71×10^{-7} mol/L。

2.1.2.3 尿素、亮氨酸、L-赖氨酸和维生素 C 对 AFG₁-DNA 结合饱和值的影响

由图 6a 可知,尿素的浓度在 $0 \sim 3.20 \times 10^{-6}$ mol/L 之间变化时,随着尿素浓度的变化,尿素溶液中的带正电的铵根离子与 DNA 碱基中带负电的磷酸基团相互吸引,通过静电相互作用结合,使得 DNA 分子的结构变得稳固,有利于 AFG₁-DNA 的相互作用。但是当尿素浓度逐渐变大时,高浓度的尿素使得 DNA 发生变性解旋。从而不利于 AFG₁ 与 DNA 的相互作用。同时,尿素分子存在于生物分子周围,影响生物分子的性质和相互作用,作为一种良好的氢键受体和供体,尿素不仅可以与芳香基团发生特殊的结合,也可以与核酸碱基类似物,核甘和单磷酸核甘等模型化合物结合,并且优先与后者模型化合物结合^[33]。固定尿素的浓度为 3.20×10^{-6} mol/L, AFG₁-DNA 的结合饱和值为 1.95。由此可以推测,适宜浓度的尿素溶液,有利 AFG₁-DNA 的相互作用。

图 6b 可知,在 $0 \sim 1.28 \times 10^{-8}$ mol/L 浓度范围内,随着亮氨酸的浓度的增加,对 AFG₁ 与 DNA 相互作用的共振散射强度的影响时先增加后减弱,由曹伟娜等研究结果,我们可以推测,亮氨酸与 DNA 带负电的磷酸基团发生静电结合现象, DNA 分子结构收缩, DNA 结构趋于稳定^[34]。当亮氨酸的浓度不断增加的过程中,亮氨酸的存在对 DNA 双螺旋结构的构象的影响不显著,促进作用不明显。固定亮氨酸的浓度为 1.28×10^{-8} mol/L, AFG₁-DNA 的结合饱和值为 1.95。基于以上分析可以推测亮氨酸有利于 AFG₁ 与 DNA 的相互作用。

图 6c 赖氨酸的浓度为 $0 \sim 4.00 \times 10^{-7}$ mol/L 为范围内变化时, AFG₁-DNA 的相互作用的共振散射峰信号强度逐渐增加,在 $4.00 \times 10^{-7} \sim 1.00 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内变化时,共振散射峰信号强度逐渐减弱。固定赖氨酸的浓度为 4.00×10^{-7} mol/L, AFG₁-DNA 的结合饱和值为 2.32。原因可能是带正电荷的赖氨酸与 DNA 中带负电的磷酸骨架相吸引,增强 DNA 链刚性构象,从而使 DNA 的分子结构趋于稳定。有利于 AFG₁ 与 DNA 的相互作用^[31]。

如图 6d 在浓度 $0 \sim 1.02 \times 10^{-9}$ mol/L 范围内时,共振散射峰信号强度逐渐增加,在浓度 $1.02 \times 10^{-9} \sim 3.2 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内变化时,共振散射峰信号强度逐渐减弱。固定维生素 C 的浓度为 1.02×10^{-9} mol/L, AFG₁-DNA 结合饱和值为 2.90。原因可能是在适宜浓度下对 DNA 氧化损伤有保护作用。保护了 DNA 结构的完整性,从而有利于 AFG₁ 与 DNA 的结合^[35]。

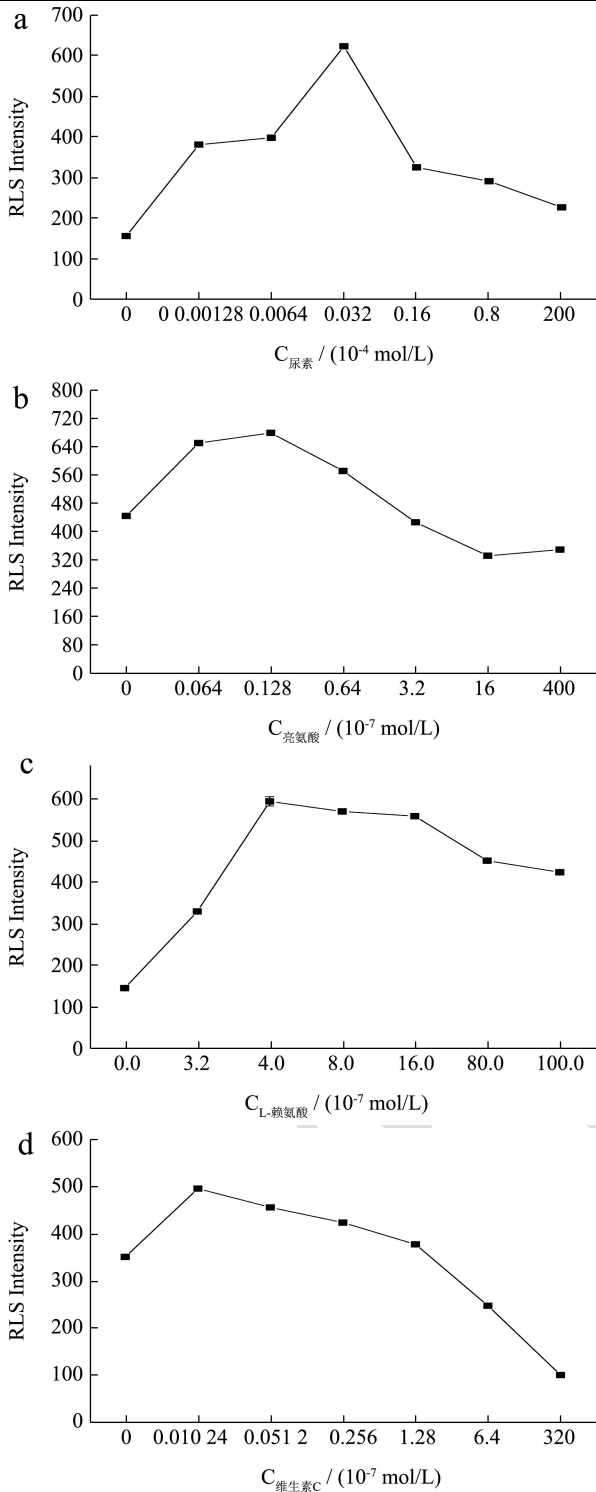


图6 尿素(a)、亮氨酸(b)、赖氨酸(c)、维生素C(d)的浓度变化对AFG₁-DNA共振散射峰强度的影响

Fig.6 Effect of the concentration changes of urea (a), leucine (b), lysine (c) and vitamin C (d) on the intensity of AFG₁-DNA resonance scattering peak

注: 30 °C, pH 值 7.4, $p < 0.05$ 。[AFG₁] = 5.31×10^{-7} mol/L, [DNA] = 3.71×10^{-7} mol/L。

在 30 °C, pH 值 7.40 的条件下, 添加共存物后时, AFG₁ 的结合饱和值的变化见表 3。根据 DNA 结合饱

和值的变化可知, 氯化钠和氯化钙、葡萄糖以及 L-天冬氨酸存在时, AFG₁ 的 DNA 结合饱和值小于基准条件下的 DNA 结合饱和值, 尿素、赖氨酸、亮氨酸以及维生素 C 存在时, AFG₁ 的 DNA 结合饱和值大于基准条件下的 DNA 结合饱和值。共存物的浓度、黏度以及带电性等因素均可能对 AFG₁ 与 DNA 嵌插结合产生影响, 其中氯化钠和氯化钙、葡萄糖以及带负电基团的 L-天冬氨酸不利于 AFG₁ 嵌入 DNA 分子。而带正电基团的尿素、赖氨酸以及亮氨酸、维生素 C 等有利于 AFG₁ 嵌入 DNA 分子。

2.2 影响 DNA 对 AFG₁ 吸附的因素分析

2.2.1 DNA 用量、温度和反应时间对 AFG₁ 去除率的影响

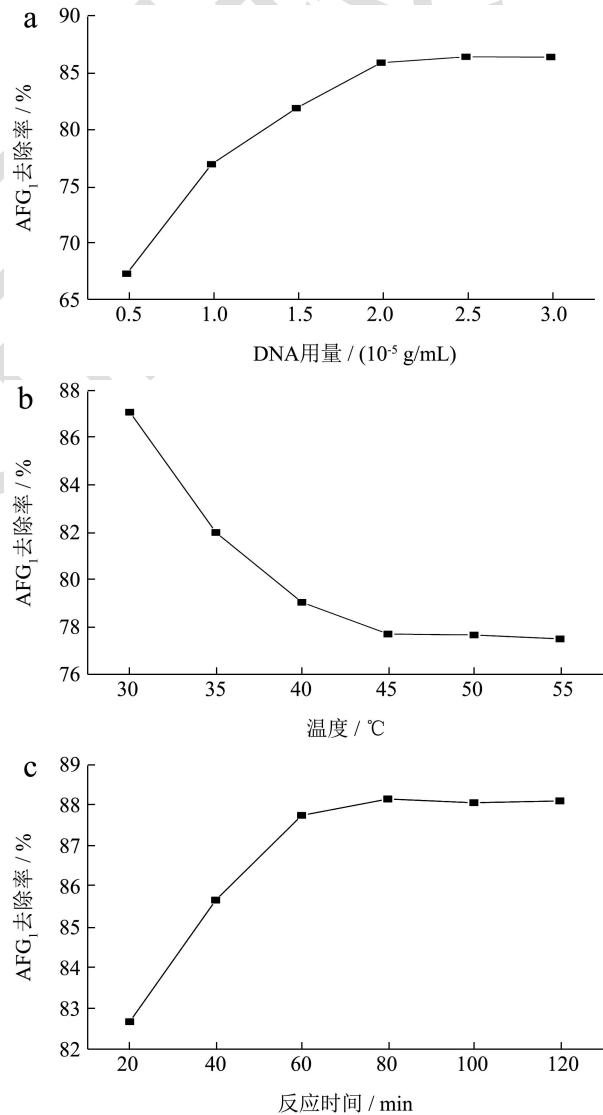


图7 DNA 用量、温度、反应时间对 AFG₁ 去除率的影响

Fig.7 Effects of DNA dosage, temperature, and reaction time on AFG₁ removal rate

由图 7a 可知, AFG₁ 的去除率逐渐增加, DNA 的

用量达到 2.50×10^{-5} g/mL 时, 去除率为 86.42%, 之后去除率不再发生显著的变化, 表明吸附接近平衡。正如 Hashem^[36]所述, 随着 DNA 用量的不断增加, 吸附位点的饱和度逐渐降低, 单位面积的吸附位点的数量相应的也减少。此外, 吸附剂的颗粒过多拥挤, 导致吸附位点重叠, 不能对 AFG₁ 进行有效的吸附。

图 7b 表明, 在 30 °C 时, 去除率为 87.08%, 随着温度的升高, AFG₁ 的吸附率逐渐减小, 原因可能是随着温度的升高, DNA 的结构变得松散不稳定, 不利于 AFG₁ 与 DNA 的嵌插作用, 从而使得 AFG₁ 从 DNA 中脱落下来, 解吸在溶液中。

图 7c 为 DNA 对 AFG₁ 的吸附率随时间的变化情况, 80 min 时, AFG₁ 的去除率达到了 88.14%, 80 min 之后, AFG₁ 的去除率几乎不发生变化。吸附过程是缓慢而动态的, 初始阶段 AFG₁ 快速与 DNA 上的结合位点结合。随着吸附时间的延长, 有效的吸附位点逐渐减少, 导致吸附速率也随之缓慢, 表明吸附达到平衡状态。

2.2.2 DNA 和活性炭对 AFG₁ 去除率的影响

表 2 DNA 和活性炭吸附 AFG₁ 的效果

Table 2 Effect of DNA and activated carbon on adsorption of AFG₁

吸附剂	质量 /mg	AFG ₁ 吸附量 /mg	去除率 /%	吸附量 /(mg/g)
DNA	2.50×10^{-3}	5.45×10^{-3}	88.14	2 180.34
活性炭	0.31	2.84×10^{-3}	75.67	9.10

基于 AFG₁ 与 DNA 嵌插结合作用, 利用 DNA 吸附 AFG₁, 并进行了活性炭去除水中 AFG₁ 的实验对比, DNA 和活性炭对 AFG₁ 的吸附量见表 2。DNA 对 AFG₁ 吸附量为 7.54×10^{-3} mol/g ($2 180.34$ mg/g), AFG₁ 去除

率为 88.14%。活性炭对 AFG₁ 的吸附量为 3.66×10^{-5} mol/g (9.10 mg/g), 去除率为 75.67%, 与传统活性炭法相比, DNA 去除 AFG₁ 的效果较好, 即 DNA 含量仅为活性炭的 1/125。实验结果表明, DNA 能有效地去除 AFG₁。

2.2.3 共存物对 AFG₁ 去除率的影响

通过 DNA 结合饱和值的大小, 预测共存物对 AFG₁-DNA 嵌插结合的影响, 在此基础上, 观察 DNA 吸附 AFG₁ 的效果。如表 3, 在 30 °C, pH 值 7.40 条件下, 当 DNA 用量为 2.50×10^{-3} mg 时, AFG₁ 的浓度为 1.20×10^{-4} mol/L 时, AFG₁ 的去除率为 88.14%。添加共存物后, 根据 DNA 结合饱和值以及 AFG₁ 的去除率可知, 氯化钠、氯化钙、L-天冬氨酸和葡萄糖不利于 DNA 对 AFG₁ 的吸附, 尿素、亮氨酸、赖氨酸和维生素 C 有利于 DNA 对 AFG₁ 的吸附。

2.3 DNA 对 AFG₁ 吸附行为的研究

2.3.1 速率模型

准一阶和准二阶两种动力学模型的动力学参数分别显示在图 8a、8b 和表 4, 当 DNA 的用量为 1.00、1.50、2.50 μg 时, 准二阶动力学模型的相关系数 (0.997 0、0.998 8、0.999 2) 均大于准一阶动力学模型 (0.754 3、0.689 6、0.836 9), 这一结果表明: 准二阶动力学模型有较好的相关性。根据准一阶动力学方程计算, DNA 对 AFG₁ 的最大吸附量 (238.65、123.46、80.38 mg/g)。而根据准二阶动力学方程计算 DNA 对 AFG₁ 的最大吸附量 (469.48、303.95、194.93 mg/g), 更接近实验 Q_e 的值。吸附过程更符合准二阶动力学模型描述, 表明吸附过程的限速步骤为化学相互作用。

表 3 DNA 结合饱和值以及 AFG₁ 去除率

Table 3 DNA binding saturation value and AFG₁ removal rate

共存物	DNA 结合饱和值	DNA 结合饱和值变化率/%	AFG ₁ -DNA 去除率/%
30 °C-pH 值 7.40	1.66	100.00	88.14
氯化钠 (1.00×10^{-6} mol/L)	1.45	-12.00	78.08
氯化钙 (1.00×10^{-7} mol/L)	1.45	-12.00	76.44
L-天冬氨酸 (1.28×10^{-8} mol/L)	1.29	-22.00	75.92
葡萄糖 (6.10×10^{-7} mol/L)	1.05	-36.00	75.16
尿素 (3.20×10^{-6} mol/L)	1.95	17.00	88.41
亮氨酸 (1.28×10^{-8} mol/L)	1.95	17.00	88.67
赖氨酸 (4.00×10^{-7} mol/L)	2.32	28.00	88.87
维生素 C (1.02×10^{-9} mol/L)	2.90	74.00	90.27

注: AFG₁-DNA 结合饱和值和去除率以 AFG₁-DNA-30 °C-pH 值 7.40 下的去除率为标准所得。

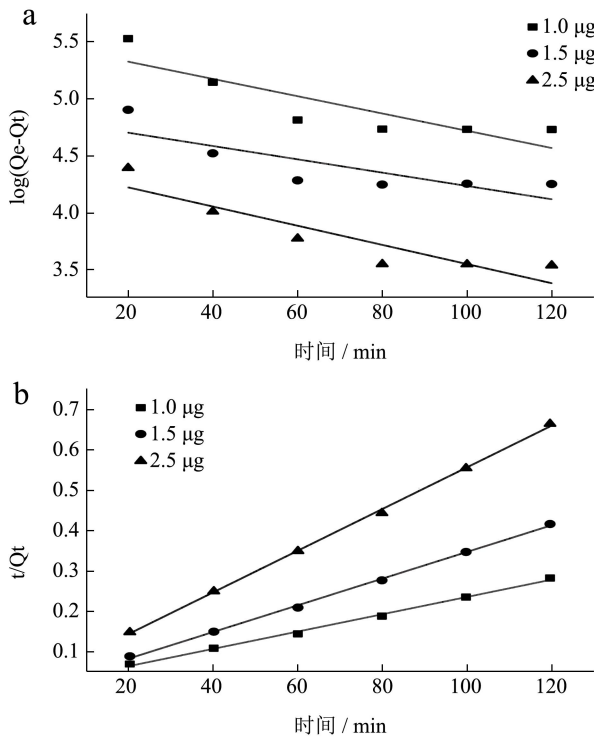


图8 (a、b)分别为准一阶和准二阶动力学模型线性拟合图
Fig.8 (a, b) shows the linear fitting diagram of pseudo-first order and pseudo-second order model

表4 不同添加剂用量下准一阶和准二阶动力学模型的动力学参数
Table 4 Kinetic parameters of pseudo-first order and pseudo-second order models under different dosage of additives

吸附模型	参数	吸附剂的量/ μg		
		1	1.5	2.5
准一阶动力学模型	$Q_{e,exp}$	535.85	357.23	214.34
	$Q_{e,cal}$	238.65	123.46	80.38
	R^2	0.754 3	0.689 6	0.836 9
准二级动力学模型	$Q_{e,cal}$	469.48	303.95	194.93
	k	0.002 1	0.003 3	0.005 1
	R^2	0.997 0	0.998 8	0.999 2

注： $Q_{e,exp}(\text{mg/g})$ ：实验中的得到吸附容量； $Q_{e,cal}(\text{mg/g})$ ：预测得到的吸附容量。

2.3.2 等温吸附模型

表5 等温吸附模型的相关参数

Table 5 Parameters of Langmuir and Freundlich isothermal adsorption models

Langmuir			Freundlich		
$Q_{max}(\text{mg/g})$	$K_L(\text{L/mg})$	R^2	$K_f(\text{mg/g})$	$1/n$	R^2
293.26	8.50	0.974 8	372.16	0.54	0.999 9

等温吸附的平衡吸附容量为最大吸附容量。

Langmuir 和 Freundlich 模型的参数如表 5。Freundlich 模型的相关系数 (0.999 9) 大于 Langmuir 模型的相关系数 (0.974 8)。Langmuir 模型所揭示的吸附过程为

单层吸附，而 Freundlich 模型所揭示的吸附过程为多层吸附。根据实验所得结果，DNA 对 AFG₁ 的吸附过程更符合 Freundlich 模型，该吸附过程为多层吸附。

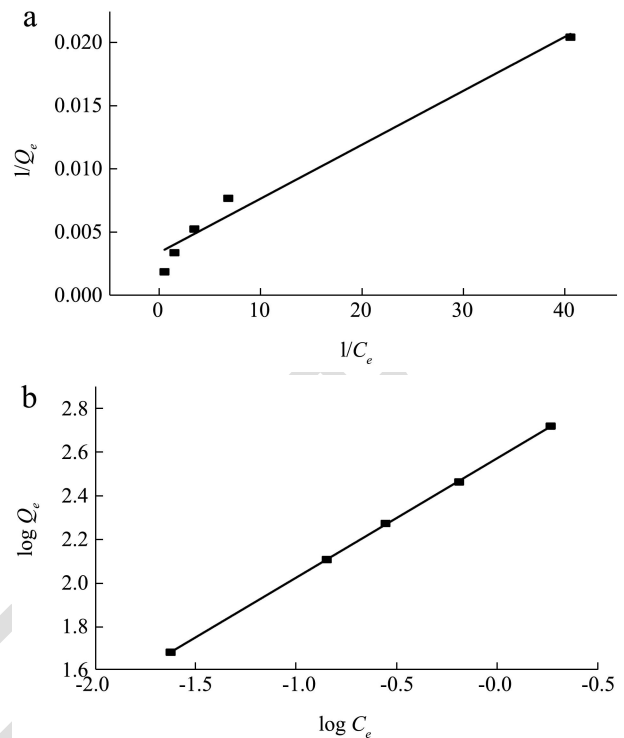


图9 (a) (b)分别为 Langmuir、Freundlich 等温吸附模型
Fig.9 (a) and (b) show Langmuir and Freundlich isothermal adsorption models respectively

2.3.3 热力学模型

表 6 可知， $\Delta H_0 (-90.33) < 0$ ，表明 DNA 对 AFG₁ 的吸附是一个放热过程。 $\Delta S_0 (307.33) > 0$ ，说明体系中溶液的无序性增加，计算得到标准自由能 $\Delta G_0 < 0$ ，说明该吸附过程是能够自发进行的放热反应。

表6 不同温度下 AFG₁ 在 DNA 上吸附的热力学参数

Table 6 Thermodynamic parameters of AFG₁ adsorption on DNA at different temperatures

T/K	热力学参数		
	$\Delta H_0(\text{kJ/mol})$	$\Delta S_0[\text{J}/(\text{mol}\cdot\text{K})]$	$\Delta G_0(\text{kJ/mol})$
303.15			-183.51
309.15			-185.35
315.15	-90.33	307.33	-187.19
321.15			-189.04
327.15			-190.89

2.4 除去花生油中的 AFG₁

在超市购买的花生油中添加适量的 AFG₁，此时测得花生油中 AFG₁ 的含量为 84.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，在花生油中的去除率达到了 85.25%~86.46%，残留量在 11.47~12.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，结果表明，利用 AFG₁ 与 DNA 嵌

插结合, 可以去除油中的 AFG₁。由于花生油的产地和工艺的差别, AFG₁ 的含量存在差异。测得两个地区售卖的毛油中 AFG₁ 的浓度分别为 82.70、99.01 μg/kg, 去除率在 80.48%~85.45% 之间。且残留量在 14.42~18.37 μg/kg 之间。Rosa 等^[37]采用生物吸附的方法吸附时间为 6 h 时, AFG₁ 的去除率为 82.00%。杜黎等^[38]通过冷等离子体处理后降解大豆油中黄曲霉毒素的去除率仅为 79.65%。综上 DNA 可以有效的去除黄曲霉毒素。

表 7 除去花生油中黄曲霉毒素 G₁

地区	浓度/(μg/kg)	AFG ₁ 去除率/%	残留/(μg/kg)
		86.46	11.47
模拟油	84.75	85.36	12.41
		85.25	12.50
五仁市场 粮油店	82.7	80.48	16.14
		82.03	14.86
		81.81	15.05
谭中市场 粮油店	99.01	81.45	18.37
		85.25	14.61
		85.45	14.42

3 结论

本文利用 DNA 嵌插原理去除 AFG₁, 通过 DNA 构建选择性消除 AFG₁ 的方法。通过对温度、pH 值、氯化钠、氯化钙、葡萄糖、维生素 C 等外部因素的探究。进一步优化 DNA 去除 AFG₁ 的条件。实验结果表明, AFG₁ 的浓度为 5.31×10^{-7} mol/L 时, 30 °C, pH 值 7.40 为 AFG₁ 嵌入 DNA 分子的最佳条件, 此时 DNA 结合饱和值为 1.66 和去除率为 88.14%, NaCl、CaCl₂、L-天冬氨酸、葡萄糖、尿素、亮氨酸、赖氨酸、维生素 C 等外部因素存在下, 其 DNA 结合饱和值分别为 1.45、1.45、1.29、1.05、1.95、1.95、2.32 和 2.90。去除率分别为 78.08%、76.44%、75.92%、75.16%、88.41%、88.67%、88.87%、90.27%。根据 DNA 结合饱和值以及 AFG₁ 的去除率的结果可知环境因素的浓度、黏度以及带电性等均可能对 DNA 吸附 AFG₁ 产生影响, 其中氯化钠和氯化钙、葡萄糖在实验浓度下不利于 DNA 吸附消除 AFG₁ 以及带负电基团的 L-天冬氨酸也不利于 AFG₁ 嵌入 DNA 分子。而带正电基团的尿素、赖氨酸以及亮氨酸、维生素 C 等有利于 AFG₁ 嵌入 DNA 分子, 进而对 DNA 消除 AFG₁ 产生影响。并且通过与活性炭对比可知, 当活性炭为 DNA 用量的 125 倍时, DNA 的去除率为 88.14%, 而活性炭的去除率为 75.67% 仍低于 DNA 的去除效率, 所以 DNA

能较好的去除 AFG₁。影响吸附过程的原因除了以上环境因素外, 与 DNA 用量、温度以及反应时间有关。实验结果表明, 在 30 °C、DNA 用量为 2.50×10^{-5} g/mL 时, DNA 吸附 AFG₁ 在 80 min 时接近平衡, AFG₁ 去除率为 88.14%。通过动力学数据和热力学参数的结果可知, 得出 DNA 对 AFG₁ 的吸附过程符合准二级动力学模型, 表明吸附过程的限速步骤为化学相互作用。Langmuir ($R^2=0.9748$) 和 Freundlich ($R^2=0.9999$) 等温吸附模型拟合结果表明吸附过程更加符合 Freundlich 模型, 该吸附过程为多层吸附。热力学模型拟合参数显示该过程是自发进行的放热过程。去除花生油中的 AFG₁, 其去除率在 80.48%~86.46%。残留量在 11.00~18.37 μg/kg。本文对 DNA 吸附消除黄曲霉毒素 G₁ 进行了初步探索。有望应用于 DNA 固定化的研究, 将 DNA 与丝素纤维、丝素蛋白交联构建 DNA 固定化材料, 进一步消除 AFG₁。

参考文献

- [1] Shao P, Guo N, Wang C, et al. Aflatoxin G₁ induced TNF- α -dependent lung inflammation to enhance DNA damage in alveolar epithelial cells [J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234: 9194-9206
- [2] 刘亚杰, 孙淑敏, 卫敏. 磁性氧化石墨烯/二氧化钛对黄曲霉毒素 B₁ 的吸附与光催化降解作用研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(4): 1-8
- [3] 张金阳, 李培武, 张文, 等. 黄曲霉毒素 G₁ 人工抗原的合成[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 194-197
- [4] 王慧婷, 毛劲, 李培武, 等. 黄曲霉毒素绿色消减方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3346-3352
- [5] 王少军, 于春娣, 唐娟, 等. 黄曲霉毒素生物脱毒法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(24): 204-208
- [6] 徐纬昊, 刘艳明, 刘建龙. 降低农产品中黄曲霉毒素的技术[J]. 中国果菜, 2019, 39(12): 60-63
- [7] 肖军霞, 张岩, 黄国清, 等. 黄曲霉毒素脱除方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(5): 395-399
- [8] 谢慧, 李志敏, 曹胜炎, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 的高效去除技术与工程化研究进展[J]. 饲料工业, 2017, 38(10): 54-59
- [9] Li H J, Crothers D M. Relaxation studies of the proflavine-DNA complex: The kinetics of an intercalation reaction [J]. Journal of Molecular Biology, 1969, 39(3): 461-477
- [10] Lerman L S. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines [J]. J. Mol. Biol, 1961, 3(1): 18-30
- [11] Scaria P V, Shafer R H. Binding of ethidium bromide to a DNA triple helix. Evidence for intercalation [J]. Journal of Biological Chemistry, 1991, 266(9): 5417-5423

- [12] W J, Pigram, Fuller, et al. Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA [J]. *Nature: New Biology*, 1972, 235: 17-19
- [13] 李蔚仑,李军生,黄国霞,等.指甲花醌的DNA毒性及机理研究[J].*日用化学工业*,2015,45(3):152-156
- [14] Li J, Wang J, Fan J, et al. Binding characteristics of aflatoxin B₁ with free DNA *in vitro* [J]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 230: 1-10
- [15] Xiong Y, Li J, Huang G, et al. Interacting mechanism of benzo(a)pyrene with free DNA *in vitro* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 167: 854-861
- [16] Yu H, Li J, Huang G, et al. Binding characteristics of dibenzo[a, h]anthracene with DNA *in vitro*: investigated by spectroscopic and magnetic bead methods [J]. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 2020, 12: 1-14
- [17] 高颜,李军生,王倩倩,等.茜草色素光泽汀与DNA相互作用机理的研究[J].*现代食品科技*,2014,30(12):43-47
- [18] 李启虔,李军生,路燕,等.光谱学手段对芦荟大黄素潜在毒副作用的研究[J].*毒理学杂志*,2010,24(4):285-287
- [19] Ge Z, Sun T, Xing J, et al. Efficient removal of ethidium bromide from aqueous solution by using DNA-loaded Fe₃O₄ nanoparticles [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(3): 2387-2396
- [20] Furusawa K, Wakamatsu M, Dobashi T, et al. Adsorption kinetics of carcinogens to DNA liquid crystalline gel beads [J]. *Langmuir*, 2007, 23(20): 10081-10087
- [21] Zhao C S, Sun S D, Yang K G, et al. DNA-loaded porous polyethersulfone particles for environmental applications I. preparation [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2010, 98: 1668-1673
- [22] LI Junsheng, FENG Zhen, WANG Jingting, et al. Interaction of aflatoxin G₁ with free DNA *in vitro* and possibility of its application in removing aflatoxin G₁ [J]. *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 2021, 1-9
- [23] Ji J, Xie W. Removal of aflatoxin B₁ from contaminated peanut oils using magnetic attapulgite [J]. *Food Chemistry*, 2021, 339(3): 1-8
- [24] Zhang W, Zhang L, Jiang X, et al. Enhanced adsorption removal of aflatoxin B₁, zearalenone and deoxynivalenol from dairy cow rumen fluid by modified nano-montmorillonite and evaluation of its mechanism [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2020, 259: 1-13
- [25] Wu K H, Huang W C, Hung W C, et al. Modified expanded graphite/Fe₃O₄ composite as an adsorbent of methylene blue: adsorption kinetics and isotherms [J]. *Materials Science and Engineering B*, 2021, 266(1-2): 1-8
- [26] 王靖婷.黄曲霉毒素 G₁ 与游离 DNA 相互作用机理及其影响因素的研究[D].柳州:广西科技大学,2020
- [27] 龚红玲.DNA 凝聚过程中温度及离子浓度效应实验研究[D].贵阳:贵州大学,2017
- [28] 蒋治良,赵保刚.CoFe₂O₂ 纳米粒子的共振散射光谱研究[J].*光谱学与光谱分析*,2002,22(4):615-618
- [29] Natalia I, Dmitrieva, Cai, et al. Cells adapted to high NaCl have many DNA breaks and impaired DNA repair both in cell culture and *in vivo* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(8): 2317-2322
- [30] Gavryushov, Sergei. Electrostatics of B-DNA in NaCl and CaCl₂ solutions: ion size, interionic correlation, and solvent dielectric saturation effects [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(30): 8955-8965
- [31] Menchise V, De S G, Tedeschi T, et al. Insights into peptide nucleic acid (PNA) structural features: the crystal structure of a D-lysine-based chiral PNA-DNA duplex [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(21): 12021-12026
- [32] Ashraf J M, Arif B, Dixit K, et al. Physicochemical analysis of structural changes in DNA modified with glucose [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 51(4): 604-611
- [33] Qiu Z, Xia Y, Wang H, et al. Hydrogen-bonding interaction of urea with DNA bases: a density functional theory study [J]. *Journal of Structural Chemistry*, 2011, 52(3): 462-470
- [34] 曹伟娜,吕名秀,卢奎,等.光谱法研究亮氨酸二肽与小牛胸腺 DNA 的相互作用[C]// First International Conference on Cellular, 2010
- [35] Noroozi M, Angerson W J, Lean M. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1998, 67(6): 1210-1218
- [36] Fs H. Adsorption of methylene blue from aqueous solutions using Fe₃O₄/bentonite nanocomposite [J]. *Hydrology Current Research*, 2012, 3(5): 1-6
- [37] Rosa R V, Alma V D, Abraham M A. Biosorption of B-aflatoxins using biomasses obtained from formosa firethorn [*Pyracantha koizumi* (Hayata) Rehder] [J]. *Toxins*, 2016, 8(7): 1-12
- [38] 杜黎,陈定,李俊,等.冷等离子体处理去除大豆油中黄曲霉毒素 B₁ 的研究[J].*食品安全质量检测学报*,2021,12(13): 5314-5321