

30 种离子液体对青海弧菌 Q67 的毒性效应

张瑾¹, 刘树深^{1*}, 窦容妮², 刘海玲¹, 李晓磊¹

(1. 同济大学环境科学与工程学院, 长江水环境教育部重点实验室, 上海 200092; 2. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 桂林 541004)

摘要:应用微板毒性分析法系统地考察了 30 种具有不同烷基链长度、阴离子基团和阳离子骨架(甲基咪唑、二甲基咪唑和吡啶)的“绿色溶剂”离子液体(ionic liquids, ILs)对一种新型淡水发光菌青海弧菌 Q67 (*Vibrio qinghaiensis* sp. Q67)的毒性效应. 非线性拟合结果表明, Logit 或 Weibull 函数可有效地表征 30 种 ILs 的剂量-效应曲线, 其相关系数 $R > 0.98$, 均方根误差 RMSE < 0.053 ; 30 种 ILs 对 Q67 的毒性差异很大, pEC_{50} 值在 1.01 ~ 5.48 之间; ILs 对 Q67 的毒性具有烷基链效应, 且烷基链上每增加 2 个碳原子, 其 pEC_{50} 值增加近 1 倍; ILs 的阴离子基团、阳离子骨架及 ILs 本身的吸光性不显著影响 ILs 对发光菌 Q67 的毒性.

关键词:离子液体; 青海弧菌 Q67; 毒性效应; 微板毒性分析法; 烷基链效应

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)04-1108-06

Toxicities of 30 Ionic Liquids to *Vibrio qinghaiensis* sp. Q67

ZHANG Jin¹, LIU Shu-shen¹, DOU Rong-ni², LIU Hai-ling¹, LI Xiao-lei¹

(1. Key Laboratory of Yangtze River Water Environment, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: To systematically and effectively assess the toxic effects of “green solvent” ionic liquid (ILs) to a novel freshwater luminescent *Vibrio qinghaiensis* sp. Q67 (Q67), the toxicities of 30 ILs with different alkyl chain lengths, anions and cation skeletons (methylimidazolium, dimethylimidazolium and pyridinium) were determined using the microplate toxicity analysis. The observed dose-response curves (DRCs) were fitted by using the nonlinear least square regression. It was shown that the DRCs of 30 ILs could be well described by the Logit or Weibull function ($R > 0.98$, RMSE < 0.053). The toxicities of 30 ILs varied greatly and the pEC_{50} values of 30 ILs ranged from 1.01 to 5.48. The toxicities of ILs to Q67 mainly depended on the alkyl chain length and every two-carbon augment on the alkyl chain made the toxicity duplicate. The anions, cation skeletons and light absorbance of ILs showed no significant effect on the toxicities of ILs to Q67.

Key words: ionic liquids (ILs); *Vibrio qinghaiensis* sp. Q67; toxicity; microplate toxicity analysis; alkyl-chain effect

离子液体(ionic liquids, ILs)是一类在室温下具有蒸汽压低、不易燃、不挥发等优良特性的有机液态盐^[1~4]. 因而, ILs 被作为一种“绿色”溶剂取代传统的有机溶剂而广泛应用于合成、提取、催化等化工领域中^[5,6]. 然而, ILs 的高水溶性和生物难降解性, 势必会引起一系列水环境污染的问题, 进而威胁到水生生物的生存与安全^[4,7,8]. 因此, 如何准确评价各种 ILs 的毒性已成为环境科学研究的重要课题, 引发了多种关于 ILs 的毒性研究^[7,9], 如 Ames 突变实验^[10], 酶活性抑制实验, 细菌、藻、大型蚤和哺乳动物细胞等有机体的生长抑制实验^[11~13]. 多数研究表明 ILs 的毒性具有烷基链效应.

发光细菌荧光素酶生物活性测定方法是以发光细菌作为指示生物的毒性测试方法. 费氏弧菌(*V. fischeri*)是一种普遍用于毒性测试的国际标准指示生物^[14], 然而, *V. fischeri* 是一种海洋菌, 其培养需

要在培养基中加入 2% ~ 3% 的氯化钠, 而氯化钠的加入很可能会改变水样的潜在特性. 由我国学者研究开发的一种新型发光菌淡水发光菌青海弧菌 Q67 (*Vibrio qinghaiensis* sp. Q67)克服了 *V. fischeri* 的这一缺点, 且能够在很宽的 pH 值范围内(6.5 ~ 11)生长良好, 对毒物的反应敏感^[15]. 鉴于此, 刘保奇等^[16]建立了发光菌青海弧菌 Q67 微板毒性分析(MTA)方法, 该方法具有简单、快速、易于操作、节省试剂以及结果稳定等优点. 目前 MTA 方法已成功用于取代酚类^[17]、苯胺类^[18]、三嗪类农药^[19]等物质的毒性和联合毒性测试. 本课题组也曾就几个 ILs 以及 ILs 与农药二元混合物对 Q67 的发光毒性抑制

收稿日期: 2010-04-11; 修订日期: 2010-06-28

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06Z417); 国家自然科学基金项目(20777056)

作者简介: 张瑾(1978~), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为混合污染物毒性及分子模拟, E-mail: jinz96@yahoo.cn

* 通讯联系人, E-mail: ssluhl@263.com

做过初步研究^[20,21].

为了探讨 ILs 对 Q67 的毒性是否具有烷基链效应,以及 ILs 的阴离子和阳离子骨架对其毒性的影响,本研究采用 MTA 法,比较系统地考察了具有相同阴离子和阳离子骨架但不同烷基链长度、相同阳离子骨架和烷基链长度但不同阴离子以及具有相同阴离子和烷基链长度但不同阳离子骨架(甲基咪唑、二甲基咪唑和吡啶)的 ILs 对 Q67 的毒性效应. 以为合理评价 ILs 的环境生态效应以及 ILs 在各行业的合理选择与应用提供基础数据. 同时,在 ILs 阴离子选择方面,除了含溴及四氟化硼等阴离子外,还选择了一些含氧基团阴离子,这是因为含氧基团的引入可能增加离子液体的降解性能从而成为未来 ILs 生产趋向^[22].

1 材料与方法

1.1 材料、仪器及试剂

实验用菌种为青海弧菌 Q67(购自华东师范大学生物系),菌种的培养与保存参照文献[17~19].

SpectraMax M5 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),SW-CJ-IF 超净工作台(苏州佳宝净化工程设备有限公司);150C 型恒温振荡培养箱(金坛市亿通电子有限公司);LS-B50L 型立式压力蒸汽灭菌器(上海医用核子仪器厂);BT25S 型电子天平(赛多利斯公司).

实验用 30 种 ILs 的纯度均大于 97.0%,其阳离子骨架结构以及取代基(X)的缩写(如 m、e 和 C₁₂等)示于图 1,ILs 编号、简写、理化性质连同剂量-响应拟合函数结果列于表 1 中. 30 种 ILs 的储备液用 milli-Q 水配制,并于 4℃ 冰箱中保存备用.

1.2 毒性测试方法

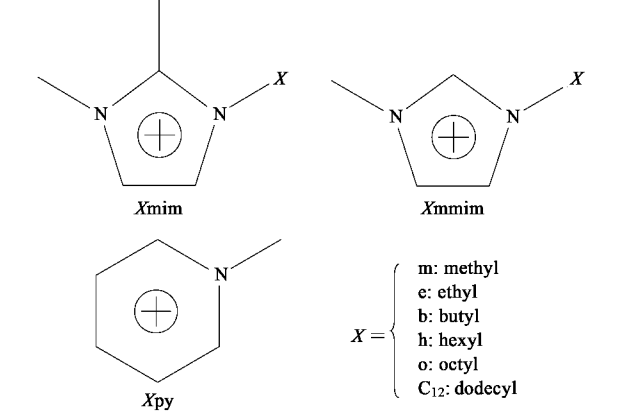


图 1 ILs 阳离子骨架的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of cation skeleton of ILs

ILs 的毒性测定采用微板毒性分析法(MTA)^[16]. 在 96 孔微板第 1 横排的 12 个孔中均加入 100 μL milli-Q 水作为空白对照,在第 2 横排的 12 个孔中分别加入依据在预毒性试验中所得稀释因子稀释的 12 个 ILs 浓度,浓度从大到小呈几何级数递减,尽可能地使各浓度产生的发光抑制率(E)比较均匀地分布在最高效应与最低效应之间. 第 3、4 横排中 12 孔设为第 2 横排相应各孔样品的平行实验,每一个孔都用 milli-Q 水补足至 100 μL,再用 12 道移液器依次从微板第 1 至第 4 排各孔中加入 100 μL 培养好的菌液,使每孔内溶液总体积均为 200 μL. 15 min 后,用酶标仪测定各孔相对发光强度. 以 ILs 对 Q67 的百分发光抑制率(E)为毒性指标. 为了保证实验数据的精度,微板毒性测试至少重复 3 板.

1.3 剂量-效应曲线(DRC)拟合

采用非线性最小二乘回归技术将实验浓度(c)-抑制率数据(E)分别拟合到非线性函数 Weibull(W)和 Logit(L)以拟合相关系数(R)最大或拟合均方根误差(RMSE)最小为目标选择最佳拟合函数. 非线性函数 W 与 L 的解析式分别为:

$$E = 1 - \exp\{-\exp[\alpha + \beta \lg(c)]\}$$
 (1)

$$E = 1 / \{1 + \exp[-\alpha - \beta \lg(c)]\}$$
 (2)

式中 α、β 是位置与斜率参数.

2 结果与分析

2.1 ILs 的 DRC 与毒性效应

30 种 ILs 对发光菌 Q67 的最佳拟合函数(包括回归参数 α、β 值与统计量 R 和 RMSE)参见表 1,其拟合 DRC 如图 2 所示. 结果表明,非线性 Weibull 或 Logit 函数可有效地描述 30 种 ILs 的 DRCs (R > 0.98, RMSE < 0.053),其中 14 种 ILs 的 DRCs 可用 Weibull 表征,另外 16 种 ILs 的 DRCs 则可用 Logit 表征. 每个 DRC 形状相似,但并不完全平行(图 2).

依据最佳拟合函数可以方便计算出各个 ILs 的 EC₅₀ 及其负对数 pEC₅₀ 值(表 1). 可知 pEC₅₀ 值在 1.01~5.48 范围内波动,EC₅₀ 值跨 4 个数量级. 若以 pEC₅₀ 值为毒性评价指标,30 个 ILs 的毒性差异很大,其中毒性最小的是 emimCl(编号 1),毒性最大的是 C₁₂mimCl(编号 23).

2.2 ILs 对 Q67 具有烷基链效应

ILs 的 pEC₅₀ 值与阳离子骨架上烷基链(X)的碳原子个数(C_n)呈良好线性关系.

对于所有的 30 个 ILs(编号 1~30):

表 1 30 种 ILs 的理化特性、储备液、拟合函数与统计量、半数效应浓度 EC₅₀ 及其 95% 置信区间 (CI) 和 EC₅₀ 的负对数值 (pEC₅₀)

Table 1 Some physiochemical properties, stock solutions, fitted functions, some statistics, EC ₅₀ with 95% confidence interval (CI) and pEC ₅₀ of 30 ILs													
编号	ILs ¹⁾	CAS RN	厂家	相对分子质量	$\lambda_{\max}$ /nm	储备液 c /mol·L ⁻¹	F ³⁾	α	β	RMSE	R	EC ₅₀ (95% CI)	pEC ₅₀
1	emimCl	65039-09-0	ACROS (USA)	146.6	228	2.93E-1	W	2.59	2.94	0.029	0.9927	9.87 (8.24, 1.21) E-02	1.01
2	emimBF ₄	143314-16-3	ACROS (USA)	198.0	226	4.24E-1	W	5.27	3.49	0.041	0.9937	2.43 (1.94, 3.00) E-02	1.62
3	emim[CFS]	145022-44-2	Merk (Germany)	260.2	210	1.88E-1	W	2.86	2.62	0.030	0.9910	5.87 (4.79, 7.40) E-02	1.23
4	emim[CphS]	328090-25-1	Merk (Germany)	282.4	230	2.14E-1	W	3.59	3.37	0.022	0.9961	6.70 (5.98, 7.55) E-02	1.17
5	bmimCl	79917-90-1	ACROS (USA)	174.7	212	3.24E-1	W	3.56	2.16	0.036	0.9925	1.52 (1.13, 2.03) E-02	1.82
6	bmimBr	85100-77-2	ACROS (USA)	219.1	226	1.62E-1	L	7.14	3.24	0.011	0.9997	6.26 (6.26, 7.05) E-03	2.20
7	bmimBF ₄	174501-65-6	ACROS (USA)	226.0	225	5.13E-2	W	9.25	3.87	0.028	0.9976	3.27 (2.84, 3.79) E-03	2.48
8	bmim[COS]	401788-98-5	ACROS (USA)	250.3	228	9.72E-2	L	6.93	3.00	0.012	0.9995	4.90 (4.54, 5.58) E-03	2.31
9	bmim[C ₈ OS]	445473-58-5	Strem Chemical (USA)	348.5	204	5.03E-2	L	13.46	5.33	0.027	0.9986	2.98 (2.60, 3.53) E-03	2.53
10	bmim[CO ₃ S]	NA	Strem Chemical (USA)	338.4	226	6.64E-2	L	5.87	2.58	0.034	0.9919	5.31 (3.87, 7.55) E-03	2.28
11	(bmim) ₃ PO ₄	NA	Strem Chemical (USA)	512.6	226	4.89E-2	W	3.37	1.69	0.053	0.9810	6.15 (3.45, 10.55) E-03	2.21
12	bmmimCl	98892-75-2	ACROS (USA)	188.7	228	1.81E-1	L	7.47	3.41	0.014	0.9992	6.45 (5.84, 7.32) E-03	2.19
13	bmmimBF ₄	402846-78-0	ACROS (USA)	240.1	230	5.02E-2	W	8.66	3.18	0.017	0.9992	1.45 (1.32, 1.62) E-03	2.84
14	hmimCl	171058-17-6	Merk (Germany)	202.7	220	1.05E-2	L	13.33	4.31	0.015	0.9993	8.08 (7.47, 9.00) E-04	3.09
15	hmimBF ₄	244193-50-8	Merk (Germany)	254.1	211	1.08E-2	L	10.79	3.04	0.016	0.9991	2.82 (2.52, 3.26) E-04	3.55
16	hmimPF ₆	304680-35-1	Merk (Germany)	312.2	224	1.20E-2	W	7.00	2.20	0.026	0.9964	4.48 (3.65, 5.60) E-04	3.35
17	hmim[CFSN]	382150-50-7	Merk (Germany)	447.4	210	5.58E-4	W	13.55	3.62	0.015	0.9985	1.43 (1.34, 1.56) E-04	3.84
18	phCH ₂ mimBF ₄ ²⁾	500996-04-3	ACROS (USA)	260.0	228	3.37E-2	W	6.69	2.58	0.010	0.9997	1.84 (1.73, 1.98) E-03	2.74
19	omimCl	64697-40-1	Merk (Germany)	230.8	212	4.51E-4	L	14.12	3.03	0.018	0.9988	2.19 (1.92, 2.57) E-05	4.66
20	omimBF ₄	244193-52-0	Strem Chemical (USA)	282.3	226	5.51E-4	L	12.73	2.66	0.019	0.9989	1.64 (1.39, 2.06) E-05	4.79
21	omim[C ₈ OS]	NA	Strem Chemical (USA)	404.6	212	6.11E-3	L	15.90	3.84	0.019	0.9986	7.23 (6.47, 8.31) E-05	4.14
22	omim[CO ₃ S]	NA	Strem Chemical (USA)	394.5	212	5.19E-4	L	16.81	4.11	0.017	0.9988	8.13 (7.32, 9.34) E-05	4.09
23	C ₁₂ mimCl	114569-84-5	ACROS (USA)	288.9	212	2.65E-4	W	9.33	1.77	0.018	0.9983	3.33 (2.79, 4.03) E-06	5.48
24	epyCl	2294-38-4	ACROS (USA)	143.6	245	1.09E-0	L	5.28	4.46	0.024	0.9975	6.55 (5.68, 7.69) E-02	1.18
25	bpyCl	1124-64-7	Merk (Germany)	171.7	245	1.05E-1	L	4.82	2.28	0.010	0.9994	7.69 (7.06, 8.85) E-03	2.11
26	bpyBr	874-80-6	ACROS (USA)	216.1	230	1.28E-1	L	6.84	3.25	0.008	0.9996	7.86 (7.48, 8.39) E-03	2.11
27	bpyBF ₄	203389-28-0	Merk (Germany)	223.0	245	4.48E-2	W	5.34	2.80	0.046	0.9883	9.16 (6.71, 12.52) E-03	2.04
28	hpyCl	6220-15-1	ACROS (USA)	199.7	245	8.39E-4	L	16.01	4.29	0.012	0.9990	1.85 (1.72, 2.06) E-04	3.73
29	hpyBF ₄	474368-70-2	ACROS (USA)	251.1	245	4.23E-2	L	9.44	3.43	0.011	0.9993	1.77 (1.65, 1.94) E-03	2.75
30	hpy[CFSN]	460983-97-5	Merk (Germany)	444.4	245	1.63E-2	W	10.50	3.21	0.045	0.9943	4.12 (3.15, 5.39) E-04	3.39

1) 中括号内一价阴离子缩写分别表示: [CO₃S] 为 CH₃OC₂H₄OC₂H₄OSO₃; [CFS] 为 CF₃SO₃; [CphS] 为 p-CH₃-C₆H₄-SO₃; [COS] 为 CH₃OSO₃; [C₈OS] 为 CH₃(CH₂)₇OSO₃; [CFSN] 为 (CF₃SO₂)₂N; 2) phCH₂ 为 C₆H₅-CH₂-; 3) F 为拟合函数; W 为 Weibull; L 为 Logit

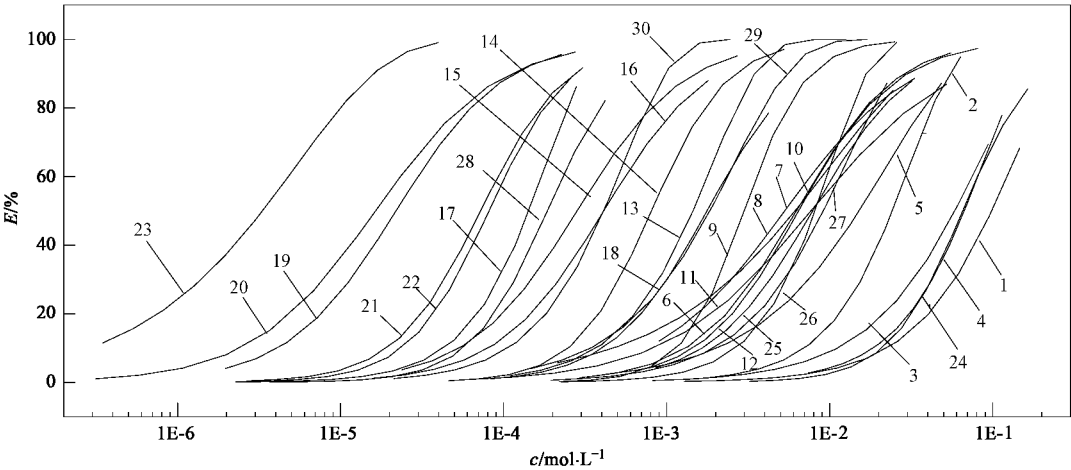


图 2 30 种 ILs 的拟合剂量效应曲线 (DRCs)

Fig. 2 Fitted dose-response curves (DRCs) of 30 ILs under study

$$\text{pEC}_{50} = 0.3424 + 0.474 \times C_n \tag{3}$$

对于 23 个咪唑基 ILs (编号 1 ~ 23):

$$\text{pEC}_{50} = 0.400 + 0.466 \times C_n \tag{4}$$

对于 7 个吡啶基 ILs (编号 24 ~ 30):

$$\text{pEC}_{50} = -0.023 + 0.546 \times C_n \tag{5}$$

由方程 (3) ~ (5) 计算的 pEC_{50} 值对实验观测

pEC_{50} 值的相关图分别如图 3 所示. 结果表明 ILs 毒性与其阳离子骨架上烷基链的碳原子数 C_n 间有良好线性关系, 烷基链越长其毒性越大, 即具有烷基链效应. 且烷基链上每增加 2 个碳原子, 其对 Q67 的毒性几乎增加 1 倍.

2.3 ILs 对 Q67 的毒性规律

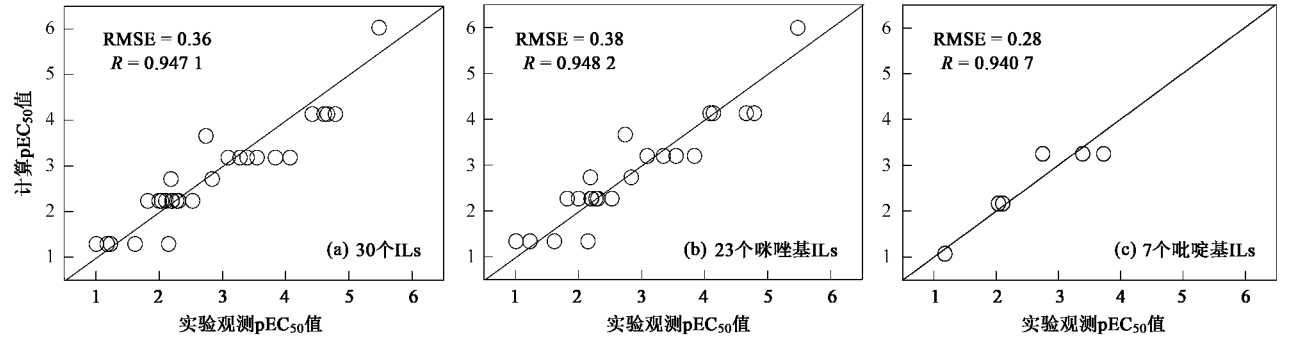


图3 方程 (3) ~ (5) 拟合 pEC_{50} 值与实验观测值相关图

Fig.3 Plot of the pEC_{50} values predicted by eq. (3)-(5) versus those observed

具有相同阳离子骨架和烷基链长度而阴离子不同的 ILs 对 Q67 的毒性稍有差异, 但不显著. 如 7 个具有不同阴离子的丁基甲基咪唑基 ILs (表 1 中编号 5 ~ 11) 的 pEC_{50} 值分别为 1.82、2.20、2.48、2.31、2.53、2.28 和 2.21, 平均值为 2.26, 标准偏差 (s) 为 0.232; 对于 4 个具有阴离子基团 Cl^- 、 BF_4^- 、 $[\text{CFS}]^-$ 和 $[\text{CphS}]^-$ 的乙基甲基咪唑基 ILs, pEC_{50} 平均值为 1.26, s 为 0.259; 对于 4 个己基甲基咪唑基 ILs, pEC_{50} 平均值为 3.46, s 为 0.317; 对于 4 个辛基甲基咪唑基 ILs, pEC_{50} 平均值为 4.42, s 为 0.357.

甲基咪唑和吡啶 2 种骨架的 ILs 对 Q67 的毒性较接近, 但无明显变化规律 (表 1). 如 emimCl (编号 1) 和 epyCl (编号 24)、bmimCl (编号 5) 和 bpyCl (编号 25)、hmimCl (编号 14) 和 hpyCl (编号 28) 的毒性是前者稍低于后者; 而对于 bmimBr (编号 6) 和 bpyBr (编号 26)、bmim BF_4 (编号 7) 和 bpy BF_4 (编号 27)、hmim BF_4 (编号 15) 和 hpy BF_4 (编号 29)、hmim $[\text{CFSN}]$ (编号 17) 和 hpy $[\text{CFSN}]$ (编号 30) 的毒性是前者略高于后者. 但含此 2 种骨架的 ILs 的毒性均较二甲基咪唑类 ILs 的毒性稍低, 但差异不显著, 如 bmimCl (编号 5) < bpyCl (编号 25) < bmmimCl (编号 12), 平均值为 2.04, s 为 0.195.

3 讨论

离子液体并不总是绿色的^[23], Cho 等^[8]研究也

发现有的 ILs 毒性甚至比传统有机溶剂高. ILs 对生物毒性具有烷基链效应^[7, 24-26], ILs 对 Q67 的毒性也不例外, 且烷基链上每增加 2 个碳原子, 则 ILs 的毒性几乎增加 1 倍. 当阳离子骨架上烷基链碳原子数 (C_n) > 6 时, ILs 的毒性除了 $\text{phCH}_2\text{mimBF}_4$ (编号 18) 外基本上均高于高毒农药如敌敌畏的毒性 ($\text{pEC}_{50} = 2.94$)^[20].

ILs 对青海弧菌 Q67 毒性的烷基链效应从某种程度上支持了 ILs 的毒性作用是通过极性麻醉作用破坏有机体细胞膜的观点. 烷基链的长度决定了 ILs 的亲脂性, 进而影响 ILs 的生态毒性^[27]. ILs 的烷基链越长, 亲脂性越强, 其在生物有机体的细胞膜上吸附聚集的能力越强, 更易破坏整个细胞膜, 杀死细菌, 更多地降低了细菌发光强度^[12, 28]. 该理论可用于解释 $\text{phCH}_2\text{mimBF}_4$ (编号 18) 的毒性较其它几个含有相同碳原子个数 ILs 的毒性低的原因, 因为该 ILs 具有一个特殊的大共轭结构的苄基 (Ph—), 导致其阳离子基团的亲水性增强即亲脂性降低^[29], 从而降低了离子液体的毒性.

然而, 需要进一步指出的是, 本研究所选 ILs 的烷基链上碳原子数在 0 ~ 12 范围内, 当烷基链上的碳原子数继续增多时, ILs 的毒性增加幅度可能会逐渐减小, 当碳原子数目增加到一定数目时, ILs 对 Q67 的毒性将不再增加, 这尚需进一步研究验证.

不同阴离子对 ILs 毒性影响很小^[30]. 阴离子对毒性效应的影响是由于阴离子的水解而产生的^[12]:

如具有 BF_4^- 阴离子基团的 ILs 毒性是由于该离子液体水解产生的 F^- . 本研究亦发现 ILs 的阴离子基团对毒性影响虽稍有差异, 但不显著.

除了 ILs 的烷基链长度和阴离子基团外, 本研究还探讨了阳离子骨架(甲基咪唑、二甲基咪唑和吡啶)对 ILs 毒性效应的影响. 含有相同阴离子和烷基链长度的甲基咪唑类 ILs 和吡啶类 ILs 毒性相近, 可能是因为这 2 种基团的亲脂性相近. 此外, 含此 2 种骨架的 ILs 较具有相同烷基链长度和阴离子基团的二甲基咪唑类 ILs 毒性稍低, 可能是因为后者在结构上较甲基咪唑和吡啶多了 1 个甲基, 增强了该基团的亲脂性, 进而增强了该类 ILs 对 Q67 的毒性.

为了探讨 ILs 自身吸光性质对发光菌 Q67 的毒性影响, 本研究还测定了 ILs 的紫外-可见吸收光谱. 结果发现 30 个 ILs 的吸收峰基本上都在紫外光区, 其最大吸收峰在 210 ~ 250 nm 之间, 而 Q67 的发光光谱范围在 420 ~ 660 nm, 在可见光区, 最大波长是 $(484 \pm 1) \text{ nm}^{[28]}$. 表明 ILs 对发光菌 Q67 的发光抑制与其对光的吸光没有直接关系.

综上所述, ILs 对 Q67 的毒性主要取决于烷基链长度、阴离子基团、阳离子骨架(甲基咪唑、二甲基咪唑和吡啶)以及 ILs 自身的吸光性对 ILs 对 Q67 毒性无显著影响.

4 结论

2 个非线性函数 Weibull 或 Logit 可较好地描述 ILs 对发光菌 Q67 的剂量-效应曲线. ILs 对发光菌 Q67 的毒性差异较大, EC_{50} 跨 4 个数量级. ILs 对 Q67 的毒性与其阳离子骨架上烷基链的碳原子个数呈良好线性关系, 即具有典型的烷基链效应; ILs 的毒性随着烷基链的延长而增加, 且每增加 2 个碳原子, 毒性增加近 1 倍. ILs 的阴离子和阳离子骨架(甲基咪唑、二甲基咪唑和吡啶)以及 ILs 本身的吸光性对 ILs 毒性影响不显著.

参考文献:

- [1] Nikitenko S I, Cannes C, Naour C L, *et al.* Spectroscopic and electrochemical studies of U (IV)—hexachloro complexes in hydrophobic room-temperature ionic liquids [BuMeIm][Tf2N] and [MeBu3N][Tf2N] [J]. *Inorganic Chemistry*, 2005, **44**: 9497-9505.
- [2] Brennecke J F, Maginn E J. Ionic liquids: innovative fluids for chemical processing [J]. *AIChE Journal*, 2001, **47**: 2384-2389.
- [3] Bernot R J, Brueseke M A, Evans-White M A, *et al.* Acute and chronic toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Daphnia magna* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005,

24: 87-92.

- [4] Docherty K M, Dixon J K, Kulpa Jr C F. Biodegradability of imidazolium and pyridinium ionic liquids by an activated sludge microbial community [J]. *Biodegradation*, 2007, **18**: 481-493.
- [5] Welton T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis [J]. *Chemical Reviews*, 1999, **99**: 2071-2084.
- [6] Endres F. Ionic liquids: solvents for the electrodeposition of metals and semiconductors [J]. *ChemPhysChem*, 2002, **3**: 144.
- [7] Zhao D B, Liao Y C, Zhang Z D. Toxicity of Ionic Liquids [J]. *Clean: Soil, Air, Water*, 2007, **35**: 42-48.
- [8] Cho C W, Jeon Y C, Thuy Pham T P, *et al.* The ecotoxicity of ionic liquids and traditional organic solvents on microalga *Selenastrum capricornutum* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, **71**: 166-171.
- [9] Thuy Pham T P, Cho C W, Yun Y S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review [J]. *Water Research*, 2010, **44**: 352-372.
- [10] Docherty K M, Hebbeler S Z, Kulpa C F. An assessment of ionic liquid mutagenicity using the Ames Test [J]. *Green Chemistry*, 2006, **8**: 560-567.
- [11] Luo Y R, Wang S H, Yun M X, *et al.* The toxic effects of ionic liquids on the activities of acetylcholinesterase and cellulase in earthworms [J]. *Chemosphere*, 2009, **77**: 313-318.
- [12] Latała A, Nędzi M, Stepnowski P. Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Chlorella vulgaris*, *Oocystis submarina* (green algae) and *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema marinoi* (diatoms) [J]. *Green Chemistry*, 2009, **11**: 580-588.
- [13] 李效宇, 罗艳蕊, 李磊, 等. 一种离子液体——溴化 1-辛基-3-甲基咪唑对大型溞摄食强度的影响 [J]. *环境科学学报*, 2008, **28**: 2331-2335.
- [14] Kahru A. Ecotoxicological tests in non-ecotoxicological research: contribution to 3Rs. Use of luminescent photobacteria for evaluating the toxicity of 47 MEIC reference chemicals [J]. *ALTEX-Alternativen zu Tierexperimenten*, 2006, **23**: 302-308.
- [15] 朱文杰, 汪杰, 陈晓耘, 等. 发光细菌一新种——青海弧菌 [J]. *海洋与湖沼*, 1994, **2**: 273-280.
- [16] 刘保奇, 葛会林, 刘树深. 测定环境污染物对青海弧菌发光强度抑制的微板发光法研究 [J]. *生态毒理学报*, 2006, **1**(2): 186-191.
- [17] 莫凌云, 刘海玲, 刘树深, 等. 5 种取代酚化合物对淡水发光菌的联合毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2006, **1**(3): 259-264.
- [18] 葛会林, 刘树深, 刘芳. 多组分苯胺类混合物对发光菌的抑制毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2006, **1**(4): 295-306.
- [19] Zhu X W, Liu S S, Ge H L, *et al.* Comparison between the short-term and the long-term toxicity of six triazine herbicides on photobacteria Q67 [J]. *Water Research*, 2009, **43**: 1731-1739.
- [20] Zhang J, Liu S S, Liu H H. Effect of ionic liquid on the toxicity of pesticide to *Vibrio qinghaiensis* sp. Q67 [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **170**: 920-927.
- [21] 刘芳, 刘树深, 刘海玲. 部分离子液体及其混合物对发光菌的毒性作用 [J]. *生态毒理学报*, 2007, **2**(2): 164-171.

- [22] Stasiewicz M, Mulkiewicz E, Tomczak-Wandzel R, *et al.* Assessing toxicity and biodegradation of novel, environmentally benign ionic liquids (1-alkoxymethyl-3-hydroxypyridinium chloride, saccharinate and acesulfamates) on cellular and molecular level [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, **71**(1): 157-165.
- [23] Swatloski R P, Holbrey J D, Rogers R D. Ionic liquids are not always green: hydrolysis of 1-butyl- 3-methylimidazolium hexafluorophosphate [J]. *Green Chemistry*, 2003, **5**: 361-363.
- [24] Costello D M, Brown L M, Lamberti G A. Acute toxic effects of ionic liquids on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) survival and feeding [J]. *Green Chemistry*, 2009, **11**: 548-553.
- [25] Headley A D, Kotti S R S S, Nam J, *et al.* Effect of hydrophobic side-chains on the solvation of imidazolium salts [J]. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 2005, **18**: 1018-1022.
- [26] Ranke J, Mölter K, Stock F, *et al.* Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, **58**: 396-404.
- [27] Ranke J, Müller A, Bottin-Weber U, *et al.* Lipophilicity parameters for ionic liquid cations and their correlation to in vitro cytotoxicity [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **67**: 430-438.
- [28] 朱文杰,郑天凌,李伟民. 发光细菌与环境毒性检测[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2009. 70.
- [29] 徐寿昌. 有机化学[M]. 北京:高等教育出版社, 1993. 112-139.
- [30] Stolte S, Arning J, Bottin-Weber U, *et al.* Anion effects on the cytotoxicity of ionic liquids[J]. *Green Chemistry*, 2006, **8**: 621-629.