



## TOLERANCIA DE *E. coli* A DIFERENTES TIPOS DE LÍQUIDOS IÓNICOS PARA SU APLICACIÓN EN BIORREACTORES DE PARTICIÓN

Daniel Torres Martínez<sup>1</sup>, Marianela Orozco Soto<sup>1</sup>, Jessica Libertad Flores Juárez<sup>1</sup>, Lilia Arely de Jesús Prado Barragán<sup>1</sup>, Mariano Gutiérrez Rojas<sup>1</sup>, Luciano Aguilera Vázquez<sup>2</sup>, Sergio Huerta Ochoa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa Av San Rafael Atlixco No. 186, Col Vicentina, México D.F., CP 09340, teléfono/fax: 01(55)58046554, sho@xanum.uam.mx. <sup>2</sup>Universidad Politécnica de Pachuca, Carretera Pachuca-Cd. Sahagún, km 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara, Municipio de Zempoala, Hidalgo, C.P. 43841

Palabras clave: líquido iónico, tolerancia, biorreactores de partición

**Introducción.** Los líquidos iónicos pueden ser considerados como reemplazo de solventes orgánicos en un amplio intervalo de bioconversiones con células completas y enzimas<sup>1</sup>. Se han realizado pocos estudios de toxicidad y ecotoxicidad de los líquidos iónicos, los cuales son necesarios para poder considerarlos como solventes verdes<sup>2</sup>. Los biorreactores de partición son usados para controlar la liberación de un sustrato tóxico de una fase líquido iónico, a una fase acuosa que contiene las células; así como efectuar la remoción *in situ* del producto. Se ha demostrado que bacterias como *L. delbruekii subsp. lactis* NRIC 1683 puede crecer en presencia de líquidos iónicos del tipo imidazolium y que el incremento en la longitud de la cadena alquilo sustituyente del anillo imidazolium, aumenta la toxicidad de los líquidos iónicos<sup>3</sup>. La cepa *E. coli* TOP10[pQR239] ha sido desarrollada para la producción de lactonas, para la síntesis de químicos finos y fármacos<sup>4</sup>.

El objetivo de este trabajo es analizar la tolerancia de *E. coli* TOP10[pQR239] a un sistema de dos fases acuoso líquido iónico, para su aplicación en biorreactores.

**Metodología.** La fase acuosa consistió en buffer de fosfatos 50mM, pH=7 y los líquidos iónicos analizados fueron: Trioctilmetilamonio bis[(trifluorometil) sulfonil] imida, [OMA][BTA], y butilmetilpirrolidinium bis[(trifluorometil) sulfonil] imida, [MeBuPyrr][BTA]. Se utilizaron células de *E. coli*. Se determinó la solubilidad de los líquidos iónicos en agua. Para determinar la tolerancia de las células se usó la técnica de cuenta en placa. Los tratamientos consistieron en utilizar una solución de fosfatos saturada con líquido iónico (Fosfatos sat), en agitación constante a 200 rpm, 1 h, 30°C y una solución de fosfatos con líquido iónico al 9% v/v (sistema bifásico), para cada uno de los líquidos iónicos. Se utilizó como blanco una solución de fosfatos.

**Resultados y discusión.** A pesar de que los dos líquidos iónicos estudiados son inmiscibles con el agua, éstos son parcialmente solubles. Se observó que el líquido iónico [MeBuPyrr][BTA] es más soluble en agua que el [OMA][BTA], 5.4 y 0.02 g/L, respectivamente.

Se obtuvo que el [MeBuPyrr][BTA] resultó ser el líquido iónico más tóxico (ver Figura 1). No existieron diferencias significativas entre la solución de fosfatos saturada con [OMA][BTA] y cuando se tienen el [OMA][BTA] al 9% v/v (sistema bifásico), por lo que posiblemente el mayor efecto en la toxicidad este relacionado con la biodisponibilidad del líquido iónico.

La toxicidad molecular causada por las moléculas disueltas de líquido iónico podría resultar del efecto de varios factores: inhibición enzimática, desnaturalización de las

proteínas y modificación de la membrana celular debido a la acumulación del solvente<sup>3</sup>.

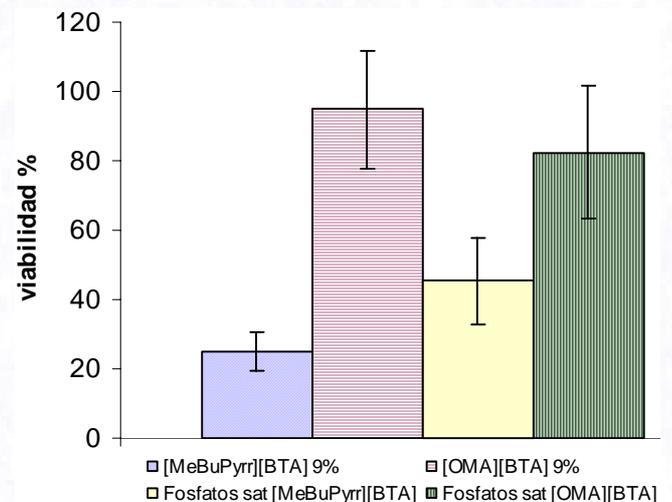


Figura 1. Viabilidad de *E. coli* en diferentes líquidos iónicos.

**Conclusiones.** El líquido iónico [OMA][BTA] resultó ser significativamente ( $\alpha=0.0419$ ) más biocompatible que el [MeBuPyrr][BTA]. El líquido iónico más soluble fue el más tóxico, por lo que la solubilidad posiblemente esté relacionada con la toxicidad de los líquidos iónicos. El estudio de biocompatibilidad permite evaluar a líquidos iónicos como una opción en medios de reacción para biorreactores de partición.

**Agradecimientos:**

CONACYT proyecto No. SEP-2003-CO2-42694

**Bibliografía.**

- Roberts, N.J., Lye, G.J. (2002). Application of Room Temperature Ionic Liquids in Biocatalysis Opportunities and Challenges. En: *Ionic liquids: Industrial Applications for Green Chemistry*. Rogers, R.D., Seddon, K.R. Eds American Chemical Society. EUA, Washington DC. 347-359.
- 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*, vol(5): 136-142.
- Matsumoto, M., Mochiduki, K., Kondo, K. (2004). Toxicity of Ionic Liquids and Organic Solvents to Lactic Acid-Producing Bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering* vol(98):344-347.
- Doig, S. D., Avenell, P.J., Bird, P. A., Gallati, P., Lander, K. S., Lye, G. J., Wohlgemuth, R., Woodley, J. M. (2002). Reactor Operation and Scale-up of Whole Cell Baeyer-Villiger Catalyzed Lactone Synthesis. *Biotech.Prog.* vol(18):1039-1046.