



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA**

**INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA**

***BIODEGRADACIÓN DE AGUA RESIDUAL  
CONTENIENDO UN LÍQUIDO IÓNICO POR MEDIO  
DE LODOS ACTIVADOS EN UN REACTOR  
DISCONTINUO SECUENCIAL***

**TESIS**

Que para optar por el grado de:  
**MAESTRA EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PRESENTA:**

**CLAUDIA CITLALI PÉREZ FARÍAS**

**TUTOR PRINCIPAL:**

**DR. IVÁN MORENO ANDRADE, INSTITUTO DE INGENIERÍA**

**COMITÉ TUTOR:**

**DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, IMTA**

**DR. ÓSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ, INSTITUTO DE INGENIERÍA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. DE MÉXICO, ENERO, 2017.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA**

**JURADO ASIGNADO:**

**Presidente: Dra. Mijaylova Nacheva Petia**

**Secretario: Dr. Durán Moreno Alfonso**

**1er. Vocal: Dra. Fernández Villagómez Georgina**

**2do. Vocal: Dr. González Barceló Óscar**

**3er. Vocal: Dr. Moreno Andrade Iván**

Lugar donde se realizó la tesis: Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA), Juriquilla, Qro.

**TUTOR DE TESIS:**

**DR. IVÁN MORENO ANDRADE**

-----  
**FIRMA**

## APOYOS RECIBIDOS

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas de la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.



**INSTITUTO  
DE INGENIERÍA  
UNAM**

**LIPATA**

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN  
EN PROCESOS AVANZADOS DE  
TRATAMIENTO DE AGUAS

Se agradece el apoyo financiero del Fondo de Colaboración Internacional del Instituto de Ingeniería de la UNAM (proyectos de colaboración internacional II-5320), del proyecto UAM-Banco Santander (CEAL-AL/2015-08) y del proyecto CTM2013-43803-P del Ministerio de Economía y Competitividad de España.

Se agradece el apoyo técnico del M. en B. Jaime Pérez Trevilla y a la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez en la parte experimental de esta tesis.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar los estudios de maestría.

## CONTENIDO

Índice de figuras.....	i
Índice de tablas.....	i
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....</b>	<b>3</b>
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos particulares .....	3
2.3 Hipótesis.....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
3.1 Tratamiento de aguas residuales .....	4
3.2 Tratamiento de aguas residuales industriales .....	5
3.3 Tratamiento biológico de aguas residuales.....	5
3.4 Tratamiento biológico por medio de lodos activados .....	6
3.5 Biodegradación.....	6
3.5.1 Cometabolismo .....	7
3.5.2 Bioaugmentación .....	8
3.6 Tecnología SBR (Sequencing Bath Reactor) .....	9
3.7 Líquidos iónicos.....	11
3.7.1 Propiedades fisicoquímicas de los líquidos iónicos.....	12
3.7.2 Aplicaciones de los líquidos iónicos.....	13
3.7.3 Toxicidad de los líquidos ónicos.....	14
3.8 Biodegradación de líquidos iónicos .....	16
3.8.1 Biodegradación aerobia .....	16
3.8.2 Biodegradación en suelo.....	17
3.8.3 Biodegradación anaerobia bajo condiciones desnitrificantes .....	17
3.8.4 Biodegradación con cepas puras.....	18
<b>4. ANTECEDENTES.....</b>	<b>19</b>
4.1 Biodegradación de líquidos iónicos imidazolio .....	19
4.2 Biodegradación del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (BmimCl) .....	19
4.3 Ruta de degradación (Citocromo P450).....	22
4.3.1 Mecanismo de acción.....	23
<b>5. METODOLOGÍA.....</b>	<b>24</b>
5.1 Operación del biorreactor .....	24
5.1.1 Evaluación de bioaugmentación .....	25
5.2 Técnicas analíticas .....	25
5.2.1 Parámetros fisicoquímicos .....	25
5.2.2 Respirometría.....	26
5.2.5 Determinación del LI por HPLC.....	26

5.2.6 Identificación de metabolitos por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas GC-MS .....	27
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
<b>6.1 Biodegradación del BmimCl .....</b>	<b>29</b>
<b>6.2 Actividad respirométrica.....</b>	<b>30</b>
<b>6.3 Biodegradación primaria (intermediarios).....</b>	<b>32</b>
<b>6.4 Sólidos suspendidos volátiles (biomasa).....</b>	<b>35</b>
<b>6.5 Índice volumétrico de lodos (IVL).....</b>	<b>36</b>
<b>6.6 Alternativas para el tratamiento de aguas residuales tratando LIs.....</b>	<b>37</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>38</b>
<b>8. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>38</b>
<b>9. REFERENCIAS.....</b>	<b>39</b>
<b>10 ANEXO 1. Proceso de oxidación húmeda catalítica avanzada con peróxido de hidrógeno para la eliminación líquidos iónicos .....</b>	<b>44</b>
<b>11 ANEXO 2 .....</b>	<b>56</b>
<b>11.1 Productos derivados de esta tesis.....</b>	<b>56</b>

## Índice de figuras

Figura 3.1 Etapas de un ciclo de operación de un SBR. ....	10
Figura 3.2 Principales cationes y aniones utilizados en la síntesis de líquidos iónicos. ....	12
Figura 3.3 Biodegradación de tres líquidos iónicos imidazolío (Liwarska-Bizukojc y Gendaszewska, 2013). ....	16
Figura 3.4 Líquidos iónicos imidazolío examinados por Moelli et al., 2008. ....	17
Figura 4.1 Ensayo de biodegradabilidad utilizando microorganismos de las PTARs ubicadas en Kalamazzo (KZ) y South Bend (SB) (Docherty et al., 2015). ....	20
Figura 4.2 Biodegradabilidad del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolío, evaluada a través de la medición del carbono orgánico disuelto (COD). Triángulos en negro indican la degradación del líquido iónico (BmimCl), los blancos el control abiótico y los grises el control biótico (Docherty et al., 2015). ....	21
Figura 4.3 Biodegradación con <i>S. Paucimobilllis</i> de ocho líquidos iónicos reportados como no fácilmente biodegradables, el BmimCl es el indicado con un círculo (●) (Abrusci et al., 2011). ....	21
Figura 4.4 Participación relativa de diferentes enzimas de la fase I en el metabolismo de xenobióticos (Donato-Martín, 2004). ....	23
Figura 5.1 Reactor piloto (SBR). ....	24
Figura 5.2 Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC). ....	27
Figura 5.3 Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas (GC-MS). ....	27
Figura 6.1 Degradación del líquido iónico (BmimCl) en el reactor I, durante los tres ciclos de operación. ....	29
Figura 6.2 Degradación del líquido iónico (BmimCl) en el reactor II. ....	30
Figura 6.3 Tasa específica de consumo de oxígeno (SOUR) para ambos reactores. ....	31
Figura 6.4 Cromatograma de GC-MS reactor I. ....	32
Figura 6.5 Estructura del 1-butil-imidazolío encontrada en el análisis de GC-MS. ....	33
Figura 6.6 Intermediarios del BmimCl formados por oxidación electroquímica, utilizando un ánodo de diamante con boro (BDD), identificados con GC-MS. ....	33
Figura 6.7 Predicción de la ruta teórica del metabolismo del catión Bmim. ....	34
Figura 6.8 Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor I. ....	36
Figura 6.9 Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor II. ....	36
Figura 6.10 Índice volumétrico de lodos (IVL) y velocidad de sedimentación (Vs) de ambos reactores. ...	37

## Índice de tablas

Tabla 4.1 Ecotoxicidad del líquido iónico 1-alkil-3-metilimidazolío hacia <i>D. magna</i> (Zhao et al., 2007) .....	14
Tabla 4.2 Toxicidad aguda (48-h LC <sub>50</sub> ) para <i>Daphnia magna</i> . Líquidos iónicos y productos químicos comunes que se utilizan en la fabricación de productos y desinfección. ....	14
Tabla 4.3 Clase de toxicidad: Escala Hodge y Sterner (Hodge y Sterner, 2005). ....	15

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores retos a los que se enfrenta la humanidad en el siglo XXI es el tener acceso a suficiente agua de buena calidad. El agua se está convirtiendo, en muchas regiones del mundo, en un factor limitante para la salud humana, la producción de alimentos, el desarrollo industrial y el mantenimiento de los ecosistemas naturales y su biodiversidad, e incluso para la estabilidad social y política.

En México, el agua está siendo utilizada en mayor medida para la agricultura (61.82 mil millones de m<sup>3</sup>/año, 2014), seguido del abastecimiento público (11.96 mil millones de m<sup>3</sup>), uso industrial (3.34 mil millones de m<sup>3</sup>) y finalmente en termoeléctricas (4.53 mil millones de m<sup>3</sup>) (SEMARNAT, 2014); de donde se generaron 230.2 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales municipales y 210.26 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales industriales, en 2013; de las cuales son tratadas 105.9 m<sup>3</sup>/s y 60.72 m<sup>3</sup>/s, respectivamente (SEMARNAT, 2014).

Las aguas residuales industriales, en particular, procedentes de las industrias farmacéuticas y químicas, normalmente contienen compuestos orgánicos tóxicos. La variabilidad de las aguas residuales tanto en flujo y composición (cambio de producto de fabricación, operación transitoria de la planta, lavado, etc.) inhibe inherentemente el proceso de tratamiento y hace que sea difícil de tratar utilizando los procesos biológicos convencionales. El tratamiento biológico de sustancias químicas complejas es particularmente difícil debido a la inhibición y/o toxicidad de estos compuestos cuando sirven como sustratos microbianos.

Las aguas residuales industriales contienen una gran variedad de compuestos contaminantes los cuales deben ser removidos para evitar la contaminación de los cuerpos de agua a los que son descargados. Una de las tecnologías que se ha empleado para la degradación de estas aguas residuales inhibitorias son los reactores discontinuos secuenciales (SBR, por sus siglas en inglés *Sequencing Batch Reactor*) cuyo funcionamiento se basa en la alimentación y vaciado cíclico (Wilderer, 2001) promoviendo la mineralización de aguas residuales industriales que contienen compuestos tóxicos (Mohan *et al.*, 2005). Los reactores SBR operan bajo cinco fases bien definidas que son: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto. A pesar de las ventajas de los mismos, aún existe pérdida de biomasa debido al crecimiento disperso de microorganismos que son poco sedimentables como es el caso de algunas plantas de tratamiento de agroindustrias (Pavan *et al.*, 2007).



En los últimos años, ha habido un aumento en el interés tanto académico como industrial en la síntesis de la química verde. En un esfuerzo por impulsar la Ley de Prevención de la Contaminación de 1990, se han desarrollado los llamados líquidos iónicos (LIs), con el fin de sustituir disolventes orgánicos volátiles convencionales que contribuyen a la contaminación del aire, el agotamiento de la capa de ozono y el cambio climático global. Los líquidos iónicos, son una clase de sustancias químicas que tienen potencial como alternativas industriales benignas. Estas sales orgánicas (líquidas a temperatura ambiente) tienen presiones de vapor bajas y no se evaporan o causan contaminación del aire (Brennecke y Maginn, 2001). Estudios recientes han puesto en duda la concepción de los LIs como disolventes dentro de la denominada química verde debido a que, su relativa solubilidad en fase acuosa y su elevada toxicidad, reportada como dosis letal media ( $LD_{50}$ ) ( $LD_{50}$  oral en ratas: 50-550 mg/kg) puede llegar a provocar graves problemas de contaminación del medio acuático. Las rutas de síntesis para generar LIs, tanto a escala de laboratorio como industrial, frecuentemente incluyen medios acuosos, especialmente en la etapa de purificación. Por tanto, la aplicación de LIs en procesos a gran escala conlleva inexorablemente un riesgo de generación de corrientes de aguas residuales contaminadas con LIs, lo que constituye un problema ambiental que demanda soluciones adecuadas (Pinilla, 2014). Uno de estos líquidos iónicos, es el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (BmimCl), con el cual se trabajó en este proyecto, evaluando su degradación utilizando lodos activados en un reactor discontinuo secuencial.

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar el uso de lodos activados en un reactor discontinuo secuencial escala laboratorio para obtener la biodegradación de un agua residual conteniendo un líquido iónico (el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio, BmimCl).

### **2.2 Objetivos particulares**

- Aclimatar biomasa obtenida de un proceso de lodos activados para biodegradar un líquido iónico (BmimCl) en presencia de un cosustrato (acetato de sodio) empleando un sistema discontinuo secuencial aerobio.
- Comparar la biodegradación de BmimCl entre reactores discontinuos con y sin bioaumentación como una opción viable que mejore la eficiencia del proceso.
- Proponer una ruta de degradación para el BmimCl por medio de un cultivo mixto aerobio en base a los posibles intermediarios que se detecten por medio de su análisis por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas.

### **2.3 Hipótesis**

Es posible aclimatar un consorcio microbiano, por lo tanto, se logrará la biodegradación del 1-butil-3-metilimidazolio en un sistema discontinuo secuencial aerobio.

### **3. MARCO TEÓRICO**

A lo largo de la historia, la calidad del agua potable ha sido un factor determinante del bienestar humano. Las enfermedades propagadas por agua potable contaminada con materia fecal diezmaron a la población de ciudades enteras. Incluso actualmente, el agua insalubre contaminada por fuentes naturales o humanas sigue causando grandes problemas a las personas que se ven obligadas a usarla, tanto para beber como para la irrigación de hortalizas y otras plantas comestibles crudas (Manahan, 2006).

Aunque hay todavía epidemias ocasionales de enfermedades bacterianas y virales causadas por agentes infecciosos transportados en el agua potable, como el cólera, la poliomielitis y otras, las enfermedades propagadas por ella están, en general, bien controladas y el agua potable en los países tecnológicamente desarrollados está ahora notablemente libre de los agentes causantes de enfermedades que eran contaminantes muy comunes del agua hace sólo unas décadas (Manahan, 2006), debido a que esa agua no recibía tratamiento.

Prácticamente todas las actividades productoras de bienes generan contaminantes como subproductos no deseados. Es difícil imaginar algún sector industrial en el que no se utilice agua. Algunos desechos industriales, incluidos los metales pesados, se incorporan en los sistemas de drenaje de aguas de desecho, y así llega hasta el ciclo del agua con la descarga de desechos en estado líquido. El Programa Mundial de Evaluación de Recursos Hídricos calcula que en los países en vías de desarrollo, el 70 por ciento de los desechos industriales se descargan sin recibir tratamiento alguno y allí contaminan el suministro de agua apta para uso de los seres humanos, porque se infiltran en los acuíferos y contaminan los recursos hídricos subterráneos (Academia Nacional de Ciencias, 2007).

#### **3.1 Tratamiento de aguas residuales**

El tratamiento de aguas residuales es una operación clave en la industria de procesos, ya sea para cumplir con normas ambientales o para evitar impactos negativos en los cuerpos de agua cercanos. La eliminación de aguas residuales no tratadas produce impactos ambientales negativos en los cursos de agua receptores, en función de la concentración de contaminantes que dichas aguas contengan. Las tecnologías que pueden resolver el problema de las aguas

residuales, involucran tratamientos físicos, químicos y/o biológicos (Scodelaro, 2012). En esta tesis se trabajó en el tratamiento biológico para tratar un agua residual conteniendo BmimCl.

### **3.2 Tratamiento de aguas residuales industriales**

Los compuestos orgánicos e inorgánicos se encuentran en aguas residuales procedentes de instalaciones industriales diversas. A diferencia de las aguas residuales domésticas, los efluentes industriales contienen con frecuencia sustancias que no se eliminan por un tratamiento convencional, bien por estar en concentraciones elevadas, o por su naturaleza química. Muchos de los compuestos orgánicos e inorgánicos que se han identificado en aguas residuales industriales son objeto de regulación especial debido a su toxicidad o a sus efectos biológicos a largo plazo. Debido a lo anterior, al intentar emplear los parámetros empleados en efluentes municipales al diseñar una planta de tratamiento de aguas industriales, el resultado es un proceso poco eficiente. Por esta razón es necesaria la caracterización del agua residual a tratar. Por ejemplo, existen parámetros como la dosis letal media ( $LD_{50}$ ) que puede dar una idea de qué tan tóxica puede ser un agua residual. La  $LD_{50}$  puede ser definida como la concentración de tóxico tal que, al cabo de cierto tiempo, generalmente 24 horas, ha muerto el 50% de los organismos objeto de experimentación. El encontrar estas concentraciones es muy complicado, ya que por una parte se encuentra con una variedad grande de organismos y por otra las interacciones, tanto sinérgicas como antagónicas, que pueden ejercer las diversas sustancias presentes en las aguas (Santafé y Pujol, 2009).

### **3.3 Tratamiento biológico de aguas residuales**

En las últimas décadas se han desarrollado una gran variedad de procesos físicos, químicos y biológicos para el tratamiento de aguas residuales. Cada uno de ellos se caracteriza por una serie de limitaciones relativas a su grado de aplicabilidad, eficiencia y costos económicos. Los tratamientos biológicos son preferidos siempre que sea posible, ya que tienen mayores rendimientos con menores costos económicos de explotación y mantenimiento, y mineralizan completamente los contaminantes, transformándolos en sustancias inocuas como el dióxido de carbono, el metano, el nitrógeno molecular, y el agua. Si bien el costo de inversión de los procesos biológicos son del orden de 5 a 20 veces menores que los químicos, se tiene como ventaja que el costo de tratamiento es de 3 a 10 veces menor (Marco, 1997). Evidentemente, los

tratamientos biológicos estarán limitados cuando los influentes a tratar contengan moléculas xenobióticas, inhibitorias, o tóxicas para el cultivo biológico. El enriquecimiento en cultivos específicos o aclimatados y los tratamientos integrados son algunas de las estrategias posibles en estos casos (Scott y Ollis, 1995).

Como su nombre indica, los tratamientos biológicos de aguas residuales se basan en el empleo de microorganismos, fundamentalmente bacterias, para la depuración de las mismas. La contaminación del agua constituye el sustrato o alimento de la biocenosis o comunidad de microorganismos, la cual es mantenida en reactores biológicos. En estos reactores deben mantenerse las condiciones ambientales para permitir el desarrollo óptimo de la comunidad microbiana (Alexander, 1981; Arnáiz *et al.*, 2000; Grady, 1985).

### **3.4 Tratamiento biológico por medio de lodos activados**

Una población microbiana autóctona generalmente necesita un proceso de aclimatación antes de que pueda degradar los compuestos xenobióticos persistentes (Buitrón y González, 1996; Mangat y Elefsiniotis, 1999; Singleton, 1994). El proceso de aclimatación puede variar en función de diferentes condiciones (Chong, 2005; Chong y Lin, 2007). En un sistema de tratamiento de lodos activados, el lodo no tiene la capacidad suficiente para degradar un xenobiótico, cuando no ha completado la aclimatación. La aclimatación también puede complicarse por la presencia de un sustrato biogénico (convencional), con la presencia de ambos (sustratos xenobióticos y biogénicos) los microorganismos utilizarán el sustrato que es disponible fácilmente para crecer y obtener energía (Harder *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1974; Lendenmann *et al.*, 1996); también es posible que la presencia de un sustrato de fácil degradación puede mejorar la capacidad de ciertas comunidades microbianas para degradar compuestos persistentes (Shimp y Pfaender, 1985; Hess *et al.*, 1990).

### **3.5 Biodegradación**

Los compuestos orgánicos son inestables y los microorganismos pueden obtener como productos finales CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>, en condiciones anaerobias y CO<sub>2</sub> en aerobias además de H<sub>2</sub>O y NH<sub>3</sub>. La mineralización de un compuesto orgánico es la degradación total del mismo, es decir cuando se generan los productos finales descritos anteriormente. Por otro lado, se da el cometabolismo cuando el microorganismo modifica la estructura del compuesto pero no obtiene energía del

proceso ni incorpora ninguna parte de la molécula original. Hay algunos microorganismos que pueden obtener energía a partir del compuesto, aunque ninguno de ellos pueda degradarlo independientemente, este fenómeno se denomina metabolización por un consorcio (sintrofia). A veces la presencia de un compuesto fácilmente asimilable aumenta la degradación del compuesto xenobiótico. Otras veces, la presencia de un segundo sustrato impide la utilización del compuesto. Que ocurra una cosa u otra depende del microorganismo, del compuesto a degradar y de las condiciones ambientales, este fenómeno se denomina utilización de un segundo sustrato o cosustrato (Castillo *et al.*, 2005).

En algunos casos, la biodegradación conduce a la síntesis de moléculas intermedias, que los microorganismos no pueden asimilar. En condiciones naturales, los microorganismos podrían entonces ser seleccionados en el entorno para biodegradar estos productos intermedios. En algunos casos, estos compuestos pueden ser tóxicos para los microorganismos, resultando en su inhibición, la cual continua mientras estos no se eliminen del medio, pudiendo llegar a la pérdida total de la actividad de los microorganismos. En estas circunstancias, la biodegradación de una molécula dada podría implicar diferentes tipos de microorganismos. Ésta es una situación que se encuentra comúnmente en la naturaleza y explica, al menos en parte, que la biodegradación de muchos contaminantes se produce en presencia de un consorcio microbiano (Vallero, 2010).

### **3.5.1 Cometabolismo**

Muchos de los contaminantes no se pueden utilizar de manera eficiente como sustratos de crecimiento por microorganismos. La biodegradación de tales moléculas por cometabolismo se ha reportado, que es la capacidad de un microorganismo para biodegradar un contaminante sin usarlo como un sustrato de crecimiento, mientras que el mantenimiento de su crecimiento es mediante la asimilación de un sustrato diferente (sustrato fácilmente biodegradable). Este enfoque ha sido utilizado en el campo de la biorremediación, sin embargo, su potencial no ha sido plenamente explotado todavía (Nzila, 2013).

Por lo tanto, la velocidad y la eficiencia de cometabolismo depende de una compleja interacción entre el sustrato primario (fácilmente biodegradable) y el sustrato que no se utiliza para su crecimiento. Varios trabajos sugieren que la adición de una fuente de carbono primaria puede ayudar en la reducción de la inhibición de la toxicidad y el crecimiento causado por xenobióticos en las células, proporcionando de este modo la potencia para remover compuestos orgánicos

recalcitrantes, o en la calidad de agentes inductores de enzimas de biodegradación, lo que aumenta la tasa de transformación de xenobióticos (Reardon *et al.*, 2002).

### **3.5.2 Bioaumentación**

La bioaumentación se puede definir como un proceso donde se añaden cepas puras o cultivos mixtos para mejorar el catabolismo de compuestos específicos (por ejemplo, compuestos orgánicos refractarios). Esta técnica se puede emplear para resolver problemas prácticos en plantas de tratamiento de aguas residuales, y mejorar la eficiencia de remoción. Se sabe que el funcionamiento eficaz de los sistemas de tratamiento biológico se basa en microorganismos altamente activos que llevan a cabo el proceso, y por lo tanto de la relación de microorganismos resistentes/sensibles al contaminante que está siendo tratado (dependiendo tanto de su naturaleza química y concentración). Los microorganismos pueden degradar una amplia variedad de contaminantes orgánicos. Sin embargo, hay una variedad de contaminantes, tanto xenobióticos y naturales, que no son fáciles de degradar biológicamente, incluso durante largos períodos de tiempo, tales contaminantes son conocidos como "refractarios o recalcitrantes" (Herrero y Stuckey, 2015).

En principio, el bajo rendimiento de un biorreactor puede ser debido a la falta de un número suficiente de alguna especie de microorganismo específico que alberga una ruta metabólica clave para transformar el contaminante objetivo en productos finales menos perjudiciales. Sin embargo, la versatilidad metabólica es común en bioprocesos ambientales, es más probable que el contaminante específico sea degradado por una mezcla muy específica de microorganismos (un consorcio) que alberga las principales vías metabólicas, y que cooperan de manera sinérgica (Jørgensen y Gallardo, 1999; Melandri, 1997).

Las opciones más comunes para la realización de bioaumentación son: la adición de una cepa bacteriana pura pre-adaptada, la adición de un consorcio pre-adaptado, la introducción de bacterias modificadas genéticamente, o la adición de genes de biodegradación relevantes que se empaqueta en un vector con el fin de ser transferida por conjugación en microorganismos ya presentes en el biosistema. En este último caso, la técnica tiene la ventaja de no depender de la supervivencia o el crecimiento de la cepa donante. Sin embargo, algunas de estas opciones se han realizado sólo a escala de laboratorio (El Fantroussi y Agathos, 2005).

En este proyecto se realizó una prueba de bioaumentación, haciendo uso de un consorcio pre-adaptado; con lo que se concluiría si habría mejora (aumento) en la velocidad específica de degradación ( $q$ ) del LI en estudio.

### **3.6 Tecnología SBR (Sequencing Bath Reactor)**

Los reactores discontinuos secuenciales (SBR) son reactores en los que el agua residual se mezcla con un lodo biológico en un medio aireado. El proceso combina en un mismo tanque reacción, aireación y clarificación. El empleo de un único tanque reduce sustancialmente la inversión necesaria. Otras ventajas de los SBR son la facilidad para el control de la operación, la buena flexibilidad ante fluctuaciones de caudal y concentración de las aguas residuales, y los buenos resultados obtenidos en el tratamiento de compuestos refractarios a los sistemas biológicos convencionales (Remtavares, 2006).

El sistema SBR consta de cinco procesos cíclicos: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto o tiempo de espera, tal y como muestra la figura 3.1. En la primera fase, llamada llenado estático, se introduce el agua residual al sistema bajo condiciones estáticas. El llenado puede ser dinámico si se combina con el período de reacción. Durante la segunda fase del ciclo, el agua residual es mezclada mecánicamente para eliminar las posibles espumas superficiales y preparar a los microorganismos para recibir oxígeno. En esta segunda etapa (reacción) se inyecta aire al sistema. La etapa de reacción es un proceso cuyos resultados varían con su duración, y en la que el agua residual es continuamente mezclada y aireada permitiendo que se produzca el proceso de degradación biológica. El tercer ciclo, llamado etapa de sedimentación, genera condiciones de reposo en todo el tanque para que los lodos puedan sedimentar. Durante la fase de vaciado, el agua tratada y clarificada es retirada del tanque, mientras que la última fase (tiempo muerto) es el tiempo que pasa antes de iniciar otro ciclo. Finalmente, se puede purgar el lodo generado para mantener constante la concentración de éste (Wilderer *et al.*, 2001).

Los tiempos de retención y las cargas (relaciones entre la concentración contaminante del efluente y el tiempo de residencia hidráulico) varían con cada reactor. Al tratar aguas inhibitorias, se ha reportado que los reactores discontinuos secuenciales son capaces de remover del 60-95% de DBO utilizando lodos activados (Metcalf y Eddy *et al.*, 2002).



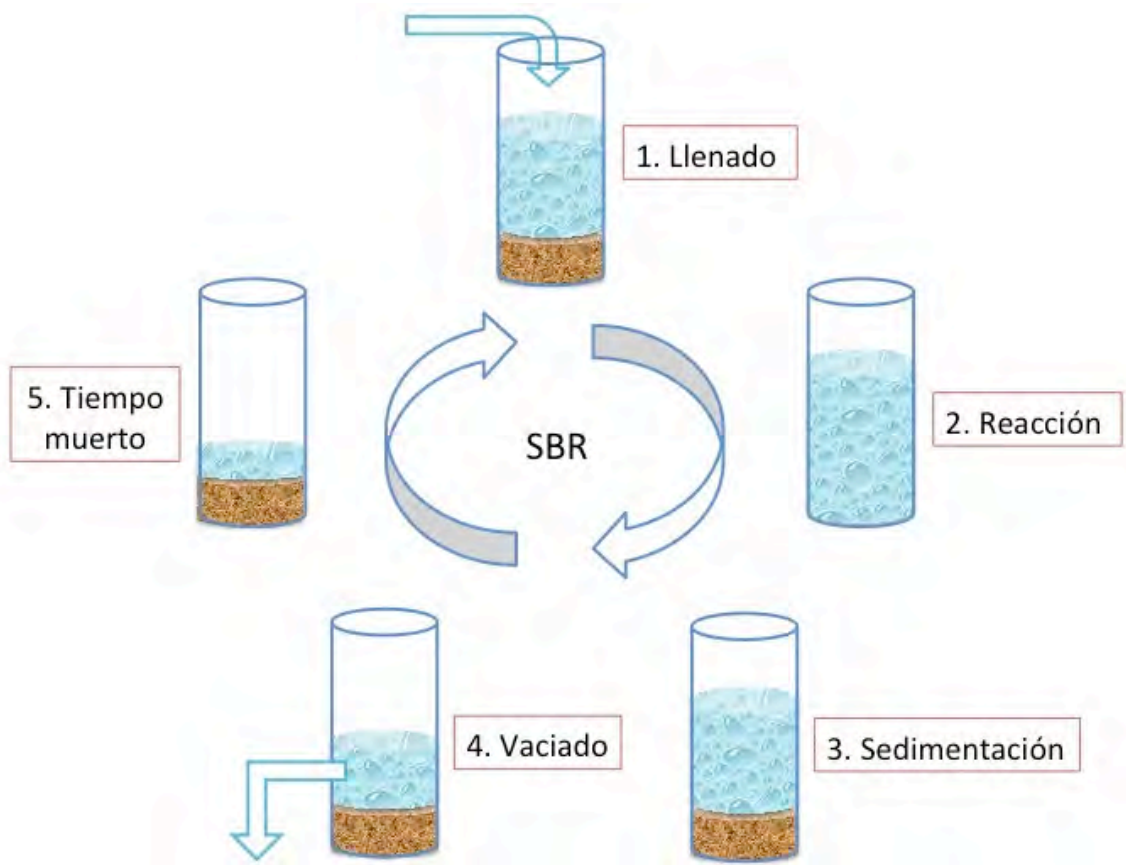


Figura 3.1 Etapas de un ciclo de operación de un SBR.

Por su configuración y características los SBR presentan las siguientes ventajas y beneficios (Remtavares, 2006):

- Bajo requerimiento de espacio, debido a que se requiere un solo tanque para realizar todo el proceso.
- Menor costo que los sistemas convencionales de tratamiento biológico, como consecuencia de la menor necesidad de terreno y de la simplicidad de los equipos.
- Mejor control del crecimiento de organismos filamentosos y de problemas de decantación.
- Permite eliminación de nutrientes. Los sistemas SBR pueden ser utilizados para realizar un proceso completo de nitrificación–desnitrificación, así como para la eliminación de

fósforo. Estos dos parámetros son los que suelen dar más problemas cuando se trabaja con tecnologías convencionales.

- Gran flexibilidad de funcionamiento en función de la duración de los ciclos y del modo de operar.
- Fácil reconocimiento y corrección de los problemas de decantación.
- Versatilidad para trabajar con fluctuaciones de caudal y de concentración de materia orgánica.
- Capacidad para la adaptación de los microorganismos a efluentes con elevado contenido en sales.

### **3.7 Líquidos iónicos**

Los líquidos iónicos se pueden definir como sales cuya temperatura de fusión está por debajo de la temperatura de ebullición del agua. Realmente la mayoría de los líquidos iónicos que aparecen en la literatura son líquidos a temperatura ambiente. Respecto a su composición química puede afirmarse, de forma general, que están compuestos por un catión orgánico, siendo los más comunes los de N,N-dialquilimidazolio, N-alquilpiridinio, tetraalquilamonio, tetraalquifosfonio, y un anión poliatómico, entre los que destacan el hexafluorofosfato, tetrafluoroborato, bistriflimida, trifluoroacetato y triflato (figura 3.2). Dado que se siguen sintetizando aniones y cationes que potencialmente pueden constituir un líquido iónico, pueden formularse un extenso número de líquidos iónicos diferentes, con propiedades muy distintas, que pueden ser usados en aplicaciones concretas (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).

La reputación de estos disolventes químicos como "amigables con el ambiente", se basa principalmente en su presión de vapor insignificante. Sin embargo, la solubilidad de los LIs en el agua y su toxicidad para los organismos acuáticos destacan una verdadera causa de preocupación. El conocimiento del comportamiento de líquidos iónicos en el medio ambiente terrestre, que incluye la degradación microbiana, adsorción y desorción, es igualmente importante, ya que tanto el suelo y el medio acuático son posibles receptores de la contaminación (Pham *et al.*, 2010).

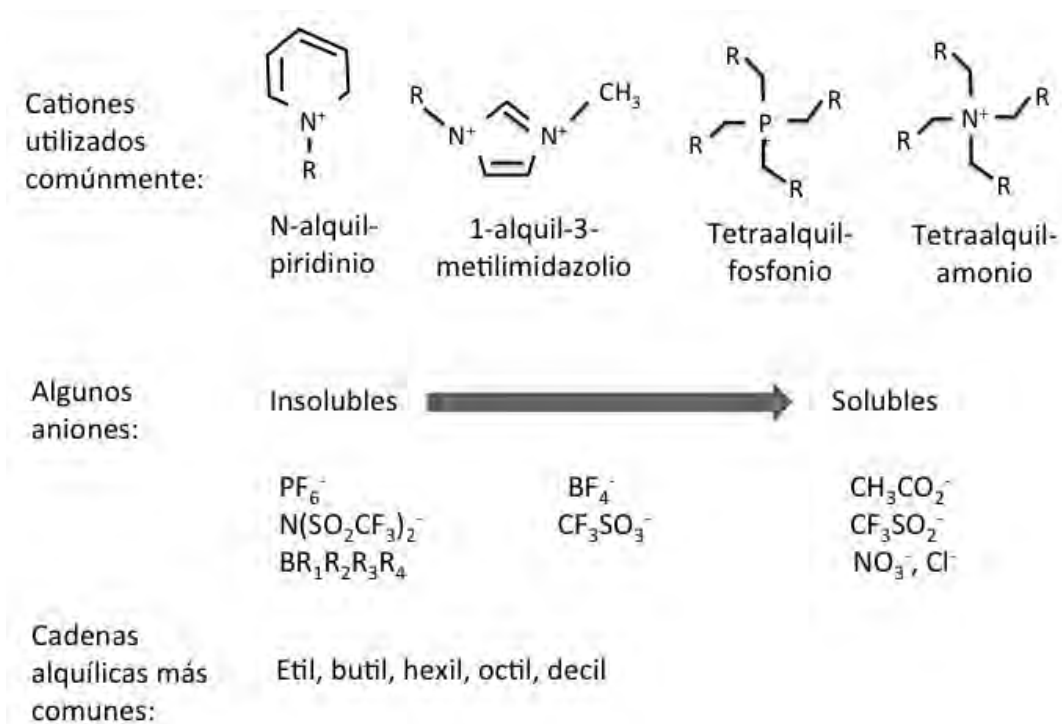


Figura 3.2 Principales cationes y aniones utilizados en la síntesis de líquidos iónicos.

### 3.7.1 Propiedades fisicoquímicas de los líquidos iónicos

- Los líquidos iónicos presentan una presión de vapor muy baja ó prácticamente indetectable. Esta propiedad permite su fácil manejo al no evaporarse.
- Gran estabilidad térmica. La temperatura de descomposición térmica de los líquidos iónicos se encuentra normalmente entre 300 y 400 °C.
- Alta estabilidad química. Son compuestos no inflamables y químicamente inertes.
- Buenas propiedades electro-químicas, entre las que destacan su gran estabilidad a la oxidación/reducción, resistiendo un amplio rango de potenciales, y su buena conductividad eléctrica.
- Solvatan un amplio número de especies, tanto orgánicas, inorgánicas, como compuestos organometálicos y gases como el H<sub>2</sub>, CO y O<sub>2</sub>.
- Densidad superior a la del agua. Los valores de densidad varían entre 1.12 g/cm<sup>3</sup> y 2.24 g/cm<sup>3</sup>.
- Viscosidad mayor que la de los disolventes moleculares convencionales, comprendida entre 10-500 cP (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).

### 3.7.2 Aplicaciones de los líquidos iónicos

Los líquidos iónicos se han empleado en varias aplicaciones en las que destacan:

- Disolventes en reacciones químicas. Éste es el uso que mayoritariamente se le ha dado a los líquidos iónicos. Así se han utilizado principalmente en reacciones de hidrogenación, hidroformilación y oxidación (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Disolventes en reacciones biocatalíticas. Con la intención de mejorar la velocidad de reacción de los procesos catalíticos en medios orgánicos, muchos líquidos iónicos están apareciendo como los sustitutos más adecuados a los disolventes orgánicos, al aumentar la velocidad de las reacciones, no causar problemas de desactivación enzimática y evitar los efectos medioambientales derivados de la alta volatilidad de éstos últimos (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Líquidos iónicos como catalizadores. Los líquidos iónicos no sólo pueden actuar como medios de reacción, sino también como catalizadores. Entre éstos se encuentran los líquidos iónicos basados en aniones cloroaluminatos ( $[AlCl_4^-]$ ,  $[AlCl_7^-]$ ), los cuales son ácidos fuertes de Lewis, por lo que pueden ser utilizados como alternativa a los catalizadores ácidos de Lewis convencionales (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Electrolitos en las baterías recargables de litio. Las conductividades obtenidas en éstas pueden ser cinco veces más altas que las obtenidas mediante las combinaciones de sales y disolventes no acuosos (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Conductores inertes en células solares. El uso de líquidos iónicos como electrolitos en estos sistemas está basado en la resistencia a la oxidación/reducción, elevada conductividad, alta estabilidad térmica, así como en la excelente resistencia a la oxidación causada por la excitación ultravioleta del soporte semiconductor de  $TiO_2$  (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Como lubricantes. Esta aplicación está basada en alta estabilidad térmica que presentan los líquidos iónicos (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).
- Los líquidos iónicos se han utilizado como agentes de extracción para la separación selectiva de hidrocarburos aromáticos y alifáticos, así como para la recuperación de metales pesados como el mercurio (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).

- Co-catalizador. Uno de los iones del líquido iónico puede actuar como un activador del catalizador, o co-catalizador para una reacción. El cloroaluminato (III) que es un derivado de líquidos iónicos ha sido el foco principal de atención en esta área (Welton, 2012).

### 3.7.3 Toxicidad de los líquidos iónicos

Se ha reportado que algunos LIs que tienen cadenas alquilo largas, son altamente tóxicos debido a su carácter lipofílico, mientras LIs con una cadena alquílica más corta son más seguros con respecto a la ecotoxicidad, pero suponen un mayor riesgo de persistencia y movilidad debido a su falta de biodegradabilidad (Matzke *et al.*, 2009; Mrozik *et al.*, 2012; Ranke *et al.*, 2007; Stepnowski *et al.*, 2007; Stolte *et al.*, 2008).

En la **tabla 3.1**, se muestra la ecotoxicidad de algunos líquidos iónicos imidazolio con distintos aniones y en la **tabla 3.2** la toxicidad aguda para otros productos químicos, incluyendo LI imidazolio y en especial el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio para tener punto de comparación.

Tabla 3.1 Ecotoxicidad del líquido iónico 1-alquil-3-metilimidazolio hacia *D. magna* (Zhao *et al.*, 2007).

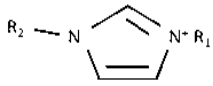
Catión	R1	R2	Anión	LC <sub>50</sub> (mg/L)
	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	CH <sub>3</sub>	PF <sub>6</sub> <sup>-</sup>	19.9
	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl <sup>-</sup>	14.8
	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	CH <sub>3</sub>	Br <sup>-</sup>	8.03
	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	CH <sub>3</sub>	BF <sub>4</sub> <sup>-</sup>	10.68

Tabla 3.2 Toxicidad aguda (48-h LC<sub>50</sub>) para *Daphnia magna*. Líquidos iónicos y productos químicos comunes que se utilizan en la fabricación de productos y desinfección.

Nombre del químico	<i>D. magna</i> LC <sub>50</sub> (mg/L)	LD <sub>50</sub> oral en rata	Referencia
<b>Cloro</b>	0.12-0.15	-	(Kaniowska-Prus, 1982)
<b>Amonio (NH<sub>3</sub>)</b>	2.9-6.93	-	(Mount y Norberg, 1984)
<b>Líquidos iónicos imidazolio</b>	8.03-19.91	-	(Bernot <i>et al.</i> , 2005)
<b>BmimCl</b>	15	550*	(Bernot <i>et al.</i> , 2005)
<b>Fenol</b>	10-17	-	(Cowgill y Milazzo, 1991)
<b>Triclorometano</b>	29	-	(LeBlanc, 1980)
<b>Tetraclorometano</b>	35	-	(LeBlanc, 1980)
<b>Benzeno</b>	356-620	-	(Canton y Adema, 1978)
<b>Metanol</b>	3289	13 000	(Tong, Huailan y Hongjun, 1996)
<b>Acetonitrilo</b>	3600	-	(Guilhermino <i>et al.</i> , 2000)
<b>Etanol</b>	5680	13 700	(Guilhermino <i>et al.</i> , 2000)

\*(Landry *et al.*, 2005)

En general, entre más bajo sea el valor LD<sub>50</sub>, más tóxico es el compuesto; según la escala de Hodge y Sterner el BmimCl es moderadamente tóxico (Tabla 3.3).

Tabla 3.3 Clase de toxicidad: Escala Hodge y Sterner (Hodge y Sterner, 2005).

Clasificación de toxicidad	Comúnmente usado	LD <sub>50</sub> oral en rata (mg/kg)	Probable dosis letal para el hombre
1	Extremadamente tóxico	1 o menos	Una gota
2	Altamente tóxico	1-50	4 mL
3	Moderadamente tóxico	50-500	30 mL
4	Ligeramente tóxico	500-5000	600 mL
5	Prácticamente no-tóxico	5000-15000	1 L
6	Relativamente nocivo	15000 o más	1 L

### 3.8 Biodegradación de líquidos iónicos

#### 3.8.1 Biodegradación aerobia

La biodegradación de LIs ha sido poco estudiada. Uno de los trabajos realizados con lodos activados, es el de Liwarska-Bizukojc y Gendaszewska (2013), quienes estudiaron la biodegradación de tres líquidos iónicos imidazolio: bromuro de 1-etil-3-metilimidazolio (C2mimBr), el bromuro de 1-hexil-3-metilimidazolio (C6mimBr) y el bromuro de 1-decil-3-metilimidazolio (C10mimBr). La prueba duró 28 días, de acuerdo a lo establecido al protocolo de la OECD 301D, reportaron una degradación entre 7.7% y 26.4% (figura 3.3), concluyendo que la degradación aumenta proporcionalmente a la longitud de la cadena alquílica. Este efecto también había sido reportado en otros estudios para otros LIs (Docherty *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2005; Stolte *et al.*, 2008).

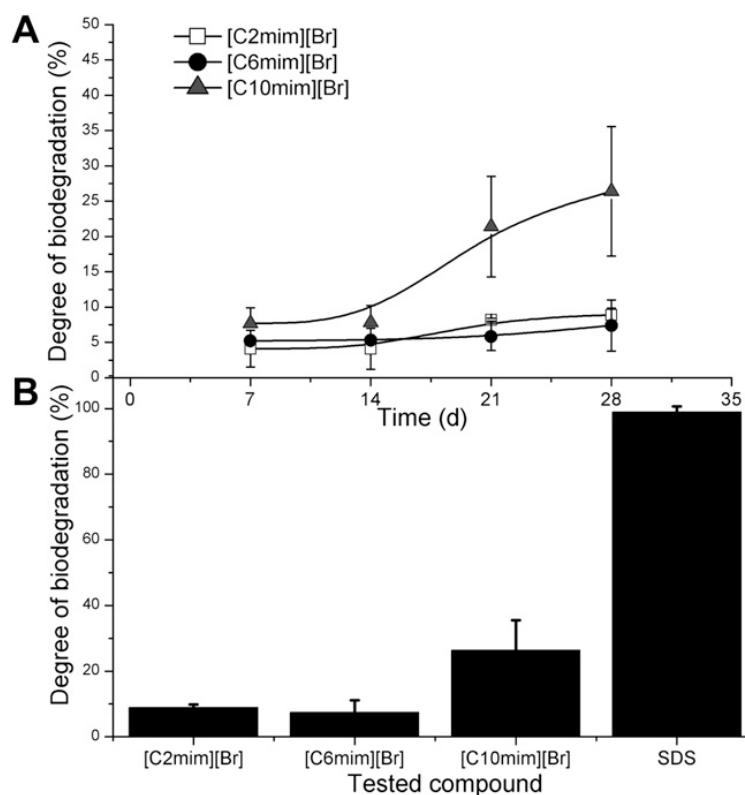


Figura 3.3 Biodegradación de tres líquidos iónicos imidazolio (Liwarska-Bizukojc y Gendaszewska, 2013). Notas: Degree of biodegradation (grado de biodegradación); tested compound (compuesto analizado).

### 3.8.2 Biodegradación en suelo

Modelli y colaboradores (2008) realizaron una prueba con cuatro líquidos iónicos imidazolio (figura 3.4) en suelo. Esta prueba duró 6 meses ya que la degradación suele ser más lenta comparada con el tratamiento por lodos activados. En este trabajo lograron  $52.1 \pm 6.6\%$  de degradación para el tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio ( $\text{BmimBF}_4$ ),  $17.0 \pm 4.2\%$  para la dicianamida de 1-butil-3-metilimidazolio ( $\text{BmimN}(\text{CN})_2$ ), para los otros dos compuestos no se detectó una degradación significativa (Modelli *et al.*, 2008).

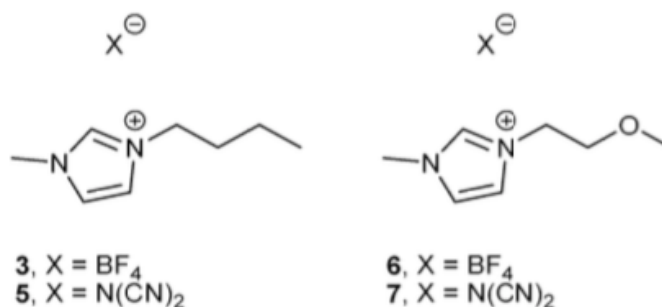


Figura 3.4 Líquidos iónicos imidazolio examinados por Moelli *et al.*, 2008.

### 3.8.3 Biodegradación anaerobia bajo condiciones desnitrificantes

Un estudio en un sistema desnitrificante evaluó la biodegradabilidad anaerobia primaria de nueve diferentes cationes LI imidazolio, piridinio y dimetilaminopiridinio. El monitoreo de compuestos se realizó a través de HPLC-UV en un período de tiempo de 11 meses. Sólo para el 1-(8-hidroxiethyl)-3-metilimidazolio catiónico (IM18OH), se pudo observar una degradación y varios metabolitos se identificaron utilizando LC-MS. Los resultados demostraron que la biodegradabilidad de los líquidos iónicos ensayados parece ser aún peor en condiciones desnitrificantes en comparación con los aerobios. Sin embargo, el trabajo tuvo como objetivo llenar el vacío relativo a la biodegradabilidad de los líquidos iónicos en las plantas de tratamiento de aguas residuales y se da una primera idea de la degradación biológica de líquidos iónicos en ausencia de oxígeno, y proporciona más datos para una evaluación de riesgo apropiadas (Neumann *et al.*, 2010).



#### **3.8.4 Biodegradación con cepas puras**

Zhang y colaboradores (2010) investigaron la biodegradación de los siguientes líquidos iónicos: N-metilpiridinio tetrafluoroborato, N-etil trifluoroacetato de piridinio, y 1-butil-3-metilimidazolio hexafluorofosfato, por una bacteria aislada del suelo por una técnica de enriquecimiento. La bacteria identificada como *Corynebacterium sp.* degrada el catión N-etilpiridinio en los primeros dos compuestos cuando está presente como su única fuente de carbono y nitrógeno, sin efectos evidentes del anión; sin embargo, el hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio no se metaboliza (Zhang *et al.*, 2010).

## **4. ANTECEDENTES**

### **4.1 Biodegradación de líquidos iónicos imidazolio**

En la última década las sales de imidazolio, fueron los líquidos iónicos más estudiados. Este es el resultado de la capacidad de estas sales para ser un excelente disolvente para una amplia gama de materiales inorgánicos y orgánicos. Pueden llegar a ser contaminantes persistentes en las aguas residuales y llevar, como consecuencia la contaminación del agua superficial (Romero *et al.*, 2008). Por lo tanto, varias publicaciones se refieren al problema de la biodegradabilidad y toxicidad de los líquidos iónicos. La biodegradación es el método más eficaz para degradar contaminantes orgánicos en los ambientes acuáticos o diferentes. Una de las poblaciones microbianas utilizadas con más frecuencia son los microorganismos de lodos activados (Pham *et al.*, 2010).

Una de las primeras pruebas de biodegradación con la participación de sales basadas en imidazolio se realizó por Garcia *et al.* (2005). Se llevaron a cabo sus estudios de acuerdo con las directrices de la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), la cual los clasifica como no fácilmente biodegradables. Ellos encontraron que la biodegradabilidad de los líquidos iónicos examinados aumentó con la elongación de la longitud de cadena de alquilo (Garcia *et al.*, 2005). Stolte y colaboradores observaron que la comunidad de lodos activados no fue capaz de metabolizar la mayoría de los líquidos iónicos de imidazolio, en particular, las sales de imidazolio con cadenas laterales de alquilo corto (Stolte *et al.*, 2008).

Neumann y colaboradores (2014), utilizando lodos activados tomados de una planta de tratamiento de agua residual municipal ubicada en Delmenhorst, Alemania, no obtuvieron ningún tipo de degradación para el hexafluorofosfato de 1-propil-3metilimidazolio (Neumann *et al.*, 2014). En diferentes trabajos se habla de la baja o nula biodegradabilidad de los líquidos iónicos imidazolio, lo que supone un reto.

### **4.2 Biodegradación del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio (BmimCl)**

Tal como fue mencionado, el anillo de imidazol es típicamente recalcitrante y sigue siendo un obstáculo para lograr la biodegradación de líquidos iónicos a base de imidazolio (Coleman y Gathergood, 2010; Docherty *et al.*, 2007; Fabianska *et al.*, 2012; Gathergood *et al.*, 2004; Zgajnar *et al.*, 2014).

Docherty y colaboradores (2015), utilizando microorganismos de dos distintas plantas de tratamiento de agua residual municipal ubicadas en las ciudades de Kalamazoo (KZ), Michigan, USA y South Bend (SB), Indiana, Estados Unidos, no encontraron biodegradación significativa del BmimCl. La biodegradabilidad se evaluó midiendo la absorbancia del anillo catiónico a una longitud de onda de 210 nm, longitud a la cual se detecta el anillo imidazolio (figura 4.1); sin embargo utilizando un consorcio enriquecido (haciendo crecer los microorganismos aún presentes a partir del día 28 de la prueba, pensando en que éstos son capaces de degradar al LI), demostraron que es posible lograr una degradación primaria del BmimCl, en un 93% (haciendo el seguimiento por carbono orgánico disuelto) en un periodo de 38 días (figura 4.2) (Docherty *et al.*, 2015).

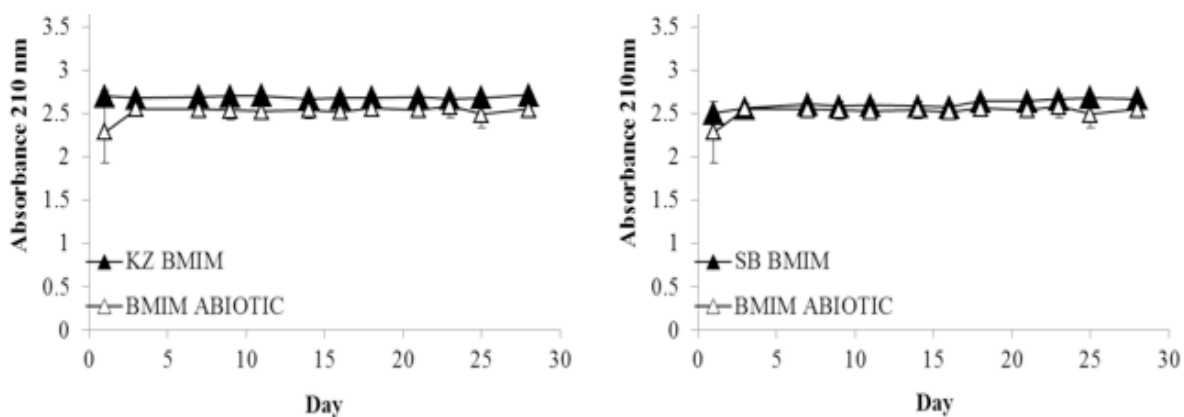


Figura 4.1 Ensayo de biodegradabilidad utilizando microorganismos de las PTARs ubicadas en Kalamazzo (KZ) y South Bend (SB) (Docherty *et al.*, 2015).

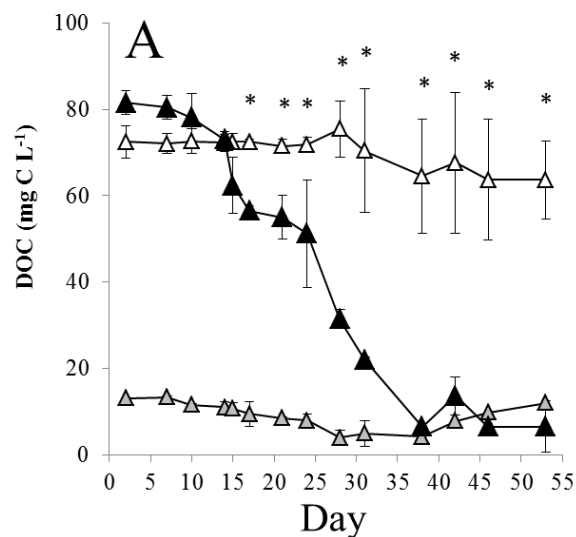


Figura 4.2 Biodegradabilidad del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio, evaluada a través de la medición del carbono orgánico disuelto (COD). Triángulos en negro indican la degradación del líquido iónico (BmimCl), los blancos el control abiótico y los grises el control biótico (Docherty *et al.*, 2015).

Por otro lado, Abrusci *et al.* (2011) realizaron ensayos de degradación de BmimCl utilizando una cepa pura *Sphingomonas Paucimobillis*, reportando una biodegradación cercana al 40% del líquido iónico en 28 días, el cual se puede observar en la figura 4.3.

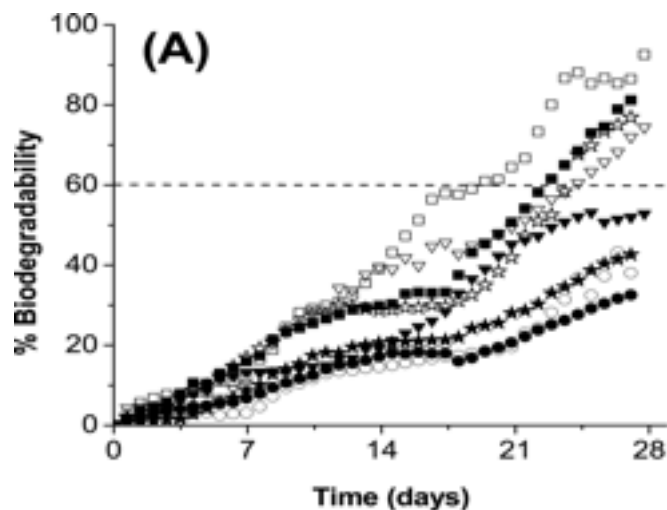


Figura 4.3 Biodegradación con *S. Paucimobillis* de ocho líquidos iónicos reportados como no fácilmente biodegradables, el BmimCl es el indicado con un círculo (O) (Abrusci *et al.*, 2011).

### **4.3 Ruta de degradación (Citocromo P450)**

En su evolución, los organismos vivos están sometidos a distintas presiones, que pueden ser de tipo ambientales, biológicas o químicas. Estas presiones ambientales pueden resultar en la aclimatación de los microorganismos o en el desplazamiento de las poblaciones que no pueden realizar una adaptación a estas condiciones. Uno de los detonantes para la inhibición de microorganismos es la presencia de compuestos químicos tóxicos. En este sentido, hay una gran variedad de compuestos que pueden inhibir el metabolismo microbiano, como compuestos sintéticos (cosméticos, aditivos alimentarios, plaguicidas organofosforados, residuales industriales, productos de uso domésticos, derivados de la combustión de carburantes, etc.), productos tóxicos naturales (micotoxinas y alcaloides), contaminantes ambientales y fármacos. Es aquí, cuando entra en función el citocromo P450, que es un gran complejo enzimático no integrado en las vías del metabolismo del organismo y cuyos sustratos son fundamentalmente los xenobióticos. Su función es transformar sus sustratos en moléculas más polares e hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables (Rodríguez-González y Rodeiro-Guerra, 2014).

Las enzimas del citocromo P450 participan en el metabolismo de compuestos xenobióticos, en funciones biosintéticas endógenas por reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis. Se ha reportado que estas enzimas se encuentran en todos los reinos biológicos. Actualmente se conocen más de 18 000 genes del citocromo P450 organizados en familias y subfamilias (según el porcentaje de identidad de secuencia de sus aminoácidos), y este número aumenta cada año con el hallazgo de nuevas secuencias del genoma. Estas enzimas son hemoproteínas monooxidasas del sistema oxidasa que han demostrado tener la capacidad de catalizar una gran diversidad de reacciones. Estas enzimas están localizadas en las membranas del retículo endoplasmático liso y mitocondrial interna. Tienen una amplia especificidad de sustrato, caracterizándolas como uno de los catalizadores más diversos y versátiles conocidos y juega un papel crítico en la bioquímica, farmacología y toxicología (Rodríguez-González y Rodeiro-Guerra, 2014).

En las bacterias, los citocromos no tienen una asociación a la membrana y se solubilizan fácilmente (Gallego-Fernández *et al.*, 2011).

### 4.3.1 Mecanismo de acción

Con el fin de eliminar los xenobióticos, en el organismo se producen reacciones de biotransformación (reacciones oxidativas, de hidrólisis y de conjugación), encaminadas a incrementar la hidrofilia de estas moléculas para facilitar su rápida excreción. Estas reacciones se pueden diferenciar en reacciones de fase I y fase II. En las reacciones de fase I se produce una modificación del xenobiótico por oxidación, reducción o hidrólisis, con la participación de diversas enzimas (figura 4.4) dando lugar a la aparición de grupos polares en la molécula, lo que se traduce en un aumento de su hidrosolubilidad y por tanto una mayor facilidad para su excreción. En la fase II, el sustrato, que puede tratarse tanto de un xenobiótico como de un metabolito proveniente de la reacción de la fase I, se conjuga con una sustancia endógena, lo que facilita su transporte en el organismo y su posterior excreción (Gallego-Fernández *et al.*, 2011).

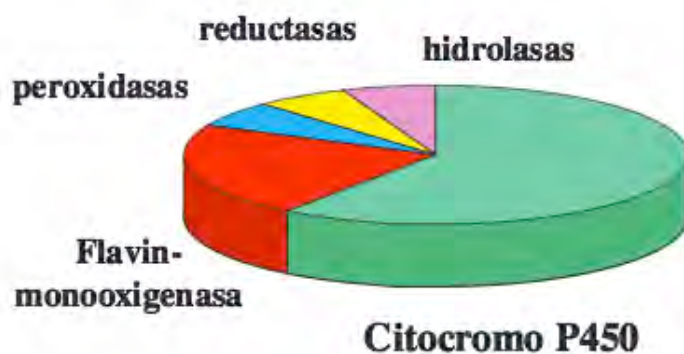


Figura 4.4 Participación relativa de diferentes enzimas de la fase I en el metabolismo de xenobióticos (Donato-Martín, 2004).

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Operación del biorreactor

Se empleó un biorreactor discontinuo secuencial tubular (figura 5.1) con doble pared, con capacidad de 6 L y un volumen útil de 4 L, con un volumen de intercambio del 50% (2 L); este fue inoculado con 2000 mg/L de SSV provenientes de una planta de tratamiento de agua residual municipal, ubicada en la localidad de Santa Rosa Jauguero, Querétaro, Qro.

La alimentación de biorreactor consistió en 50 mg/L de BmimCl (sustrato que se desea degradar), 1 g/L de acetato de sodio como cosustrato. Para asegurar el suministro de los nutrientes y micronutrientes necesarios para la actividad se agregaron los siguientes nutrientes de acuerdo con la modificación empleada por Moreno y Buitrón (2004), en base a lo recomendado por AFNOR (AFNOR, 1985). Por cada litro de agua sintética se adició lo siguiente: 8.5 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 10.87 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 25.15 mg  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 2.5 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 8.67 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 36.4 mg  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.25 mg  $\text{Fe}_2\text{Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.036 mg  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.057 mg  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0.02 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.0347 mg  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ , 0.055 mL EDTA y 0.054 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

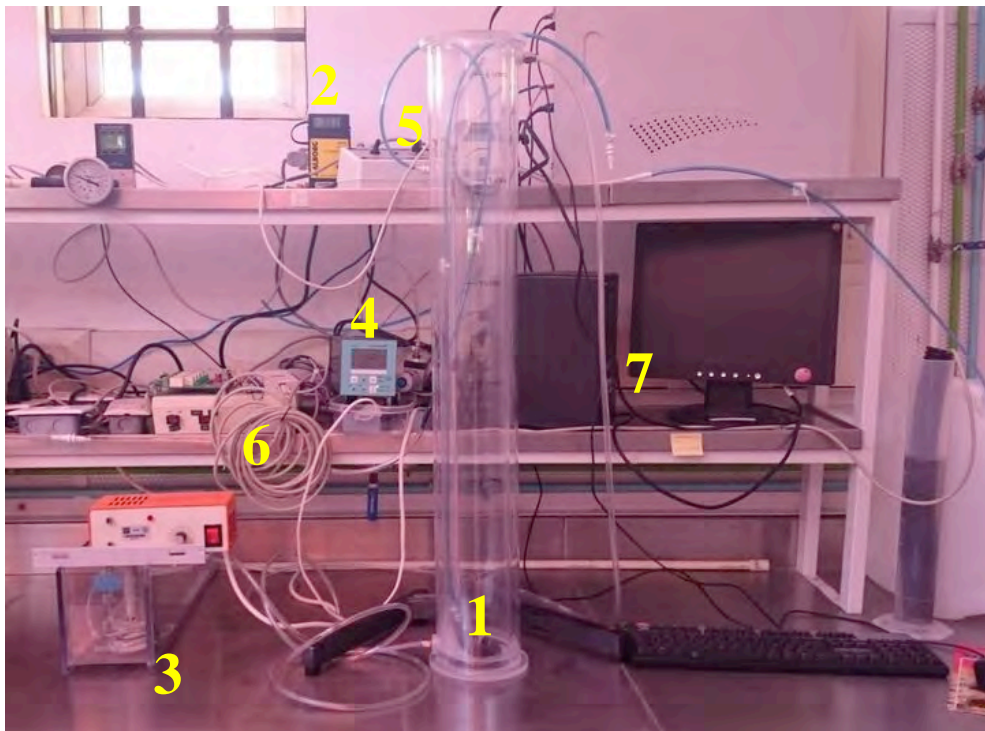


Figura 5.1 Reactor piloto (SBR). Nota: 1) Reactor, 2) Controlador de flujo másico de aire, 3) Calentador para control de temperatura del reactor, 4) Display de los sensores de temperatura y OD, 5) Bombas peristálticas, 6) Tarjeta de adquisición de datos, 7) Computadora personal.

El flujo de aire empleado fue de 1 L/min, regulado por un filtro-regulador LFR serie D marca FESTO y un controlador de flujo másico Alborg, dicho flujo estuvo dirigido hacia un difusor tubular de burbuja fina colocado en la parte inferior del reactor. El oxígeno disuelto (OD) y la temperatura se midieron con un sensor en línea Endress Hauser COS41. La temperatura estuvo controlada a  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  dentro del reactor a través de la recirculación de agua con un calentador (debido a que se consideró operar el sistema a temperatura óptima para la actividad de microorganismos mesofílicos). La alimentación y vaciado del reactor se realizaron por medio de bombas peristálticas (Masterflex modelo 7518-00 y Masterflex 77200-62, respectivamente). El control de las bombas peristálticas de entrada y salida, así como el registro del OD y la temperatura se realizaron por medio de una computadora personal y una tarjeta de adquisición de datos de acuerdo a Moreno y Buitrón (2004).

### **5.1.1 Evaluación de bioaumentación**

Después de operar el reactor durante 102 días, se inoculó un segundo reactor con 1 gSSV/L de biomasa proveniente de la planta de tratamiento de Santa Rosa Jauregui y 1 gSSV/L del licor mezclado del biorreactor original como fuente de microorganismos para evaluar la operación de un sistema bioaumentado. Por lo anterior, la nomenclatura empleada en esta tesis para cada reactor será: Reactor I (Reactor inoculado con lodos activados) y Reactor 2 (Reactor inoculado con lodos activados y microorganismos del reactor I). Se tomaron muestras durante la operación de ambos reactores cada tercer día para realizar los análisis fisicoquímicos y cromatográficos correspondientes.

## **5.2 Técnicas analíticas**

### **5.2.1 Parámetros fisicoquímicos**

Se determinaron los Sólidos suspendidos totales y volátiles (SST y SSV) por gravimetría de acuerdo a los métodos estándar (APHA, 1995). El Índice volumétrico de lodos (IVL) y la velocidad de sedimentación ( $V_s$ ) se determinaron por medio de un muestreo de 1 litro del licor mezclado en el reactor de acuerdo a los métodos estándar (APHA, 1995).



### 5.2.2 Respirimetría

Con el fin de conocer la evolución de la actividad respirométrica, la tasa específica de consumo de oxígeno (TECO) fue medida por medio de un mini reactor de 160 mL al cual se le agregaron 10 mL de los microorganismos del SBR (biomasa), estos se tomaron justo después de que la degradación llegara a su fin. Una solución saturada de oxígeno con nutrientes y sustrato (BmimCl) fue añadida y se monitoreo la cantidad de oxígeno disuelto en el reactor durante 15 minutos. La prueba se realizó controlando la temperatura a 20°C. La respiración endógena fue medida utilizando solo nutrientes. La TECO fue determinada por medio de la pendiente obtenida al graficar la concentración de oxígeno en función del tiempo y dividida por la concentración de SSV. La TECO reportada representa el consumo exógeno debido a la degradación del sustrato y fue calculada con la ecuación 5.1:

$$TECO = TECO_T - TECO_{end}$$

Ecuación 5.1

donde: TECO es la tasa específica de consumo de oxígeno exógena,  $TECO_T$  es la tasa específica de consumo total (evaluada en la respirometría con sustrato) y  $TECO_{end}$  es la tasa específica de consumo endógeno (evaluada en la respirometría sin sustrato).

### 5.2.5 Determinación del LI por HPLC

Para dar seguimiento al BmimCl se empleó la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés *High-Performance Liquid Chromatography*) en un equipo Hewlett Packard, (USA) Series 1100 (figura 5.2) utilizando una columna Phenomenex Luna® 5µm C18 100 Å. Se hizo el análisis tanto en un medio sintético, como en un agua residual conteniendo al LI. Se empleo una fase móvil de 90% de buffer de fosfatos ( $Na_2HPO_4/H_3PO_4$ ) y 10% de acetonitrilo, operando el sistema a un flujo de 0.8 mL/min, inyectando 10 µL por cada muestra, la cual fue identificada mediante un detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 210 nm.



Figura 5.2 Cromatógrafo de líquidos iónicos de alta resolución (HPLC).

### **5.2.6 Identificación de metabolitos por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas GC-MS**

Al final de la operación de los reactores, se realizó un análisis de metabolitos por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (GC-MS) Agilent Technologies 5975, con una columna HP-5MS, 30m x 250  $\mu$ m x 0.25  $\mu$ m. El horno se trabajó a una temperatura inicial de 35 °C (3 minutos), 150 °C (5 °C/min) y una temperatura final de 285 °C (rampa de 10 °C/min), la temperatura de inyector fue de 250 °C; se hizo un barrido de 50 a 550 m/z y se inyectó 1  $\mu$ L de muestra.



Figura 5.3 Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas (GC-MS), empleado en este estudio.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Biodegradación del BmimCl

Se operó el reactor I durante un periodo de 207 días (figura 6.1) en el cual se tuvieron 3 ciclos, el primer ciclo tuvo una duración de 30 días, el segundo ciclo de 70 días y el tercer ciclo de 106 días; este aumento de retención en cada ciclo se realizó con el fin de que existiera suficiente tiempo para que se observara la degradación del líquido iónico.

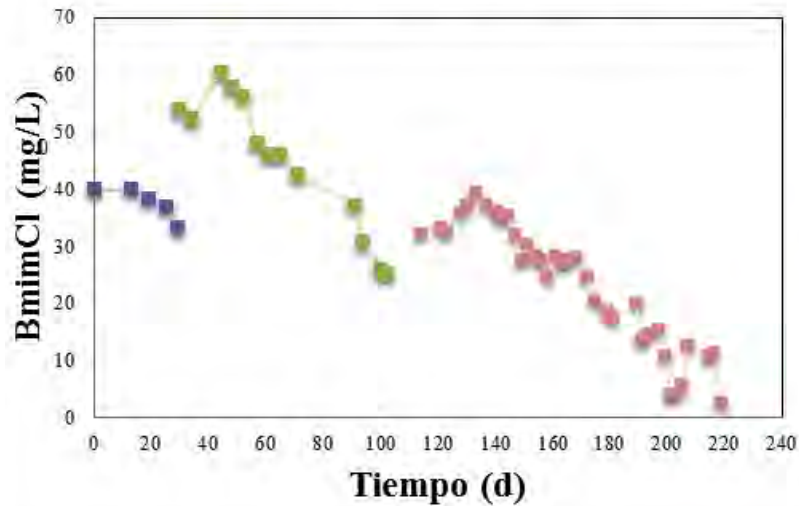


Figura 6.1 Degradación del líquido iónico (BmimCl) en el reactor I, durante los tres ciclos de operación.

El primer ciclo concluyó en el día 30 de operación para poder comparar con los resultados de la literatura. Stolte et al. (2008) reportaron una biodegradación del 1.17% para el BmimCl en un periodo de 28 días con lodos activados (Stolte *et al.*, 2008), Abrusci et al., reportaron una degradación del 39% con una cepa pura de *S. Paucimobilis* (Abrusci *et al.*, 2011), mientras que en este trabajo en el primer ciclo se obtuvo un 16.2%, lo que se traduce en una velocidad específica de degradación ( $q$ ) de 0.17 mgBmimCl/gSSV/d. Para el ciclo 2 tuvimos un 53.6% de degradación (0.27 mgBmimCl/gSSV/d) y para el tercer ciclo un 91.1% de degradación del compuesto (0.21 mgBmimCl/gSSV/d); se tomó la decisión de operar un segundo reactor, el cual arrancó cuando el primer reactor (reactor I) tenía 102 días de operación; este segundo reactor (reactor II) fue inoculado con 1 g/L de SSV del reactor I y 1 g/L de SSV de microorganismos de la PTAR, como se había mencionado, con el fin de aumentar la tasa de

degradación debido a que habría microorganismos aclimatados al LI, en el primer ciclo de operación de este segundo reactor se logró un 60.7% de degradación, lo cual se traduce a una tasa de 0.08 mgBmimCl/gSSV/d y en el segundo ciclo un 43.6 %, lo cual da una tasa de degradación específica de 0.25 mgBmimCl/gSSV/d (figura 6.2). Lo anterior denota que la degradación es muy lenta y que en caso de que este compuesto llegue a una planta de tratamiento convencional, no se tendrá un suficiente tiempo de retención hidráulica para que llegue a ser eliminado eficientemente.

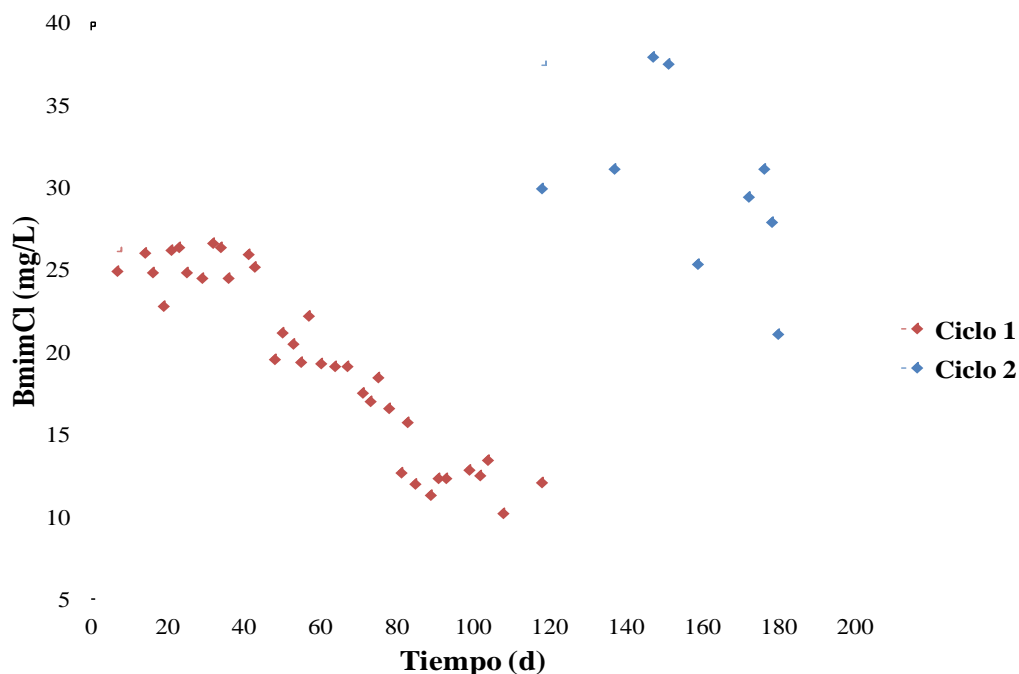


Figura 6.2 Degradación del líquido iónico (BmimCl) en el reactor II.

## 6.2 Actividad respirométrica

La figura 6.3 muestra la Tasa específica de consumo de oxígeno (TECO) para ambos reactores. Como se demostró en los resultados previamente mostrados, hubo un aumento en la tasa de biodegradación en el reactor I entre el segundo al tercer ciclo de operación, lo cual se relaciona a la baja actividad respirométrica (TECO). Sin embargo, al inicio del tercer (entre los días 120-130), la tasa específica de consumo de oxígeno sube a 4 mgO<sub>2</sub>/gSSV\*h que es el punto máximo al que llega, pudiéndose deber a que hay una menor concentración del LI (alrededor de 30 mg/L). Este fenómeno se observó también en el reactor II, en el cual hubo

una caída de actividad de los microorganismos a la mitad del ciclo (figura 6.3) y tuvo su punto máximo de TECO alrededor del día 120 (que corresponde al día 10 del reactor II) en donde hay biomasa nueva y la concentración del LI es relativamente baja ( $\approx 25 \text{ mgO}_2/\text{gSSV}\cdot\text{h}$ ).

Los resultados coinciden con los reportados por Diaz et al. (2016), quienes reportan que la exposición de licor mezcla de LI con el ion Cl no muestran efectos toxicos sobre los microorganismos, pero si hay una reducción en la TECO, lo cual indica la existencia de un efecto inhibitorio particular sobre la respiración de los microorganismos. Para el caso del Bmim-acetato, se ha observado que el perfil respirometrico presenta un pico a las 3 h debido a la activación de la actividad respiratoria del lodo activado y este aumento parece ser relacionado a la degradación del anión, el cual es degradado al inicio de la reacción (Diaz *et al.*, 2016). Sin embargo, una fracción refractaria del LI permanece prácticamente sin cambios (catión) hasta el final de la experimentación. Los resultados anteriores coinciden con el comportamiento mostrado por el BmimCl en nuestro estudio, donde la biotransformación del compuesto al principio del ciclo se puede relacionar a la degradación de un intermediario fácilmente biodegradable, quedando remanente un compuesto refractario (posiblemente el imidazolio).

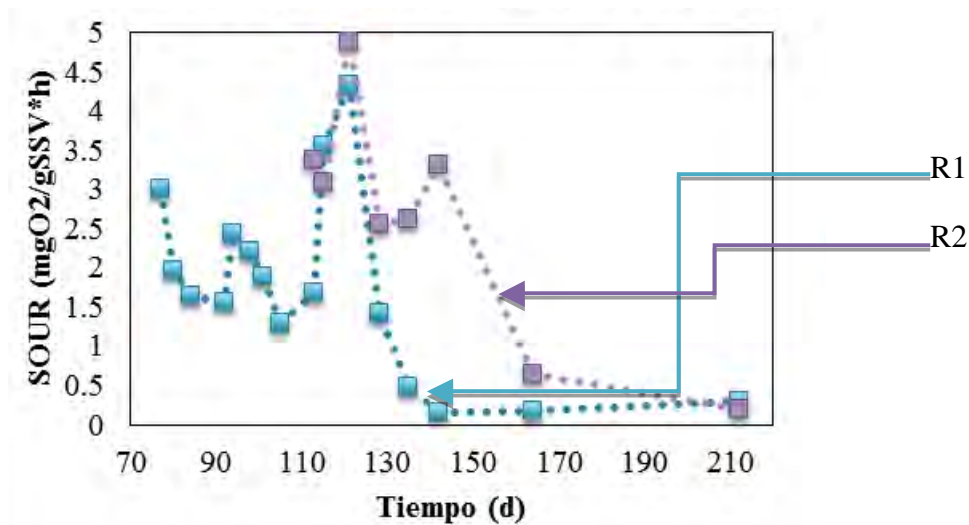


Figura 6.3 Tasa específica de consumo de oxígeno (TECO) para ambos reactores.

### 6.3 Biodegradación primaria (intermediarios)

Para conocer los posibles intermediarios en la degradación del BmimCl se realizó el análisis al final de la operación de cada reactor, haciendo una previa extracción del líquido iónico con diclorometano, para posteriormente ser analizadas en un GC-MS observando en ambos reactores la presencia del compuesto 1-butimidazolio a una relación de masa-carga ( $m/z$ ) de 124 (figura 6.4). La estructura del 1-butimidazolio se muestra en la la figura 6.5.

Pieczyńska et al. (2015) llevaron a cabo la transformación del BmimCl por medio de un sistema electroquímico, obteniendo también este intermediario. La figura 6.6 muestra los intermediarios del BmimCl formados por oxidación electroquímica, utilizando un ánodo de diamante con boro (BDD), identificados con GC-MS. Este resultado es interesante, ya que el 1-butimidazolio podría ser uno de los principales intermediarios no solo al aplicar métodos electroquímicos, sino también biológicos. A que a lo mejor de nuestro conocimiento no ha sido reportada la ruta de biodegradación para este líquido iónico en sistemas biológicos.

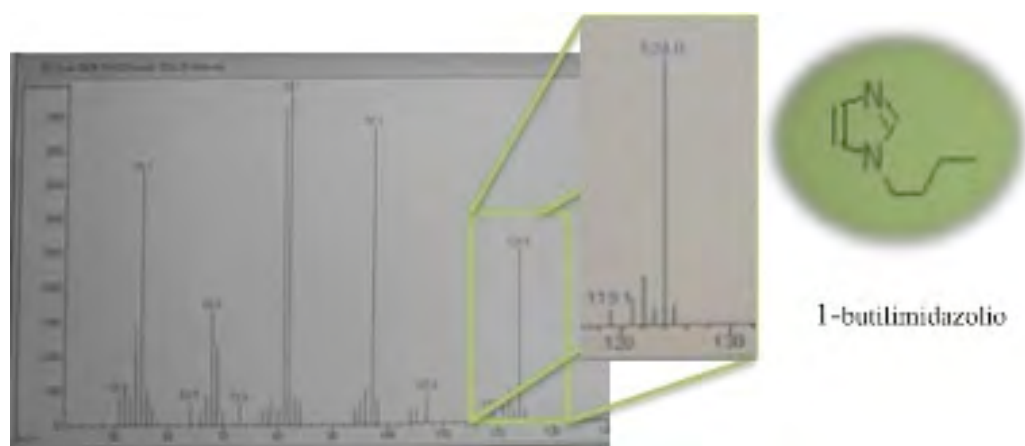


Figura 6.4 Cromatograma de GC-MS reactor I.

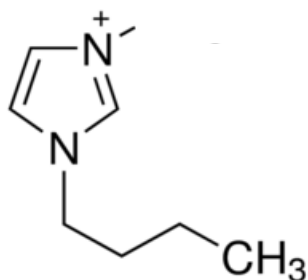


Figura 6.5 Estructura del 1-butil-imidazolium encontrada en el análisis de GC-MS.

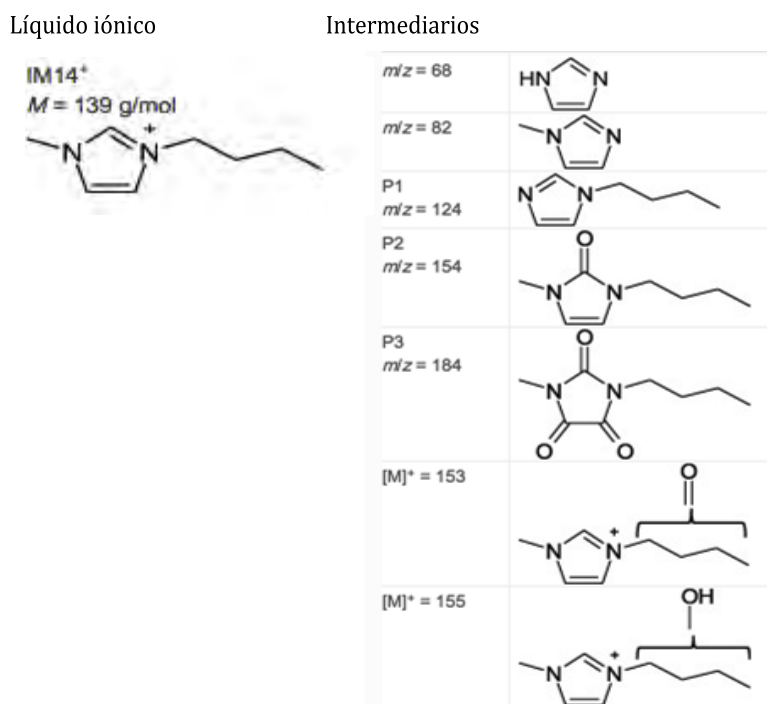


Figura 6.6 Intermediarios del BmimCl formados por oxidación electroquímica, utilizando un ánodo de diamante con boro (BDD), identificados con GC-MS.

Jastorff et al. (2003), propusieron una ruta metabólica teórica para el BmimCl, basado en la premisa de que el anillo imidazol es un sistema aromático deslocalizado con potencial aceptor de electrones. Los átomos de nitrógeno no son capaces de formar los enlaces de hidrógeno, haciendo que el sistema es muy rígido y estéricamente inflexible. A pesar de lo anterior, si la molécula del imidazolio llega al sistema del enzimas del citocromo P450 pueden ser oxidados en diferentes posiciones de las cadenas laterales de alquilo incrementando su biodisponibilidad y su degradación. El citocromo P450 es un complejo enzimático que no está integrado en las vías del metabolismo del microorganismo y cuyos sustratos son fundamentalmente compuestos xenobióticos. Su función es transformar estos sustratos en moléculas más polares e hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables (Rodríguez-González y Rodeiro-Guerra, 2014). Cabe señalar que esta ruta metabólica propuesta surgió con el apoyo del modelo matemático que engloba las relaciones estructura-actividad entre la estructura molecular y actividad biológica o físico-química de los productos químicos (Hulzebos *et al.*,



2001). Por lo tanto se aplicó este algoritmo, que toma en cuenta la información cualitativa y semicuantitativa que se desprende de cada estructura química.

De acuerdo a lo encontrado en el análisis de GC-MS, se obtuvo coincidencia con la ruta que predijeron Jastorff *et al.* (2003); por lo que podemos concluir la siguiente ruta de degradación (figura 6.7): La primer reacción es de oxidación, con la cual se formó el intermediario 1-butil-3-hidroximetilimidazolio, siguiendo de otra reacción oxidativa, dando lugar al 1-butil-3H-imidazolio más formaldehído que se obtiene por la oxidación catalítica del alcohol metílico y por último se genera el 1-butilimidazolio y el ácido fórmico derivado de la oxidación del formaldehído que finalmente tiene como producto final el CO<sub>2</sub>.

Los resultados obtenidos, demuestran que no existe una biodegradación última del BmimCl, sino una degradación primaria teniendo como subproducto el 1-butilimidazolio y el ácido fórmico. Lo anterior, demuestra que los microorganismos en ambos reactores no pudieron realizar la ruptura del anillo del imidazolio, con lo que solo realizaron la transformación del compuesto original. Debido a lo anterior, es necesario realizar más experimentos para determinar una estrategia efectiva para realizar la mineralización del LI.

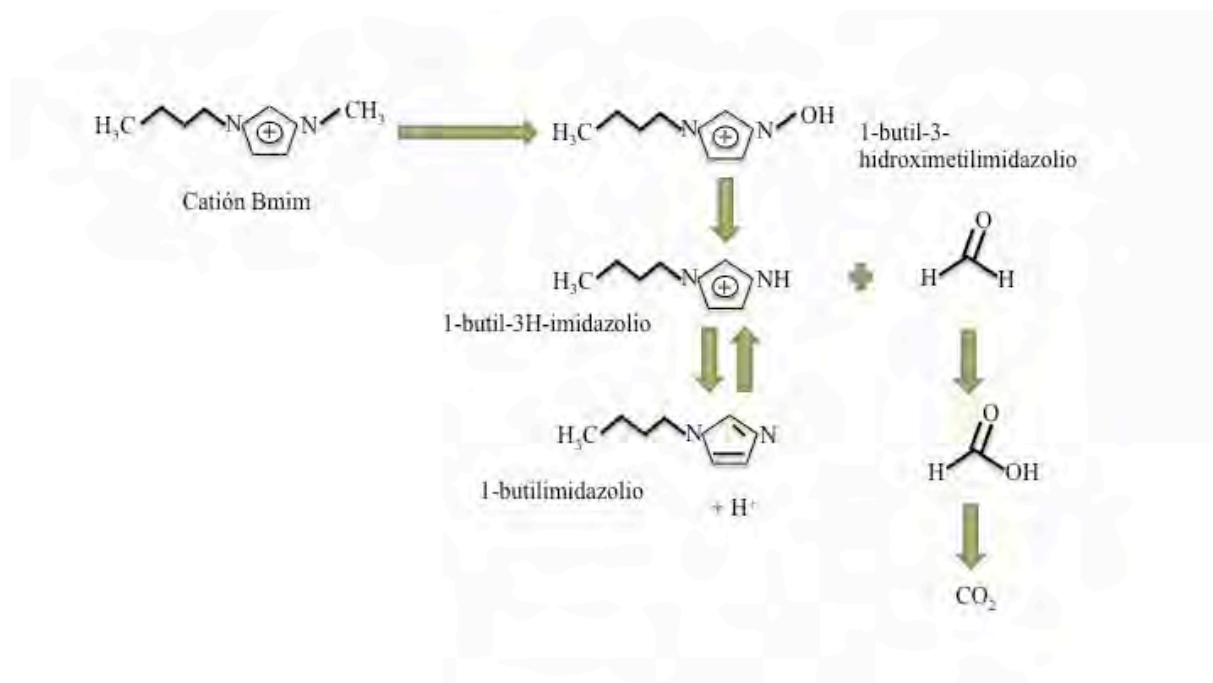


Figura 6.7 Predicción de la ruta teórica del metabolismo del catión Bmim.

#### 6.4 Sólidos suspendidos volátiles (biomasa)

En lo que respecta al crecimiento de la biomasa se mantuvo estable en un promedio de 2 g/L de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en ambos reactores (figura 6.8 y figura 6.9). El seguimiento de los SSV, demostró que existió un aumento en la biomasa debido al consumo del cosustrato adicionado (acetato de sodio).

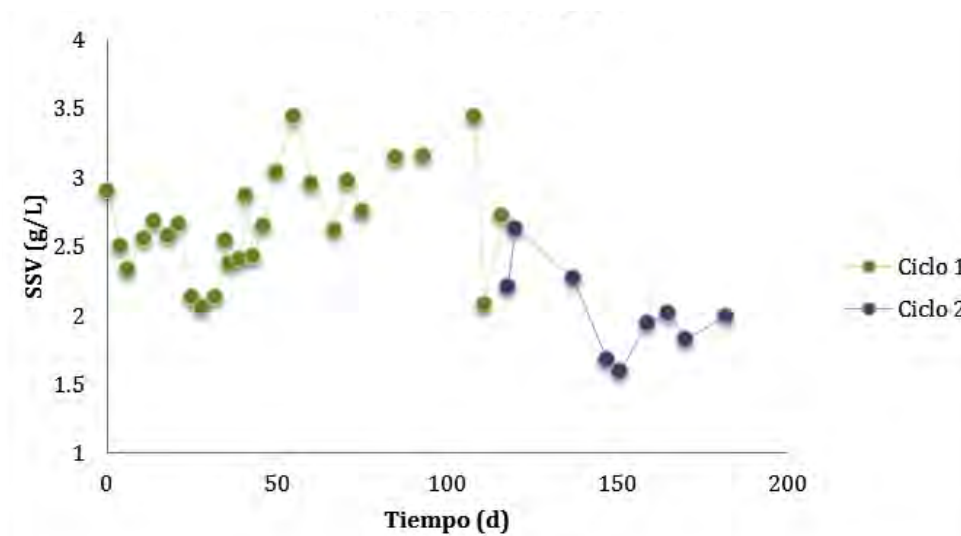


Figura 6.8 Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor I.

En el caso de los dos reactores la DQO removida fue de más del 95%, recordando que más del 95% de la DQO aportada al reactor derivó del acetato. El análisis por GC-MS reveló que el BmimCl solo sufre una degradación primaria, es decir se transforma a otro compuesto, el 1-butimidazolío, por lo que el anillo continuo siendo estable. Un punto importante a discutir es que a pesar de no realizar una degradación completa, el BmimCl no inhibe la capacidad de los microorganismos para realizar el consumo del sustrato fácilmente asimilable. Esto concuerda con lo reportado por Liwarska-Bizukojc *et al.* (2013), quienes discuten que los líquidos iónicos imidazolío que contienen hasta seis átomos de carbono en la cadena de alquilo, no son tóxicos para la biomasa de lodos activados a concentraciones mayores a 50mg/L (Liwarska-Bizukojc *et al.*, 2013).

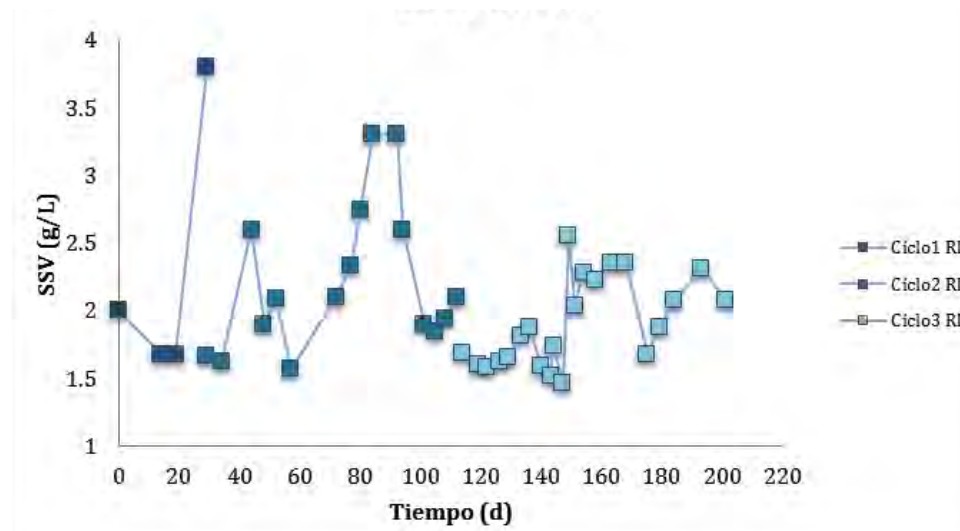


Figura 6.9 Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el reactor II.

### 6.5 Índice volumétrico de lodos (IVL)

El índice volumétrico de lodos (IVL) se basa en las propiedades físicas de los sólidos suspendidos del licor mezclado (SSLM) (Rössle *et al.*, 2009). El IVL ha sido usado muy frecuentemente para describir la conducta de sedimentación del lodo (Crites y Tchobanoglous, 2000; Metcalf y Eddy *et al.*, 2002).

Este parámetro fue evaluado en ambos reactores, y como se observa en la figura 6.10 con el paso de los días va disminuyendo el IVL y por consecuencia aumentando la velocidad de sedimentación ( $V_s$ ) en ambos casos. La presencia del BmimCl tampoco resultó en una pérdida de la capacidad de sedimentación de la biomasa. Es posible observar que los lodos presentaron una buena capacidad de sedimentación ya después de los 140 días de operación, para ambos casos la  $V_s$  fue mayor de 12 m/h y el IVL menor a 80m/h.

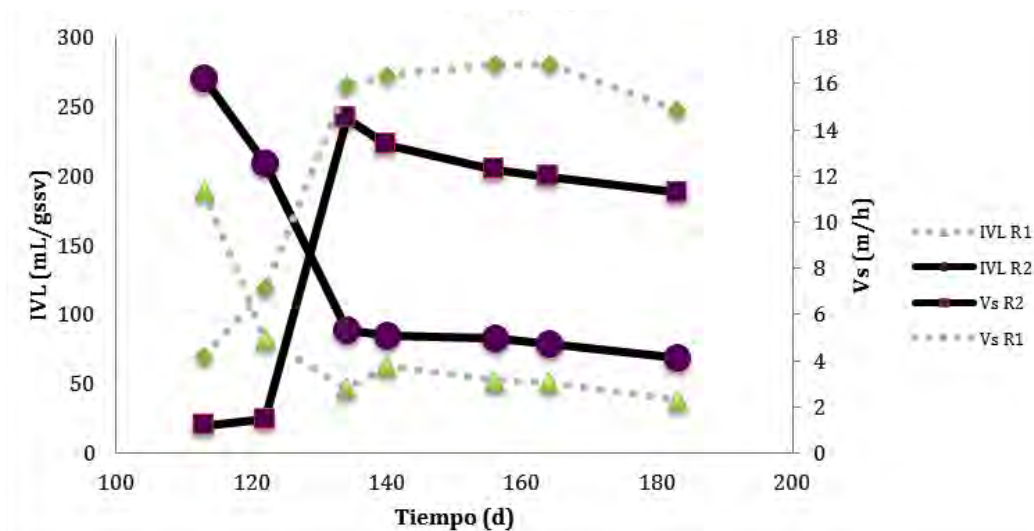


Figura 6.10 Índice volumétrico de lodos (IVL) y velocidad de sedimentación (Vs) en ambos reactores.

### 6.6 Alternativas para el tratamiento de aguas residuales tratando LIs

Si bien los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la degradación primaria del BmimCl, las velocidades de degradación son lentas, por lo cual en la práctica sería necesario realizar una aclimatación a largo plazo o cambiar la estrategia de aclimatación para incrementar la eficiencia de transformación del compuesto. Debido a lo anterior, se realizó una estancia de investigación en el Departamento de Química Física Aplicada de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) bajo la supervisión de la Dra. Elena Díaz Nieto y el Dr. Angel Fernández Mohedano, dentro del marco de un proyecto de investigación entre el Instituto de ingeniería de la UNAM y la UAM para la degradación de LI. En esta estancia se busco una alternativa al tratamiento biológico evaluando la oxidación catalítica del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio, tanto homogénea (Fenton) como heterogénea (CWPO). Los resultados de estos experimentos se reportan en el ANEXO de esta tesis. Los resultados de la oxidación catalítica demostraron que es factible realizar un pre-tratamiento de este tipo para la transformación rápida de los LIs. Esto podría acoplarse con un proceso biológicos para realizar la biodegradación de los intermediarios de la reacción, por lo que es necesario la realización de estudios para saber cuáles son los intermediarios formados, concentración y la posible toxicidad de los mismos.

## 7. CONCLUSIONES

A continuación se ennumeran las principales conclusiones derivadas de esta investigación.

- Fue posible aclimatar biomasa obtenida de un proceso de lodos activados para biodegradar BmimCl, con tasas de degradación específica entre 0.08 a 0.27 mgBmimCl/gSSV/d.
- Se comprobó que una concentración de 50 mg/L del BmimCl no es tóxica para los microorganismos y les permite seguir consumiendo un cosustrato. Lo anterior, es muy importante ya que los resultados obtenidos se pueden tomar como base para otros estudios donde se propongan estrategias para incrementar las tasas de degradación y las concentraciones iniciales del BmimCl en el sistema.
- Haciendo una bioaumentación no se consiguió una mayor tasa de degradación del compuesto, debido a que los microorganismos presentan un largo periodo de aclimatación. Los resultados demostraron que hay mayor crecimiento de biomasa cuando el BmimCl se encuentra en menor concentración y viceversa.
- Se ha logrado una degradación primaria del BmimCl con un consorcio microbiano proveniente de una planta de tratamiento de agua residual municipal, con lo cual es posible concluir que sí hubo una aclimatación de los microorganismos, pero no se llega completamente a la mineralización del compuesto. Es posible considerar que la ruta de degradación del BmimCl está asociada a la vía de oxidación del citocromo P450, con la producción de butil-imidazolio.

## 8. RECOMENDACIONES

Derivado del conocimiento de esta tesis, se proponen las siguientes recomendaciones:

- Reducir la concentración inicial del líquido iónico para iniciar con la aclimatación de la biomasa y lograr que esta tenga una buena actividad respirométrica a lo largo de la experimentación.
- Evaluar un tren de tratamiento con un pretratamiento fisicoquímico, para después seguir el tratamiento por medio biológico, con el fin de reducir los tiempos de reacción y aumentar la eficiencia de remoción del compuesto.

## 9. REFERENCIAS

- Abrusci, C., Palomar, J., Pablos, J.L., Rodriguez, F., Catalina, F., 2011. Efficient biodegradation of common ionic liquids by *Sphingomonas paucimobilis* bacterium. *Green Chem.* 13, 709.
- Academia Nacional de Ciencias, 2007. Safe Drinking Water Is Essential.
- AFNOR, 1985. Essais des eaux. Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des produits organiques solubles. Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD). ISBN:978-2-12-179091-6.
- Alexander, M., 1981. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* 211, 132–138.
- APHA, 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater: selected analytical methods approved and cited by the United States Environmental Protection Agency. American Public Health Association.
- Arnáiz C., Laura Isac, juMan Lebrato, 2000. Tratamiento biológico de aguas residuales. *Revista Tecnología del Agua*.
- Barrena, Gea T., Ponsá S., Ruggieri L., Artola A., Font X., Sánchez A., 2011. Categorizing Raw Organic Material Biodegradability Via Respiration Activity Measurement: A Review - *Compost Science & Utilization* - Volume 19, Issue 2.
- Bernot, R.J., Brueseke, M.A., Evans-White, M.A., Lamberti, G.A., 2005a. Acute and chronic toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* SETAC 24, 87–92.
- Bernot, R.J., Brueseke, M.A., Evans-White, M.A., Lamberti, G.A., 2005b. Acute and chronic toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 87–92.
- Boon, Goris, De Vos, Verstraete, Top EM, 2000. Bioaugmentation of activated sludge by an indigenous 3-chloroaniline-degrading *Comamonas testosteroni* strain, I2gfp. - *PubMed* - NCBI.
- Brennecke, J.F., Maginn, E.J., 2001. Ionic liquids: Innovative fluids for chemical processing. *AIChE J.* 47, 2384–2389.
- Buitrón, G., González, A., 1996. Characterization of the microorganisms from an acclimated activated sludge degrading phenolic compounds. *Water Sci. Technol., Water Quality International '96 Part 3: Modelling of Activated Sludge Processes; Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes; Anaerobic Biological Treatment; Biofouling Selected Proceedings of the 18th Biennial Conference of the International Association on Water Quality* 34, 289–294.
- Canton, J.H., Adema, D.M.M., 1978. Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments. *Hydrobiología* 59, 135–140.
- Castillo, Roldán M.D., Blasco R., Huertas M.J., Caballero F.J., Conrado Moreno, Martínez Luque M., 2005. *Biotecnología ambiental*. CSIC Vol. 190, No 768.
- Chong, N.-M., 2005. Development of a tool for measuring the degradation capacity of microorganisms for a xenobiotic. *Enzyme Microb. Technol.* 37, 467–471.

- Chong, N.-M., Lin, T.-Y., 2007. Measurement of the degradation capacity of activated sludge for a xenobiotic organic. *Bioresour. Technol.* 98, 1124–1127.
- Coleman, Gathergood, 2010. Biodegradation studies of ionic liquids - *Chemical Society Reviews* (RSC Publishing) 39, 600-637.
- Cowgill y Milazzo, 1991. The Sensitivity of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna* to Seven Chemicals Utilizing the Three-Brood Test. *ResearchGate. Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 20(2):211-217
- Crites, R., Tchobanoglous, G., pról. de George S. Nolte, tr. por Miller Camargo, Libia Patricia Pardo, Guillermo Mejía., 2000. Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. *ResearchGate*.
- Diaz E., Monsalvo V., Palomar J., Mohedano A.F. 2016. Ionic Liquids: bacterial Degradation in Wastewater Treatment Plants. *Encyclopedia of inorganic and Bioinorganic chemistry*. Wiley ed.
- Docherty, Aiello, Buehler, Jones, Szymczyna, Walker, 2015. Ionic liquid biodegradability depends on specific wastewater microbial consortia. *PubMed Chemosphere* 136:160-6.
- Docherty, Dixon, Kulpa, 2007. Biodegradability of imidazolium and pyridinium ionic liquids by an activated sludge microbial community. - *PubMed - NCBI Biodegradation*. 18(4):481-93.
- Donato-Martín, 2004. ¿Qué es el citocromo P-450 y cómo funciona?. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Monografía XIV*.
- El Fantroussi, Agathos, 2005. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation?. *Ecology and industrial microbiology*, volume 8, Issue 3, pages 268-275.
- Fabianska, Ossowski, Stepnowski, Stolte, Thöming, Siedlecka, 2012. Electrochemical oxidation of imidazolium-based ionic liquids: The influence of anions. *Chemical Engineering Journal*, volumes 198-199, pages 338-345.
- Gallego-Fernández, Sande-García, Marín-Fernández, Blanco-Ramos, González-Galán, 2011. Aspectos fundamentales del Citocromo P450. *Fundación Tejerina*. ISBN: 978-84-937689-7.
- García, M.T., Gathergood, N., Scammells, P.J., 2005. Biodegradable ionic liquids : Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green Chem.* 7, 9-14.
- Gathergood, García, Scammells, 2004. Biodegradable ionic liquids: Part I. Concept, preliminary targets and evaluation - *Green Chemistry* (RSC Publishing), 6, 166-175.
- Grady, C.P.L., 1985. Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. *Biotechnol. Bioeng.* 27, 660–674.
- Guilhermino, L., Diamantino, T., Carolina Silva, M., Soares, A.M.V.M., 2000. Acute Toxicity Test with *Daphnia magna*: An Alternative to Mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46, 357–362.
- Harder, W., Dijkhuizen, L., Postgate, J.R., 1982. Strategies of Mixed Substrate Utilization in Microorganisms [and Discussion]. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 297, 459–480.
- Hernández-Fernández, F.J., Ríos, A.P. de los, Hernández-Fernández, J., VÍllora, G., 2008. Los líquidos iónicos en la industria química (I): propiedades y aplicaciones. *Ing. Quím.* 194–197.
- Herrero, Stuckey, 2015. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. - *PubMed - Chemosphere*, 140: 119-28.

- Hess, T.F., Schmidt, S.K., Silverstein, J., Howe, B., 1990. Supplemental Substrate Enhancement of 2,4-Dinitrophenol Mineralization by a Bacterial Consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1551–1558.
- Hodge A., Sterner B., 2005. Toxicity Classes. In: Canadian Center for Occupational Health and Safety. Scientific Research An Academic Publisher. Pharmacology and Pharmacy, Vol. 6 No. 3.
- Hulzebos EM, Janssen PAH, Maslankiewicz L, Meijerink MCM, Muller JJA, Pelgrom SMG, Verdam L, Vermeire TG, 2001. The application of structure-activity relationships in human hazard assessment: a first approach. National Institute for Public Health and the Environment. RIVM Report 601516008, 55 pages.
- Jastorff B., Störmann R., Ranke J., Mölter K., Stock F., Oberheitmann B., Hoffmann W., Hoffmann J., Nüchter M., Ondruschka B., Filser J., 2003. How hazardous are ionic liquids? Structure–activity relationships and biological testing as important elements for sustainability evaluation - *Green Chemistry (RSC Publishing)*, 5, 136-142.
- Jørgensen, B.B., Gallardo, V.A., 1999. *Thioploca* spp.: filamentous sulfur bacteria with nitrate vacuoles. *FEMS Microbiol. Ecol.* 28, 301–313.
- Kaniewska-Prus, M., 1982. The effect of ammonia, chlorine, and chloramine toxicity on the mortality of *Daphnia magna* Straus. *ResearchGate, Polskie Archiwum Hydrobiologii* 29(3):607-624.
- Kornberg, A., 1987. The two cultures: chemistry and biology. *Biochemistry (Mosc.)* 26, 6888–6891.
- Landry, T.D., Brooks, K., Poche, D., Woolhiser, M., 2005. Acute toxicity profile of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 74, 559–565.
- LeBlanc, G.A., 1980. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 684–691.
- Lee, I.H., Fredrickson, A.G., Tsuchiya, H.M., 1974. Diauxic Growth of *Propionibacterium shermanii*. *Appl. Microbiol.* 28, 831–835.
- Lendenmann, U., Snozzi, M., Egli, T., 1996. Kinetics of the simultaneous utilization of sugar mixtures by *Escherichia coli* in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1493–1499.
- Liwarska-Bizukojc, Cedric Maton, Christian V. Stevens, Dorota Gendaszewska, 2013. Biodegradability and kinetics of the removal of new peralkylated imidazolium ionic liquids. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology - Volume 89, Issue 5*, pages 763-768.
- Liwarska-Bizukojc, E., Gendaszewska, D., 2013. Removal of imidazolium ionic liquids by microbial associations: Study of the biodegradability and kinetics. *J. Biosci. Bioeng.* volume 115, pages 71–75.
- Manahan, S.E., 2006. *Introducción a la química ambiental*. Editorial Reverté UNAM. Primera edición. páginas 145-200.
- Mangat, S.S., Elefsiniotis, P., 1999. Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors. *Water Res.* 33, 861–867.
- Marco A., E., 1997. How and why combine chemical and biological processes for wastewater treatment. *Water Science and Technology*. Volume 35, Issue 4, pages 321-327.
- Matzke, M., Thiele, K., Müller, A., Filser, J., 2009. Sorption and desorption of imidazolium based ionic liquids in different soil types. *Chemosphere* volume 74, pages 568–574.



- Melandri, 1997. Vectorial bioenergetics - Springer. Chapter 3, volume 4 of the series Bioelectrochemistry: Principles and Practice pp 95-138.
- Metcalf y Eddy, M.& E., Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D., 2002. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse, 4th edition. ed. McGraw Hill Higher Education, Boston, Mass.
- Modelli, Sali, Galletti, Samorí, 2008. Biodegradation of oxygenated and non-oxygenated imidazolium-based ionic liquids in soil. - PubMed - Chemosphere, 73(8):1322-7.
- Mohan, S.V., Rao, N.C., Prasad, K.K., Madhavi, B.T.V., Sharma, P.N., 2005. Treatment of complex chemical wastewater in a sequencing batch reactor (SBR) with an aerobic suspended growth configuration. Process Biochem. 40, 1501–1508.
- Moreno, G., Buitrón, G., 2004. Influence of the origin of the inoculum and the acclimation strategy on the degradation of 4-chlorophenol. Bioresour. Technol. 94, 215–218.
- Mount, D.I., Norberg, T.J., 1984. A seven-day life cycle cladoceran toxicity test. Environ. Toxicol. Chem. 3, 425–434.
- Mrozik, W., Kotłowska, A., Kamysz, W., Stepnowski, P., 2012. Sorption of ionic liquids onto soils: experimental and chemometric studies. Chemosphere 88, 1202–1207.
- Neumann, Grundmann, Thöming, Schulte, Stolte, 2010. Anaerobic biodegradability of ionic liquid cations under denitrifying conditions - Green Chemistry (RSC Publishing). Volume 12, pages 620-627.
- Neumann, Steudte, Cho, Thöming, Stolte, 2014. Biodegradability of 27 pyrrolidinium, morpholinium, piperidinium, imidazolium and pyridinium ionic liquid cations under aerobic conditions - Green Chemistry (RSC Publishing). Volume 16, pages 2174-2184.
- Nzila, 2013. Update on the cometabolism of organic pollutants by bacteria. - PubMed - Environ Pollut, 178:474-82.
- Pavan P., Cavinato C., Bolzonella D., Fatone F., Cecchi F., 2007. Biomass dewaterability, filterability and settleability in a membrane bioreactor operated with different sludge ages. IWA Publishing. Water Practice and Technology. Volume 2, Issue 1
- Pham, T.P., Cho, C.-W., Yun, Y.-S., 2010. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. Water Res., Emerging Contaminants in water: Occurrence, fate, removal and assessment in the water cycle (from wastewater to drinking water) 44, 352–372.
- Pinilla, 2014. Biodegradabilidad de líquidos iónicos mediante *Sphingomonas Paucimobilis*. Universidad Autónoma de Madrid.
- 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. Ecotoxicol. Environ. Saf. 67, 430–438.
- Reardon, Mosteller, Rogers, DuTeau, Kim, 2002. Biodegradation kinetics of aromatic hydrocarbon mixtures by pure and mixed bacterial cultures. Environmental Health Perspectives, 100(Suppl 6): 1005-1011.
- Remtavares, 2006. Reactores biológicos secuenciales (SBR): una tecnología versátil para el tratamiento de aguas residuales industriales. Blog Madrid. Grupo de Procesos y Sistemas de Ingeniería Ambiental, Universidad Autónoma de Madrid.
- Rodríguez González, J.C., Rodeiro Guerra, I., 2014. El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. Rev. Cuba. Farm. 48, 495–507.
- Romero, A., Santos, A., Tojo, J., Rodríguez, A., 2008. Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. J. Hazard. Mater. 151, 268–273.

- Rössle, van der Merwe, Chueu, Pretorius, 2009. Research activated sludge settling behaviour based on short-term temperature variations. Erwat Chair in Wastewater Management. Department of Chemical Engineering University of Pretoria. WRC Report No. 1340/1/01. ISBN 978-1-77005-817-0.
- Santafé, M.F., Pujol, R.O., 2009. Situación actual del estado de la depuración biológica. Explicación de los métodos y sus fundamentos. Universitat Politècnica de Catalunya. Departament d'Enginyeria Química.
- Scodelaro, 2012. Introducción al Tratamiento de Aguas Residuales. El portal de referencia para ingenieros químicos. IngenieriaQuímica.org.
- Scott, J.P., Ollis, D.F., 1995. Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: Review and recommendations. *Environ. Prog.* 14, 88–103.
- SEMARNAT, CONAGUA, 2014. Estadísticas del agua en México. Edición 2014.
- Shiklomanov, Rodda, 2003. World Water Resources at the Beginning of the Twenty-First Century. International Hydrology Series. Cambridge University Press. ISBN 0 521 82085 5.
- Shimp, R.J., Pfaender, F.K., 1985. Influence of Easily Degradable Naturally Occurring Carbon Substrates on Biodegradation of Monosubstituted Phenols by Aquatic Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 394–401.
- Singleton, I., 1994. Microbial metabolism of xenobiotics: Fundamental and applied research. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 59, 9–23.
- Stepnowski, P., Mroziak, W., Nichthauser, J., 2007. Adsorption of alkylimidazolium and alkylpyridinium ionic liquids onto natural soils. *Environ. Sci. Technol.* 41, 511–516.
- Stolte, S., Abdulkarim, S., Arning, J., Blomeyer-Nienstedt, A.-K., Bottin-Weber, U., Matzke, M., Ranke, J., Jastorff, B., Thöming, J., 2008. 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.* 10, 214–224.
- Stoner, D.L., 1993. Biotechnology for the Treatment of Hazardous Waste. CRC Press. ISBN 9780873716130.
- Tong, Huailan y Hongjun, 1996. Chronic Toxicity of Acrylonitrile and Acetonitrile to *Daphnia magna* in 14-d and 21-d Toxicity Tests. - PubMed - Bull Environ Contam Toxicol, 57(4):655-9.
- Vallero, 2010. Applied Microbial Ecology: Bioremediation - Environmental Biotechnology - CHAPTER 7. ELSEVIER. First edition. ISBN: 978-0-12-375089-1.
- Welton, 2012. Ionic liquids in catalysis. Department of Chemistry. Imperial College of Science, Technology and Medicine, London. Pages 43.
- Wilderer, R.I., 2001. Sequencing Batch Reactor Technology. IWA Publishing. ISBN13: 9781900222211. Pages 100.
- Zgajnar, Tratar-Pirc, Bukovec, Znidaršič, 2014. Evaluation of biotreatability of ionic liquids in aerobic and anaerobic conditions. - PubMed - NCBI. *Water Sci Technol*, 70(4):698-704.
- Zhang, Wang, Malhotra, Dodge, Francis, 2010. Biodegradation of pyridinium-based ionic liquids by an axenic culture of soil *Corynebacteria* - Green Chemistry (RSC Publishing). Volume 12, pages 851-858.
- Zhao, D., Liao, Y., Zhang, Z., 2007. Toxicity of Ionic Liquids. *CLEAN – Soil Air Water* 35, 42–48.

## **10 ANEXO 1. Proceso de oxidación húmeda catalítica avanzada con peróxido de hidrógeno para la eliminación líquidos iónicos**

*Resultados obtenidos durante la estancia en la Universidad Autónoma de Madrid.*

### **Introducción**

La oxidación catalítica con peróxido de hidrógeno (CWPO, por sus siglas en inglés *Catalytic Waste Peroxide Oxidation*) de compuestos orgánicos biorecalcitrantes es una técnica viable empleada para la descontaminación de aguas residuales. Una de las técnicas más utilizadas es el sistema Fenton. Este sistema consiste en una mezcla de hierro y peróxido de hidrógeno que, en fase homogénea, reacciona formando radicales hidroxilo HO $\cdot$ . Este radical libre tiene un fuerte poder de oxidación y se forma por la descomposición catalítica del peróxido de hidrogeno en medio ácido (Esplugas et al., 2002; Pignatello *et al.*, 2006).

Se han empleado diversos materiales porosos para soportar el hierro y de esta manera favorecer la formación de radicales hidroxilos y evitar el sacrificio del catalizador , hasta ahora, varios soportes se han utilizado, como zeolitas (Fajerweg *et al.*, 2000; Centi *et al.*, 2001; Melero *et al.*, 2004; Kuznetsova *et al.*, 2004), arcillas (Barrault *et al.*, 2000; Catrinescu *et al.*, 2003; Carriazo *et al.*, 2005; Molina *et al.*, 2006), alúmina (Luca *et al.*, 2012), sílice (Cuzzola *et al.*, 2002), mesoestructurados SBA-15 (Melero *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2008) y carbón activado (Dantas *et al.*, 2006; Zazo *et al.*, 2006; Rey *et al.*, 2009), sobre todo en la oxidación catalítica de compuestos fenólicos modelo. Sin embargo, pocos estudios se encuentran en la literatura sobre la aplicación de este procedimiento para el tratamiento de las aguas residuales reales (Bautista *et al.*, 2010). Pero con las observaciones realizadas en laboratorio, Bautista y colaboradores, observaron una mejora sustancial de la biodegradabilidad (relación DBO<sub>5</sub>/DQO). Por lo tanto, CWPO se podría aplicar de manera efectiva ya sea como tratamiento o como un pre-tratamiento dirigido a mejorar la biodegradabilidad de estas aguas residuales (Bautista *et al.*, 2010).

Por lo anterior, se realizó la oxidación catalítica húmeda con peróxido de hidrógeno del BmimCl, como pretratamiento, con el fin de obtener un agua residual más biodegradable.

El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones óptimas (temperatura de reacción, concentración de peróxido de hidrogeno y tipo de soporte) de un proceso de oxidación húmeda catalítica avanzada con peróxido de hidrógeno para la eliminación líquidos iónicos de la familia imidazolio empleando catalizadores de Fe soportados sobre alúmina, carbón activo y sílice. Por lo anterior, se realizó la evaluación de la actividad catalítica, el estudio de la influencia de la temperatura y concentración de peróxido de hidrógeno sobre la actividad catalítica en la reacción CWPO de LIs y la evaluación de los soportes más empleados en este tipo de reacciones.

## Materiales y métodos

Se utilizó un reactor de 500 mL de capacidad, volumen útil de 400 mL; con control de temperatura, agitador magnético (500 rpm) y baño termostatzado de silicona; para ver la influencia de distintos parámetros, se trabajó con 3 diferentes temperaturas, con distintos soportes de Fe, así como distintas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Las condiciones de operación se pueden ver en la siguiente tabla (Tabla A1):

Tabla A 1 Condiciones de operación.

Parámetro	Fe/alumina	Fe/CA	Fe/Sílice
Presión	1 atm	1 atm	1 atm
Temperatura	70, 80, 90 °C	90 °C	90 °C
pH	3	3	3
Concentración contaminante	1mM	1mM	1mM
Concentración H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50, 100 y 150 % esteq.	100 % esteq.	100 % esteq.
Concentración catalizador	1 g/L	1 g/L	1 g/L

El seguimiento del catión (Bmim) se hizo por HPLC, utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo (5%) y 95% de buffer fosfatos (0.71 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 430 µL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> por cada litro), para la medida de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y Fe en disolución se utilizó la espectrofotometría:

Determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El oxisulfato de titanio empleado (TiOSO<sub>4</sub>) reacciona con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presente en el medio formándose un peroxocomplejo de color amarillo cuyo máximo de

absorbancia está en torno a 410 nm. El procedimiento empleado para determinar la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ha sido el siguiente:

4.5 mL de agua destilada + 0.5 mL de muestra + 0.5 mL de disolución de TiOSO<sub>4</sub>.

La concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presente en las muestras se determinó en un espectrofotómetro UV-VIS, Modelo UV-1603, Shimadzu, midiendo la absorbancia a 410 nm, previo calibrado.

Determinación de Fe. El Fe (II) se analizó por colorimetría, basado en la formación de un complejo rojizo entre la o-fenantrolina y el Fe<sup>2+</sup> presente en el medio, formándose ferroína, complejo estable de color rojo que presenta un máximo de absorbancia en torno a 510 nm después de su reducción con hidroxilamina.

La concentración de carbono orgánico total (TOC) en disolución fue determinada mediante un Analizador de Carbono Orgánico Total TOC-V de Shimadzu (modelos CSH o TOC-5050a) que mide la concentración de carbono total, carbono inorgánico y de carbono orgánico total por diferencia con los dos anteriores.

Se utilizó cromatografía iónica para la determinación de productos finales de la reacción (ácidos orgánicos de cadena corta) analizados en un cromatógrafo iónico Metrohm 883 Basic IC plus.

## **Resultados**

### ***Comparación Fenton-CWPO***

Se realizó la oxidación catalítica del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio, tanto homogénea (Fenton) como heterogénea (CWPO), con una concentración inicial de 1 mM de BmimCl (139 mg/L), 24 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (816 mg/L) que representa la concentración teórica para oxidar completamente el LI, 1000 mg/L de catalizador y a 80 °C.

Como se observa en la Figura A1, la velocidad de reacción Fenton es mayor, alcanzando el 100% de degradación del catión aproximadamente a los 25 min de reacción, mientras que para la CWPO este porcentaje de degradación es alcanzado al minuto 60 aproximadamente; y al final de ambas reacciones se tiene una conversión similar de  $H_2O_2$  ( $\approx 80\%$ ). En cuanto a la conversión de COT se tuvo un 35% en ambas reacciones, sin embargo, la reacción Fenton no mostró mayor evolución, debido a la formación de complejos del Fe con intermediarios de la reacción, por lo que ya no había catalizador en el medio para continuar la reacción.

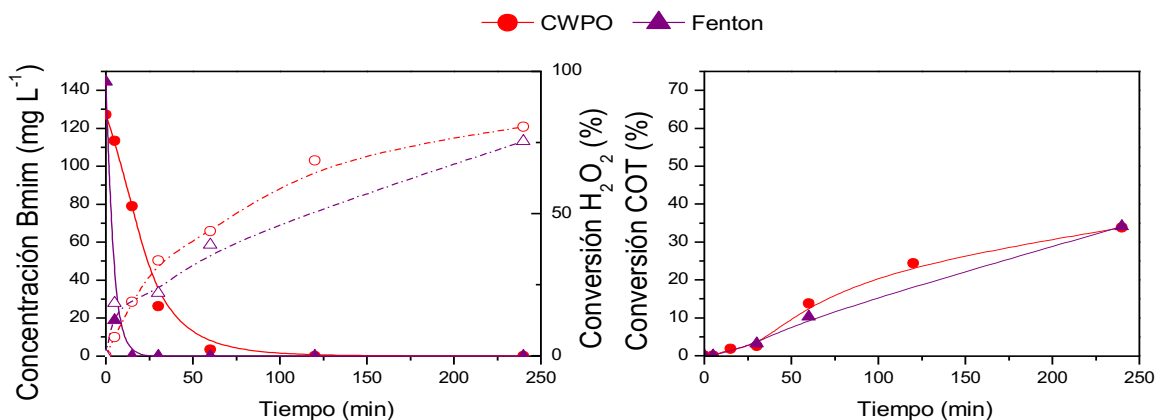


Figura A 1 Evolución de las reacciones Fenton y CWPO.

La Figura A2 muestra la formación de los diferentes ácidos de cadena corta a lo largo de las reacciones, teniendo una mayor concentración de éstos en la reacción Fenton, lo cual se puede atribuir a la falta de catalizador, por lo cual hubo una mínima evolución de los productos finales de reacción.

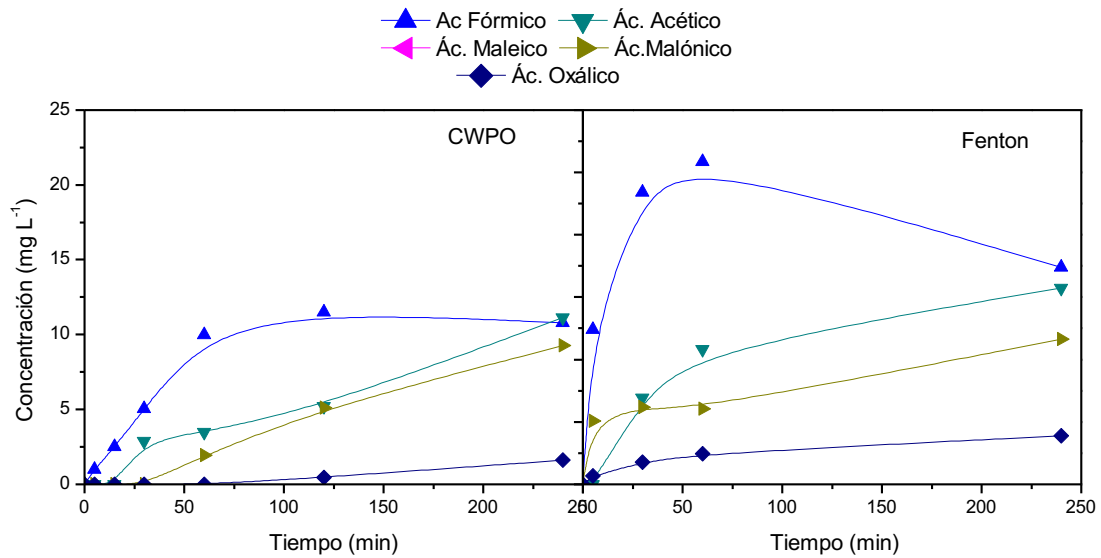


Figura A 2 CWPO y Fenton BmimCl a 80 °C.

### ***Influencia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (CWPO BmimCl Fe-alúmina)***

Se realizó este experimento con el fin de conocer la influencia de la concentración de peróxido de hidrógeno en la evolución de la reacción CWPO del BmimCl. Se realizó a tres diferentes concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (408, 816 y 1224 mg/L), lo que corresponde al 50, 100 y 150% de concentración estequiométrica necesaria para oxidar el LI, observando que con la mitad de la concentración necesaria (408 mg/L) la reacción ocurre muy lentamente y no se llega al 100% de degradación del catión al final de la reacción (240 min), mientras que para las concentraciones de 816 y 1224 no hay una diferencia significativa, ya que se llega a la degradación del Bmim casi al mismo tiempo (100 min) y la conversión del COT es la misma al final de la reacción (Figura A3).

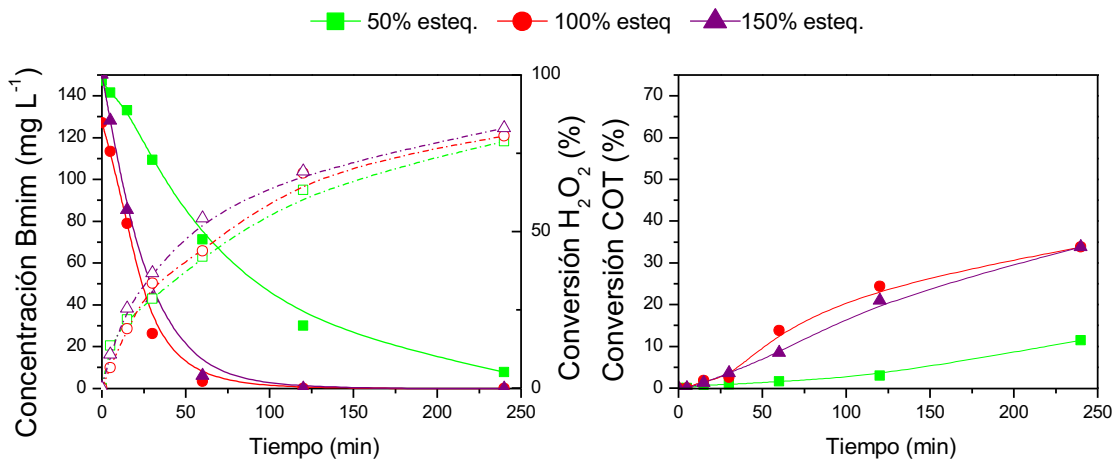


Figura A 3 CWPO BmimCl influencia de la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

En lo correspondiente a la formación de ácidos, se observó que hay una mayor concentración de ácidos utilizando el 150% del valor estequiométrico de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lo cual nos indica que hubo mayor evolución en la reacción y que al final tenemos un mayor porcentaje de carbono conocido, sin embargo, no se considera justificante para utilizar esta concentración de peróxido de hidrógeno; en las tres reacciones el ácido acético se mantiene constante debido a que es refractario a este tipo de oxidación (Figura A4).

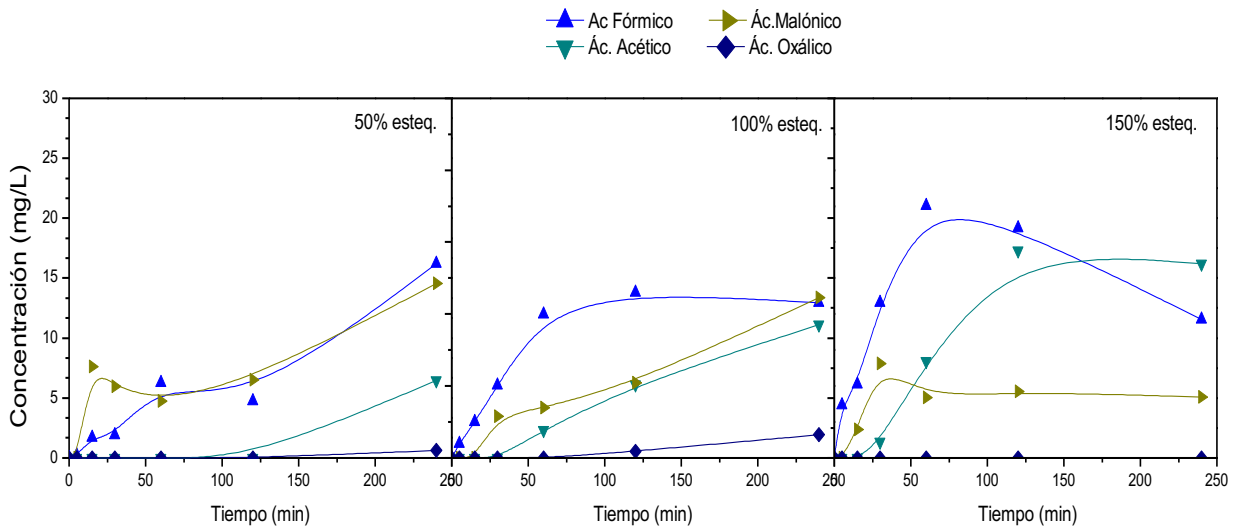


Figura A 4 Ácidos formados en CWPO BmimCl, influencia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



### Influencia temperatura (CWPO BmimCl. Fe/alúmina)

Otro de los factores importantes a considerar en la oxidación avanzada es la temperatura, por lo que se evaluaron tres diferentes temperaturas (70 80 y 90 °C), dando como resultado que la temperatura óptima para este caso de estudio es la más alta (90 °C) como se observa en la siguiente imagen (Figura A5) hay una mayor conversión de peróxido de hidrógeno y la reacción es un poco más rápida respecto a la temperatura de 80 °C, en donde se ve mayor divergencia es en la conversión de carbono orgánico total, llegando a una conversión por arriba del 40% en la reacción a 90 °C. Así mismo, se observa una mayor evolución de la reacción Bmim, formándose una mayor concentración de ácidos (Figura A6).

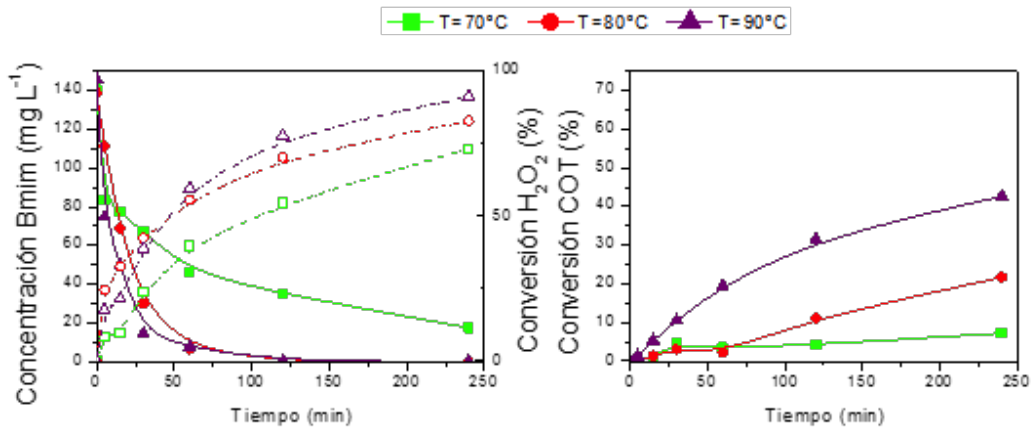


Figura A 5 CWPO BmimCl influencia de la temperatura.

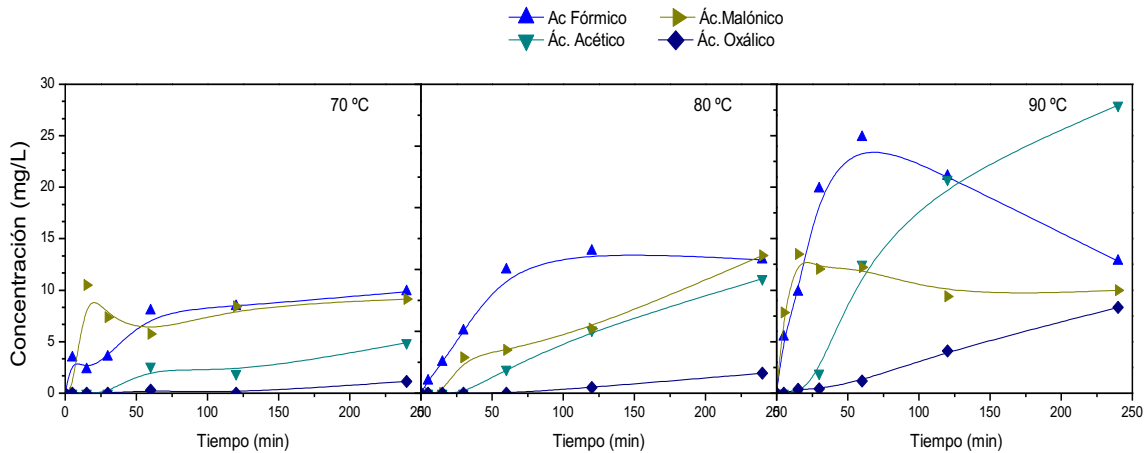


Figura A 6 Ácidos formados en CWPO de BmimCl a diferentes temperaturas.

### ***Influencia del soporte (CWPO BmimCl – 90 °C y 100 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estequiométrica)***

Con los resultados que se obtuvieron de los experimentos anteriores, se decidió evaluar la influencia del soporte utilizado para el catalizador a una temperatura de 90 °C, con una concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 816 mg/L (100%).

Es observable que la reacción utilizando CA (carbón activado) es muy rápida, llegando al 100% de conversión de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alrededor del minuto 60, por lo que hay una degradación parcial del catión y una mínima conversión de COT. Logrando el mejor resultado con el soporte de alúmina (91% conversión de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conversión del 100% de Bmim a los 120 min y 31% de conversión de COT) (Figura A7).

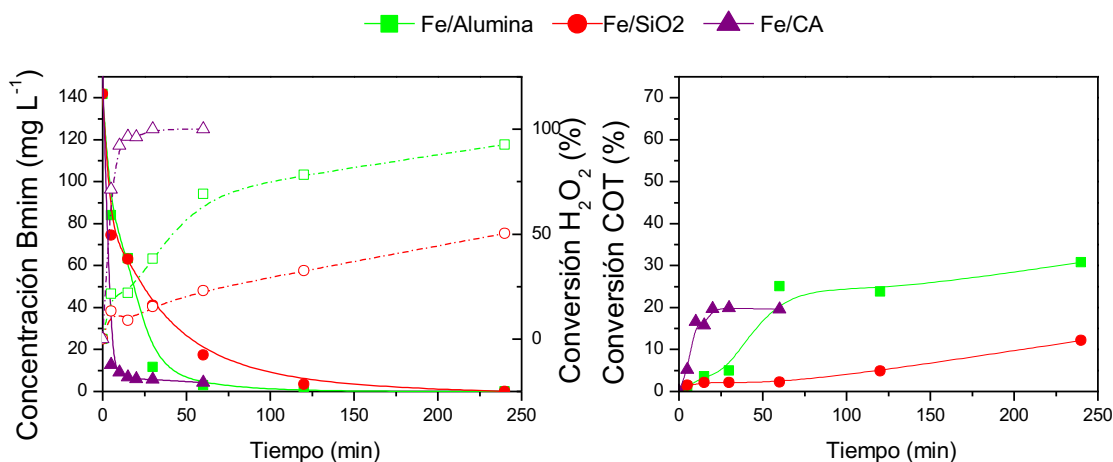


Figura A 7 CWPO BmimCl utilizando diferentes soportes catalíticos.

Respecto a la formación de ácidos vemos que utilizando el soporte de alúmina se favorece la reacción, habiendo degradación de ácido fórmico, mientras que en el de sílice sólo hay producción, haciéndose más evidente en el caso de soporte de CA en donde hay una conversión enorme hacia el ácido acético, que es refractario (Figura A8).

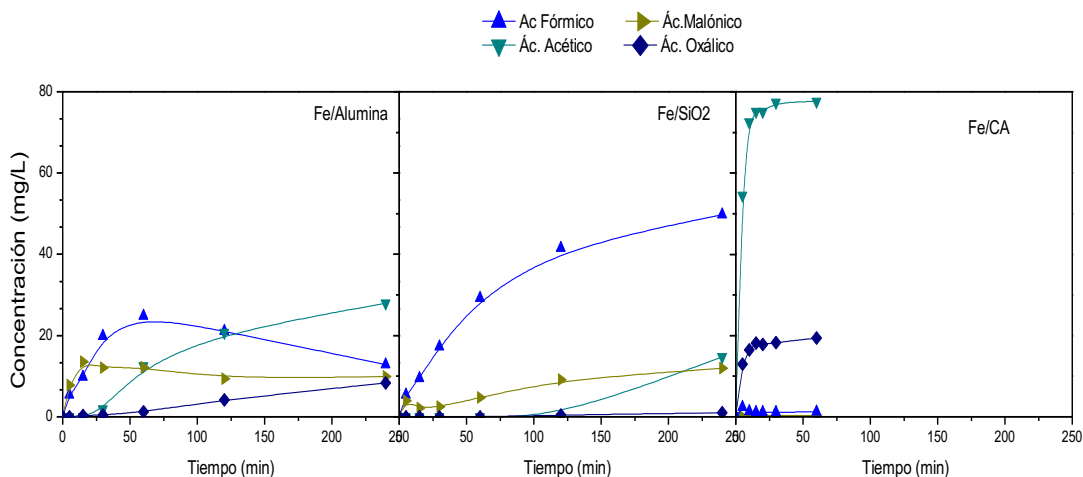


Figura A 8 Formación de ácidos con distintos soportes catalíticos.

### *Influencia de la cadena alquílica (CWPO 90°C y 100% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estequiométrica)*

Se decidió evaluar también el efecto de la cadena alquílica, utilizando los líquidos iónicos BmimCl, HmimCl y DmimCl. Como se esperaba hay una mayor conversión del COT del líquido iónico con la cadena alquílica más larga (10 carbonos), sin embargo, una menor conversión del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> respecto a los otros LIs (Figura A9).

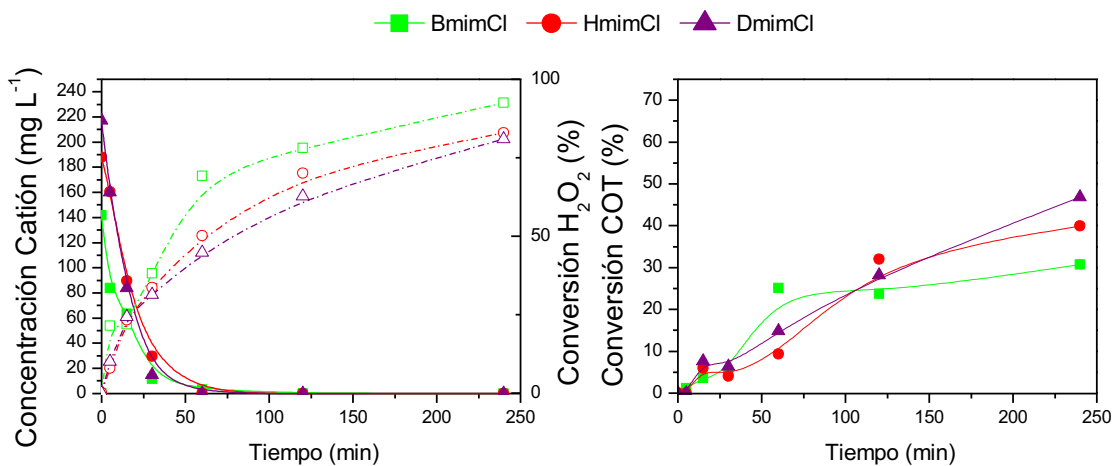


Figura A 9 Influencia de la cadena alquílica en CWPO imidazolios.

También se observa que es directamente proporcional el tamaño de la cadena alquílica a la concentración de los ácidos de cadena corta formados en la reacción (Figura A10).

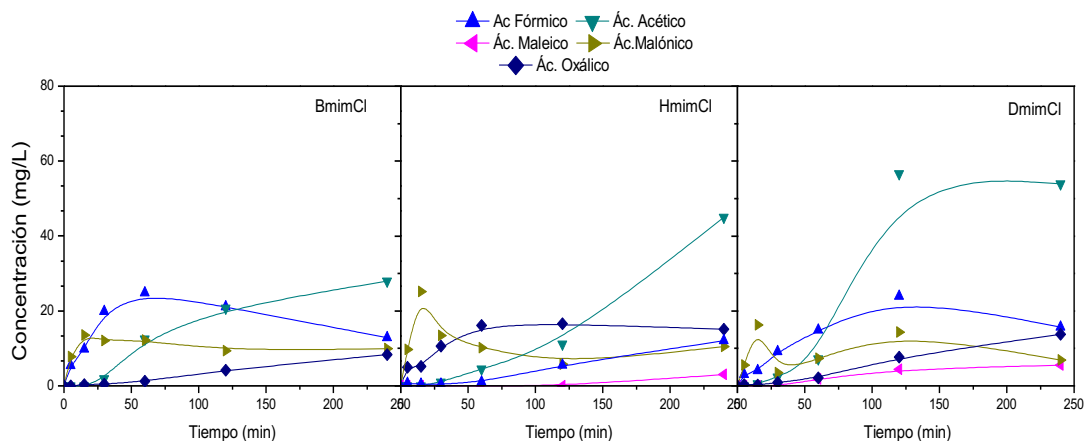


Figura A 10 Ácidos formados en CWPO con las diferentes cadenas alquílicas.

## Conclusiones

De acuerdo a los ensayos de oxidación realizados, se concluye que el mejor soporte para el catalizador de Fe es la alúmina, a una temperatura óptima de reacción de 90 °C y con una concentración del 100% (concentración estequiométrica para degradar el compuesto) de peróxido de hidrógeno. Además es posible concluir que sería factible realizar un pre-tratamiento de este tipo para la transformación rápida de los LI, para después poder continuar con una biodegradación de los intermediarios de la reacción (proceso biológico). Sin embargo, cabe remarcar que es necesario la realización de estudios para saber cuales son los intermediarios formados y en qué concentración están, así como pruebas de toxicidad.

## Referencias

- Barrault J; Abdellaoui M; Bouchoule C; Majesté A; Tatibouet J.M.; Louloudi A; Papayannakos N and Gangas N.H. 2000. Catalytic wet peroxide oxidation over mixed (Al-Fe) pillared clays. *Applied Catalysis B: Environmental* 27: L225-L230.
- Bautista, P.; Mohedano, A.F.; Menéndez, N.; Casas, J.A. and Rodriguez, J.J. 2010. Catalytic wet peroxide oxidation of cosmetic wastewaters with Fe-bearing catalysts. *Catalysis Today* 151(1-2): 148-152.
- Carriazo J.; Guélou E.; Barrault J.; Tatibouet J.M.; Molina R. and Moreno S. 2005. Catalytic wet peroxide oxidation of phenol by pillared clays containing Al-Ce-Fe. *Water Research* 39: 3891-3899.
- Catrinescu Cezar; Teodosiu Carmen; Macoveanu Matei; Mieke-Brendlé Jocelyne and Ronan Le Dred. 2003. Catalytic wet peroxide oxidation of phenol over Fe-exchanged pillared beidellite. *Water Research* 37: 1154-1160.
- Centi G.; Perathoner S. and Romeo G. 2001. 31-O-03-Fe/MFI as a new heterogeneous Fenton-type catalyst in the treatment of wastewater from agroindustrial processes. *Studies in Surface Science and Catalysis* 135: 181.
- Cuzzola A.; Bernini M. and Salvadori P. 2002. A preliminary study on iron species as heterogeneous catalysts for the degradation of linear alkylbenzene sulphonic acids by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Applied Catalysis B: Environmental* 36: 231-237.
- Dantas T.L.P.; Mendonça V.P.; José H.J.; Rodrigues A.E. and Moreira R.F.P.M. 2006. Treatment of textile wastewater by heterogeneous Fenton process using a new composite Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/carbon. *Chemical Engineering Journal* 118: 77-82.
- Dependency on some operating parameters during wet oxidation of phenol by hydrogen peroxide with Fe-ZSM-5 zeolite. 2000. *Environmental Technology* 21: 337-344.
- Esplugas, S.; Giménez, J.; Contreras, S.; Pascual, E. and Rodríguez, M. 2002. Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. *Water Research* 36(4): 1034-1042, [www.dx.doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00301-3](http://www.dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00301-3).
- Kuznetsova E.V.; Savinov E.N.; Vostrikova L.A. and Parmon V.N. 2004. Heterogeneous catalysis in the Fenton-type system FeZSM-5/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Applied Catalysis B: Environmental* 51: 165-170.

- Luca C.; Ivorra F.; Massa P. and Fenoglio R. 2012. Alumina Supported Fenton-Like Systems for the Catalytic Wet Peroxide Oxidation of Phenol Solutions (PDF Download Available). *Industrial & Engineering Chemistry Research* 51: 8979–8984.
- Martínez F.; Pariente M.I.; Melero J.A. and Botas J.A. 2008. Catalytic Wet Peroxide Oxidation Process for the Continuous Treat...: Ingenta Connect. *Journal of Advanced Oxidation Technologies* 11: 65–74.
- Melero J.A.; Calleja G.; Martínez F.; Molina R. and Lázár K. 2004. Crystallization mechanism of Fe-MFI from wetness impregnated Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–SiO<sub>2</sub> amorphous xerogels: Role of iron species in Fenton-like processes. *Microporous and Mesoporous Materials* 74: 11–21.
- Melero J.A.; Calleja G.; Martínez F.; Molina R. and Pariente M.I. 2007. Nanocomposite Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/SBA-15: An efficient and stable catalyst for the catalytic wet peroxidation of phenolic aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal* 131: 245–256.
- Molina C.B.; Casas, J.A.; Zazo J.A. and Rodríguez J.J. 2006. A comparison of Al-Fe and Zr-Fe pillared clays for catalytic wet peroxide oxidation. *Chemical Engineering Journal* 118: 29–35.
- Pignatello, J.J.; Oliveros, E. and MacKay, A. 2006. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 36(1): 1–84.
- Rey A.; Faraldos M.; Casas, J.A.; Zazo J.A.; Bahamonde A. and Rodriguez, J.J. 2009. Catalytic wet peroxide oxidation of phenol over Fe/AC catalysts: Influence of iron precursor and activated carbon surface. *Applied Catalysis B: Environmental* 86: 69–77.
- Zazo J.A.; Casas, J.A.; Mohedano, A.F. and Rodriguez, J.J. 2006. Catalytic wet peroxide oxidation of phenol with a Fe/active carbon catalyst. *Applied Catalysis B: Environmental* 65: 261–268.
- Zazo J.A.; Fraile A.F.; Bahamonde A.; Casas, J.A. and Rodríguez J.J. 2009. Optimizing calcination temperature of Fe/activated carbon catalysts for CWPO. *Catalysis Today* 143: 341–346.

## 11 ANEXO 2

### 11.1 Productos derivados de esta tesis

- Pérez-Farías C.C., Fernández-Mohedano A., Diaz-Nieto E., Moreno-Andrade I. (2016). Bioaumentación de un bioreactor discontinuo para la degradación de agua residual conteniendo un líquido iónico. Revista AIDIS. Enviado.
- Pérez-Farías C.C., Fernández-Mohedano A., Moreno-Andrade I. (2015). Biodegradación de agua residual conteniendo un líquido iónico por medio de lodos activados en un reactor discontinuo secuencial. 3er Encuentro de Jóvenes Investigadores en el Estado de Querétaro. 7-8/10/2015. Querétaro, Qro.
- Moreno-Andrade I., Pérez-Farías C.C., Fernández-Mohedano A. (2015). Biodegradability of imidazolium ionic liquid applying activated sludge in a batch test. IWA Water & Industry conference 2015. Västerås, Sweden. 07-10/06/2015.
- Pérez-Farías C.C., Fernández-Mohedano A., Moreno-Andrade I. (2015). Biodegradación de un agua residual conteniendo un líquido iónico en un Reactor Discontinuo Secuencial. 4th IWA México Young Water Professionals Conference 2015. Guanajuato, Gto. 22-24/04/2015.
- Pérez-Farías C.C., Fernández-Mohedano A., Moreno-Andrade I. (2014). Biodegradación de un agua residual conteniendo un líquido iónico por medio de gránulos aerobios en un reactor discontinuo secuencial. 2do Encuentro de Jóvenes Investigadores en el Estado de Querétaro. 5-6/11/2014. Querétaro, Qro.