

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

BIOAUMENTACIÓN DE UN BIOREACTOR DISCONTINUO PARA LA DEGRADACIÓN DE AGUA RESIDUAL CONTENIENDO UN LÍQUIDO IÓNICO

Claudia Citlalli Pérez-Farías ¹
Angel Fernández Mohedano ²
Elena Díaz Nieto ²
*Iván Moreno-Andrade ¹

BIOAUGMENTATION OF A DISCONTINUOUS
BIOREACTOR FOR THE DEGRADATION OF A
WASTEWATER CONTAINING AN IONIC LIQUID

Recibido el 10 de marzo de 2016; Aceptado el 24 de noviembre de 2016

Abstract

Ionic liquids (IL) has been employed in various industrial applications as solvents are chemical reactions, and compounds were considered friendly to the environment since volatilization is small, decreasing the risk of air pollution. However, it has been found to be soluble in water and showed toxicity to aquatic organisms. Due to the possible use in large-scale industries, it is necessary to determine its biodegradation in the case to be detected in wastewater. The objective of this work was to investigate the biodegradation of an IL model, BmimCl, by microorganisms obtained from an activated sludge wastewater treatment plant in an aerobic SBR system and, to determine if a bioaugmentation of the microbial community can increase the BmimCl degradation efficiency. The results showed that bioaugmentation of activated sludge microbial consortium previously exposed to BmimCl was not demonstrated a significant increase in degrading capacity of the microbial community. The BmimCl concentrations evaluated do not show to be toxic to microorganisms and permits the consumption of the co-substrate and transform the IL. It was demonstrated that there is not an ultimate degradation of the BmimCl, but only a transformation to 1-butylimidazolium.

Key Words: activated sludge; biodegradability; imidazolium; ionic liquid; SBR.

¹ Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Unidad Académica Juriquilla-Querétaro, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

² Dpto. Química Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, España.

*Autor correspondiente. Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Unidad Académica Juriquilla-Querétaro, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México. Blvd. Juriquilla 3001, Juriquilla, 72630, Querétaro, México. Email: imorenoa@ii.unam.mx

Resumen

Los líquidos iónicos (LI) se han empleado en varias aplicaciones industriales como disolventes en reacciones químicas y se han considerado compuestos amigables con el ambiente, ya que su volatilización es muy baja disminuyendo el riesgo de contaminación en el aire. Sin embargo, se ha observado que son solubles en agua y presentan toxicidad para los organismos acuáticos. Debido a su posible uso a gran escala en industrias, es necesario determinar su biodegradación en caso de estar presentes en aguas residuales. El objetivo de este trabajo fue investigar la biodegradación de un LI modelo, el BmimCl, por medio de microorganismos obtenidos de una planta de tratamiento de lodos activados en un sistema SBR aerobio y determinar si una bioaumentación de la comunidad microbiana incrementará la eficiencia de degradación del BmimCl. Los resultados mostraron que, la bioaumentación de lodos activados con un consorcio microbiano previamente expuesto al BmimCl, no tuvo un incremento significativo de la capacidad degradadora de la comunidad microbiana. Las concentraciones probadas de BmimCl no mostraron ser tóxicas para los microorganismos y permite sigan consumiendo un cosustrato y transformar el LI. Se demostró que no existe una degradación última del BmimCl sino solo una transformación a 1-butimidazolio.

Palabras Clave: biodegradabilidad; imidazolio; líquido iónico; lodos activados; SBR.

Introducción

Los líquidos iónicos (LIs) se pueden definir como sales cuya temperatura de fusión es inferior a 100 °C y presentan una alta estabilidad térmica y química, y una extraordinaria capacidad disolvente (Wasserscheid y Welton, 2008). 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-alkilpiridinio, tetraalquilamonio, tetraalquilfosfonio, y un anión poliatómico, entre los que destacan el hexafluorofosfato, tetrafluoroborato, bistriflimida, trifluoroacetato y triflato. Dado el gran número aniones y cationes que potencialmente pueden constituir un LI, 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).

Los LIs se han empleado en varias aplicaciones industriales como disolventes en reacciones químicas (uso mayoritario en hidrogenación, hidroformilación y oxidación), disolventes en reacciones biocatalíticas, como catalizadores, electrolitos en baterías de litio, conductores inertes en celdas solares, lubricantes, agentes de extracción para la separación selectiva de hidrocarburos aromáticos y alifáticos, así como para la recuperación de metales pesados como el mercurio, etc. (Hernández-Fernández *et al.*, 2008).

Los LIs se han denominado disolventes químicos “amigables con el ambiente”, ya que su presión de vapor es baja, con lo que su volatilización es muy baja disminuyendo el riesgo de contaminación en el aire. Sin embargo, se ha observado que los LI son solubles en agua y presentan toxicidad para los organismos acuáticos (reportada como dosis letal media (LD₅₀)

(LD₅₀ oral en ratas entre 50-550 mg/kg) (Pham *et al.*, 2010). Una vez en el medio ambiente, la ecotoxicidad de los LIs puede estar directamente relacionada con su lipofilia (Ranke *et al.*, 2007). Debido a que las membranas biológicas, pueden ser consideradas como interfases no polares, la toxicidad de los LIs en las especies acuáticas es impulsado por la capacidad de los iones de quebrantar esta membrana por un fenómeno de adsorción iónica hidrófoba en la interfaz de la membrana celular (García *et al.*, 2005).

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). 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).

Entre los LIs más estudiados se encuentran los derivados del imidazolio ya que tienen la capacidad de 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 de la contaminación del agua superficial (Romero *et al.*, 2008).

Una de las primeras pruebas de biodegradación con la participación de sales basadas en imidazolio se realizó por García *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), clasificándolos como no fácilmente biodegradables. Stolte *et al.*, (2008) observaron que una 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. Es importante el realizar estudios de la degradación de estos compuestos, ya que en el futuro podrían terminar siendo vertidos en aguas residuales y presentarse como contaminantes en la plantas de tratamiento de aguas residuales.

Un compuesto que ha servido como modelo de los LIs es el 1-butil-3-metilimidazolio (BmimCl). Docherty *et al.* (2015), emplearon microorganismos de dos distintas plantas de tratamiento de agua residual municipal sin encontrar una biodegradación significativa del BmimCl, dicha 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. Estos autores también probaron una bioaumentación por medio del uso de un consorcio enriquecido (haciendo crecer los microorganismos aún presentes a partir del día 28 de la prueba), demostrando que es posible lograr una degradación primaria del LI en un periodo de 38 días (Docherty *et al.*, 2015).

Otros estudios empleando cepas puras han demostrado que *Sphingomonas Paucimobillis*, han obtenido una biodegradación cercana al 40% del líquido iónico en 28 días (Abrusci *et al.*, 2011), pero se ha observado que otras cepas no los metabolizan como es el caso de *Corynebacterium sp.* (Zhang *et al.*, 2010).

Una tecnología que ha demostrado ser eficiente y robusta para el tratamiento de aguas residuales de difícil degradación (inhibitorias), son los reactores discontinuos secuenciales (SBR) (Buitrón *et al.*, 2007; Mace y Mata-Alvarez, 2002). Usualmente, los SBR operan bajo cinco fases cíclicas bien definidas que son: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto (Wilderer *et al.* 2001). Este modo de operación, confiere a estos procesos varias ventajas, entre las que destaca selección y multiplicación de microorganismos especializados aumentando la capacidad de degradación de compuestos inhibitorios (Moreno-Andrade y Buitrón, 2004; Mohan *et al.*, 2005). Se ha reportado, que al tratar aguas inhibitorias, los reactores discontinuos secuenciales son capaces de remover del 60 al 95% de DBO utilizando lodos activados (Metcalf y Eddy *et al.*, 2002). Debido a lo anterior, es posible que el empleo de los SBR genere microorganismos con la capacidad de degradar LI de manera eficiente.

Otro método empleado para aumentar la diversidad biológica y actividad metabólica en bioreactores es la bioaumentación por medio de la adición de microorganismos (cepas puras o cultivos mixtos) que hayan demostrado actividad para degradar los contaminantes de interés, lo que reduce el período de puesta en marcha, aumenta la eficacia, protege a la población microbiana, acelera el proceso de activación de la biomasa, mitiga los efectos de una sobrecarga hidráulica u orgánica, e incluso puede incorporar nuevas propiedades catabólicas en la población microbiana (Park *et al.*, 2008; Wilderer *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2015). Por lo anterior, métodos como la bioaumentación o el uso de SBR podrían ser una opción para lograr la degradación de LI de manera eficiente.

El presente trabajo busca investigar la biodegradación de un LI (el BmimCl), por medio de microorganismos obtenidos de una planta de tratamiento de lodos activados en un sistema SBR aerobio y determinar si una bioaumentación de la comunidad microbiana incrementará la eficiencia de degradación del BmimCl.

Materiales y métodos

Operación de los biorreactores

Se emplearon dos biorreactores SBR tubulares con capacidad de 6 litros y un volumen útil de 4 litros, con un volumen de intercambio del 50%. Los reactores fueron alimentados con una concentración de 50 mg/L de BmimCl, 0.5 g/L de acetato de sodio como cosustrato añadido cada dos días y los siguientes nutrientes de acuerdo con AFNOR (AFNOR, 1985), por cada litro

de agua preparada: 8.5 mg KH_2PO_4 , 10.87 mg K_2HPO_4 , 25.15 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2.5 mg NH_4Cl , 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 H_3BO_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 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

El reactor I (control) fue inoculado con microorganismos 2000 mg/L de SSV provenientes de una planta de tratamiento de agua residual municipal y el reactor II (bioaumentado) fue inoculado con 1000 mg/L de SSV provenientes de la misma planta municipal y 1000 mg/L de SSV de biomasa expuesta durante 100 días a la presencia de 50 mg/L de BmimCl con eficiencias de remoción del compuesto de más del 60%. Se tomaron muestras durante la operación de ambos reactores cada tercer día para realizar los análisis los análisis fisicoquímicos y cromatógrafos correspondientes.

El flujo de aire empleado fue de 1 L/min, regulado por un filtro-regulador LFR serie D marca FESTO, 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 °C dentro del reactor a través de la recirculación de agua con un calentador. Los flujos de entrada del agua residual y salida de agua tratada se realizaron mediante el uso de bombas peristálticas (Masterflex modelo 7518-00 y Masterflex 77200-62 respectivamente).

Técnicas analíticas

Se realizó el seguimiento en el reactor de los sólidos suspendidos volátiles (SSV), el índice volumétrico de lodos (IVL) y la velocidad de sedimentación (V_s) de acuerdo con los Standard Methods (APHA, 1995).

El seguimiento del BmimCl se realizó por medio de de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un equipo Hewlett Packard, (USA) Series 1100, utilizando una columna Phenomenex Luna 5 μm C18 100 Å. La fase móvil 90% de buffer de fosfatos ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$) y 10% de acetonitrilo, empleando 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.

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 μm x 0.25 μm .

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 μL de muestra.

Resultados

Comparación de los biorreactores

Los reactores se operaron durante 100 días. En la figura 1 es posible observar la cinética de degradación del BmimCl. La concentración inicial del BmimCl fue de 32 y 25 mgBmimCl/L para el reactor I y II respectivamente. Las concentraciones finales del BmimCl fueron 10.6 y 12.8 mg/L para el reactor I y II, respectivamente. Los resultados demostraron que existió una remoción del BmimCl en un 67% para el reactor I y 50% para el reactor II.

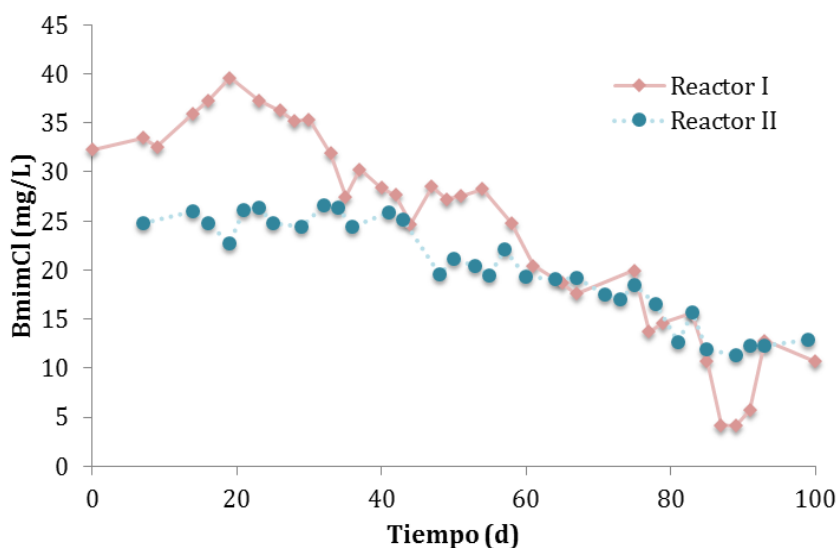


Figura 1. Cinética de degradación del BmimCl en los reactores

Los resultados de la cinética de degradación mostraron que no existe un aumento significativo en la degradación del BmimCl debido a la bioaumentación realizada. La tasa específica de degradación del BmimCl fue de 0.09 y 0.04 mgBmimCl/gSSV/d. 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.

El seguimiento de los SSV se muestra en la figura 2. Es posible observar que existió un aumento en la biomasa el cual se relaciona al consumo del cosustrato adicionado (acetato de sodio). Alrededor del día 40, la cantidad de SSV aumentó, asociándose a la disminución en la concentración del LI en el reactor II. Sin embargo, a pesar de continuar la tendencia de disminución del BmimCl, se denota una caída de los SSV en el ciclo 60 en ambos reactores. Lo

anterior puede deberse a un efecto del imidazolio sobre los microorganismos produciendo en algunos de ellos un efecto de lisis. En el caso de los dos reactores la DQO removida fue de mayor al 95%, lo cual corresponde a la DQO aportada por el cosustrato (acetato de sodio).

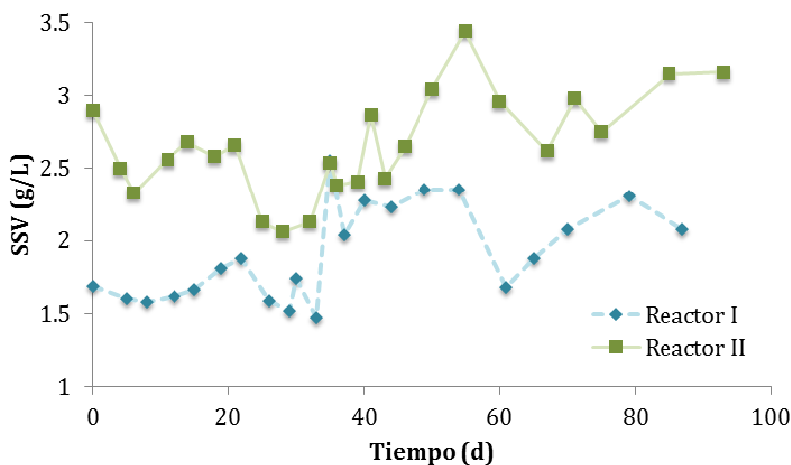


Figura 2. SSV en los reactores SBR

El análisis por GC-MS reveló que el BmimCl solo sufre una degradación primaria, es decir se transforma a otro compuesto, el 1-butilimidazolio, 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. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Liwarska-Bizukojc *et al.* (2013), quienes evaluaron cuatro diferentes LI conteniendo imidazolio (50 mg/L, por medio del test aerobio OECD 302B con lodos activados), llegando a la conclusión que los LI no son fácilmente biodegradables ya que después de 28 días la degradación fue de menos del 3%. A pesar de lo anterior, encontraron solo una inhibición de los microorganismos de los lodos activados entre un 31.6 y 45.7%, con lo que es posible que los LI conteniendo imidazolio no afecten la capacidad de degradación de otros compuestos fácilmente biodegradables, al menos a las concentraciones evaluadas en estos estudios.

La presencia del BmimCl tampoco resultó en una pérdida de la capacidad de sedimentación de la biomasa. La figura 3 presenta el IVL y la Vs de los dos reactores. Es posible observar que los lodos presentaron una buena capacidad de sedimentación ya después de los 20 días de operación, para ambos casos la Vs fue mayor de 12 m/h y el IVL menor a 80m/h.

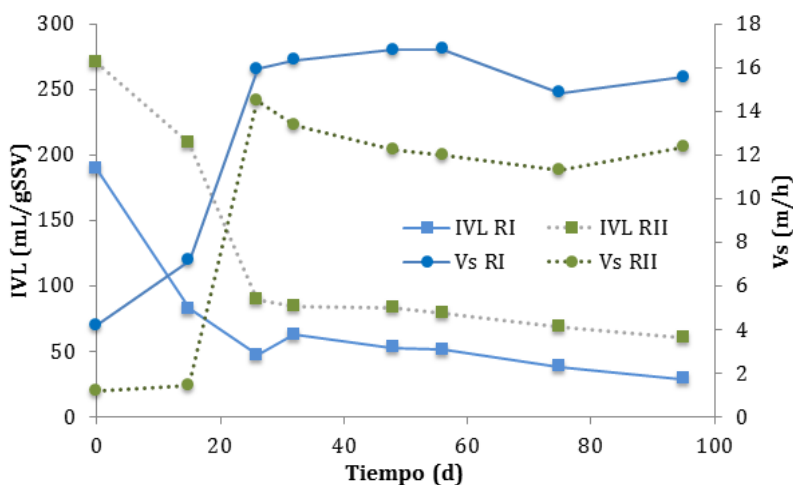


Figura 3. Seguimiento del IVL y Vs en el reactor I (RI) y el Reactor II (RII)

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-butylimidazolio a una relación de masa-carga (m/z) de 124 (figura 4). Pieczyńska *et al.* (2015) llevaron a cabo la transformación del BmimCl por medio de un sistema electroquímico, obteniendo también este intermediario; este resultado es interesante, ya que este podría ser uno de los principales intermediarios no solo al aplicar métodos electroquímicos, sino también biológicos. A lo mejor de nuestro conocimiento no ha sido reportada la ruta de biodegradación para este líquido iónico en sistemas biológicos.

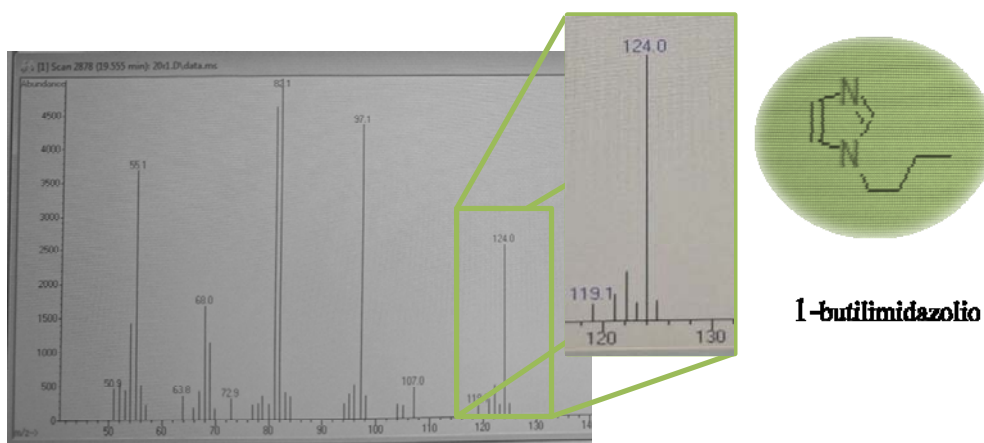


Figura 4. Cromatograma obtenido la presencia del 1-butylimidazolio

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 sea muy rígido y estéricamente inflexible. A pesar de lo anterior, si la molécula del imidazolio llega al sistema del enzimas del citocromo P450 puede ser oxidada 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 la 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 5): 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-buti-3H-imidazolio más formaldehído que se obtiene por la oxidación catalítica del alcohol metílico y por último se genera el 1-butylimidazolio y el ácido fórmico derivado de la oxidación del formaldehído que finalmente tiene como producto final el CO₂.

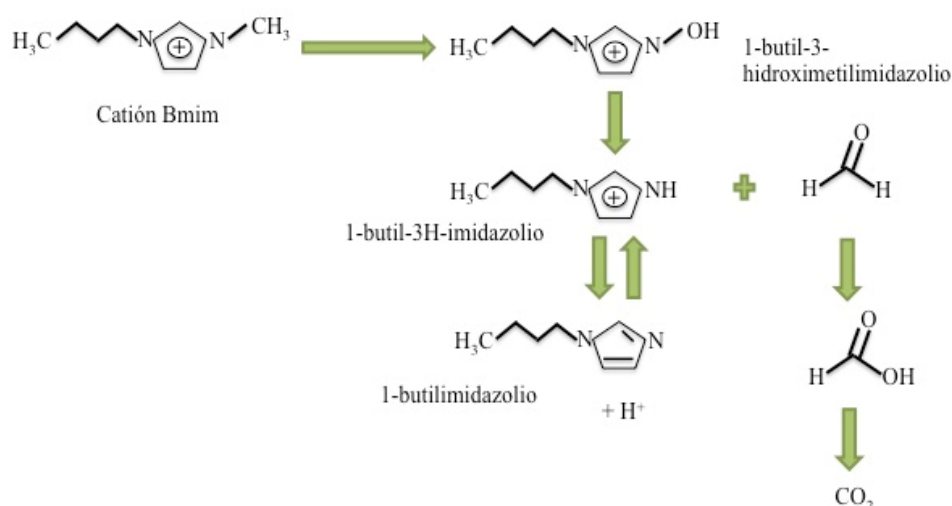


Figura 5. Ruta de degradación propuesta basada en el análisis de GC-MS y rutas teóricas propuestas por Jastorff *et al.* (2003).

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.

Conclusión

Se logró la degradación primaria del BmimCl con un consorcio microbiano proveniente de una planta de tratamiento de agua residual municipal. La bioaumentación de lodos activados con un consorcio microbiano previamente expuesto al BmimCl no tuvo un incremento significativo de la capacidad degradadora de la comunidad microbiana; llegando a un porcentaje de degradación del compuesto original en un 62% y 50% para el reactor I y II, respectivamente: lo que se traduce en una tasa de transformación de 0.09 mgBmimCl/gSSV/d y 0.04 mgBmimCl/gSSV/d, respectivamente. Las concentraciones probadas de BmimCl no mostraron efecto de inhibición en el consumo de cosustrato por los microorganismos y se observó la transformación del LI. Se demostró que no existe una degradación última del BmimCl sino solo una transformación a otro compuesto (1-butilimidazolio) que puedes ser uno de los intermediarios en su completa mineralización.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero del Fondo de Colaboración Internacional del Instituto de Ingeniería de la UNAM (proyecto II-4307), 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 de Jaime Pérez Trevilla y Gloria Moreno Rodríguez.

Referencias bibliográficas

- Abrusci, C., Palomar, J., Pablos, J.L., Rodríguez, F., Catalina, F. (2011) Efficient biodegradation of common ionic liquids by *Sphingomonas paucimobilis* bacterium. *Green Chemistry*. **13**(3), 709-717.
- AFNOR, Evaluation en milieu aqueux de la biodegradabilité aérobie "ultime" des produits organiques solubles. Normalisation française. NFT 90-312 (1985).
- Alexander M. 1999. Biodegradation and Bioremediation. Academia Press. 2da ed., San Diego, California. pp. 453.
- 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.
- Buitron, G., Moreno-Andrade, I., Linares-García, J.A., Pérez, J., Betancur, M.J., Moreno, J.A. (2007) Evaluation of an optimal fill strategy to biodegrade inhibitory wastewater using an industrial prototype discontinuous reactor. *Water Science and Technology*. **55**(7), 47-54.

- Chen, Q., Ni, J., Ma, Y., Liu, T. Zheng, M. (2015) Bioaugmentation treatment of municipal wastewater with heterotrophic-aerobic nitrogen removal bacteria in a pilot-scale SBR. *Bioresource Technology*. **183**, 25-32.
- Docherty, A., Buehler, J., Szymczyna, W. (2015) Ionic liquid biodegradability depends on specific wastewater microbial consortia. *Chemosphere*. **136**,160-6.
- Garcia, M.T., Gathergood, N., Scammells, P.J. (2005) Biodegradable ionic liquids : Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green Chemistry*. **7**, 9-14.
- Hernández-Fernández, F.J., Ríos, A.P. de los, Hernández-Fernández, J., Villora, G. (2008) Los líquidos iónicos en la industria química (I): propiedades y aplicaciones. *Ingeniería Química*. **460**, 194-197.
- Herrero, Stuckey, 2015. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*. **140**, 119-28.
- Hulzebos, E.M., Janssen, P.A.H., Maslankiewicz, L., Meijerink, M.C.M., Muller, J.J.A., Pelgrom, S.M.G., Verdam, L., Vermeire, T.G. (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 pp.
- 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*. **5**, 136-142.
- Liwarska-Bizukojc, M., Stevens, C.V, Gendaszewska, D. (2013) Biodegradability and kinetics of the removal of new peralkylated imidazolium ionic liquids. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 89(5), 763-768.
- Mace, S., Mata-Alvarez, J. (2002) Utilization of SBR Technology for Wastewater Treatment: An Overview. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. **41**, 5539–5553.
- Matzke, M., Thiele, K., Müller, A., Filser, J. (2009) Sorption and desorption of imidazolium based ionic liquids in different soil types. *Chemosphere*. **74**, 568–574.
- 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.
- Mrozik, W., Kotłowska, A., Kamysz, W., Stepnowski, P. (2012) Sorption of ionic liquids onto soils: experimental and chemometric studies. *Chemosphere*. **88**, 1202–1207.
- Mohan S.V., Falkentoft, C., Nancharaiah Y. D., McSwain, B., Wattiaua, P., Wilderer, P.A., Wuertz, S., Hausner, M., (2009) Bioaugmentation of microbial communities in laboratory and pilot scale sequencing batch biofilm reactors using the TOL plasmid, *Bioresource Technology*. **100**, 1746-1753.
- 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 Biochemistry*. **40**, 1501–1508.
- Moreno-Andrade, I., Buitrón, G., 2004. Variation of the microbial activity during the acclimation phase of a SBR system degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology*. **50**(10), 251-258.
- Park, D., Lee, D.S., Kim, Y.M., Park, J.M. (2008), Bioaugmentation of cyanide-degrading microorganisms in a full-scale cokes wastewater treatment facility. *Bioresource Technology*. **99**, 2092-2096.
- Pieczynska, A., Ofiarska, A., Fiszka-Borzyszkowska B-B., Stepnowski, P., Stolte, S., Siedlecka, E.M. (2015) A comparative study of electrochemical degradation of imidazolium and pyridinium ionic liquids: A reaction pathway and ecotoxicity evaluation. *Separation and Purification Technology*. **156**(2), 522-534.
- Pham, T.P., Cho, C.-W., Yun, Y.-S. (2010) Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Research*. **44**, 352–372.
- Ranke, J., Müller, A., Bottin-Weber, U., Stock, F., Stolte, S., Arning, J., Störmann, R., Jastorff, B. (2007) Lipophilicity parameters for ionic liquid cations and their correlation to in vitro cytotoxicity. *Ecotoxicology Environmental Safety*. **67**, 430–438.
- Rodríguez González, J.C., Rodeiro Guerra, I. (2014) El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. *Revista Cubana de Farmacia*. **48**, 495–507.
- Romero, A., Santos, A., Tojo, J., Rodríguez, A. (2008) Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. *Journal of Hazardous Materials*. **151**, 268–273.

- Stepnowski, P., Mroziak, W., Nischthäuser, J. (2007) Adsorption of alkylimidazolium and alkylpyridinium ionic liquids onto natural soils. *Environmental Science and Technology*. **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 Chemistry*. **10**, 214–224.
- Wasserscheid, P., Welton, T. (2008) *Ionic Liquids in Synthesis*. Wiley-VCH, Weinheim.
- Wilderer, P.A., Irvine R.L., Goronszy, M.C. (2001) *Sequencing Batch Reactor Technology*. IWA Publishing. ISBN13: 9781900222211, pp.100.
- Zhang, W., Malhotra, D.F. (2010) Biodegradation of pyridinium-based ionic liquids by an axenic culture of soil Corynebacteria. *Green Chemistry*. **12**, 851-858.