

离子液体[omim][PF₆]的生物降解性研究

戴宁¹, 张凤君^{1*}, 陈继², 李刚³, 邓岳峰², 李隋^{1,4}

(1. 吉林大学环境与资源学院, 长春 130026; 2. 中国科学院长春应用化学研究所稀土化学与物理重点实验室, 长春 130022;

3. 吉林省产品质量监督检验院, 长春 130022; 4. 伊尔姆环境资源管理咨询(上海)有限公司, 上海 200001)

摘要:以[omim][PF₆]为 C、N、P 营养源驯化活性污泥, 考察驯化前后不同活性污泥接种微生物时离子液体的生物降解性, 以及在支链上添加酯基对离子液体生物降解性的影响; 同时, 探讨经过驯化的活性污泥对 1-甲基-3-辛基咪唑阳离子基团([omim]⁺)生物降解的途径. 结果表明, 通过在支链上添加酯基, 可以改善离子液体的生物降解性; 以普通的活性污泥为接种微生物的密闭瓶实验表明, [omim][PF₆]的生物降解率 < 20%, 属于难生物降解的物质, 进入环境后可能产生较长时间的积累; 以经过驯化的活性污泥为接种微生物时, 可以提高[omim][PF₆]的生物降解率到 60% 左右; 在[omim]⁺的生物降解过程中, 会产生 1-甲基咪唑阳离子的积累; 对[omim]⁺的生物降解产物的 HPLC-MS/MS 分析, 初步推测[omim]⁺的生物降解途径.

关键词:[omim][PF₆]; 生物降解性; [omim]⁺; 降解途径

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0480-04

Biodegradation of [omim][PF₆]

DAI Ning¹, ZHANG Feng-jun¹, CHEN Ji², LI Gang³, DENG Yue-feng², LI Sui^{1,4}

(1. College of Environment and Resources, Jilin University, Changchun 130026, China; 2. Key Laboratory of Rare Earth Chemistry and Physics, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China; 3. Institute of Supervision & Inspection on Product Quality of Jilin Province, Changchun 130022, China; 4. ERM Consult (Shanghai) Company Ltd., Shanghai 200001, China)

Abstract: Acclimatized the activated sludge with [omim][PF₆] which was used as the C, N, P resources for microbe, the biodegradation ratio of [omim][PF₆] with different inoculants which were acclimatized or not was investigated. And the influence of appending an ester in the side chain of the imidazolium cation on the biodegradation of [omim][PF₆] was discussed in the same conditions. The biodegradation pathways of [omim]⁺ were analyzed. The results showed that the biodegradation of ionic liquids was improved by appending an ester in the side chain; the biodegradation rate of [omim][PF₆] was less than 20% when the inoculant was original activated sludge, which was not referred as “readily biodegradable”; [omim][PF₆] would stay in environment for a long time; the biodegradation ratio reached 60% when the inoculant was acclimatized activated sludge; 1-methyl-imidazolium was residual in the course of biodegradation of [omim]⁺, the semifinished products of biodegradation of [omim]⁺ was analyzed by HPLC-MS/MS and the pathways were presumed.

Key words: [omim][PF₆]; biodegradation; [omim]⁺; pathways

离子液体是一类由离子组成的室温下呈液态的物质, 一般由有机阳离子和无机阴离子组成, 具有不挥发、不易燃、热稳定等性质, 使其作为绿色介质在有机合成、两相催化和物质分离等领域受到广泛关注^[1,2]. 离子液体被认为是“绿色化学”介质, 主要由于其低蒸气压、易再生循环和适应于接触反应过程等性质, 而并非真正意义上对环境和健康的“绿色”. 各种化学物质的发展, 首先要考虑其对环境和人类健康的影响. 随着离子液体研究的深入, 应用领域的不断开拓, 各种功能化离子液体不断合成, 而关于这一类物质的生物降解性、毒理学、生态毒理学的研究却开展得比较少^[3], 目前主要有 Jastorff 等^[3] 和 Gathergood 等^[4] 在做这方面的工作, 基础数据和结论还不是很全面. 从这个角度说, 离子液体对环境的风

险还没有引起足够的重视. 正因为离子液体是一类有广阔的应用前景的化学物质, 其溶解度和辛醇-水分配系数等性质决定了离子液体存在大量进入环境, 对人类健康造成影响的可能性, 其对环境以及健康的风险评价研究十分有意义.

生物降解性表示物质可被环境微生物接受的程度, 可以体现物质在环境中积累时间的长短, 是评价新物质对环境安全性的重要指标. 离子液体的种类

收稿日期: 2008-02-15; 修订日期: 2008-05-21

基金项目: 吉林大学“985 工程”项目; 吉林大学研究生创新基金项目; 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07207-007-04); 国家科技支撑计划项目(2006BAJ08B09); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06A410)

作者简介: 戴宁(1982~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为水处理技术, E-mail: daining@email.jlu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: zhangfengjun@jlu.edu.cn

繁多, 目前对其生物降解性的研究往往从各种离子液体间的规律入手, 集中在 3 方面^[3-12]: ①不同阳离子类型的影响; ②不同阴离子类型的影响; ③支链不同碳原子个数的影响. 有研究表明^[12], 参考改善表面活性剂生物降解性的经验, 在支链上添加酯基, 有助于提高离子液体的生物降解性. 本研究选择 1-甲基-3-辛基咪唑六氟磷酸盐([omim][PF₆]), 以下简称离子液体 1), 以其为 C、N、P 源驯化活性污泥, 考察驯化前后离子液体 1 和 1-甲基-3-(戊酯基)己基咪唑溴化物(以下简称离子液体 2)生物降解性的变化, 分析在支链上添加酯基对生物降解性的影响; 同时, 分析经过驯化的活性污泥对[omim][PF₆](1-甲基-3-辛基咪唑六氟磷酸盐)生物降解的中间产物, 初步讨论阳离子基团的生物降解机制. 2 种离子液体的结构式见图 1.

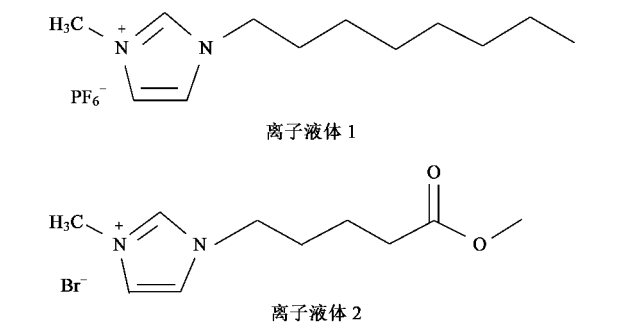


图 1 2 种离子液体结构式

Fig.1 Structures of the two ionic liquids

1 材料与方法

1.1 离子液体

实验所用离子液体均由长春应用化学研究所提供, 纯度 > 99%.

1.2 活性污泥的驯化

原始活性污泥取自长春一汽废水处理厂曝气池. 以离子液体 1 为唯一 C、N、P 源, 适当补充 Mg、Fe、Ca 等微量元素, 对 1L 活性污泥进行培养驯化. 逐渐提高离子液体 1 的浓度, 从 10 ~ 90 mg•L⁻¹ (COD 值为 21 ~ 184 mg•L⁻¹), 停留时间 23 h, 沉淀 1 h, 检测每天进出水 COD 浓度. 连续驯化 28 d 后, 当进水离子液体 1 的浓度为 90 mg•L⁻¹ 时, COD 去除率 > 85%, 驯化结束.

1.3 生物降解率的测定

采用密闭瓶法测定 2 种离子液体的生物降解率^[13]. 每组实验设 2 组平行, 同时监测 DO 值在 28 d 内的变化, 平行数据差 < 10%, 取平均值. 根据离子

液体的结构式, 计算其理论需氧量, 在实验检测范围内, 每种受试物选择 5 mg•L⁻¹ 和 8 mg•L⁻¹ 2 个浓度. 按公式(1)和公式(2)计算离子液体在该实验条件下的降解率. 接种微生物分别为原始活性污泥和驯化 28 d 的活性污泥沉淀 1 h 后的上清液.

BOD =

$$\frac{\text{受试物氧消耗}(\text{mg/L}) - \text{空白对照氧消耗}(\text{mg/L})}{\text{试验瓶中受试物的浓度}(\text{mg/L})}$$
$$= \frac{\text{氧}(\text{mg})}{\text{受试物}(\text{mg})} \tag{1}$$

$$\text{降解率} = \frac{\text{BOD}(\text{氧} / \text{受试物})}{\text{ThOD}(\text{氧} / \text{受试物})} \times 100\% \tag{2}$$

1.4 离子液体阳离子部分生物降解产物的 HPLC-MS/MS 分析

驯化 28 d 的活性污泥, 在停留时间分别为 0.5、1、2、4、8 和 24 h 时, 取上清液, 稀释 10 倍, 做 HPLC-MS/MS 分析. 色谱型号及条件: Agilent 1100N 液相色谱仪, 1946C 单四极杆质谱检测器, 二极管阵列紫外检测器, phenomenex Onyx Monolithic C18 4.6 × 100 mm 色谱柱. 流动相: 乙腈-0.1% TFA 水溶液梯度洗脱. 流速: 4 mL•min⁻¹. 柱后分流 10:1. 质谱条件: 阳离子扫描模式; 质量扫描范围: 50 ~ 700 u; 碎裂电压: 70V; 毛细管电压: 4 000 V; 干燥气流量: 10 L/min; 干燥气温度: 350℃; 喷雾压力: 35 Psi.

2 结果与讨论

2.1 2 种离子液体的生物降解性

当接种微生物为普通活性污泥上清液时, 不同浓度受试物的降解率如图 2 所示. 可以看出, ①不同浓度的不同物质, 在 28 d 的实验中, 其降解率变化很小; ②SDS(十二烷基硫酸钠)的生物降解性明显好于离子液体; ③离子液体 2 的生物降解性好于离子液体 1; ④当受试物浓度提高时, 降解率略有下降. 其中① ~ ③基本符合 Gathergood 等^[4]的结论.

当接种微生物为以离子液体 1 驯化的活性污泥上清液时, 不同浓度受试物的生物降解率如图 3 所示. 可以看出, 与普通的活性污泥微生物相比, 离子液体 1 的生物降解率有明显的提高. 当离子液体 1 的浓度为 5 mg•L⁻¹ 时, 28 d 的降解率 > 60%, 其他曲线的趋势与图 2 相同. 说明通过适当的驯化, 活性污泥微生物可以适应并降解以离子液体 1 为代表的这一类离子液体. 理论认为, 在 28 d 内, 降解率 > 60% 被认为是“易生物降解物质”^[12]. 实验表明, 离子液体作为一类新物质, 相对于 SDS, 生物降解性较差, 活性污泥作为种群丰富, 适应能力强的环境微生物,

在短期内对其没有表现出良好的适应性,离子液体进入环境后,可能产生较长时间的积累.但微生物对新物质的适应需要适当的过程,通过对微生物的适

当驯化,以离子液体 1 为代表的咪唑类离子液体是有可能成为“易生物降解物质”的,这为人们选择生物法去除环境中的离子液体提供了可能性.

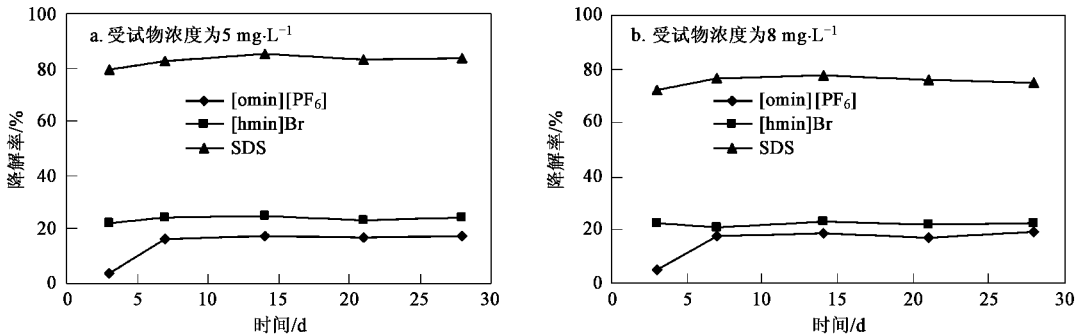


图 2 接种微生物为未经驯化活性污泥时不同受试物的生物降解率
Fig.2 Biodegradation of different substances when inoculant was original activated sludge

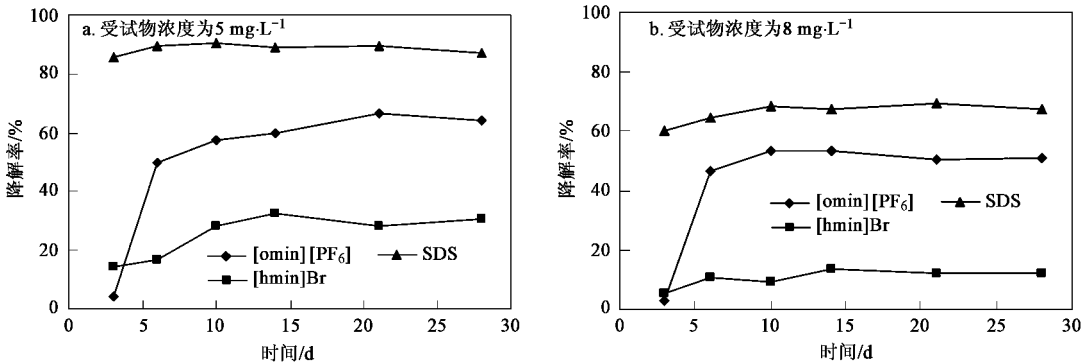


图 3 接种微生物为经过驯化活性污泥时不同受试物的生物降解率
Fig.3 Biodegradation of different substances when inoculant was acclimatized activated sludge

2.2 [omin]⁺ 及其生物降解中间产物分析

2.2.1 [omin]⁺ 及其生物降解中间产物随停留时间的变化

离子液体的生物降解主要是有机阳离子的生物降解.在经过驯化的活性污泥体系中,[omin]⁺ 的降解中间产物浓度随停留时间的变化如图 4 所示.可以看出,[omin]⁺ 的分子量为 195,经过驯化的活性污泥微生物对[omin]⁺ 表现了良好的代谢活性,在前 8 h,[omin]⁺ 浓度就已降至较低.在[omin]⁺ 浓度降低的同时,出现了分子量为 83 的中间产物的积累,推测为 1-甲基咪唑,生物降解的断键形式如图 5 所示.咪唑环在结构上与苯相似,环中各原子构成一个环闭的共轭体系,电子云分布均匀,分子成平面型,较难被微生物降解^[14],所以需要的降解时间较长,并产生了少量积累,通过延长停留时间的方法,咪唑环可以得到进一步的降解.

2.2.2 [omin]⁺ 的生物降解途径分析

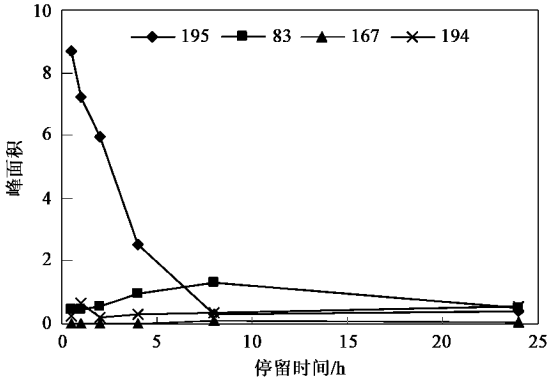
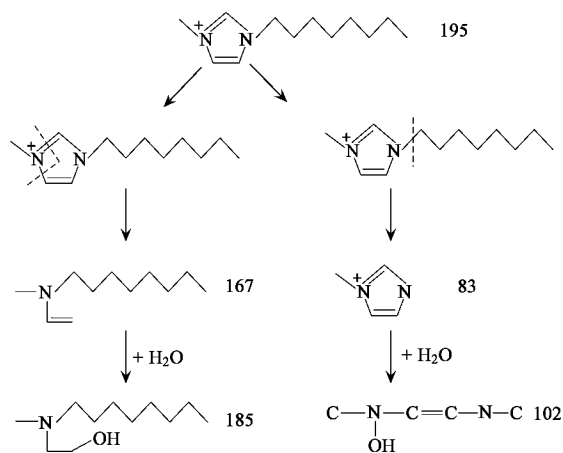
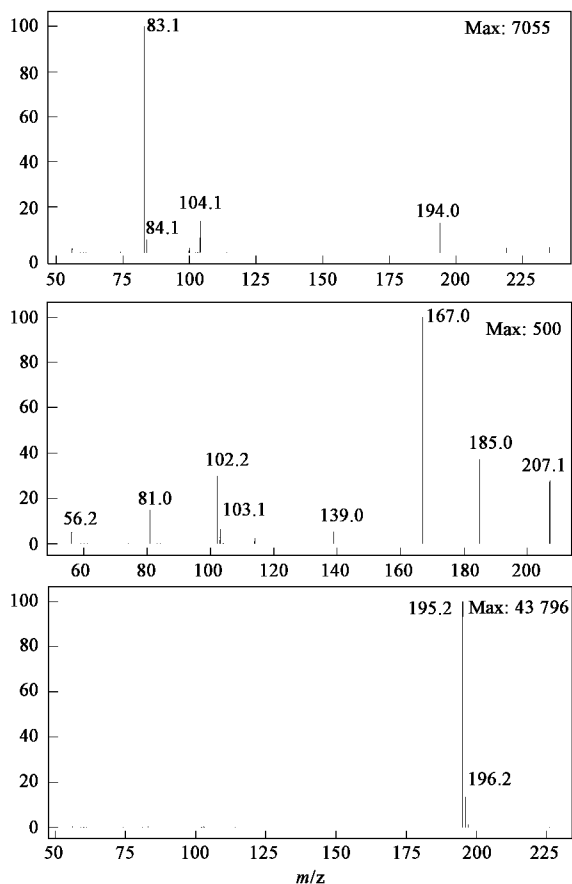


图 4 [omin]⁺ 其生物降解中间产物浓度随停留时间变化
Fig.4 Concentration change of products of biodegradation of [omin]⁺

为进一步了解[omin]⁺ 的生物降解中间产物的种类及其在活性污泥中积累的程度,将不同停留时间的活性污泥上清液做 HPLC-MS/MS 分析,质谱图如图 6 所示.主要产物的分子式为 195、83、167 和 185 等.

图5 [*omin*]⁺的生物降解途径Fig.5 Pathways of biodegradation of [*omin*]⁺图6 [*omin*]⁺的生物降解产物质谱图Fig.6 Mass spectrum of products of biodegradation of [*omin*]⁺

根据检测到的产物分子量,初步推测[*omin*]⁺的生物降解途径如图5所示.由于咪唑环上2个N原子的失电子能力不同,[*omin*]⁺的生物降解有2个主要的途径,均以氧化反应为主,且所产生的中间产物均降低[*omin*]⁺的生物毒性,说明生物法是去除以[*omim*][PF₆]₂为代表的离子液体的有效方法.

3 结论

(1)通过在支链上添加酯基,可以改善离子液体的生物降解性,但普通的环境微生物对离子液体的适应性较差,离子液体28 d生物降解率小于SDS,属于难生物降解的物质,进入环境后会产生较长时间的积累.

(2)以经过驯化的活性污泥上清液为接种微生物,可以提高离子液体1的生物降解性.

(3)由于咪唑环较难被微生物降解,在[*omin*]⁺的生物降解中,产生1-甲基咪唑的积累,通过延长停留时间,可以得到进一步的降解.

(4)由于咪唑环上2个N原子的失电子能力不同,[*omin*]⁺的生物降解有2个主要的途径,均以氧化反应为主.

参考文献:

- [1] 柯明,周爱国,宋昭峥,等.离子液体的毒性[J].化学进展,2007,19(5):671-679.
- [2] 胡雪生,余江,夏寒松,等.离子液体的绿色合成及环境性质[J].化学通报,2005,12:906-910.
- [3] Jastorff B, Störmann R, Ranke J, *et al.* How hazardous are ionic liquids? Structure-activity relationships and biological testing as important elements for sustainability evaluation[J]. Green Chemistry, 2003, 5: 136-142.
- [4] Gathergood N, Garcia T M, Peter J S. Biodegradable ionic liquids: Part I. Concept, preliminary targets and evaluation[J]. Green Chemistry, 2004, 6: 166-175.
- [5] Stolte S, Arning J, Ulrike B W, *et al.* Anion effects on the cytotoxicity of ionic liquids[J]. Green Chemistry, 2006, 8: 621-629.
- [6] Gathergood N, Peter J S, Garcia T M. Biodegradable ionic liquids: Part III The first readily biodegradable ionic liquids[J]. Green Chemistry, 2006, 8: 156-160.
- [7] Stolte S, Arning J, Ulrike B W, *et al.* Effects of different head groups and functionalised side chains on the cytotoxicity of ionic liquids[J]. Green Chemistry, 2007, 9: 760-767.
- [8] Jastorff B, Mölter K, Peter B, *et al.* Progress in evaluation of risk potential of ionic liquids-basis for an eco-design of sustainable products[J]. Green Chemistry, 2005, 7: 362-372.
- [9] 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.
- [10] Matsumoto M, Mochiduki K, Kondo K. Toxicity of Ionic Liquids and Organic Solvents to Lactic Acid-Producing Bacteria[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2004, 98(5): 344-347.
- [11] Skladanowski A C, Stepnowski P, Kleszczynski K, *et al.* AMP deaminase in vitro inhibition by xenobiotics A potential molecular method for risk assessment of synthetic nitro- and polycyclic musks, imidazolium ionic liquids and *N*-glucopyranosyl ammonium salts[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005, 19: 291-296.
- [12] Garcia T M, Gathergood N, Peter J S. Biodegradable ionic liquids: Part II. effect of the anion and toxicology[J]. Green Chemistry, 2005, 7: 9-14.
- [13] 国家环境保护总局. 化学品测试方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004. 350-356.
- [14] 汪小兰. 有机化学[M]. (第三版). 北京: 高等教育出版社, 1997. 285.