

Ocena toksycznego oddziaływania chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem wybranych przedstawicieli flory i fauny

Elżbieta Grabińska-Sota^{a,b}, Anna Arendarczyk^a, Aleksandra Zgórska^a

^a Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Politechnika Śląska, 44-100 Gliwice, Akademicka 2 A

^b e-mail: elzbieta.g.sota@polsl.pl

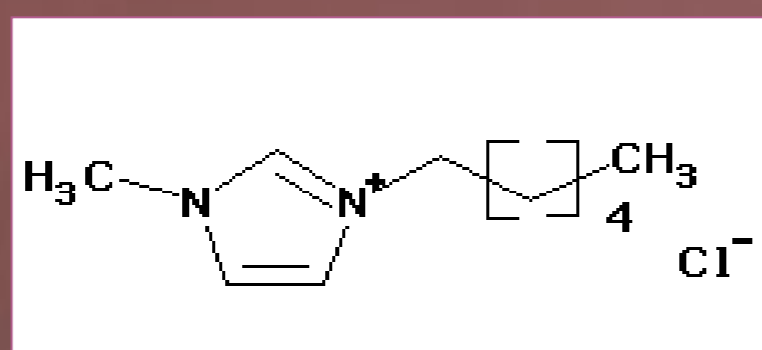
1. WSTĘP

Narastające zainteresowanie branży przemysłowej cieczami jonowymi, wynikające z ich unikalnych właściwości chemicznych i fizycznych, bezpośrednio przekłada się na wzrost ich produkcji, co pociąga za sobą ryzyko przedostawania się do środowiska. Zgodnie z art. rozporządzenia REACH Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów, chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy, będący komercyjnie dostępną cieczą jonową, zwolniony jest z obowiązku rejestracji, gdyż łączna produkcja roczna nie wymaga rejestracji lub rejestracja przewidziana jest w późniejszym terminie. W karcie charakterystyki chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, informacje ekologiczne dotyczące 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 podjęte przez Stolte i in. (2008) wykazały jedynie 11% biodegradację w teście zgodnym z wytyczną OECD 301 D. Dodatkowo ciecze jonowe zawierające anion chlorkowy charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie. Przedostanie się do gleby i wód gruntowych cieczy jonowej trudno ulegającej biologicznemu rozkładowi oraz dobrze rozpuszczalnej w wodzie może stanowić poważne zagrożenie dla biocenozy wód i gleb. Dlatego istotne jest podejmowanie próby oceny wpływu cieczy jonowych, takich jak chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy na wybrane organizmy żywe. Celem niniejszej pracy była ocena potencjału toksykologicznego chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem wybranych przedstawicieli fauny i flory.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1 MATERIAŁY

W badaniach wykorzystano ciecz jonową – chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy o wzorze sumarycznym $C_{10}H_{19}N_2Cl$. Według danych producenta preparat stosowany jest jako katalizator w reakcjach syntezy. Gęstość analizowanej cieczy jonowej wynosi $1,05 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Stężenie substancji aktywnej 98%, masa molowa $202,73 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Preparat charakteryzuje się temperaturą topnienia - 85°C i odczynem pH -8 (20°C). Jest to substancja nietłoczna, niepalna, odznaczająca się maziastą konsystencją, jasno-żółtym zabarwieniem i dobrą rozpuszczalnością w zakresie stosowanych stężeń.



2.2 METODY

Testy wschodu i wzrostu fauny glebowej - *Triticum aestivum* (pszenica) oraz *Raphanus sativus* (rzodkiew)

Jako sztuczne podłoże glebowe w badaniach wykorzystano glebę ogrodową o wilgotności 48 % (PKN-CEN- ISO/TS 17892-1:2009) i odczynie pH 6,5 (PN-ISO 10390:1997). Oznaczenie wpływu chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na florę glebową wykonano zgodnie z normą (PN-ISO 11269-2:2001). Do badań wykorzystano pszenicę należącą do grupy roślin jednoliściennych oraz rzodkiew, przedstawiciela grupy roślin dwuliściennych. Zastosowany zakres stężeń analizowanej substancji wynosił $0,001 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$; $0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$; $0,1 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$ i $1 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$.

Oznaczanie toksyczności chronicznej dla osadów. Test Ostracodtoxkit

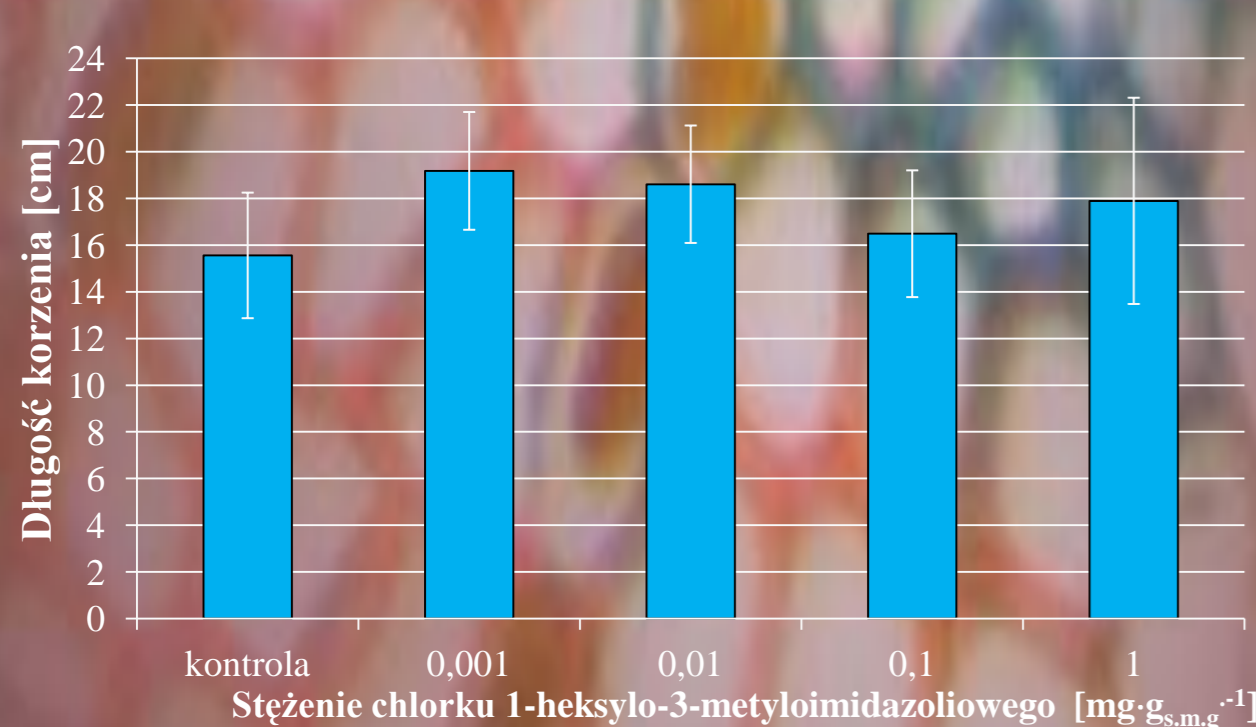
Biotest służący do oceny toksyczności prób stałych, wykonano przy użyciu młodych osobników, dennych skorupiaków *Heterocypris incongruens* świeżo wylęglých z cyst. Oceny śmiertelności organizmów testowych dokonano po 6 dniach ekspozycji na zanieczyszczony osad referencyjny. Na podstawie wyników uzyskanych z testu wstępnego dobrano odpowiedni zakres stężeń do testu potwierdzającego, który wynosił: $0,001 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$; $0,0018 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$; $0,0032 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$; $0,0056 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$; $0,01 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków *Artemia salina*

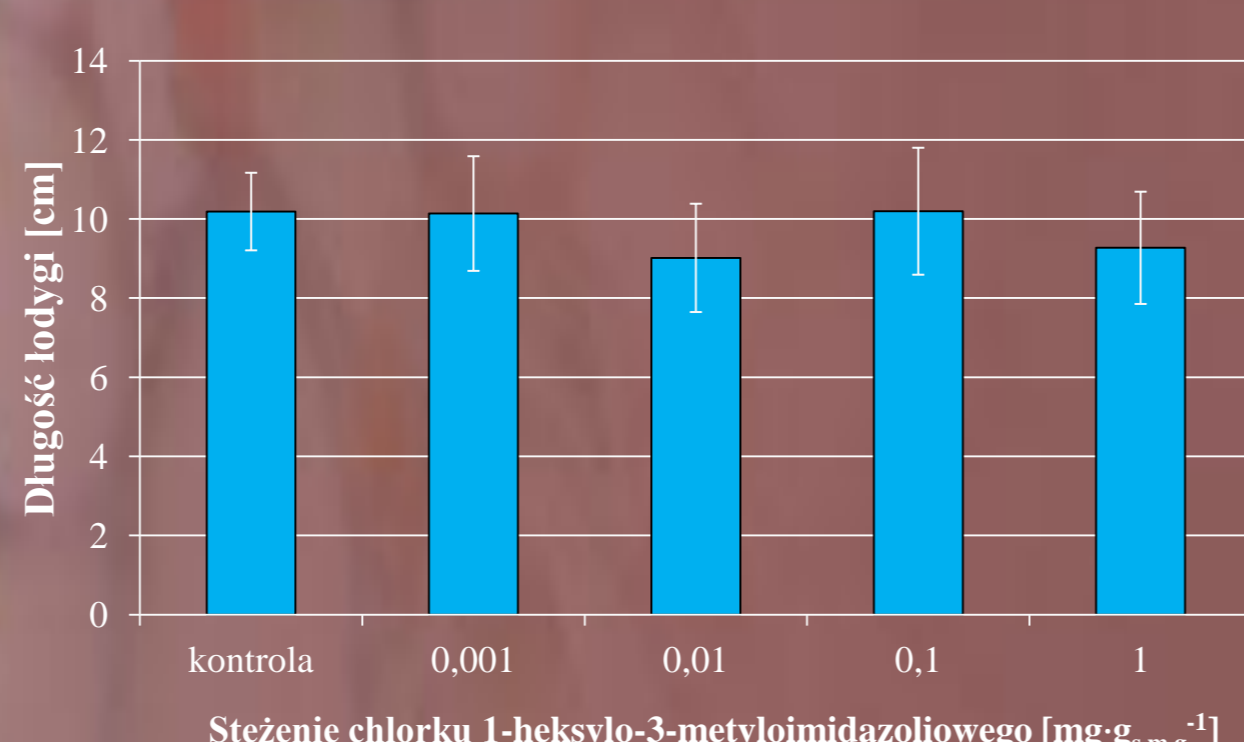
Do testu wykorzystano skorupki słonowodne *Artemia salina* świeżo wylęglę z cyst. Oceny śmiertelności organizmów testowych dokonano po 24 h inkubacji. Zastosowany zakres stężeń cieczy jonowej wyniósł $0,1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,18 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,32 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,56 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$.

3. WYNIKI

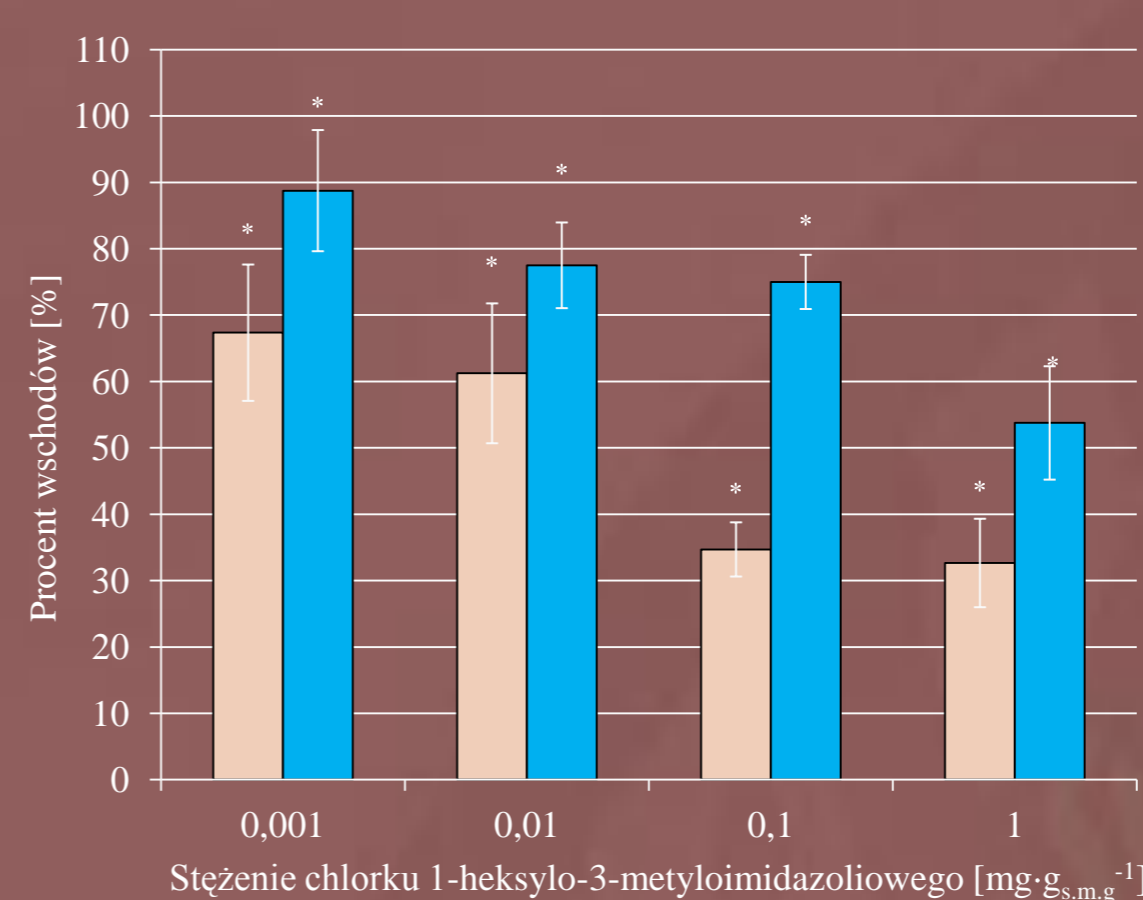
Testy wschodu i wzrostu fauny glebowej



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

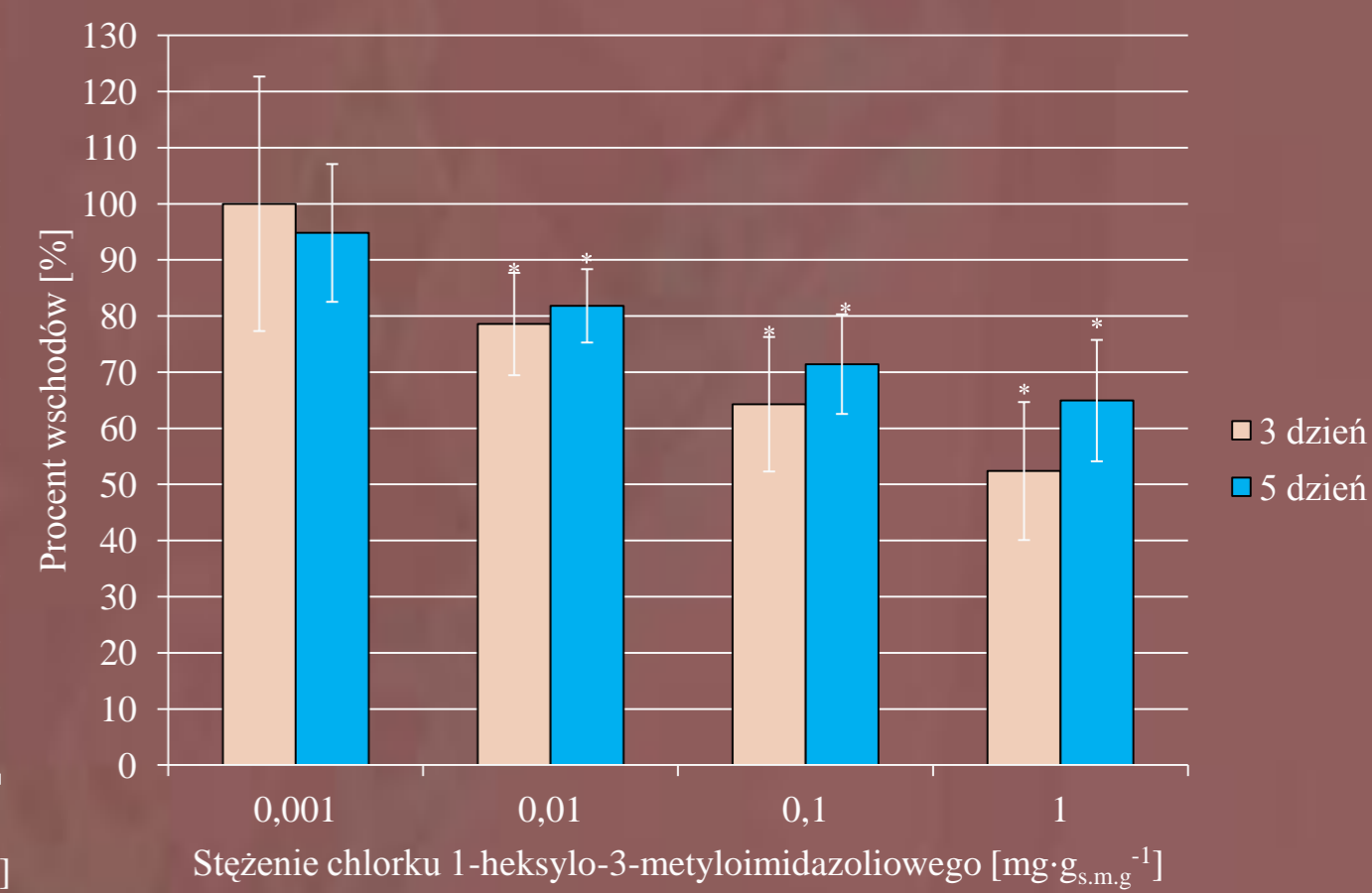


Rys. 2. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wzrost łodygi rzodkwi (*Raphanus sativus*).



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

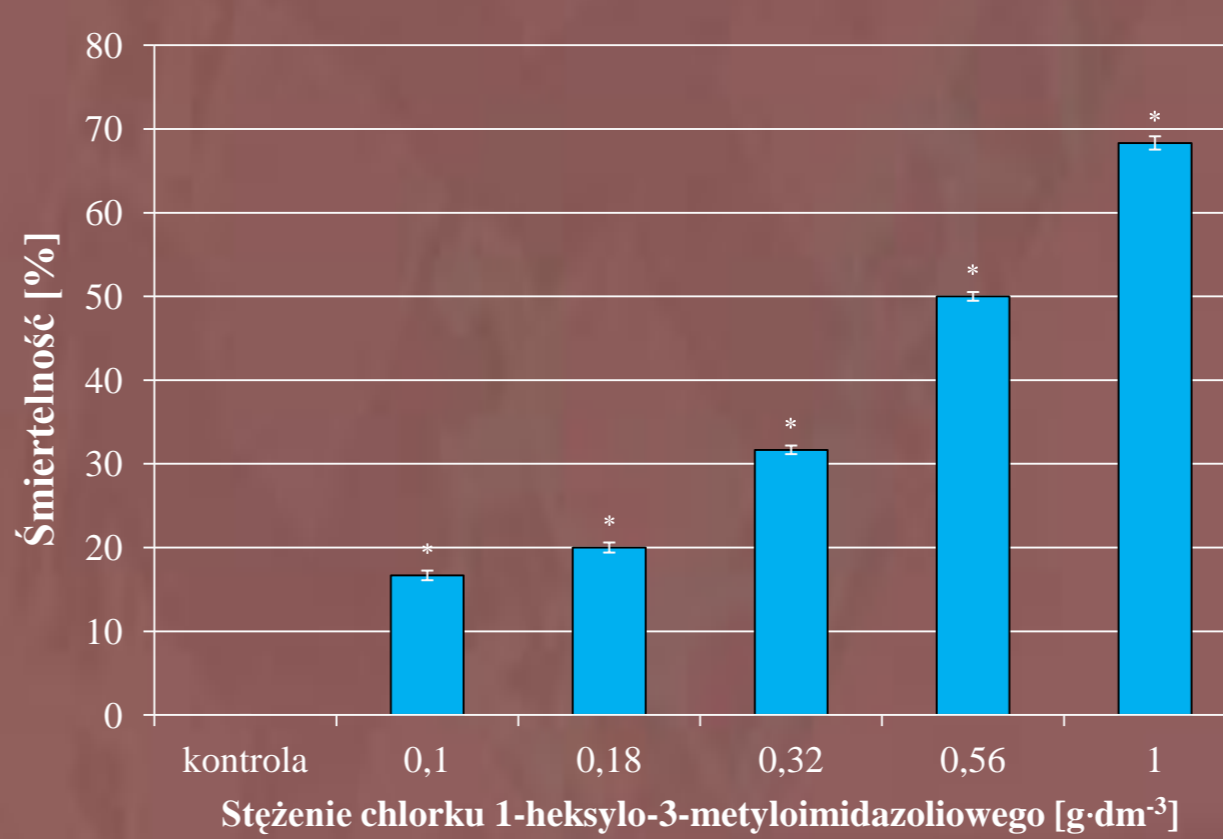
* - oznacza różnice istotne statystycznie pomiędzy ilością siewek, które weszły w próbę kontrolnej a ilością siewek, które weszły w próbach ze skażoną glebą ($p>0,05$, test t-Studenta)



Rys.4. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na wschody rzodkwi (*Raphanus sativus* L.) po 3 i 5 dniach testu.

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

Testy toksyczności z wykorzystaniem skorupiaków *Artemia salina* oraz *Heterocypris incongruens*

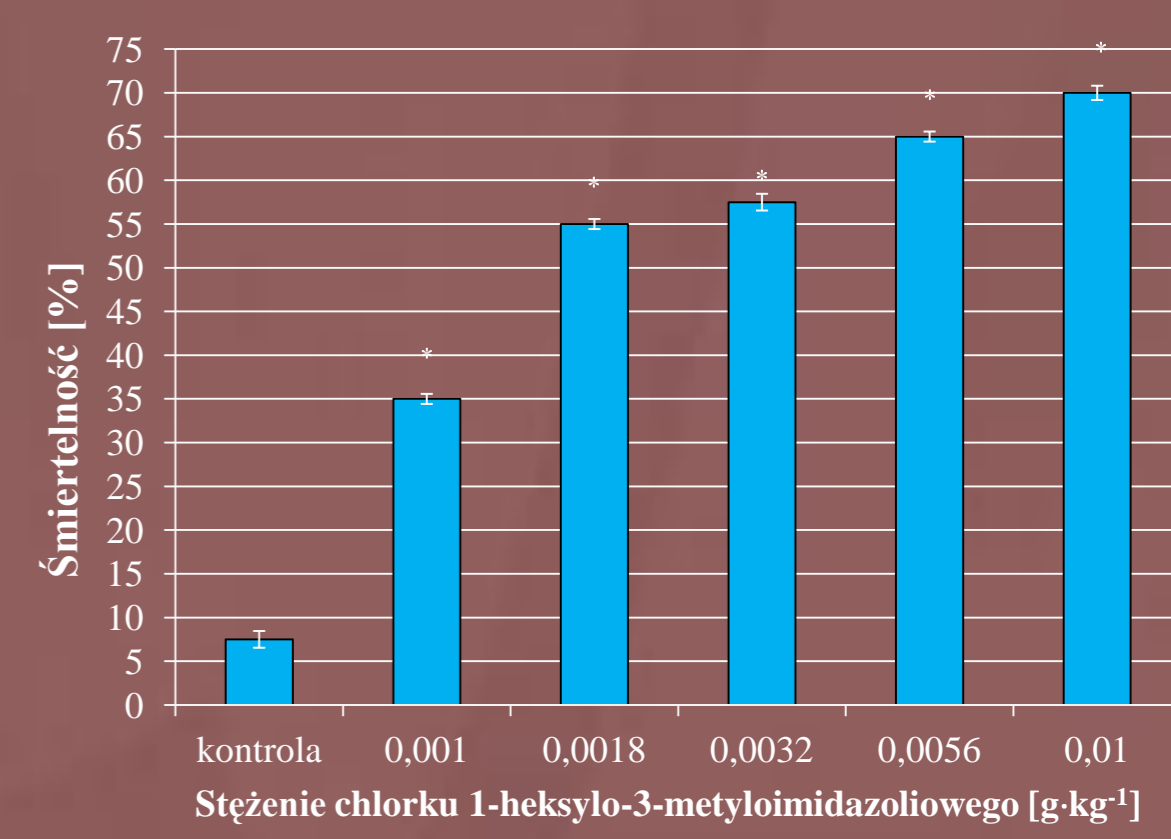


Rys.5. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na śmiertelność skorupiaków *Artemia salina* – test potwierdzający.

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

$EC_{50} = 560 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$

EC_{50} – stężenie substancji powodujące efekt u połowy populacji organizmów testowych po określonym czasie inkubacji



Rys.6. Wpływ stężenia chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego na śmiertelność skorupiaków *Heterocypris incongruens* – test potwierdzający.

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

$EC_{50} = 1,984 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

4. WNIOSKI

1. Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy toksycznie oddziaływał na zdolność kiełkowania obu testowanych roślin. Na podstawie normy (EN 13432) uznaje się, że badana substancja jest nietoksyczna, jeżeli wskaźnik wykiełkowania 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. W przypadku rzodkwi jedynie najniższe stężenie badanej cieczy jonowej równe $0,001 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{s.m.g.}}^{-1}$ nie wpłynęło negatywnie na zdolność kiełkowania rośliny. Wschody były parametrem najbardziej wrażliwym na działanie chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego, roślina jednoliścienna (*Triticum aestivum* L.) charakteryzowała się większą czułością w teście kiełkowania niż roślina dwuliścienna (*Raphanus sativus* L.);

2. Nie stwierdzono efektu toksycznego badanej cieczy jonowej względem wzrostu korzenia i łodygi pszenicy (*Triticum aestivum* L.) oraz rzodkwi (*Raphanus sativus* L.); odnotowano stymulację wzrostu korzenia pszenicy dla wszystkich testowanych stężeń analizowanej cieczy jonowej, lecz nie była ona istotna statystycznie.

3. W teście toksyczności ostrej z wykorzystaniem *Artemia salina* wartość EC_{50} wyniosła $560 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. W oparciu o klasy toksyczności Unii Europejskiej, chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy sklasyfikowano jako nietoksyczny. Odmianą klasyfikację uzyskano na podstawie wyników testów opublikowanych w artykule o komplementarnej tematyce dotyczącej toksyczności analizowanej cieczy jonowej względem skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* oraz bakterii morskich *Vibrio fischeri*, gdzie testowany związek chemiczny sklasyfikowano jako toksyczny (wartości EC_{50} odpowiednio $2,51 \text{ mg}/\text{dm}^3$ oraz $EC_{50/5\text{min}} 15,30 \text{ mg}/\text{dm}^3$) (Arendarczyk i in., 2011).

4. 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 OSTRACODTOXKIT F wyniosła $1,98 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Chlorek 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy toksycznie oddziaływał na skorupki *Heterocypris incongruens* w całym zakresie stosowanych stężeń



Heterocypris incongruens



Artemia salina

Literatura:

- Arendarczyk A., Zgórska A., Grabińska-Sota E.: Ocena toksyczności chlorku 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego względem wybranych organizmów wodnych. Inżynieria i Ochrona Środowiska, vol. 14, No. 2, pp. 137-143, 2011.
- Stolte S., Abdulkarim S., Arning J., Blomeyer-Nienstedt A. K., Bottin-Weber U., Matzke M., Ranke J., Jastorf 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 Chemistry, 10, s.214-224, 2008.
- PN-ISO 11269-2:2001 Jakość gleby -- Oznaczanie wpływu zanieczyszczeń na florę glebową -- Wpływ związków chemicznych na wschody i wzrost roślin wyższych.