



## Determinación biocatalítica de azufre en diesel

Eduardo Torres, José Campos, Alia Méndez, Karem Zuñiga, Jorge Aburto. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Posgrado en Ciencias Ambientales. Puebla 72570. [eduardo.torres@correo.buap.mx](mailto:eduardo.torres@correo.buap.mx)

Palabras clave: azufre, peroxidasa, biosensor

**Introducción.** El contenido de zulfre de las diferentes corrientes de petróleo es cada vez menor debido a la presión de la normatividad ambiental internacional. Ello ha llevado a su vez al desarrollo de instrumentos y metodologías altamente sensibles y rápidas para su detección y cuantificación.

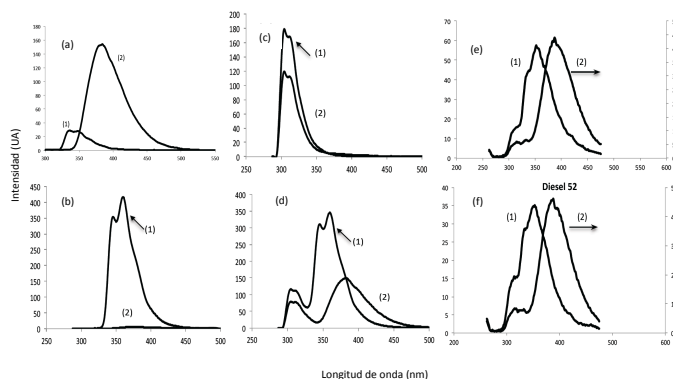
En este trabajo se presenta una metodología biocatalítica que permite cuantificar azufre en diesel de manera rápida, exacta, reproducible, precisa y sensible. La estrategia consiste en oxidar enzimáticamente a la muestra de diesel, registrar selectivamente la intensidad de la emisión de luz de los azufrados oxidados, y cuantificarlos con base a una curva de calibración del estándar de azufre 4,6 dimetil dibenzotiofeno (DMDBT).

**Metodología.** Se llevó a cabo la oxidación de 5 diesel previamente desulfurados con la enzima cloroperoxidasa usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante. La muestra oxidada se excitó a 240 nm, y se registró la intensidad de emisión a 390 nm. Se preparó una curva de calibración con un compuesto modelo de azufre en diesel, DMDBT (recalcitrante a la desulfurización). Para ambas muestras se utilizó peróxido de hidrógeno en un sistema amortiguado pH 3 60 mM. A partir de la curva de calibración se calculó el contenido de azufre y se validó con el valor obtenido por la técnica estándar de Fluorescencia de Rayos X.

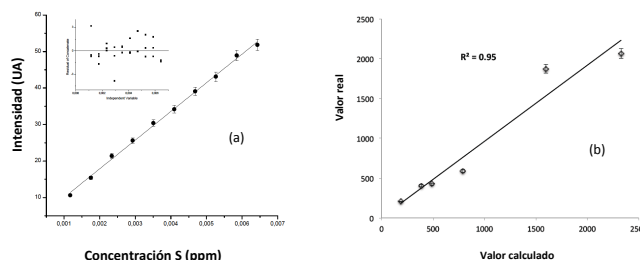
**Resultados.** La cloroperoxidasa tiene la capacidad de oxidar los compuestos aromáticos presentes en el diesel, resultando en productos oxidados con diferentes propiedades espectroscópicas. El 4,6 dimetil dibenzotiofeno, muestra una banda de emisión de luz desplazada alrededor de 30 nm hacia el rojo (de 350 a 380 nm) (Fig. 1a), lo que permitiría su detección y cuantificación de manera selectiva en el diesel, ya que el resto de aromáticos y policíclicos no muestran esta banda (Fig 1b,c,d). El rango de concentración adecuado para detección y cuantificación fue en el orden de  $\mu\text{g/L}$ , lo que en principio indica alta sensibilidad de la metodología (Fig. 2a).

Los diesel oxidados enzimáticamente mostraron espectros de emisión similares al compuesto modelo, con la aparición de una banda máxima de emisión a 388 nm (Fig. 1 e, f). Los valores obtenidos del contenido de azufre en los diesel usando la curva de calibración del DMDBT, y se compararon con los valores reales obtenidos por Fluorescencia de rayos X, el resultado indica una excelente aproximación, con un coeficiente de correlación de 0.95 (Fig. 2b).

De acuerdo con la curva de calibración, los límites de detección y cuantificación fueron calculados como 3 y 10 veces la desviación estandar de las mediciones del blanco (cero concentración de azufre, el cual fue tomado como el intersepto de la recta), por lo que los valores obtenidos fueron 0.84 ppm and 3.8 ppb, respectivamente. Las reacciones son llevadas a cabo en 2 minutos, y los valores de las desviaciones estandar relativas fueron menores al 3 %.



**Fig. 1.** Espectro de emisión del DMDBT (a) carbazol (b), antraceno (c), mezcla de estos compuestos (d), diesel (e, f), antes (1) y después (2) de ser oxidados enzimáticamente.



**Fig. 2.** (a) Curva de calibración del DMDBT oxidado. (b) Curva de valores de contenido de azufre reales contra calculados de los diferentes diesel ensayados

**Conclusiones.** La metodología biocatalítica desarrollada resulta ser rápida, sensible, precisa, y exacta, lo que permite visualizar un eventual biosensor a base de cloroperoxidasa.

**Agradecimiento.** VIEP/BUAP. DITCo2015-13  
**Bibliografía**

- Aburto P, Zuñiga K, Campos-Terán J, Aburto J, and Torres E (2014). *Energy Fuels*. Quantitative Analysis of Sulfur in Diesel by Enzymatic Oxidation. Steady-State Fluorescence, and Linear Regression Analysis. 28, 403–408
2. Cuantificación biocatalítica de azufre en diesel. Número de expediente MX/a/2012/014946. Folio MX/E/2012/092645