

## AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS DESULFURADORAS DE DIBENZOTIOFENO.

Gladys Castorena, Claudia Suárez, Luis Fernández y Sylvie Le Borgne. Instituto Mexicano del Petróleo, Programa de Biotecnología del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas No. 152, Col. San Bartolo Atepehuacan, 07730 México D.F. Fax: (52) 53-68-14-00. Correo electrónico: [slborgne@imp.mx](mailto:slborgne@imp.mx).

Palabras clave: *biodesulfuración, dibenzotiofeno, ruta "4S"*

**Introducción.** La quema de combustibles de transportación derivados del petróleo libera óxidos de azufre (SO<sub>x</sub>) a la atmósfera, los cuales son responsable de la formación de la lluvia ácida. Para reducir la emisión de los SO<sub>x</sub>, se han establecido normas muy estrictas que requieren una reducción progresiva del contenido de azufre en diesel hasta menos de 15 ppm para el en los Estados Unidos (1). Sin embargo, la proporción de crudos pesados con un alto contenido de azufre se incrementa en las corrientes de entrada a las refinerías mexicanas, mientras que la demanda de combustibles de bajo contenido de azufre aumenta. Por lo tanto, se requiere procesos de refinación eficientes y limpios para alcanzar esta normatividad. Un posible enfoque es la desulfuración biocatalítica o biodesulfuración (BDS) de combustibles.

El objeto de este trabajo es aislar y caracterizar cepas aeróbicas capaces de desulfurar el dibenzotiofeno (DBT) y su derivado metilado el 4,6 dimetil-dibenzotiofeno (4,6 dimetil-DBT). Estos dos compuestos se encuentran concentrados en el diesel y son los más difícil de desulfurar por los métodos fisicoquímico tradicionalmente empleados en las refinerías.

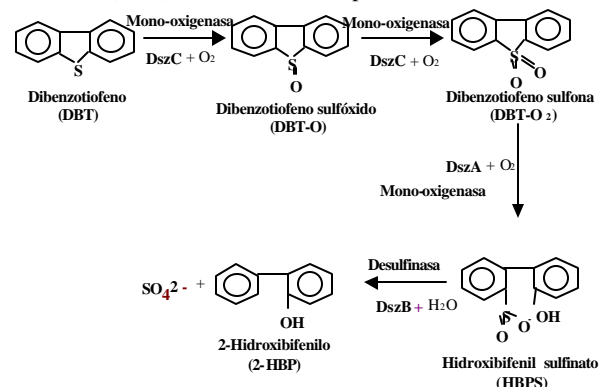
**Metodología.** Para el aislamiento se tomaron muestras de suelos contaminados con hidrocarburos en las diferentes refinerías de México, el enriquecimiento se realizó en un medio mineral líquido con glicerol y DBT como únicas fuentes de carbono y azufre respectivamente. Las cepas desulfuradoras se aislaron por estría en el mismo medio sólido. Las cepas fueron observadas por microscopía óptica después de tinción de Gram. Las curvas de crecimiento fueron obtenidas en medio de Gilbert (2). El DNA genómico fue extraído a partir de cultivos en medio de Gilbert con mutanolisina, lizozima y CTAB (hexadecyltrimethyl amonium bromide). El gen *dszC* fue obtenido por PCR (Polymerase Chain Reaction). La cepa *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 sirvió de control en nuestros experimentos (3).

**Resultados y discusión.** Cuatro cepas denominadas S02, S06, A17 y S24 fueron capaces de utilizar el DBT y el 4,6 dimetil-DBT como única fuente de azufre, indicando su capacidad para desulfurar estos sustratos. En la observación microscópica, estas cepas se presentaron todas como bacilos Gram – al igual que la cepa IGTS8. S02 fue la única que presentó un dimorfismo, coco-bacilar, parecido al de la IGTS8. IGTS8 es la primera cepa aislada y patentada en 1992 capaz de remover selectivamente el átomo de azufre del DBT sin degradar la matriz hidrocarbonada de este compuesto (3). Contrariamente a IGTS8, las cepas aisladas en este trabajo parecieron no producir surfactantes. Las curvas de crecimiento de las diferentes cepas en base a la cantidad de proteína y

utilizando como fuente de azufre el DBT y el 4,6 dimetil DBT mostraron IGTS8 fue la que presentó el mejor crecimiento. Cabe mencionar que esta cepa no es silvestre y fue mutada. Para todas las cepas se detectó una disminución del DBT acompañada de la aparición de 2-hidroxibifenilo que es un producto típico de la desulfuración por la ruta "4S" (figura 1).

Figura 1: Desulfuración del DBT por *R. erythropolis* IGTS8 (ruta "4S") (4).

Se realizó la amplificación por PCR del primer gene de la ruta "4S" (*dszC*). Con todas las cepas se obtuvo una banda



de 1,250 pbs idéntica a la del gene *dszC* de la cepa IGTS8.

**Conclusiones.** Las cuatro cepas aisladas en refinerías mexicanas son capaces de desulfurar el DBT utilizando la ruta metabólica "4S" ya descrita. Por lo tanto estas cepas son buenas candidatas para el desarrollo de un proceso de BDS de combustibles como el diesel ya que desulfuran el DBT sin degradar evitando así disminuir el valor energético del combustible.

### Bibliografía.

1. Fletcher, S. (2000). US EPA proposes severe diesel sulfur limits. *Oil&Gas J.* Online Story (May 17, 2000).
2. Gilbert, S.C., Morton, J., Buchanan, S., Oldfield, C. y McRoberts, A. (1998). Isolation of a unique benzothiophene desulphurizing bacterium, *Gordona* sp. strain 213E (NCIMB 40816), and characterization of the desulphurization pathway. *Microbiol.* 144:2545-2553.
3. Kilbane, J.J. (1992). Mutant microorganisms useful for cleavage of organic C-S bonds. US Patent 5,104,801.
4. Denome, S.A., Oldfield, C., Nash, L.J. y Young, K.D. (1994) Characterization of the desulfurization genes from *Rhodococcus* sp. strain IGTS8. *J. Bacteriol.* 176:6707-6716.