

# Evaluación de la posibilidad de tratamiento por vía biológica de corrientes acuosas contaminadas con líquidos iónicos.

I.F. Mena<sup>1</sup>, E. Díaz<sup>1</sup>, V.M. Monsalvo<sup>1</sup>, M. Pinilla<sup>1</sup>, S. Sanchis<sup>1</sup>, E. Gomez-Herrero<sup>1</sup>, A.M. Polo<sup>1</sup>, M. Tobajas<sup>1</sup>, A.F. Mohedano<sup>1</sup>, J.A. Casas<sup>1</sup>, J.J. Rodriguez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Madrid. c/ Francisco Tomás y Valiente, 7, 28049, Madrid.

angelf.mohedano@uam.es

## Resumen

Los Líquidos Iónicos (LIs) se presentan como una alternativa prometedora a los disolventes orgánicos convencionales debido a su baja volatilidad y alta estabilidad química y térmica. Estas propiedades junto a su elevada solubilidad en agua pueden favorecer la presencia de estos compuestos en aguas residuales industriales.

En este trabajo se analiza la posibilidad de degradación de LIs de la familia de los imidazolio (1-butil-3-metilimidazolio acetato (BmimAcetato); 1-butil-3-metilimidazolio cloruro (BmimCl) y 1-butil-3-metilimidazolio bis(trifluorometilsulfonilimida (BmimNTf<sub>2</sub>)) por vía biológica, empleando un fango activo, población mixta de microorganismos, o una cepa pura, la bacteria *Sphingomonas paucimobilis*.

La biodegradabilidad de los LIs (10 mg·L<sup>-1</sup>) con fango activo (350 mg·L<sup>-1</sup>) se determinó mediante ensayos respirométricos (30 °C) en los que se analizó la velocidad específica de consumo de sustrato (VECO) y la concentración de anión y catión. El perfil de VECO no sufrió ninguna variación en presencia de BmimCl y BmimNTf<sub>2</sub>, mientras que en el respirograma realizado con BmimAcetato se detectó un aumento de la VECO a las 3 h, asociado a la degradación del acetato. En todos los casos, la concentración de Bmim permaneció constante durante las 100 h de duración de cada ensayo, indicando que el grupo imidazolio no es fácilmente biodegradable.

Por su parte, los ensayos de biodegradabilidad de los LIs (10 mg·L<sup>-1</sup>) empleando *S. paucimobilis* (1 g·L<sup>-1</sup>) se realizaron en una incubadora orbital (45 °C) analizándose la concentración de catión y de carbono orgánico total (COT). La conversión de Bmim a los 10 días de ensayo varió en función del LI ensayado: BmimAcetato (12 %) < BmimCl (25 %) < BmimNTf<sub>2</sub> (100 %). La devolución del COT no siguió la misma tendencia, lo que revela que, en estas condiciones, el grupo imidazolio puede ser transformado parcial o totalmente, sin alcanzarse la mineralización del mismo en ningún caso.

**Palabras Clave:** Biodegradabilidad, Fangos Activos, Líquidos iónicos, *Sphingomonas paucimobilis*, Toxicidad.

## Introducción

Los líquidos iónicos (LIs) son un grupo de compuestos con gran variedad de posibles estructuras a los que se ha prestado especial atención en la última década, debido a sus potenciales aplicaciones industriales, lo que les convierte en una alternativa a los disolventes volátiles convencionales debido a su baja volatilidad y alta estabilidad térmica (Wasserscheid y Welton, 2008).

El significativo incremento en la utilización de LIs en diversos campos de investigación, caracterizados recientemente como tóxicos y poco biodegradables (Ranke et al., 2007; Coleman y Gatherhood, 2010), requiere la evaluación de su posible impacto ambiental y riesgo como contaminantes de aguas superficiales y subterráneas.

Por ello, es necesario aumentar el conocimiento sobre la biodegradación de los LIs que pueden llegar a aparecer en aguas residuales como consecuencia de los residuos que se generen en los procesos de síntesis o del lavado de los envases que los contienen.

Estudios previos reflejan que los LIs basados en el grupo imidazolio resultan ser poco biodegradables por medio de fangos activos (García et al., 2005), habiéndose encontrado resultados más prometedores empleando cepas puras de la bacteria *Pseudomonas putida* (Kumar et al., 2006) o la bacteria *Sphingomonas paucimobilis* (Abrusci et al., 2011), que han sido capaces de degradar algunos LIs.

En este trabajo se estudia la biodegradabilidad de LIs de la familia imidazolio (1-butil-3-metilimidazolio Acetato (BmimAcetato); 1-butil-3-metilimidazolio cloruro (BmimCl) y 1-butil-3-metilimidazolio bis(trifluorometilsulfonilimida (BmimNTf<sub>2</sub>)) empleando para ello un fango activo y una cepa pura, la bacteria *Sphingomonas paucimobilis*.

## Materiales y Métodos

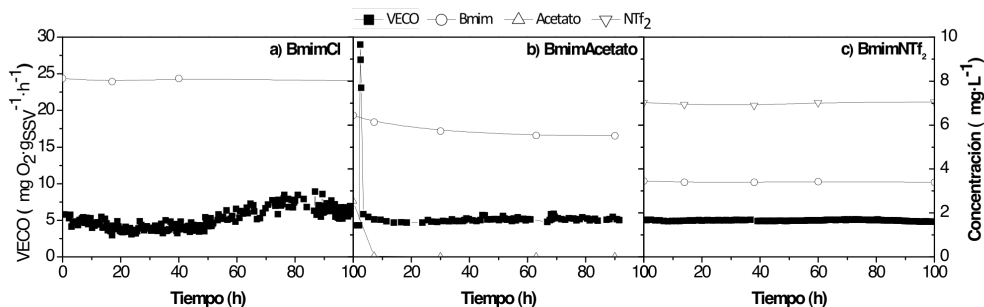
Los ensayos de biodegradabilidad de los LIs con fango activo se llevaron a cabo en un respirómetro discontinuo de medida directa de la concentración de oxígeno en fase líquida. La concentración de biomasa en los ensayos de respirometría, procedente de una estación depuradora de aguas residuales industriales, se situó en 350 mg/L y la concentración de LIs fue de 10 mg·L<sup>-1</sup>. Los ensayos se realizaron en un baño termostatzado a 30 °C durante 100 h. Por su parte, el estudio de biodegradabilidad de los LIs (10 mg·L<sup>-1</sup>) empleando *S. paucimobilis* (1 g·L<sup>-1</sup>) se realizó en una incubadora orbital (150 rpm, 45 °C) durante 10 días. En ambos casos, se adicionó a la mezcla una disolución de micronutrientes empleando una relación 100:5:1:0,5 de DQO:N:P:micronutrientes para evitar limitaciones de crecimiento.

La concentración de Bmim se cuantificó mediante cromatografía líquida con detector UV-Vis a 218 nm (HPLC, Varian Prostar 325). Se utilizó como fase estacionaria una columna Phenomenex (Synergi 4u Polar- RP 80A. 150x4,6 mm) y como fase móvil una mezcla de una disolución acuosa de tampón fosfato (5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 6,34 mM de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y acetonitrilo, con un caudal de 0,75 mL/min. La cuantificación de la concentración del anión NTf<sub>2</sub> se realizó mediante el empleo de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con detector de masas (Agilent 6120, DAD G1315A) usando como fase estacionaria una columna C-18 (ACE Excel 3 C18-Amide, 250·2,1 mm) y como fase móvil una mezcla de ácido fosfórico (0,1 %) y acetonitrilo con un caudal de 0,2 mL/min. La cuantificación del anión cloruro y acetato se realizó por medio de cromatografía iónica con supresión química (Metrosep A Supp 5) utilizando como fase móvil una disolución tampón de NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> de concentraciones 1,0 y 3,2 mM, respectivamente, con un caudal de 0,7 mL/min. La determinación del carbono orgánico total (COT) se llevó a cabo en un analizador de COT (Shimadzu, TOC-Vcsh).

## Resultados y Discusión

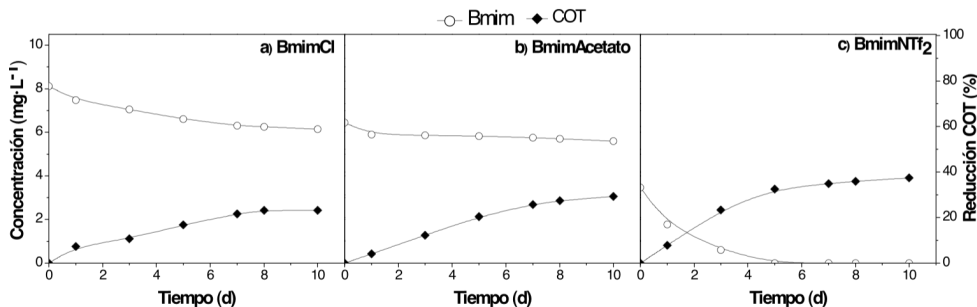
Los resultados de biodegradabilidad de los LIs seleccionados con un fango activo se presentan en la Figura 1, en la que se representa el perfil de la VECO en cada caso y la evolución de las concentraciones de Bmim y de los aniones acetato y NTf<sub>2</sub> a lo largo del ensayo. El perfil de VECO permaneció inalterable en los ensayos realizados con BmimCl y BmimNTf<sub>2</sub>, no observándose tampoco variaciones en la concentración de Bmim ni de NTf<sub>2</sub>, pudiendo considerarse ambos como no biodegradables. Por su parte, en el ensayo con BmimAcetato, se detectó un incremento en la VECO a las 3 h que coincidió con la significativa disminución de la concentración de acetato en el medio de reacción. Como en los otros casos, la concentración de Bmim no se vio modificada a lo largo del experimento.

De esta manera el acetato puede considerarse como un compuesto fácilmente biodegradable (Monsalvo et al. 2015), mientras que el grupo imidazolio no lo es. Además, a partir de estos resultados se puede concluir que ninguno de estos compuestos, ni el anión ni los cationes que forman cada LI, presenta toxicidad para el fango activo, a bajas concentraciones, ya que la VECO endógena no descendió en ningún caso (Costa et al. 2015).



**Figura 1.** Evolución de la concentración de LI y de los perfiles respirométricos obtenidos en la biodegradación de BmimCl (a), BmimAcetato (b) y BmimNTf<sub>2</sub> (c) empleando un fango activo

Los ensayos de biodegradabilidad de los LIs por medio de la bacteria *S. paucimobilis* en las condiciones óptimas establecidas por Abrusci et al. (2011) se recogen en la Figura 2. La conversión de Bmim a los 10 días de ensayo varió en función del LI tratado: BmimAcetato (12 %) < BmimCl (25 %) < BmimNTf<sub>2</sub> (100 %), mientras que el porcentaje de reducción de COT se situó en todos los casos entre el 23 y 36 %. En el caso del BmimCl, la conversión del catión coincidió con el porcentaje de mineralización, mientras que en los otros dos casos se observaron tendencias opuestas. La reducción de COT alcanzada en el ensayo de degradación del BmimAcetato fue superior a la conversión de Bmim, como consecuencia de la degradación del acetato por parte del microorganismo, mientras que en el caso del BmimNTf<sub>2</sub>, los resultados de la evolución del COT indicaron que la concentración de anión permaneció inalterable.



**Figura 2.** Evolución de la concentración de LI (Bmim) y reducción de COT en los ensayos de biodegradación realizados con *S. paucimobilis*: a) BmimCl, b) BmimAcetato, c) BmimNTf<sub>2</sub>

## Conclusiones

El estudio de la degradación de LIs de la familia imidazolio mediante oxidación biológica indicó que no existe una degradación en paralelo del anión y catión que constituyen el LI. En los estudios de biodegradabilidad realizados empleando fango activo se consiguió una alta degradación de acetato, compuesto fácilmente asimilable por los microorganismos, mientras que el grupo imidazolio y el anión NTf<sub>2</sub> resultaron ser recalcitrantes al tratamiento biológico, no observándose toxicidad de estos compuestos sobre el fango activo a bajas concentraciones.

Por su parte, la bacteria *S. paucimobilis* es capaz de transformar y mineralizar parcialmente el grupo imidazolio que constituye estos LIs, aunque la degradación del mismo es función de las características del anión que forma parte de cada LI.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la ayuda recibida de la Consejería de Educación de la CM (REMTAVARES S-2013/MAE-2716), del MINECO (CTM2013-43803-P) y UAM-Banco Santander (CEAL-AL/2015-08). I.F. Mena desea agradecer al MINECO y al Fondo Social Europeo (ESF) por su beca de investigación.

## Referencias

- Abrusci, C., Palomar, J., Pablos, J.L., Rodríguez, F., Catalina, F. 2011. Efficient biodegradation of common ionic liquids by *Sphingomonas paucimobilis* bacterium. *Green Chem.*, 13, 709.
- Coleman, D., Gathergood N. 2010. Biodegradation studies of ionic liquids. *Chem. Soc. Rev.*, 39, 600.
- Costa, S.P.F., Pinto, P.C.A.G., Lapa, R.A.S., Saraiva, M.L.M.F.S. 2015. Toxicity assessment of ionic liquids with *Vibrio fischeri*: An alternative fully automated methodology. *J. Hazard. Mater.* 284, 136.
- García, M. T., Gathergood, N., Scammells, P.J. 2005. Biodegradable ionic liquids Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green Chem.*, 7, 9
- Kumar, S., Ruth, W., Sprenger, B., Kragl, U. 2006. On the biodegradation of ionic liquid 1-Butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate *Chim. Oggi Chem. Today* 24, 24.
- Monsalvo, V.M., Lopez, J., Muñoz, M., de Pedro, Z.M., Casas, J.A., Mohedano, A.F., Rodríguez, J.J. 2015. Application of Fenton-like oxidation as pre-treatment for carbamazepine biodegradation. *Chem. Eng. J.* 264, 856.
- Ranke, J., Müller, A., Bottin-Weber, U., Stock, F., Stolte, S., Arning, J., Störmann, R., Jastorff, B. 2007. Lipophilicity parameters for ionic liquid cations and their correlation to *in vitro* cytotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 430–438.
- Wasserscheid, P., Welton, T. 2008. *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim.