

Anna ARENDARCZYK*, Elżbieta GRABIŃSKA-SOTA**, Aleksandra ZGÓRSKA***

Politechnika Śląska, Katedra Biotechnologii Środowiskowej
ul. Akademicka 2A, 44-100 Gliwice

*anna.arendarczyk@polsl.pl, **elzbieta.g.sota@polsl.pl, ***aleksandra.zgorska@polsl.pl

Ocena toksycznego oddziaływania wybranej cieczy jonowej względem przedstawicieli flory i fauny

Analizowano wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, będącego komercyjnie dostępnym prekursorem cieczy jonowych. Przeprowadzone badania ekotoksykologiczne obejmowały oznaczenie wpływu testowanej substancji na wschody oraz wzrost korzenia i łodygi pszenicy (*Triticum aestivum*) i rzodkwi (*Raphanus sativus*). Przeprowadzono również ocenę toksyczności ostrej z wykorzystaniem organizmów zwierzęcych, słonowodnych skorupiaków *Artemia salina*, oraz toksyczności chronicznej z wykorzystaniem skorupiaków *Heterocypris incongruens*. Stwierdzono toksyczne oddziaływanie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na zdolność kiełkowania obu roślin testowych, natomiast nie odnotowano efektu toksycznego względem takich parametrów, jak wzrost korzenia i łodygi pszenicy oraz rzodkwi. Badany związek sklasyfikowano jako nietoksyczny w stosunku do skorupiaków *Artemia salina*, natomiast w teście z wykorzystaniem *H. incongruens* wykazano jego toksyczny wpływ. Wartość EC_{50} wyznaczona w tym teście wyniosła $1,984 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Słowa kluczowe: ciecze jonowe, toksyczność, chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy

Wstęp

Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy jest prekursorem substancji należących do nowej grupy związków chemicznych, jaką stanowią ciecze jonowe, czyli sole organiczne o charakterze jonowym, odznaczające się niską temperaturą topnienia. Kation wchodzący w skład struktury cieczy jonowej ma charakter wyłącznie organiczny, natomiast anion może być zarówno nieorganiczny, jak i organiczny. Substancje te, np. ciecze jonowe z kationem imidazoliowym, mogą być stosowane między innymi jako zamienniki powszechnie stosowanych rozpuszczalników organicznych, gdyż nie emitują szkodliwych oparów do środowiska, jak również jako elektrolity i katalizatory w wielu segmentach przemysłu, a także jako środki służące do impregnacji drewna [1, 2]. Jednym z ostatnio analizowanych zastosowań cieczy jonowych jest między innymi ich aplikacja jako deterentów pokarmowych (antyfidantów) [3], jak również jako preparatów chwastobójczych [4-6].

Analiza ekotoksykologiczna jest jednym z niezbędnych elementów systemu oceny przydatności i ryzyka stosowania preparatów chemicznych. Dowodzi tego fakt, że coraz częściej dobór kationu i anionu, wchodzących w skład struktury danej cieczy jonowej, dokonywany jest na etapie jej projektowania, w oparciu za-

również o wymogi fizykochemiczne, jakie musi spełnić związek, jak i z uwzględnieniem bezpieczeństwa środowiskowego [1, 2]. Na podstawie analiz dotyczących zależności toksyczności cieczy jonowych od ich budowy, przeprowadzonych z wykorzystaniem np. bakterii morskich *Vibrio fischeri* lub też rośliny jednoliściennej, jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare*), stwierdzono, iż właściwości toksyczne tej grupy substancji są zależne głównie od rodzaju kationu. Modyfikacje rodzaju anionu w cząsteczce cieczy jonowej wpływają zazwyczaj jedynie na zmiany właściwości chemicznych i fizycznych związku [7-9]. Ponadto zaobserwowano, iż wydłużenie łańcucha w podstawniku alkilowym pirydyniowych oraz imidazoliowych cieczy jonowych zwiększa właściwości toksyczne tych związków [2-12].

W karcie charakterystyki chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, będącego dostępnym komercyjnie prekursorem cieczy jonowych, informacje ekologiczne dotyczące jego toksyczności, trwałości i zdolności do rozkładu, bioakumulacji czy mobilności w glebie są niedostępne.

Na podstawie danych literaturowych dotyczących biodegradacji chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego substancji tej, zgodnie ze standardami OECD, nie można uznać za związek łatwo biodegradowalny. Próby biodegradacji chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego wykazały jedynie 11% usunięcie w teście zgodnym z wytyczną OECD 301 D. Dodatkowo prekursor cieczy jonowych zawierające anion chlorkowy charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie [13]. Przedostanie się cieczy jonowej trudno ulegającej biologicznemu rozkładowi oraz dobrze rozpuszczalnej w wodzie do gleby i wód gruntowych może stanowić poważne zagrożenie dla biocenozy wód i gleb [10-16].

Prawidłowe przewidywanie ekotoksyczności nowo projektowanych cieczy jonowych możliwe jest po uprzedniej analizie potencjału toksycznego ich prekursorów. Celem niniejszej pracy była ocena potencjału toksykologicznego chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem wybranych przedstawicieli flory i fauny.

1. Materiały i metody

1.1. Materiały

W badaniach wykorzystano prekursor cieczy jonowej - chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy o wzorze sumarycznym $C_{10}H_{19}N_2Cl$. Preparat stosowany jest jako katalizator w reakcjach syntezy. Gęstość analizowanej cieczy jonowej wynosi $1,05 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, stężenie substancji aktywnej 98%, natomiast masa molowa $202,73 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Preparat ten charakteryzuje się temperaturą topnienia -85°C i odczynem pH - 8 (20°C). Jest to substancja nielotna, niepalna, odznaczająca się małą konsystencją oraz jasnożółtym zabarwieniem.

1.2. Metody

Oznaczanie wpływu zanieczyszczeń na florę glebową. Wpływ związków chemicznych na wschody i wzrost wybranych roślin wyższych

Jako sztuczne podłoże glebowe w badaniach wykorzystano glebę ogrodową o wilgotności 48% i odczynie pH 6,5. W celu usunięcia większych fragmentów glebę powietrznie suchą przesiano przez sito o otworach 5 mm. Oznaczenie wpływu chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na florę glebową wykonano zgodnie z normą [17]. Do badań wykorzystano pszenicę (*Triticum aestivum* L.), należąca do grupy roślin jednoliściennych, oraz rzodkiew (*Raphanus sativus* L.), przedstawiciela grupy roślin dwuliściennych.

Zakres badań obejmował wpływ cieczy jonowej na wschody i wczesne stadia wzrostu. Doświadczenie prowadzono indywidualnie dla każdej z wytypowanych roślin w wazonach o pojemności 0,5 dm³, w 4 powtórzeniach dla kontroli i każdego stosowanego stężenia, po 20 nasion w każdym powtórzeniu. Zastosowany zakres stężeń wynosił: 0,001÷1 g/kg_{s.m.g.}⁻¹. Inkubację wazonów prowadzono w temp. 23÷25°C i stałych warunkach nasłonecznienia (16 h/d). Wilgotność podłoża utrzymywano na poziomie 70%. Oceny wpływu cieczy jonowej na wschody roślin dokonano w 3 i 5 dniu testu. Badanie zakończono po 20 dniach. Dla każdego stężenia dokonano pomiaru długości łodyg i korzeni. Wyznaczono także zieloną i suchą masę roślin. Opracowanie statystyczne wyników przeprowadzono z zastosowaniem testu t-Studenta dla poziomu ufności $\alpha = 0,05$.

Oznaczanie toksyczności chronicznej dla osadów. Test „pierwszego kontaktu”. Test Ostracodtoxkit - Ostracodtoxkit F

Oznaczenie toksyczności chronicznej próbek osadu przeprowadzono za pomocą testu „pierwszego kontaktu” Ostracodtoxkit F [18]. Biotest wykonano przy użyciu młodych skorupiaków przydennych *Heterocypris incongruens* wylęgłych z cyst. Test składał się z dwóch cykli badawczych: badania wstępnego i badania potwierdzającego. Wylęg organizmów rozpoczęto na 52 h przed rozpoczęciem testu. Cysty *Heterocypris incongruens* przeniesiono na szalkę Petriego wypełnioną standardową pożywką i inkubowano w 25°C przez 52 godziny w ciągłym oświetleniu (źródło światła 3000÷4000 lux). Po 48 godzinach inkubacji, w celu zapewnienia pokarmu młodym organizmom, podano preparat zawierający komórki glonów. Następnie kontynuowano inkubację przez 4 godziny.

Do badania wstępnego przygotowano próbki piasku skażone odpowiednią ilością cieczy jonowej w celu uzyskania wymaganego zakresu stężeń: 0,001÷1 g/kg_{s.m.g.}⁻¹. Do dołków na płytkach testowych wprowadzono próbki osadu oraz pokarm. Do każdego dołka przeniesiono po 10 organizmów testowych. Doświadczenie prowadzono w 4 powtórzeniach dla kontroli i każdego stosowanego stężenia. Płytki inkubowano w temp. 25°C, w ciemności przez 6 dni. Po zakończeniu inkubacji dokonano oceny śmiertelności.

Na podstawie wyników uzyskanych w teście wstępnym dobrano odpowiedni zakres stężeń do testu potwierdzającego: 0,001; 0,0018; 0,0032; 0,0056

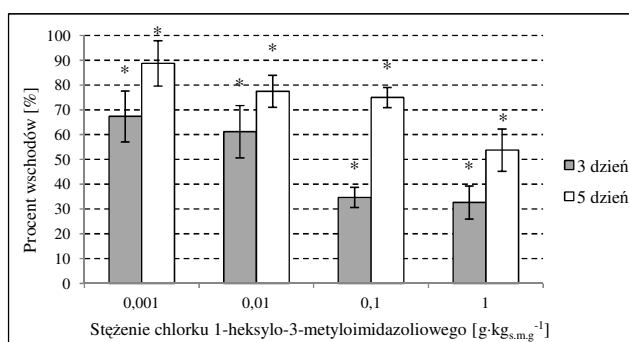
i $0,01 \text{ g/kg}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$. Test przeprowadzono zgodnie z procedurą dla testu potwierdzającego. Korzystając z uzyskanych wyników, obliczono średnią procentową śmiertelność dla osadu kontrolnego i osadu testowego oraz wartość EC_{50} (ang. *effect concentration*) - stężenie substancji powodujące śmierć 50% organizmów w populacji. Wartość EC_{50} obliczono metodą logarytmiczno-probitową. Opracowanie statystyczne wyników przeprowadzono z zastosowaniem testu t-Studenta dla poziomu ufności $\alpha = 0,05$.

Badanie toksyczności związków chemicznych w stosunku do organizmów wodnych. Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków Artemia salina - Artoxkit M

Ocenę toksyczności chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego przeprowadzono z wykorzystaniem 24-godzinnego testu toksyczności ostrej z zastosowaniem skorupiaków słonowodnych *Artemia salina*. Istotą testu jest ocena wpływu preparatu na przeżywalność skorupiaków po 24 godzinach ekspozycji. Przeprowadzono dwa typy testów: wstępny i potwierdzający. W teście wstępnym wykorzystano stężenia $0,0001 \div 1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Na bazie uzyskanych wyników dobrano zakres stężeń do testu potwierdzającego: 0,001; 0,0018; 0,0032; 0,0056 i $0,01 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Do rozcieńczenia cieczy jonowej zastosowano 0,9% roztwór NaCl. Na podstawie uzyskanych wyników, metodą logarytmiczno-probitową, wyznaczono wskaźnik EC_{50} , czyli stężenie substancji powodujące śmierć 50% organizmów w populacji testowej. Wartość EC_{50} przyporządkowano do jednej z klas toksyczności zaproponowanych przez Unię Europejską [19]. Opracowanie statystyczne wyników przeprowadzono z zastosowaniem testu t-Studenta dla poziomu ufności $\alpha = 0,05$.

2. Wyniki

Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wschody roślin Triticum aestivum oraz Raphanus sativus

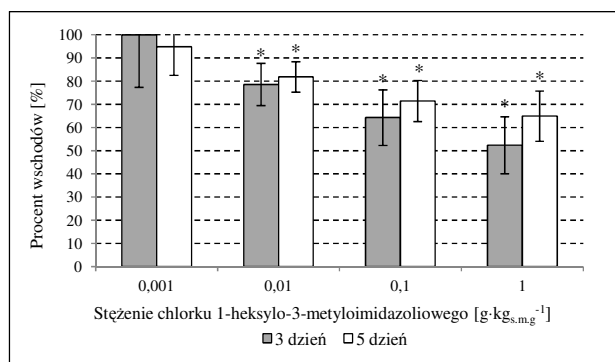


Rys. 1. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wschody pszenicy (*Triticum aestivum*) po 3 i 5 dniach testu

* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy ilością siewek, które wzeszły w próbie kontrolnej, a skażoną próbą gleby ($p > 0,05$, test t-Studenta)

Wyniki dotyczące oddziaływania chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wschody pszenicy (*Triticum aestivum*) i rzodkwi (*Raphanus sativus*) zilustrowano na rysunkach 1 i 2. Przedstawiono je jako procent siewek, które weszły w porównaniu z próbą kontrolną.

Już najniższe z badanych stężeń chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego równe $0,001 \text{ g/kg}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$ powodowało istotny statystycznie wpływ na wschody siewek pszenicy. Dla testu z wykorzystaniem rzodkwi (*Raphanus sativus*) stężenia $0,01$; $0,1$ i $1 \text{ g/kg}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$ powodowały istotne statystycznie, względem próby kontrolnej, zmiany w liczebności wykiełkowanych nasion. Dla obu roślin odnotowano, iż wzrost stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego skutkowało obniżeniem liczby wykiełkowanych siewek.

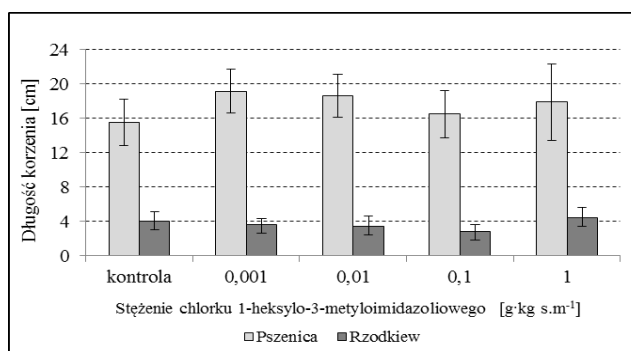


Rys. 2. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wschody rzodkwi (*Raphanus sativus*) po 3 i 5 dniach testu

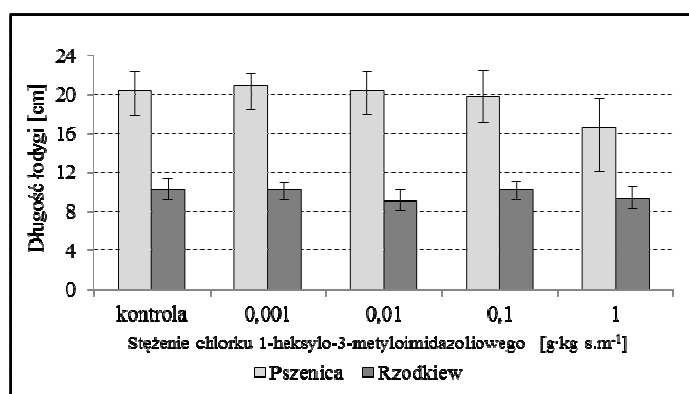
* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy ilością siewek, które weszły w próbę kontrolnej, a skażoną próbą gleby ($p > 0,05$, test t-Studenta)

Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wzrost długości korzenia i łodygi roślin *Triticum aestivum* oraz *Raphanus sativus*

Dane dotyczące pomiaru długości korzenia i łodygi dla *Triticum aestivum* oraz *Raphanus sativus* zestawiono odpowiednio na rysunkach 3 i 4.



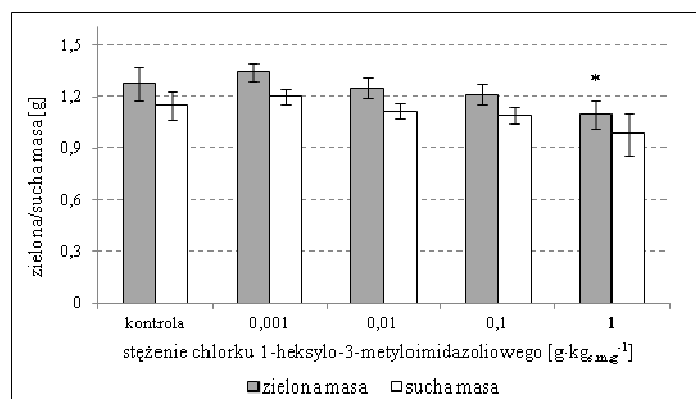
Rys. 3. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wzrost korzenia pszenicy (*Triticum aestivum*) oraz rzodkwi (*Raphanus sativus*)



Rys. 4. Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wzrost łodygi pszenicy (*Triticum aestivum*) oraz rzodkwi (*Raphanus sativus*)

Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy działał stymulująco na wzrost korzenia pszenicy (*Triticum aestivum*) w całym badanym zakresie stężeń (rys. 3), lecz nie były to zmiany istotne statystycznie względem próby kontrolnej. W teście z wykorzystaniem rzodkwi (*Raphanus sativus*) (rys. 3) niskie stężenie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego w glebie, rzędu 0,001-0,1 g/kg_{s.m.g.}⁻¹, wpływało na inhibicję wzrostu korzenia. Natomiast w najwyższym stężeniu równym 1 g/kg_{s.m.g.}⁻¹ zaobserwowano stymulujący wpływ na przyrost korzenia w stosunku do próby kontrolnej. Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy nie powodował istotnych statystycznie, względem próby kontrolnej, zmian we wzroście części korzeniowej i łodygowej zarówno pszenicy, jak i rzodkwi (rys. 3 i 4).

Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na suchą i zieloną masę roślin *Triticum aestivum* L. oraz *Raphanus sativus* L.



Rys. 5. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na suchą i zieloną masę pszenicy (*Triticum aestivum*)

* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy zieloną/suchą masą roślin w próbie kontrolnej i próbie skażonej chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym ($p > 0,05$, test t-Studenta)

Dla *Triticum aestivum* zaobserwowano wzrost zielonej i suchej masy rośliny przy najniższym stężeniu $0,001 \text{ g/kg}_{\text{s.m.g}}^{-1}$ analizowanego chlorku imidazoliowego. W przypadku pozostałych stężeń wzrost stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego powodował spadek zielonej i suchej masy, przy czym różnica ta była istotna statystycznie jedynie dla świeżej masy roślin hodowanych z wykorzystaniem gleby o najwyższym testowanym stężeniu cieczy jonowej (rys. 5).

Analizując wyniki uzyskane dla *Raphanus sativus*, nie zaobserwowano żadnej zależności pomiędzy wzrostem stężenia badanego związku a stymulacją czy też inhibicją przyrostu biomasy tego gatunku rośliny.

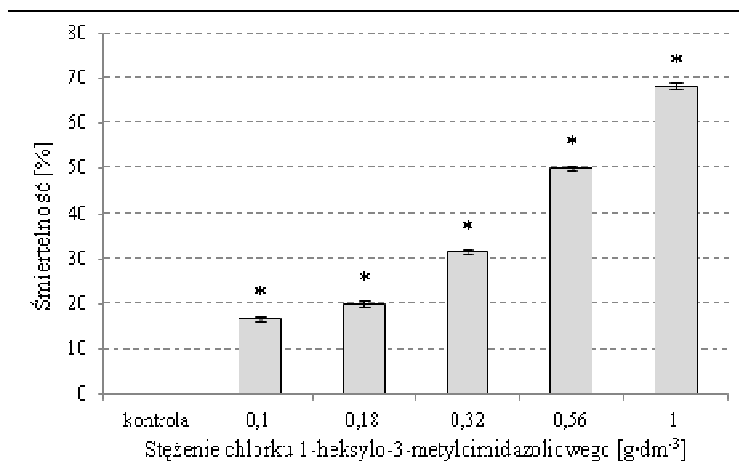
Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na organizmy wodne *Artemia salina*

Najniższe stężenie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, które powodowało istotne statystycznie zmiany w ilości żywych organizmów *Artemia salina* względem próby kontrolnej, to $0,1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$.

W teście potwierdzającym (rys. 6) śmiertelność osobników wynosiła od 16,68% dla stężenia $0,1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ do ponad 68,33% dla najwyższego stężenia równego $1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Wartość EC_{50} wyznaczona w teście wyniosła $560 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na organizmy wodne *Heterocypris incongruens*

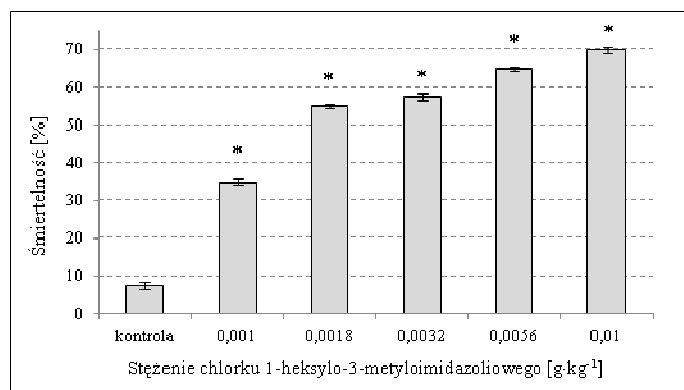
Celem wykonanego testu było określenie toksyczności cieczy jonowej - chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, wprowadzonego do osadu referencyjnego, względem skorupiaków przydennych *Heterocypris incongruens*.



Rys. 6. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na śmiertelność skorupiaków *Artemia salina* - test potwierdzający

* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy ilością żywych organizmów w próbie kontrolnej i w próbie skażonej chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym ($p > 0,05$, test t-Studenta)

W teście potwierdzającym (rys. 7) stwierdzono różnice istotne statystycznie pomiędzy próbą kontrolną a wszystkimi analizowanymi stężeniami chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego. Na podstawie wyników z testu potwierdzającego wyznaczono wartość EC_{50} , która wyniosła $1,984 \text{ mg/kg}_{s.m.g.}^{-1}$.



Rys. 7. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na śmiertelność skorupiaków *Heterocypris incongruens* - test potwierdzający

* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy ilością żywych organizmów w próbie kontrolnej i w próbie skażonej chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym ($p > 0,05$, test t-Studenta)

3. Dyskusja wyników

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny oddziaływania prekursora cieczy jonowych, chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, na wschody i wzrost roślin wyższych: pszenicy (*Triticum aestivum*) i rzodkwi (*Raphanus sativus*) oraz na śmiertelność skorupiaków wodnych *Artemia salina* i *Heterocypris incongruens*. Na podstawie normy uznaje się, że badana substancja jest nietoksyczna, jeżeli wskaźnik wykiełkowanych nasion nie różni się o $\pm 10\%$ w stosunku do próby kontrolnej. W teście z wykorzystaniem pszenicy gleba skażona chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym inhibowała kiełkowanie względem próby kontrolnej o ponad 10% w całym zakresie stosowanych stężeń. Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy w stężeniach $0,001 \div 1 \text{ g/kg}_{s.m.g.}^{-1}$ toksycznie oddziaływał na wschody pszenicy. W przypadku rzodkwi jedynie najniższe stężenie badanej cieczy jonowej równe $0,001 \text{ g/kg}_{s.m.g.}^{-1}$ nie wpłynęło negatywnie na zdolność kiełkowania rośliny. Roślinę jednoliścienną (*Triticum aestivum* L.) charakteryzowała zatem większa czułość w teście kiełkowania niż roślinę dwuliścienną (*Raphanus sativus* L.).

W kolejnym etapie badań oceniono wpływ chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wzrost korzenia i łodygi pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i rzodkwi (*Raphanus sativus* L.). Nie oddziaływał on toksycznie na wzrost części nadziemnej i korzeniowej obu roślin.

Niezależnie od testowanej rośliny wschody były parametrem najbardziej wrażliwym na działanie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, ponieważ już najniższe stężenie wywoływało efekt toksyczny. Związek ten nie wpływał toksycznie na wzrost oraz suchą masę testowanych roślin. Toksyczne oddziaływanie badanej cieczy jonowej na zieloną masę odnotowano jedynie dla pszenicy w najwyższym stężeniu. W przypadku oceny wizualnej nie zaobserwowano widocznych różnic w wyglądzie pomiędzy roślinami rosnącymi na glebie kontrolnej a roślinami rosnącymi na glebie skażonej chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym. Jednocześnie nie stwierdzono zmian nekrotycznych. W badaniach prowadzonych przez Studzińską i Buszewskiego [20] dokonano oceny toksycznego oddziaływania chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, wykorzystując inny gatunek - rzeźuchę (*Lepidium sativum*). Wykazano toksyczne oddziaływanie tego związku na wzrost systemu korzeniowego tej rośliny. Stwierdzono, iż stężenie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego równe $1 \text{ g/kg}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$ powodowało ok. 100% inhibicję wzrostu korzenia *Lepidium sativum* [20], podczas gdy dla części korzeniowej *Triticum aestivum* i *Raphanus sativus* to samo stężenie analizowanej cieczy jonowej powodowało stymulację wzrostu.

Większość cieczy jonowych charakteryzuje się wysoką rozpuszczalnością oraz stabilnością w roztworach wodnych, co stwarza potencjalne zagrożenie dla środowiska wodnego. Oceny negatywnego oddziaływania chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem ekosystemów wodnych dokonano z wykorzystaniem skorupiaków *Artemia salina* i *Heterocypris incongruens*. Na podstawie wartości EC_{50} , uzyskanej w teście toksyczności ostrej z użyciem *Artemia salina*, oraz w oparciu o klasy toksyczności Unii Europejskiej chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy zaklasyfikowano jako nietoksyczny. Natomiast test Ostracodtoxkit F z małżoraczkami *Heterocypris incongruens* posłużył do oceny toksyczności próbek stałych - osadu zanieczyszczonego chlorkiem 1-heksylo-3-metyloimidazoliowym. Wartość EC_{50} wyznaczona w teście F Ostracodtoxkit F wynosiła $1,98 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy toksycznie oddziaływał na skorupiaki *Heterocypris incongruens* w całym zakresie stosowanych stężeń, nie istnieje jednak klasyfikacja ekotoksykologiczna osadów dennych pozwalająca na oszacowanie stopnia ich toksyczności. W publikacji o komplementarnej tematyce przedstawiono wyniki badań toksyczności chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego z wykorzystaniem testu toksyczności ostrej na skorupiakach słodkowodnych *Thamnocephalus platyurus* i testu toksyczności chronicznej z użyciem bakterii morskich *Vibrio fischeri* [21]. Wyniki przedstawiono jako wartości EC_{50} , czyli takie stężenie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, które powoduje 50% śmiertelność w teście z wykorzystaniem *Thamnocephalus platyurus* i 50% inhibicję bioluminescencji odpowiednio po 5 i 15 minutach ekspozycji w teście z użyciem bakterii morskich *Vibrio fischeri*. Na podstawie wyników testów toksykologicznych z wykorzystaniem skorupiaków słodkowodnych *Thamnocephalus platyurus* ($EC_{50} 2,51 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) i bakterii morskich *Vibrio fischeri* ($EC_{50/5\text{min}} 15,30 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ i $EC_{50/15\text{min}} 14,40 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) chlorek 1-heksylo-

-3-metyloimidazoliowy sklasyfikowano jako substancję toksyczną [21]. Znaczna różnica w toksyczności analizowanej cieczy jonowej względem *Artemia salina* oraz *Thamnocephalus platyurus* może być spowodowana sposobem przygotowania roztworów cieczy jonowej dla organizmów słonowodnych (użycie roztworu 0,9% NaCl), co mogło zmniejszyć stopień jej toksyczności. Podobne wyniki odnotowano w badaniach dotyczących toksyczności chlorku 1-alkilo-3-metyloimidazoliowego w stosunku do wybranych gatunków glonów morskich, gdzie zaobserwowano, iż niezależnie od gatunku glonów wzrost zasolenia roztworu cieczy jonowej powodował obniżenie jej toksyczności [22].

Informacje uzyskane w testach toksykologicznych, z uwagi na ryzyko migracji imidazoliowych cieczy jonowych do środowiska, stanowią cenne uzupełnienie danych literaturowych, potwierdzające negatywny wpływ tej grupy związków na organizmy reprezentujące różne poziomy troficzne, tj.: glony (*Pseudokirchneriella subcapitata*) [23, 24], skorupiaki (*Daphnia magna*), mięczaki (*Dreissena polymorpha*) czy też ryby (*Danio rerio*) [22, 25]. Ponadto wskazują, iż ocena ekotoksykologiczna powinna obejmować badania z wykorzystaniem organizmów z różnych poziomów troficznych i grup systematycznych, dodatkowo dobór konkretnych testów powinien uwzględniać potencjalne przeznaczenie nowo projektowanej cieczy jonowej, jak również jej strukturę chemiczną. W celu zmniejszenia ryzyka środowiskowego prezentowane dane, uzyskane na podstawie badań ekotoksykologicznych, powinny zostać uwzględnione już na etapie projektowania struktury nowych cieczy jonowych.

Literatura

- [1] Pham T., Cho Ch.W., Yun Y.S., Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review, *Water Research* 2010, 44, 352-372.
- [2] Pernak J., Sobaszekiewicz K., Mirska I., Anti-microbial activities of ionic liquid, *Green Chem.* 2003, 5, 52-56.
- [3] Pernak J., Wasiński K., Praczyk T., Nawrot J., Cieniecka-Rosłonkiewicz A., Walkiewicz F., Materna K., Sweet ionic liquids-cyclamates: Synthesis, properties, and application as feeding deterrents, *Sci. China Chem.* 2012, 55, 1532-1541.
- [4] Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T., Ionic liquids with herbicidal anions, *Tetrahedron* 2011, 67, 4838-4844.
- [5] Pernak J., Syguda A., Materna K., Janus E., Kardasz P., Praczyk T., 2, 4 based herbicidal ionic liquids, *Tetrahedron* 2012, 68, 4267-4273.
- [6] Praczyk T., Kardasz P., Jakubiak E., Syguda A., Materna K., Pernak J., Herbicidal ionic liquids with 2,4-D, *Weed Science* 2012, 60, 189-192.
- [7] Grabińska-Sota E., Arendarczyk A., Zgórska A., Oddziaływanie cieczy jonowych na środowisko wodne. Ciecze jonowe w innowacyjnych technologiach związanych z przetwarzaniem surowców lignocelulozowych, Instytut Technologii Drewna, Poznań 2011.
- [8] Pernak J., Sobaszekiewicz K., Foksowicz-Flaczyk J., Ionic liquids with symmetrical dialoxymethyl-substituted imidazolium cations, *Chem. Eur. J.* 2004, 10, 3479-3485.
- [9] Petković M., Seddon K.R., Paulo L., Rebelo N., Pereira C.S., Ionic liquids: a pathway to environmental acceptability, *Chem. Soc. Rev.* 2011, 40, 1383-1403.

- [10] Matzke M., Stolte S., Thiele K., Juffernholz T., Arning J., Ranke J., Welz-Biermann U., Jastorff B., The influence of anion species on the toxicity of 1-alkyl-3-methylimidazolium ionic liquids observed in an (eco)toxicological test battery, *Green Chem.* 2007, 1198-1207.
- [11] Docherty K.M., Kulpa Jr. Ch. F., Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids, *Green Chem.* 2005, 7, 185-189.
- [12] Kulacki K.J., Lamberti G.A., Toxicity of imidazolium ionic liquids to freshwater algae, *Green Chem.* 2008, 10, 104-110.
- [13] Stolte S., Abdulkarim S., Arning J., Blomeyer-Nienstedt A.K., Bottin-Weber U., Matzke M., Ranke J., Jastorff B., Thöming J., Primary biodegradation of ionic liquid cations, identification of degradation products of 1-methyl-3-octylimidazolium chloride and electrochemical wastewater treatment of poorly biodegradable compounds, *Green Chem.* 2008, 10, 214-224.
- [14] Latała A., Stepnowski P., Nędzi M., Mroziak W., Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: Acute effects on the Baltic algae *Oocystis submarina* and *Cyclotella meneghiniana*, *Aquat. Toxicol.* 2005, 73, 91-98.
- [15] Coleman D., Gathergood N., Biodegradation studies of ionic liquids, *Chem. Soc. Rev.* 2010, 39, 600-637.
- [16] Zgórska A., Grabińska-Sota E., Liszczyk G., Ocena oddziaływania amoniowej cieczy jonowej na organizmy glebowe, *Przem. Chem.* 2010, 89, 1555-1558.
- [17] PN-ISO 11269-2:2001. Jakość gleby. Oznaczanie wpływu zanieczyszczeń na florę glebową. Wpływ związków chemicznych na wschody i wzrost roślin wyższych.
- [18] Norma ISO 14371- Jakość wody - Określanie toksyczności osadów słodkowodnych wobec *Heterocypris incongruens* (Skorupiaki, Małżoraczki).
- [19] Dyrektywa Rady Wspólnoty Europejskiej 92/32/EEC, 30 kwietnia 1992.
- [20] Studzińska S., Buszewski B., Study of toxicity of imidazolium ionic liquids to watercress (*Lepidium sativum* L.), *Anal. Bioanal. Chem.* 2009, 393, 983-990.
- [21] Arendarczyk A., Zgórska A., Grabińska-Sota E., Ocena toksyczności chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem wybranych organizmów wodnych, *Inż. i Ochr. Środ.* 2011, 14, 137-143.
- [22] Latała A., Nędzi M., Stepnowski P., Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Bacillaria paxillifer* (a microphytobenthic diatom) and *Geitlerinema amphibium* (a microphytobenthic blue green alga), *Green Chem.* 2009, 11, 1371-1376.
- [23] Stolte S., Matzke M., Arning J., Bösch A., Pitner W.-R., Welz-Bierman U., Jastorff B., Ranke J., Effects of different head groups and functionalized side chains on the aquatic toxicity of ionic liquids, *Green Chem.* 2007, 9, 1170-1179.
- [24] Latała A., Nędzi M., Stepnowski P., Toxicity of imidazolium ionic liquids towards algae. Influence of salinity variations, *Green Chem.* 2010, 12, 60-64.
- [25] Pretti C., Chiappe C., Baldetti I., Brunini S., Monni G., Intorre L., Acute toxicity of ionic liquids for three freshwater organisms: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*, *Ecotoxicol. and Environ. Safety* 2009, 72, 1170-1176.

Assessing Toxicity of Selected Ionic Liquid to Representatives of Flora and Fauna

This paper reports on a study of the toxicity of 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride, a compound that is a precursor of the synthesis of imidazolium ionic liquids (ILs). The conducted studies included determination of its influence on emergence and growth of roots and stems of wheat (*Triticum aestivum*) and radish (*Raphanus sdativus*). Also the acute toxicity test of aqueous solutions using salt-water crustacean *Artemia salina* and chronic toxicity test of

spiked sediment using crustacean *Heterocypris incongruens* were performed. The toxic effect of 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride on the germination of both *T. aestivum* and *R. sativus* was observed. The obtained data indicated that the lowest tested concentration which caused a significant inhibition of *T. aestivum* germination was $0.001 \text{ g/kg}_{\text{d.s.w.}}^{-1}$, while for *R. sativus* it was $0.01 \text{ g/kg}_{\text{d.s.w.}}^{-1}$. There was no toxic effect observed according to such parameters as root and stem growth of both wheat and radish. The EC_{50} toxic index estimated in the test carried out with the use of *Artemia salina* was $560 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ and the substance was classified as non-toxic. The lowest concentration of tested compound that caused significant differences of *Artemia salina* mortality in comparison to control was $0.1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. In the test with *H. incongruens* the toxic effect of chloride ionic liquid was observed in all of tested concentrations. EC_{50} value determined in this assay was $1.984 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The results of the present study has proved that 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride could be toxic to selected organisms and it is necessary to include the ecotoxicological data at the stage of designing of novel ionic liquids structure.

Keywords: ionic liquids, toxicity, 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride