

Robert BICZAK¹, Barbara PAWŁOWSKA¹, Arkadiusz TELESIŃSKI², Michał STREK²
Maciej PŁATKOWSKI² i Martyna ŚNIOSEK²

TOKSYCZNOŚĆ IMIDAZOLIOWYCH CIECZY JONOWYCH Z ANIONEM ZAWIERAJĄCYM FLUOR DLA WYBRANYCH GATUNKÓW CHWASTÓW

TOXICITY OF IMIDAZOLIUM IONIC LIQUIDS WITH THE ANION CONTAINING FLUORINE FOR SOME WEED SPECIES

Abstrakt: Jednymi z najbardziej rozpowszechnionych i najczęściej badanych cieczy jonowych są imidazoliowe ciecze jonowe. Część z tych związków, tj. heksafluorofosforany czy tetrafluoroborany, zawiera w swej budowie fluor, który może wykazywać bardzo niekorzystny wpływ na środowisko. Ze względu na duże zainteresowanie tymi związkami niezbędne jest określenie ich wpływu na środowisko, w tym na różne gatunki roślin wyższych. Roślinami szeroko rozpowszechnionymi na całym świecie są chwasty. W niniejszej pracy dokonano oceny wpływu tetrafluoroboranu 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowego [BMMIM][BF₄] i heksafluorofosforanu 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowego [BMMIM][PF₆], zastosowanych w formie oprysku, na trzy popularne gatunki chwastów: żóltlicę drobnokwiatową (*Galinsoga parviflora* Cav.), szczaw zwyczajny (*Rumex acetosa* L.) oraz komosę białą (*Chenopodium album* L.). W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, że [BMMIM][PF₆] najsilniejsze działanie wykazywał w stosunku do roślin komosy białej, natomiast rośliną najbardziej wrażliwą na działanie [BMMIM][BF₄] okazał się szczaw zwyczajny. Żóltlica drobnokwiatowa była rośliną o największej tolerancji na badane ciecze jonowe. ILs powodowały inhibicję wzrostu roślin i ich korzeni, wzrost zawartości suchej masy oraz spadek zawartości barwników asymilacyjnych w liściach badanych chwastów. Wszystkie zaobserwowane zmiany w dużym stopniu były uzależnione od zastosowanego stężenia cieczy jonowych.

Słowa kluczowe: toksyczność, właściwości chwastobójcze, ciecze jonowe, barwniki fotosyntetyczne, sucha masa

Wprowadzenie

Ciecze jonowe (ILs) to grupa związków, która od wielu lat cieszy się dużym zainteresowaniem wśród naukowców na całym świecie. Dzięki możliwości projektowania tych substancji w taki sposób, aby uzyskać związki o pożądanych właściwościach, znalazły one zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, tj. synteza chemiczna czy analiza chemiczna, elektrochemia, biotechnologia, nanotechnologia czy przemysł farmaceutyczny [1-3]. W 2011 roku opisano po raz pierwszy nową grupę cieczy jonowych wykazujących pożądane właściwości herbicydowe, zwanych herbicydowymi cieczami jonowymi (HILs). HILs są to związki zawierające w swoim składzie anion o już znanych właściwościach herbicydowych, tj. pochodne kwasów fenoksyoctowych (MCPA, 2,2-D), glicofosat czy kwas benzoesowy (Dicamba). Badacze twierdzą, że związki te dzięki swoim doskonałym właściwościom mogą stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych środków chwastobójczych [4].

¹ Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa, email: b.pawlowska@ajd.czyst.pl; r.biczak@ajd.czyst.pl

² Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, email: arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl, maciej.platkowski@zut.edu.pl, michal.strek@zut.edu.pl, martyna.snioszek@zut.edu.pl

Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

Szerokie możliwości zastosowania cieczy jonowych powodują, że związki te mogą przedostać się do środowiska i zanieczyścić je. Wysoka rozpuszczalność w wodzie i niska lotność ILs sprawiają, że sole te mogą być akumulowane m.in. w zbiornikach wodnych, powodując zanieczyszczenie wód [3]. ILs mogą również dostawać się do gleb i być zaadsorbowane przez koloidy glebowe, powodując zanieczyszczenie również tego środowiska. Należy jednocześnie pamiętać, że wody i gleba to środowisko życia wielu organizmów żywych oraz roślin [5]. Dostrzegając zagrożenie wynikające z zanieczyszczenia środowiska przez cieczy jonowe, wielu badaczy podjęło tematykę dotyczącą określenia toksyczności cieczy jonowych dla różnych jego elementów. Na chwilę obecną dostępnych jest mnóstwo prac donoszących o toksyczności różnych cieczy jonowych dla mikroorganizmów, glonów, grzybów, roślin wyższych, bezkręgowców i kręgowców [6-11].

Do roślin występujących licznie i praktycznie w każdym dostępnym miejscu na kuli ziemskiej należą chwasty. Chwastami powszechnymi w Polsce i w innych rejonach Europy, jak również świata, są żóltlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora* Cav.), szczaw zwyczajny (*Rumex acetosa* L.) i komosa biała (*Chenopodium album* L.), zwana popularnie lebiądą. Pomimo że chwasty te należą do różnych rodzin taksonomicznych, to zajmują podobne siedliska i cechuje je doskonała umiejętność zasiedlania nawet obcych im środowisk i przystosowywania się do panujących tam warunków [12].

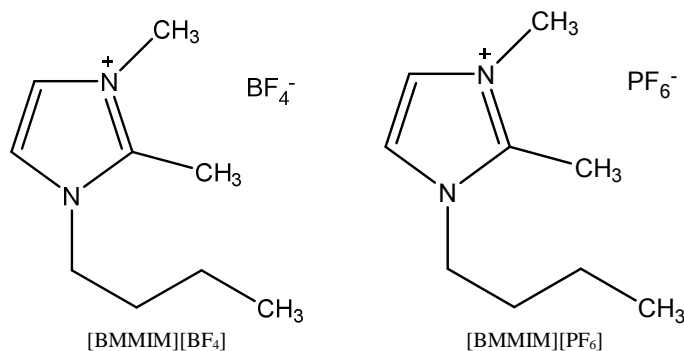
Duże rozpowszechnianie chwastów i ich bardzo liczne występowanie na świecie może czynić je doskonałymi wskaźnikami zanieczyszczenia środowiska. Ponadto szybki rozwój tych roślin powoduje, że mogą one stanowić obiekt badań m.in. wpływu związków chemicznych na rośliny. Dlatego tak ważne jest, aby określić, jaki wpływ poszczególne związki chemiczne mogą wywierać na te chwasty. W pracy podjęto próbę oceny wpływu imidazoliowych cieczy jonowych z anionem tetrafluoroboranowym i heksafluorofosforanowym, zastosowanych w formie oprysku, na żóltlicę drobnokwiatową, komosę białą i szczaw zwyczajny. W celu zbadania wpływu ILs na chwasty, poza oceną wizualną roślin, dokonano również określenia inhibicji wzrostu części nadziemnych roślin i ich korzeni, zawartości suchej masy oraz oznaczono zawartość wszystkich barwników asymilacyjnych. Wybór do badań cieczy jonowych z anionem zawierającym atom fluoru związany był z doniesieniami literaturowymi na temat wysokiej toksyczności dla roślin wyższych związków chemicznych zawierających w swojej budowie fluor [13]. Określenie fitotoksyczności badanych ILs może być w przyszłości wykorzystane do projektowania nowych związków o właściwościach chwastobójczych, które jednocześnie nie będą toksyczne dla innych elementów środowiska przyrodniczego i będą mogły stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych środków ochrony roślin.

Materiały i metody

Związki chemiczne

Cieczy jonowe wykorzystane w badaniach, tj.: tetrafluoroboran 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowy [BMMIM][BF₄] (czystość ≥ 97%) i heksafluorofosforan 1-butylo-2,3-dimetyloimidazoliowy [BMMIM][PF₆] (czystość ≥ 97%), zakupione zostały w Sigma-Aldrich Chemical Co.

Struktury chemiczne badanych imidazoliowych cieczy jonowych przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Struktura badanych cieczy jonowych

Fig. 1. Structure of the analysed ionic liquid

Badania fitotoksyczności cieczy jonowych

Eksperyment wazonowy dotyczący oznaczenia potencjalnych właściwości fitotoksycznych [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] został przeprowadzony w hali vegetacyjnej Zakładu Biochemii i Ekotoksykologii Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie.

Do plastikowych doniczek o średnicy 90 mm zawierających 250 g gleby wysiano jednakową ilość (określoną w sposób wagowy) nasion żótlicy drobnokwiatowej (*Galinsoga parviflora* Cav.), komosy białej (*Chenopodium album* L.) i szczawiu zwyczajnego (*Rumex acetosa* L.). Glebą użytą w doświadczeniu był piasek gliniasty lekki o zawartości frakcji < 0,02 mm około 11%, węgla organicznego + 8,5 g kg⁻¹ i pH(KCl) równym 5,9. Po 3 tygodniach od wschodów rośliny zostały opryskane roztworami badanych ILs. Związki do oprysków zostały użyte w postaci roztworów wodno-alkoholowych o stężeniach 0,5, 1,0 i 2,0%. W analogiczny sposób przygotowano również próby kontrolne, które opryskano roztworem wodno-alkoholowym bez dodatku cieczy jonowych.

Badania prowadzone były przez 14 dni od momentu oprysku. Przez cały okres badań utrzymywano stałą wilgotność podłoża na poziomie wymaganym dla roślin (70% ppw), stałą temperaturę 20 ±2°C i stałe oświetlenie na poziomie 170 μmol m⁻² s⁻¹ w systemie 16 h dzień/8 h noc.

Jako wskaźnik toksyczności badanych związków posłużyła ocena wizualna zahamowania wzrostu, powstałych uszkodzeń czy usychania badanych gatunków chwastów, co zostało udokumentowane w postaci zdjęć cyfrowych przedstawionych w niniejszej pracy. Oznaczono również zawartość chlorofili i karotenoidów w liściach badanych chwastów oraz inhibicję wzrostu tych roślin i ich korzeni.

Oznaczenie inhibicji wzrostu części nadziemnych roślin i ich korzeni

W 14 dniu od oprysku dokonano pomiaru długości części nadziemnych roślin i ich korzeni. Inhibicję wzrostu części nadziemnych roślin i ich korzeni określono jako różnicę pomiędzy długością części nadziemnych (lub korzeni) roślin kontrolnych a długością części nadziemnych (lub korzeni) roślin poddanych działaniu ILs w określonym stężeniu $\times 100\%$. Otrzymane wyniki wyrażono w procentach.

Oznaczanie zawartości barwników asymilacyjnych i suchej masy w roślinach

Zawartość barwników fotosyntetycznych oznaczano metodą spektroskopową zgodnie ze sposobem opisanym przez Oren i in. [14]. Zawartość chlorofilu *a*, chlorofilu *b* i karotenoidów oznaczono poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 470, 647 i 664 nm. Zawartość pigmentów fotosyntetycznych wyrażono w mg g^{-1} świeżej masy (św.m.).

Zawartość suchej masy oznaczono metodą suszarkowo-wagową [15], prowadząc suszenie około 1 g świeżej masy roślin w temp. 105°C do uzyskania stałej masy. Zawartość suchej masy podano w g/g św.m.

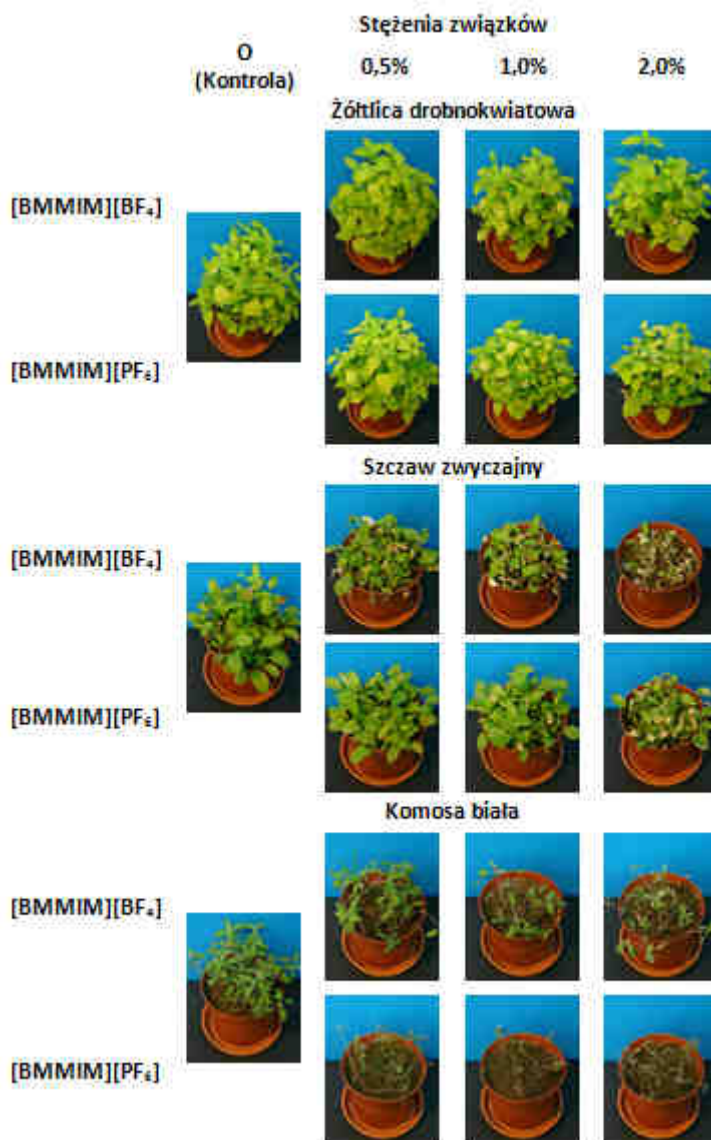
Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu pakietu oprogramowania statystycznego Statistica v. 12.5 (StatSoft, Inc., Kraków, Polska). Dane z trzech pomiarów poddano analizie wariancji - ANOVA, jednorodne grupy obliczono za pomocą testu Tukeya z $p < 0,05$. Prezentowane w tabelach dane są średnią \pm odchylenie standardowe z 3 powtórzeń dla każdego stężenia związku.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wykorzystane w eksperymencie ciecze jonowe wykazują fitotoksyczność w stosunku do żółtlicy drobnokwiatowej, komosy białej i szczawiu zwyczajnego tym większą, im wyższe zostało zastosowane stężenie związku. Rośliną najbardziej odporną na działanie badanych związków okazała się żółtlica drobnokwiatowa. Przeprowadzenie oprysku wszystkimi roztworami [BMMIM][PF₆] prowadziło do całkowitego zasychania roślin komosy białej, podczas gdy szczaw zwyczajny okazał się rośliną najbardziej wrażliwą na oprysk [BMMIM][BF₄]. Po zastosowaniu tej soli w stężeniu najwyższym (2,0%) uschła większość roślin szczawiu (rys. 2).

Obserwacje dokonane na podstawie wyglądu roślin znalazły potwierdzenie w wartościach inhibicji wzrostu części nadziemnych chwastów i ich korzeni. Należy stwierdzić, że im wyższe zostały zastosowane stężenia roztworów obu badanych ILs, tym większą obserwowano inhibicję wzrostu części nadziemnych roślin. Nie stwierdzono natomiast większych zmian inhibicji długości korzeni chwastów po zastosowaniu niższych stężeń obu cieczy jonowych, wyższe stężenia związków powodowały jednak wyraźną inhibicję tego biomarkera fitotoksyczności (rys. 3).

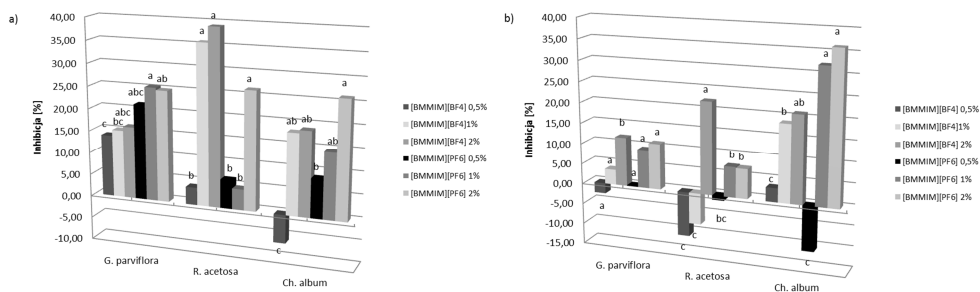


Rys. 2. Reakcja chwastów na oprysk roztworami [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] o stężeniu 0,5, 1,0 i 2,0% w 14 dniu prowadzenia badań

Fig. 2. The weeds reaction on spray solutions [BMIM][BF₄] and [BMIM][PF₆] at a concentration of 0.5, 1.0 and 2.0% at 14 days of research

Wyniki uzyskane w omawianym eksperymencie znalazły potwierdzenie we wcześniejszych pracach dotyczących toksyczności tetrafluoroboranów

i heksafluorofosforanów dla roślin wyższych [16]. Cho i in. [17] uszeregowali toksyczność imidazoliowych ILs dla fitoplanktonu *Selenstrum capricornutum* wg schematu: $\text{SbF}_6^- > \text{PF}_6^- > \text{BF}_4^- > \text{CF}_3\text{SO}_3^- > \text{C}_8\text{H}_{17}\text{OSO}_3^- > \text{Br}^- = \text{Cl}^-$. Ponadto związki zawierające w swej budowie anion PF_6^- są uznawane za wysoce toksyczne dla środowiska glebowego, gdyż w wyniku ich hydrolizy powstaje wysoce toksyczny jon fluorkowy [13]. Elloumi i in. [18], Saleem i in. [19], Jha i in. [20] określili toksyczność fluoru odpowiednio dla sadzonek migdałowca, dwóch odmian pomidora, cebuli oraz soi. Wszyscy ww. autorzy wykazali toksyczny wpływ fluoru na badane rośliny przy jego zbyt wysokim poziomie w podłożu.



Rys. 3. Inhibicja wzrostu części nadziemnych roślin (a) i korzeni (b) szczawiu, żółtlicy drobnokwiatowej, komosy białej i szczawiu zwyczajnego poddanych działaniu [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] ($n = 3$). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy $p < 0,05$

Fig. 3. Inhibition of growth plant (a) and root (b) gallant soldier, white goosefoot and common sorrel exposed to [BMMIM][BF₄] and [BMMIM][PF₆] ($n = 3$). Values denoted by the same letters do not differ statistically at $p < 0.05$

W prezentowanych badaniach [BMMIM][BF₄] wykazywał najsilniejsze działanie na rośliny szczawiu zwyczajnego, natomiast [BMMIM][PF₆] był wysoce toksyczny dla komosy białej. Saleem i in. [19] również uzależniają toksyczny wpływ fluoru od gatunku i odmiany rośliny. Biczak i in. [21] w swojej pracy dowodzą ponadto, że tetrafluoroborany z różną długością łańcucha przy kationie imidazoliowym wykazują toksyczne działanie dla jęczmienia jarego, rzodkiewki zwyczajnej, komosy białej, szczawiu zwyczajnego i żółtlicy drobnokwiatowej, które uzależnione było w dużym stopniu od zastosowanego stężenia związków, gatunku rośliny oraz ilości atomów w alkilowym podstawniku. Wielu badaczy [6, 7, 11, 22] dowodzi ponadto, że niskie stężenia ILs mogą działać stymulująco na wzrost roślin, natomiast wysokie stężenia tych związków powodują praktycznie liniowy spadek plonu, długości pędów roślin i ich korzeni.

W przeprowadzonych badaniach określono również wpływ badanych ILs na zawartość suchej masy w liściach chwastów. Żaden z badanych związków nie prowadził do istotnych zmian zawartości suchej masy u żółtlicy drobnokwiatowej, podczas gdy zastosowanie [BMMIM][BF₄] w stężeniu 1 i 2% spowodowało znaczny wzrost poziomu suchej masy w liściach komosy białej w stosunku do obiektów kontrolnych. Niezależnie od zastosowanego stężenia [BMMIM][BF₄] spowodował również wzrost zawartości suchej masy w liściach szczawiu zwyczajnego, a obserwowane zmiany były skorelowane z zastosowanym stężeniem cieczy jonowej. Po dokonaniu oprysku roztworami

[BMMIM][PF₆] roślin szczyawiu zwyczajnego stwierdzono statystycznie udowodniony wzrost poziomu suchej masy w liściach tej rośliny jedynie po zastosowaniu najwyższego stężenia tej soli (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość suchej masy w liściach żółtlicy drobnokwiatowej, szczyawiu zwyczajnego i komosy białej po 14 dniach od oprysku roztworami 0,5, 1,0 i 2,0% [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] (średnia ± odch. stand, *n* = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie przy *p* < 0,05

Table 1

The dry weight content in gallant soldier, common sorrel and white goosefoot leaves after 14 days after spraying the solutions of 0.5, 1.0 and 2.0% [BMMIM][BF₄] and [BMMIM][PF₆]. Values denoted by the same letters in the columns do not differ statistically at *p* < 0.05

Gatunek rośliny	Rodzaj ILs	Stężenie ILs			
		0 (Kontrola)	0,5%	1,0%	2,0%
<i>G. parviflora</i>	[BMMIM][BF ₄]	0,1721±0,0022 ^b	0,1765±0,0029 ^b	0,1861±0,0048 ^a	0,1852±0,0026 ^a
	[BMMIM][PF ₆]		0,1738±0,0020 ^a	0,1656±0,0002 ^b	0,1651±0,0020 ^b
<i>R. acetosa</i>	[BMMIM][BF ₄]	0,1225±0,0055 ^c	0,1375 ^b	0,2727 ^a	-
	[BMMIM][PF ₆]		0,1231±0,0019 ^b	0,1292±0,0031 ^b	0,1527 ^a
<i>C. album</i>	[BMMIM][BF ₄]	0,1158±0,0007 ^c	0,1160±0,001 ^c	0,1324±0,0004 ^b	0,1441±0,0002 ^a
	[BMMIM][PF ₆]		-	-	-

O podobnym wzroście zawartości suchej masy u roślin poddanych oddziaływaniu różnych związków chemicznych, w tym cieczy jonowych, donoszą także Matusiak i in. [23] oraz Biczak i in. [5, 21]. Liu i in. [22] zaobserwowali natomiast spadek zawartości suchej masy w liściach bobu poddanego działaniu chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego. Uzyskane w cytowanych badaniach rozbieżności rezultatów wynikają najprawdopodobniej z różnic gatunkowych badanych roślin. Jedne rośliny reagują bowiem na stres wywołany m.in. kontaktem ze związkami chemicznymi spadkiem zawartości suchej masy, a inne wręcz odwrotnie - jej wyraźnym wzrostem.

Związkami niezbędnymi do prowadzenia procesu fotosyntezy i w konsekwencji do właściwego funkcjonowania i rozwoju roślin są barwniki fotosyntetyczne, w skład których wchodzi m.in. chlorofile i karotenoidy. U roślin wyższych są one zlokalizowane w chloroplastach. Barwniki te tworzą ogromne kompleksy z białkami, które odpowiadają za pochłanianie energii i przenoszenie elektronów w błonach tylakoidów. Największe z tych kompleksów to fotoukłady PSI i PSII. Karotenoidy chronią ponadto układy fotosyntetyczne przed nadmiarem energii, rozpraszając ją. Ze względu na tak olbrzymią rolę, jaką pełnią te barwniki w funkcjonowaniu roślin, niezbędne jest oznaczenie ich poziomu w roślinach poddanych działaniu wielu czynników abiotycznych, w tym związków chemicznych.

Przeprowadzone badania niezbicie dowodzą, że badane ILs powodują spadek zawartości chlorofilu *a*, chlorofilu *b*, chlorofilu całkowitego i karotenoidów w liściach chwastów w stosunku do obiektów kontrolnych. Nie obserwowano natomiast liniowych korelacji wartości stosunku chlorofilu *a* do chlorofilu *b* oraz chlorofilu całkowitego do karotenoidów (tab. 2).

Wyniki uzyskane w przeprowadzonym eksperymencie znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Ma i in. [24], Zhang i in. [25], Liu i in. [22], Herman i in. [26], Wang i in. [27], Biczak i in. [16] oraz Biczak [21] donoszą o wręcz liniowym spadku

zawartości barwników asymilacyjnych w liściach badanych roślin pod wpływem czwartorzędowych soli amoniowych (CSA) oraz cieczy jonowych.

Tabela 2

Zawartość barwników asymilacyjnych [mg/g św.m.] w liściach żólticy drobnokwiatowej, szczawiu zwyczajnego i komosy białej opryskanych roztworami [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] o stężeniach 0,5, 1,0 i 2,0% (średnia ± odch. stand., n = 3). Wartości oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie przy p < 0,05

Table 2

Photosynthetic pigments content [mg/g FW] in gallant soldier, common sorrel and white goosefoot leaves sprayed with solutions of [BMMIM][BF₄] and [BMMIM][PF₆] at concentrations of 0.5, 1.0 and 2.0% (mean ± SD, n = 3). Values denoted by the same letters in the columns do not differ statistically at p < 0.05

Stężenie ILs		Barwniki asymilacyjne [mg/g św.m.]					
		Chla	Chlb	Car	Chla+Chlb	Chla/Chlb	Chla+b/car
		Żóltica drobnokwiatowa (<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.)					
[BMMIM][BF ₄]	0	0,729±0,006 ^a	0,226±0,002 ^a	0,209±0,002 ^a	0,955±0,009 ^a	3,224±0,010 ^b	4,568±0,021 ^a
	0,5%	0,736±0,028 ^a	0,240±0,008 ^a	0,213±0,007 ^a	0,976±0,036 ^a	3,069±0,034 ^a	4,576±0,007 ^a
	1,0%	0,680±0,033 ^{ab}	0,223±0,009 ^a	0,199±0,010 ^{ab}	0,903±0,042 ^{ab}	3,056±0,024 ^a	4,547±0,029 ^a
	2,0%	0,642±0,024 ^b	0,191±0,009 ^b	0,189±0,007 ^b	0,833±0,033 ^b	3,361±0,025 ^a	4,410±0,042 ^b
[BMMIM][PF ₆]	0,5%	0,645±0,021 ^b	0,216±0,008 ^{ab}	0,193±0,005 ^b	0,861±0,029 ^b	2,993±0,036 ^b	4,454±0,051 ^b
	1,0%	0,657±0,021 ^{bc}	0,198±0,009 ^b	0,186±0,006 ^b	0,855±0,029 ^b	3,327±0,084 ^a	4,604±0,036 ^a
	2,0%	0,603±0,022 ^c	0,200±0,007 ^b	0,185±0,006 ^b	0,803±0,029 ^b	3,005±0,033 ^b	4,345±0,006 ^c
		Szczaw zwyczajny (<i>Rumex acetosa</i> L.)					
[BMMIM][BF ₄]	0	0,819±0,003 ^a	0,266±0,004 ^a	0,214±0,001 ^a	1,085±0,005 ^a	3,080±0,045 ^a	5,080±0,007 ^a
	0,5%	0,744±0,020 ^b	0,226±0,019 ^b	0,198±0,011 ^a	0,970±0,024 ^b	3,304±0,055 ^a	4,903±0,027 ^a
	1,0%	0,683±0,011 ^c	0,205±0,004 ^b	0,178±0,003 ^b	0,888±0,014 ^c	3,332±0,053 ^a	4,980±0,026 ^a
	2,0%	-	-	-	-	-	-
[BMMIM][PF ₆]	0,5%	0,784±0,010 ^{ab}	0,228±0,002 ^b	0,209±0,002 ^a	1,012±0,016 ^b	3,486±0,050 ^b	4,833±0,042 ^a
	1,0%	0,817±0,017 ^a	0,273±0,008 ^a	0,211±0,005 ^a	1,090±0,025 ^a	2,994±0,036 ^b	5,178±0,018 ^a
	2,0%	0,748±0,022 ^b	0,238±0,005 ^b	0,188±0,005 ^b	0,986±0,028 ^b	3,144±0,023 ^a	5,238±0,034 ^a
		Komosa biała (<i>Chenopodium album</i> L.)					
[BMMIM][BF ₄]	0	1,290±0,005 ^a	0,348±0,002 ^a	0,314±0,001 ^a	1,638±0,029 ^a	3,710±0,004 ^a	5,214±0,020 ^a
	0,5%	0,979±0,004 ^b	0,275±0,001 ^b	0,246±0,001 ^b	1,253±0,005 ^b	3,565±0,007 ^b	5,098±0,038 ^b
	1,0%	0,800±0,011 ^c	0,226±0,004 ^c	0,214±0,002 ^c	1,026±0,015 ^c	3,543±0,018 ^b	4,784±0,034 ^c
	2,0%	0,768±0,002 ^d	0,209±0,002 ^d	0,203±0,001 ^d	0,977±0,004 ^d	3,672±0,036 ^b	4,803±0,024 ^c
[BMMIM][PF ₆]	0,5%	-	-	-	-	-	-
	1,0%	-	-	-	-	-	-
	2,0%	-	-	-	-	-	-

Chl a - chlorofil a, Chl b - chlorofil b, chl a+b - chlorofil a + chlorofil b, car - karotenoidy, a/b - chlorofil a/chlorofil b, chl a+b/car - (chlorofil a + chlorofil b)/karotenoidy

Z badań prowadzonych przez wielu naukowców na całym świecie wynika, że kontakt ze związkami chemicznymi powoduje u roślin stres oksydacyjny, którego efektem jest nadprodukcja reaktywnych form tlenu (RFT), które przyczyniają się do uszkodzenia membran chloroplastów. Prowadzi to do zaburzenia syntezy chlorofili, a przede wszystkim chlorofilu a, czego efektem jest przedwczesne starzenie się roślin. Inhibujący wpływ badanych ILs na zawartość barwników asymilacyjnych w liściach chwastów może wynikać ponadto z toksyczności fluoru dla roślin, który ma ujemny wpływ na procesy asymilacji i fotosyntezy, czego powodem jest m.in. degradacji struktury chloroplastu. Następujące wówczas inhibicja syntezy pigmentu oraz spadek zawartości chlorofilu [13]. Stwierdzony

w niniejszej pracy spadek zawartości karotenoidów, które stanowią podobnie jak askorbiniany, zredukowany glutation czy tokoferol podstawową linię obrony fotosystemów PSI i PSII przeciwko ROS, również świadczy o szkodliwym wpływie badanych na wzrost i rozwój wybranych gatunków chwastów [28-30].

Podsumowanie i wnioski

Wyniki przeprowadzonych badań dotyczących określenia toksyczności dwóch imidazoliowych cieczy jonowych - [BMMIM][BF₄] i [BMMIM][PF₆] - zastosowanych w formie oprysku pozwalają stwierdzić, że są to związki wykazujące fitotoksyczność w stosunku do trzech popularnych gatunków chwastów: żóltlicy drobnokwiatowej, komosy białej i szczawiu zwyczajnego. Rośliną najbardziej odporną na działanie badanych ILs okazała się być żóltlica drobnokwiatowa. Ciecz jonowa z anionem heksafluorofosforanowym [BMMIM][PF₆] najsilniejsze działanie wykazała w stosunku do komosy białej, natomiast [BMMIM][BF₄] okazał się być najbardziej toksyczny dla roślin szczawiu zwyczajnego. Oba związki prowadziły do zasychania tych roślin. Efektem działania badanych związków była również inhibicja długości części nadziemnych roślin i ich korzeni, wzrost zawartości suchej masy oraz spadek zawartości barwników asymilacyjnych. Zaobserwowane zmiany były w dużym stopniu uzależnione od zastosowanego stężenia badanych ILs oraz od gatunku rośliny, na którą zastosowano oprysk roztworami badanych substancji chemicznych.

Uzyskane w przeprowadzonym eksperymencie wyniki badań mogą pomóc zapobiegać skażeniu środowisk glebowych wskutek wprowadzania do nich nowych związków chemicznych, wykazujących potencjalne właściwości toksyczne w stosunku do roślin wyższych. Wyniki powyższe dają ponadto odpowiedź, jaka jest możliwość zagospodarowania terenów, które w przyszłości mogłyby zostać skażone ILs oraz jakie rośliny można by w tych warunkach wprowadzać na zanieczyszczone cieczami jonowymi gleby. Uzyskane w tych badaniach informacje mogą zostać również wykorzystane w projektowaniu nowych związków wykazujących selektywne bądź totalne właściwości herbicydowe.

Literatura

- [1] Bruzzone S, Chiappe C, Focardi SE, Pretti C, Renzi M. Theoretical descriptor for the correlation of aquatic toxicity of ionic liquids by quantitative structure - toxicity relationships. *Chem Eng J.* 2011;175:17-23. DOI: 10.1016/j.cej.2011.08.073.
- [2] Roy MN, Ray T, Roy MCh. Datta B. Study of ion-pair and triple-ion origination of an ionic liquid ([bmmim][BF₄]) predominant in solvent systems. *RSC Adv.* 2014;4:62244-62254. DOI: 10.1039/c4ra09506e.
- [3] Ma S, Lv M, Deng F, Zhang X, Zhai H, Lv W. Predicting the ecotoxicity of ionic liquids towards *Vibrio fischeri* using genetic function approximation and least squares support vector machine. *J Hazard Mater.* 2015;283:591-598. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.011.
- [4] Pernak J, Czerniak K, Niemczak M, Chrzanowski Ł, Ławniczak Ł, Fochtman P, et al. Herbicidal ionic liquids based on esterquats. *New J Chem.* 2015;39:5715-5724. DOI: 10.1039/c5nj00609k.
- [5] Biczak R, Bałczewski P, Pałowska B, Bachowska B, Rychter P. Comparison of phytotoxicity of selected phosphonium ionic liquid. *Ecol Chem Eng S.* 2014;21:281-295. DOI: 10.2478/eces-2014-0022.
- [6] Costa SPF, Pinto PCAG, Lapa RAS, Saraiva MLMFS. Toxicity assessment of ionic liquids with *Vibrio fischeri*: An alternative fully automated methodology. *J Hazard Mater.* 2015;284:136-142. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.049.

- [7] Cvjetko Bubalo M, Radošević K, Radojčić Redovniković I, Halambek J, Srček VG. A brief overview of the potential environmental hazards of ionic liquids. *Ecotox Environ Saf.* 2014;99:1-12. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.10.019.
- [8] Wang C, Wei Z, Feng M, Wang L, Wang Z. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to eight imidazolium bromide ionic liquids: A combined experimental and theoretical study. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2014;102:187-195. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.01.027.
- [9] Pham TPT, Cho C-W, Yun Y-S. Structural effects of ionic liquids on microalgal growth inhibition and microbial degradation. *Environ Sci Pollut Res.* 2016;23:4294-4300. DOI: 10.1007/s11356-015-5287-8.
- [10] Biczak R, Bachowska B, Bałczewski P. Study of phytotoxicity of ionic liquid 1-(methylthiomethylene)-3-butylimidazolium chloride. *Proc ECoPol.* 2010;4:105-114.
- [11] Biczak R, Bałczewski P, Bachowska B, Pawłowska B, Kaźmierczak-Barańska J, Cieślak M, et al. Phytotoxicity and cytotoxicity of imidazolium ionic liquids containing sulfur atom. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 2013;188,459-461. DOI: 10.1080/10426507.2012.737880.
- [12] Matuszkiewicz W. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, 2006.
- [13] Telesiński A, Śnioszek M. Bioindicators of environmental pollution with fluorine. *Bromat Chem Toksykol.* 2009;4,1148-1154.
- [14] Oren R, Werk KS, Buchmann N, Zimmermann R. Chlorophyll-nutrient relationships identify nutritionally caused decline in *Picea abies* stands. *Can J For Res* 1993;23:1187-1195.
- [15] Kowalska I. Zawartość wybranych składników szpinaku (*Spinacia oleracea* L.) uprawianym przy zróżnicowanej zawartości wapnia. *Rocz AR Pozn.* 2004;CCLXX:105-110.
- [16] Biczak R, Telesiński A, Pawłowska B. Oxidative stress in spring barley and common radish exposed to quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anion. *Plant Physiol Biochem.* 2016;107:248-256. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.05.016.
- [17] Cho Ch-W, Pham TPT, Jeon Y-Ch, Yun Y-S. Influence of anions on the toxic effects of ionic liquids to a phytoplankton *Selenastrum capricornutum*. *Green Chem.* 2008;10:67-72. DOI: 10.1039/b705520j.
- [18] Elloumi N, Ben Abdallah F, Mezghani I, Rhouma A, Boukhris M. Effect of fluoride on almond seedlings in culture solution. *Fluoride.* 2005;38(3):193-198.
- [19] Saleem M, Ahmad MN, Khan BA, Zia A, Ahmad SS, Shah HU, et al. Effects of soil fluoride on the growth and quality of two tomato varieties grown in Peshawar, Pakistan. *Fluoride.* 2015;48(2):174-178.
- [20] Jha SK, Nayak AK, Sharma YK. Fluoride toxicity effects in onion (*Allium cepa* L.) grown in contaminated soils. *Chemosphere.* 2009;76:353-356. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.03.044.
- [21] Biczak R. Quaternary ammonium salts with tetrafluoroborate anion: Phytotoxicity and oxidative stress in terrestrial plants. *J Hazard Mater.* 2016;304:173-185. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.055.
- [22] Liu T, Zhu L, Wang J, Wang J, Xie H. The genotoxic and cytotoxic effects of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in soil on *Vicia faba* seedlings. *J Hazard Mater.* 2011; 285:27-36. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.01.008.
- [23] Matusiak A, Lewkowski J, Rychter P, Biczak R. Phytotoxicity of new furan-derived aminophosphonic acid, N-aryl furaldimines and 5-nitrofuraldimine. *J Agric Food Chem.* 2013;61:7673-7678. DOI: 10.1021/jf402401z.
- [24] Ma J-M, Cai L-L, Zhang B-J, Hu L-W, Li X-Y, Wang J-J. Acute toxicity and effects of 1-alkyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquids on green algae. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010;73:1465-1469. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.10.004.
- [25] Zhang B, Li X, Chen D, Wang J. Effects of 1-octyl-3-methylimidazolium bromide on the antioxidant system of *Lemna minor*. *Protoplasma.* 2013;250:103-110. DOI: 10.1007/s00709-012-0379-5.
- [26] Herman B, Biczak R, Gurgul E. Effect of 1,10-phenanthroline on peroxidase and catalase activity and chlorophyll, sugar, and ascorbic acid contents. *Biol Plant.* 1998;41:607-611.
- [27] Wang L-S, Wang L, Wang L, Wang G, Li Z-H, Wang J-J. Effect of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate on the wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environ Toxicol.* 2009;24:296-303. DOI: 10.1002/tox.20435.
- [28] Sun B, Jing Y, Chen K, Song L, Chen F, Zhang L. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). *J Plant Physiol.* 2007;164:536-543. DOI: 10.1016/j.jplph.2006.02.011.
- [29] Arias-Baldrich C, Bosch N, Begines D, Feria AB, Monreal JA, García-Mauriño S. Proline synthesis in barley under iron deficiency and salinity. *J Plant Physiol.* 2015;183:121-129. DOI: 10.1016/j.jplph.2015.05.016.

- [30] Gengmao Z, Yu H, Xing S, Shihui L, Quanmei S, Changhai W. Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Ind Crops Prod.* 2015;64:175-181. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.10.058.

TOXICITY OF IMIDAZOLIUM IONIC LIQUIDS WITH THE ANION CONTAINING FLUORINE FOR SOME WEED SPECIES

¹The Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Department of Biochemistry and Ecotoxicology
Jan Długosz University in Częstochowa

²Faculty of Environmental Management and Agriculture, Department of Plant Physiology and Biochemistry
West Pomeranian University of Technology in Szczecin

Abstract: One of the most common and most studied of ionic liquids are imidazolium ionic liquids. Some of these compounds, *i.e.* hexafluorophosphates or tetrafluoroborates contains fluorine in their structure which may have a negative impact on the environment. Because of so much interest in these compounds it is necessary to determine their impact on the environment including various species of higher plants. Plants widely distributed around the world are weeds. In this paper we attempt to assess the impact of 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate [BMMIM][BF₄], and 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium hexafluorophosphate [BMMIM][PF₆] applied as sprays on three popular weed species: gallant soldier (*Galinsoga parviflora* Cav.), common sorrel (*Rumex acetosa* L.) and white goosefoot (*Chenopodium album* L.). The studies found that [BMMIM][PF₆] showed the strongest activity in relation to plant white goosefoot, while the plant most susceptible to the [BMMIM][BF₄] proved to be a common sorrel. Plant the most resistant to the tested compounds was galant soldier. Investigated ILs resulted in inhibition of plant growth and root growth of the dry weight content and a decrease in the assimilation pigments in the leaves studied weeds. All observed changes were largely dependent on the concentration of the compound.

Keywords: toxicity, herbicidal properties, ionic liquids, photosynthetic pigments, dry weight

