



引用格式:王军,李迎宾,杨许召,等.咪唑基离子液体表面活性剂与牛血清蛋白混合体系相互作用研究[J].轻工学报,2019,34(3):21-27.

中图分类号:TQ423.12 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2019.03.002

文章编号:2096-1553(2019)03-0021-07

# 咪唑基离子液体表面活性剂与牛血清蛋白混合体系相互作用研究

## Study on the interaction between imidazolium-based ionic liquid surfactant and bovine serum albumin mixed system

王军,李迎宾,杨许召,邹文苑,王萍,惠蒙蒙

WANG Jun, LI Yingbin, YANG Xuzhao, ZOU Wenyuan, WANG Ping,  
HUI Mengmeng

郑州轻工业大学 材料与化学工程学院/郑州市精细化学品重点实验室,  
河南 郑州 450001

College of Material and Chemical Engineering/Zhengzhou Key Laboratory of Fine Chemicals,  
Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

### 关键词:

咪唑基离子液体;表面活性剂;牛血清蛋白;相互作用

### Key words:

imidazolium-based ionic liquid; surfactant; bovine serum albumin (BSA); interaction

**摘要:**以 N-甲基咪唑、溴代十四烷和双氰胺银为原料,采用两步法合成了 1-十四烷基-3-甲基咪唑双氰胺盐([C<sub>14</sub>mim][DCA]),并对其与牛血清蛋白(BSA)混合体系的相互作用进行研究,结果表明:1)混合体系的 cmc 值和 A<sub>min</sub> 值均随 BSA 浓度的增加而变大;2)混合体系中[C<sub>14</sub>mim][DCA]与 BSA 间的相互作用对 BSA 上氨基酸残基微环境有影响,且主要影响 BSA 上的色氨酸(Trp)残基;3)混合体系中[C<sub>14</sub>mim][DCA]与 BSA 间的相互作用会影响体系的水力学半径,且随着[C<sub>14</sub>mim][DCA]浓度的增加,[C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的水力学半径变大,并对 BSA 的结构产生影响——使 BSA 展开。

收稿日期:2019-02-20

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2013BAC01B04);河南省科技攻关项目(162102210056);郑州市科技项目(141PQYJS555)

作者简介:王军(1961—),男,陕西省宝鸡市人,郑州轻工业大学教授,主要研究方向为表面活性剂的合成及应用。

**Abstract:** 1-N-tetradecyl-3-methylimidazolium dicyanamide salt ( $[C_{14}mim][DCA]$ ) was synthesized by two-step method using N-methylimidazole, bromotetradecane and dicyandiamide silver as raw materials. The structure of the product was characterized and the interaction of  $[C_{14}mim][DCA]$  with bovine serum albumin (BSA) was studied. The results showed that 1) The *cmc* value and  $A_{min}$  value of the mixed system increased with the increase of BSA concentration; 2) The interaction between  $[C_{14}mim][DCA]$  and BSA in the mixed system had an effect on the microenvironment of amino acid residues on BSA, and main influenced the tryptophan (Trp) residue on BSA; 3) The interaction between  $[C_{14}mim][DCA]$  and BSA in the mixed system affected the hydraulic radius of the system, and with the increase of  $[C_{14}mim][DCA]$  concentration, the hydraulic radius of the  $[C_{14}mim][DCA]/BSA$  system became larger and had an effect on the structure of the BSA——BSA was unfolded.

## 0 引言

蛋白质和表面活性剂的相互作用一直是业界近几年来研究热点. 其中, 牛血清蛋白与表面活性剂相互作用机理的研究对蛋白质的变性、再折叠、浮选和分离等技术具有指导意义<sup>[1-2]</sup>. 同时, 蛋白质又是生命的基础物质, 是一类带有疏水基的两性聚电解质, 存在等电点, 因此其与表面活性剂之间的相互作用和表面活性剂的种类有很大关系. 阴离子表面活性剂与蛋白质可以产生很强的相互作用, 导致蛋白质变性, 且已经被广泛研究<sup>[3-5]</sup>. 对于阳离子表面活性剂与蛋白质相互作用的研究也有相关报道<sup>[6-7]</sup>, 但相比于阴离子表面活性剂与蛋白质的研究而言稍显缺乏.

离子液体表面活性剂作为一种功能化离子液体, 是近年来发展起来的新型表面活性剂, 一般由疏水侧链和亲水头基两部分组成, 具有亲水、亲油两亲特性, 且其极性、亲水性、亲油性可以通过选择合适的阴离子、阳离子来进行调整<sup>[8-9]</sup>, 兼有离子液体和表面活性剂的性质, 具有更广的应用前景, 特别是在生物和医药领域. T. Singh 等<sup>[10]</sup>研究了不同链长与明胶的相互作用, 于丽等<sup>[11-12]</sup>以表面张力和荧光光谱法研究了咪唑类离子液体与牛血清蛋白的相互作用行为. 然而, 对于离子液体与牛血清蛋白(BSA)相互作用机理的研究之信息有限. 本文拟以 N -

甲基咪唑、溴代十四烷和双氰胺银为原料, 采用两步法合成一种咪唑基离子液体表面活性剂——1 - 十四烷基 - 3 - 甲基咪唑双氰胺盐 ( $[C_{14}mim][DCA]$ ), 并研究其与牛血清蛋白混合体系的相互作用, 探讨其相互作用机理, 以期为此类表面活性剂在生物和医药领域的推广应用奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

主要试剂: N - 甲基咪唑、溴代十四烷(工业级), 江苏盐城市龙升精细化工厂产; 双氰胺银(质量分数为 99%), 郑州轻工业大学实验室制; 硫氰酸钾(质量分数为 98.5%), 天津风船化学试剂有限公司产; 甲醇(AR), 天津永大化学试剂有限公司产; 乙腈(AR), 科密欧化学试剂有限公司产; 丙酮(AR), 洛阳化学试剂厂产; 乙酸乙酯(AR), 天津富宇精细化工有限公司产; 牛血清蛋白(BSA, 分子量 68 000), Solarbio 公司产.

主要仪器: SZCL - 2 型智能磁力搅拌电热套, 上海司乐仪器有限公司产; RE - 2000A 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 10 - ND 型真空冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Avance300 型核磁共振仪, 德国 Bruker 公司产; K100 自动界面张力仪, 德国 Kruss 公司产; ALV - 3 动静态同步激光光散射仪, 德国

ALV 公司产;Hitachi U-3900H 型紫外可见光谱仪、Hitachi 7000 型荧光分光光度计,日立高新技术公司产。

## 1.2 离子液体表面活性剂的制备

### 1.2.1 [C<sub>14</sub>mim][Br] 的制备

分别称取 16.42 g (0.2 mol) N-甲基咪唑和 55.46 g (0.2 mol) 溴代十四烷,将其放入 250 mL 的三口烧瓶中,加入 50 mL 异丙醇,升温至 80 °C,搅拌反应 48 h,冷却后用旋转蒸发仪蒸出溶剂,用乙酸乙酯洗涤 3 次,冷冻结晶得白色晶体,即为产物 [C<sub>14</sub>mim][Br],收率 88.7%。

### 1.2.2 目标产物的制备

称取 35.39 g (0.1 mol) 的 [C<sub>14</sub>mim][Br] 放入 250 mL 单口烧瓶中,加入去离子水搅拌使其充分溶解,再缓慢滴加用去离子水混合均匀的 20.87 g (0.12 mol) 的 AgN(CN)<sub>2</sub>,快速搅拌,40 °C 下避光反应 6 h,静置,取上层清液减压蒸馏除去溶剂后加入过量甲醇充分搅拌溶解,0 °C 下静置 2 h 后,过滤除去不溶物,重复操作直至无沉淀析出,减压蒸馏出甲醇,继续依次用乙腈、丙酮反复洗涤。洗涤至无不溶物后减压蒸馏除去溶剂,冷冻真空干燥 48 h,即得目标产物,收率 89.7%。

## 1.3 表征与测定方法

### 1.3.1 目标产物的结构表征

采用核磁共振波谱仪对目标产物的结构进行测定,溶剂为氘代二甲基亚砜。

### 1.3.2 混合体系表面活性参数的测定

采用表面张力法,向已配制好的溶液分别为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 和  $5 \times 10^{-5}$  mol/L 的 BSA 溶液中滴加离子液体表面活性剂,在自动表面张力仪上测定混合体系的表面活性参数,相关公式如下:

$$pC_{20} = -\lg C_{20} \quad (1)$$

$$\Gamma_{\max} = -\frac{1}{2.303nRT} \left( \frac{d\gamma}{d\lg C} \right)_T \quad (2)$$

$$A_{\min} = (N_A \Gamma_{\max})^{-1} \quad (3)$$

式①中  $pC_{20}$  表示表面活性剂降低表面张力的效率,值越大说明效率越高。式②中气体常数  $R = 8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$ ;  $T$  为热力学温度/K;  $C$  为被测表面活性剂浓度/ $(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ ;  $n$  为被测表面活性剂水溶液中的物种数。式③中阿伏伽德罗常数  $N_A = 6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ 。

### 1.3.3 混合体系紫外可见光谱的测定

固定 BSA 浓度为  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ , 配制含有不同离子液体表面活性剂浓度  $((0-7) \times 10^{-4} \text{ mol/L})$  的混合体系溶液。在扫描波长范围为 190 ~ 310 nm, 狭缝宽度为 1 nm 的条件下,以水溶液为空白,测定 BSA 的紫外可见吸收光谱。再以一定浓度离子液体表面活性剂溶液作为空白,测定混合体系在扫描范围内的紫外可见吸收光谱。

### 1.3.4 混合体系荧光光谱的测定

固定 BSA 浓度为  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ , 配制含有不同离子液体表面活性剂浓度  $((0-7) \times 10^{-4} \text{ mol/L})$  的混合体系溶液。

稳态荧光光谱的测定:以 280 nm 为激发波长,激发和发射狭缝宽度为 2.5 nm/2.5 nm。扫描速率为 1200 nm/min,扫描范围为 300 ~ 450 nm,测定混合体系的发射荧光光谱。

同步荧光光谱的测定:在  $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$  和  $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$  条件下,分别测定混合体系中 BSA 的色氨酸 (Tyr) 和酪氨酸 (Trp) 的荧光光谱,激发和发射狭缝宽度为 2.5 nm/2.5 nm,扫描速率为 1200 nm/min,扫描范围 300 ~ 450 nm。

### 1.3.5 混合体系水力学半径分布测量

固定 BSA 浓度为  $5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ , 配制含有不同离子液体表面活性剂浓度  $((0-7) \times 10^{-4} \text{ mol/L})$  的混合体系溶液。采用动静态同步激光光散射仪对混合体系进行水力学半径分布测量,每次测量前将所有样品经 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤,以除去灰尘。

以上实验温度均为  $(25 \pm 1) \text{ } ^\circ\text{C}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 目标产物结构表征结果

目标产物的<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 表征结果如下:

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.10 (s, 1H), 7.77 (t,  $J=1.7$  Hz, 1H), 7.70 (t,  $J=1.7$  Hz, 1H), 4.15 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.79 (dd,  $J=14.3, 7.2$  Hz, 2H), 1.25 (s, 24H), 0.86 (t,  $J=6.8$  Hz, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 136.94 (s), 102.04 (s), 122.73 (s), 49.25 (s), 40.61 (s), 40.40 (s), 40.19 (s), 39.99 (s), 39.78 (s), 39.57 (s), 39.36 (s), 36.22 (s), 31.75 (s), 29.84 (s), 29.46 ~ 29.03 (m), 28.83 (s), 25.95 (s), 22.56 (s), 14.43 (s).

由<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 分析可确定:所制备的表面活性剂为目标产物[C<sub>14</sub>mim][DCA].

### 2.2 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的表面活性分析

[C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的表面活性参数见表1.由表1可知,当BSA浓度为0 mol/L时,[C<sub>14</sub>mim][DCA]具有很好的表面活性.随着BSA浓度的增加,临界胶束浓度(*cmc*)值逐渐增大,这是因为在[C<sub>14</sub>mim][DCA]中加入BSA后,随着浓度的逐渐增大(小于 $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L),由于静电吸引,大部分的[C<sub>14</sub>mim][DCA]与BSA发生相互作用,体系中游离的[C<sub>14</sub>mim][DCA]减少;当[C<sub>14</sub>mim][DCA]浓度大于 $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L时,离子液体表面活性剂在BSA上的静电吸附达到饱和,体系表面张力急剧下降,*cmc*值增大.[C<sub>14</sub>mim][DCA]与BSA相互作用使BSA的结构发生了变化,BSA链的展开使[C<sub>14</sub>mim][DCA]的 $\Gamma_{\max}$ 减小, $A_{\min}$ 增大.

### 2.3 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的紫外可见光谱分析

[C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的紫外可见光谱如图1所示.由图1可知,BSA溶液在紫外区278 nm左右处有明显的吸收峰,根据文献[13]可知,芳香性氨基酸上的芳杂环  $n-\pi^*$  跃迁可以在250 ~ 300 nm 范围内产生紫外吸收,其吸收性质由芳香族氨基酸的含量所决定.[C<sub>14</sub>mim][DCA]在此紫外区间内没有吸收峰,但当BSA中加入[C<sub>14</sub>mim][DCA]后,BSA的吸收峰强度发生了变化,这说明[C<sub>14</sub>mim][DCA]与BSA发生了相互作用,对BSA上氨基酸残基的微环境产生了影响.随着[C<sub>14</sub>mim][DCA]浓度的增大,体系的吸收峰强度逐渐增大,而在278 nm处的峰位置并未发生明显的红移或蓝移,说明[C<sub>14</sub>mim][DCA]对BSA蛋白质肽链上的芳香性氨基酸残基的周围微环境影响较小.

表1 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的表面活性参数

Table 1 Surface activity parameters of [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA system

BSA 浓度 $\times 10^{-5}$ / (mol · L <sup>-1</sup> )	<i>cmc</i> $\times 10^{-3}$ / (mol · L <sup>-1</sup> )	$pC_{20}$	$\Gamma_{\max}$ / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$ )	$A_{\min}$ / /nm <sup>2</sup>
5.0	1.44	3.95	2.403	0.691
1.0	1.34	3.61	2.591	0.641
0.2	1.25	3.64	2.652	0.626
0.0	1.20	3.42	2.750	0.600

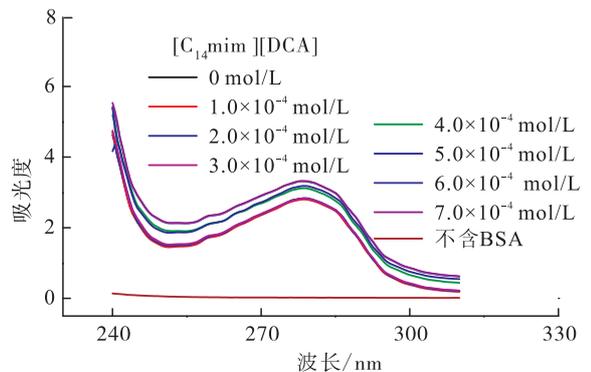


图1 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的紫外可见光谱

Fig. 1 Ultraviolet-visible spectra of [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA system

## 2.4 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的荧光光谱分析

### 2.4.1 稳态荧光光谱分析 [C<sub>14</sub>mim][DCA]

[DCA]/BSA 体系的稳态荧光光谱图如图 2 所示. 由图 2 可以看出, BSA 在 338 nm 左右有强吸收峰, 而 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 在 300 ~ 450 nm 范围内没有明显吸收峰. 随着 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 浓度的增大, 体系的吸收峰强度逐渐降低, 同时伴随着蓝移, 最大发射波长从 338 nm 减小到 332 nm. 这种转变表明, [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 复合物的形成, 导致 BSA 的氨基酸残基暴露在

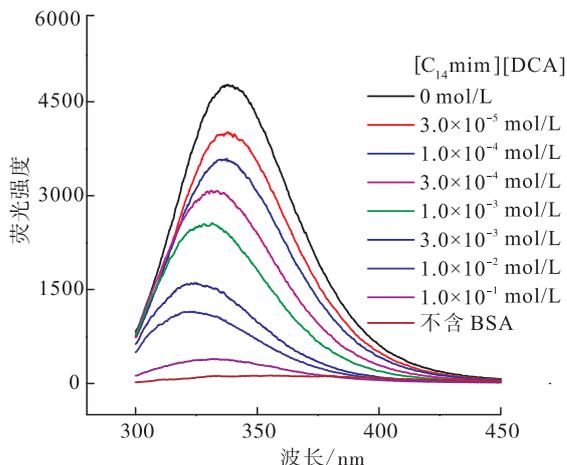


图 2 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的稳态荧光光谱

Fig. 2 Steady-state fluorescence spectra of [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA system

更加疏水的微环境中<sup>[14]</sup>; 当 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 浓度大于  $3.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时, 体系的最大发射峰变化较小. 因此, 较低浓度 ( $< 3.0 \times 10^{-3}$  mol/L) 的 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 对 BSA 的二级结构有稳定作用, 而高于一定浓度 ( $> 3.0 \times 10^{-3}$  mol/L) 时有破坏作用, 二级结构的破坏使 BSA 展开并变性, 故 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 在保护和破坏 BSA 结构上具有更大的优势.

### 2.4.2 同步荧光光谱分析 [C<sub>14</sub>mim][DCA]

[DCA]/BSA 体系的同步荧光光谱如图 3 所示 ( $\Delta\lambda = 20$  nm 和  $\Delta\lambda = 60$  nm 研究的分别是混合体系 BSA 中 Tyr 和 Trp 两种氨基酸微环境的变化情况). 由图 3 可以看出, 体系在  $\Delta\lambda = 60$  nm 时荧光强度明显要高于  $\Delta\lambda = 20$  nm 时的荧光强度, 因此, 可以推测 BSA 的内在荧光主要取决于 Trp 残基: 当 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 的浓度小于  $3.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时, 随着其浓度的增加, Trp 残基的荧光强度逐渐减小, 最大波长峰有一定的蓝移, 说明 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 引起了 BSA 结构的变化; 当 [C<sub>14</sub>mim][DCA] 浓度大于  $3.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时, Trp 残基的荧光强度变化不大, 说明此时 BSA 已经开始变性, 这与稳态荧光实验的结果相吻合.

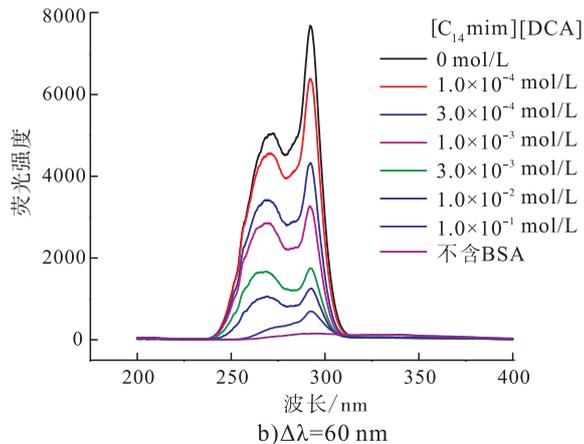
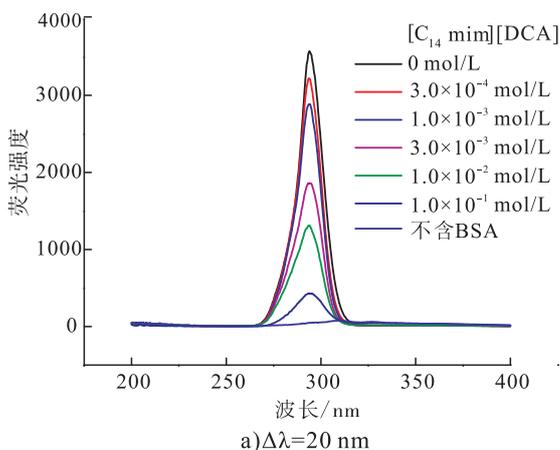


图 3 [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA 体系的同步荧光光谱

Fig. 3 Synchronous fluorescence spectra of [C<sub>14</sub>mim][DCA]/BSA system

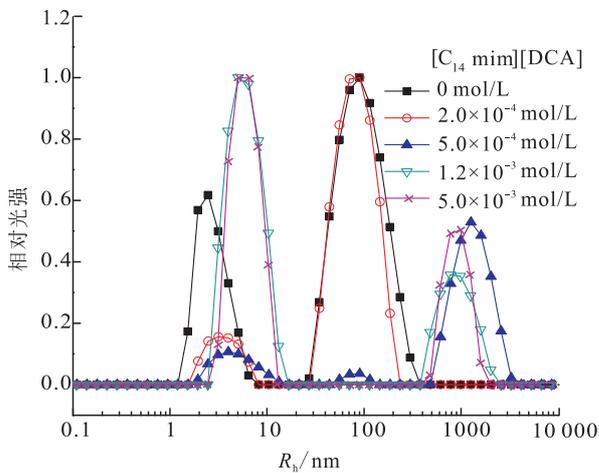


图4  $[C_{14}mim][DCA]/BSA$  体系的水力学半径分布图

Fig.4 Hydrodynamic radius distribution of  $[C_{14}mim][DCA]/BSA$  system

## 2.5 $[C_{14}mim][DCA]/BSA$ 体系的水力学半径分布与分析

$[C_{14}mim][DCA]/BSA$  体系的水力学半径 ( $R_h$ ) 分布结果如图4所示. 由图4可以看出, 体系的水力学半径在 4.6 nm 和 100 nm 左右有两个峰. 当  $[C_{14}mim][DCA]$  浓度小于  $2.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 体系的水力学半径没有明显变化, 但当其浓度为  $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 原来两个峰强度减弱, 在 648 nm 处出现一个新峰, 这是由于  $[C_{14}mim][DCA]$  的加入导致部分 BSA 的结构发生变化, 使 BSA 链展开, 随着其浓度的增大, 648 nm 的峰向更大半径分布方向移动; 当其浓度为  $1.2 \times 10^{-3}$  mol/L 时, 半径分布为 898 nm 左右, 并且相关强度也随之增大; 当浓度为  $5.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时, 半径分布为 1150 nm 左右, 再增大浓度, 半径分布变化较小, 推测此时 BSA 已经完全展开, 除 4.6 nm 处和 1150 nm 处之外, 在 1 ~ 10 nm 之间还有一个半径分布, 这可能是由  $[C_{14}mim][DCA]$  与 BSA 的复合物达到饱和后在水溶液中形成的自由胶束产生的.

## 3 结论

本文以 N-甲基咪唑、溴代十四烷和双氰胺银为原料, 采用两步法合成了咪唑基离子液体表面活性剂, 经核磁共振确认该产物为  $[C_{14}mim][DCA]$ , 运用表面张力法、紫外可见光谱法、荧光光谱法和动态光散射法研究了  $[C_{14}mim][DCA]$  与 BSA 在其混合体系中的相互作用, 得到如下结论:

1) 混合体系的  $cmc$  值和  $A_{min}$  值均随 BSA 浓度的增加而变大;

2) 混合体系中  $[C_{14}mim][DCA]$  与 BSA 间的相互作用对 BSA 上氨基酸残基微环境有影响; 混合体系中  $[C_{14}mim][DCA]$  浓度较低时, 对 BSA 的二级结构有稳定作用, 而高于一定浓度时有破坏作用, 二级结构的破坏使 BSA 展开并变性, 且主要影响 BSA 上的 Trp 残基;

3) 混合体系中  $[C_{14}mim][DCA]$  与 BSA 的相互作用会影响体系的  $R_h$ , 且随着  $[C_{14}mim][DCA]$  浓度的增加,  $[C_{14}mim][DCA]/BSA$  体系的  $R_h$  变大, 当其浓度为  $5.0 \times 10^{-3}$  mol/L 时, BSA 已经完全展开.

该研究将为理解离子液体表面活性剂与蛋白质的相互作用, 并为拓展离子液体表面活性剂在蛋白质领域的应用提供重要的理论依据.

## 参考文献:

- [1] WILDE P, MACKIE A, HUSBAND F, et al. Proteins and emulsifiers at liquid interfaces [J]. *Advances in Colloid & Interface Science*, 2004, 108(10):63.
- [2] XU Q, KEIDERLING T A. Effect of sodium dodecyl sulfate on folding and thermal stability of acid-denatured cytochrome c: a spectroscopic approach [J]. *Protein Science*, 2010, 13(11):2949.
- [3] HONDA C, KAMIZONO H, MATSUMOTO K,

- et al. Studies on bovine serumalbumin-sodium dodecyl sulfate complexes using pyrene fluorescence probe and 5-doxylstearic acid spin probe [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 278(2):310.
- [4] VALSTAR A, ALMGREN M, BROWN W, et al. The interaction of bovine serum albumin with surfactants studied by light scattering [J]. *Langmuir*, 2000, 16(3):922.
- [5] GELAMO E L, TABAK M. Spectroscopic studies on the interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumins with ionic surfactants [J]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2000, 56(11):2255.
- [6] 史兴旺. 新颖表面活性剂对牛血清蛋白(BSA)结构的影响研究[D]. 济南:山东大学, 2008.
- [7] ZAMORA R, HIDALGO F J. Comparative methyl linoleate and methyl linolenate oxidation in the presence of bovine serum albumin at several lipid/protein ratios[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(16):4661.
- [8] 杨许召, 王军, 李刚森, 等. 离子液体型表面活性剂的研究进展 [J]. *日用化学工业*, 2009, 39(5):338.
- [9] 王军, 王萍, 杨许召, 等. 离子液体表面活性剂的合成与应用(I)——离子液体表面活性剂的结构和分类 [J]. *日用化学工业*, 2017, 47(1):7.
- [10] SINGH T, BORAL S, BOHIDAR H B, et al. Interaction of gelatin with room temperature ionic liquids: a detailed physico-chemical study [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2010, 114(25):8441.
- [11] GENG F, ZHENG L, YU L, et al. Interaction of bovine serum albumin and long-chain imidazolium ionic liquid measured by fluorescence spectra and surface tension [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(3):306.
- [12] YAN H, WU J, DAI G, et al. Interaction mechanisms of ionic liquids [Cnmim]Br ( $n=4, 6, 8, 10$ ) with bovine serum albumin [J]. *Journal of Luminescence*, 2012, 132(3):622.
- [13] 刘梦琳. 离子液体与蛋白质相互作用的研究 [D]. 沈阳:东北大学, 2011.
- [14] COOPER A. Thermodynamic analysis of biomolecular interactions [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1999, 3(5):557.