

## DESULFURACION MICROBIOLOGICA DE COMPUESTOS ORGANO-AZUFRADOS PRESENTES EN EL DIESEL

Gladys Castorena, Sylvie Le Borgne. Programa de Biotecnología del Petróleo. Instituto Mexicano del Petróleo. Eje Central Lázaro Cárdenas 152, México 07730, Fax 53681400. Correo electrónico: gcastore@imp.mx

Palabras Clave: *desulfuración dibenzotiofeno, lluvia ácida.*

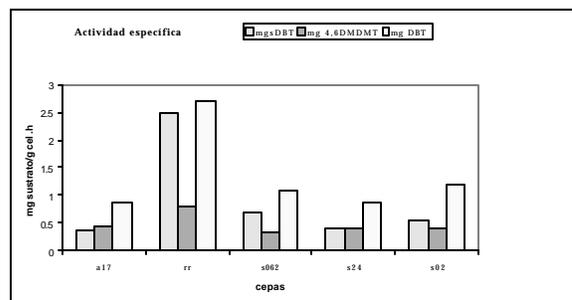
**Introducción.** El combustible fósil al quemarse libera a la atmósfera el azufre que contiene en forma de óxidos los cuales son precursores de la lluvia ácida. En el diesel se encuentran diversos compuestos organoazufrados, estudios realizados demuestran que los dibenzotiofenos sustituidos (DBTs), en especial la posición 4,6 son los compuestos más recalcitrantes a los procesos tradicionales para remover el azufre. La biodesulfuración, consiste en utilizar agentes biológicos, para eliminar el azufre; a principios de los noventa la mayoría de los estudios se enfocaban al DBT, pero dada las tendencias de la normatividad la mayoría de las investigaciones recientes en biodesulfuración se centraron en microorganismos capaces de desulfurar DBTs (1).

**Metodología.** Cepas aisladas a partir de suelos contaminados en refinerías mexicanas fueron cultivadas en medio de Gilbert (2) conteniendo dibenzotiofeno (DBT), la sulfona del dibenzotiofeno (SDBT) ó el 4,6 dimetil dibenzotiofeno (4,6 DM DBT) como única fuente de azufre. Las células son incubadas en matraces durante una semana a 180 r.p.m. y 30°C, las muestras fueron tomadas por triplicado. Terminado el tiempo de incubación, se adición acetoneitrilo 1:1 v/v para extraer tanto a los sustratos azufrados como a los metabolitos generados. Se centrifugó la muestra para separar la biomasa, el sobrenadante se analizó por HPLC con una columna en fase reversa empleando una mezcla acetoneitrilo/agua 80/20 en condiciones isocráticas y longitud de onda de 225 nm. Se utilizó el microorganismo *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 como cepa control. El crecimiento se determinó como una medida indirecta, cuantificando las proteínas con el reactivo de Coomassie.

**Resultados y Discusión.** De las cepas aisladas con las que se trabajaron solo las cepas S02, S06, A17 y S24 fueron capaces de crecer utilizando el DBT, SDBT y el 4,6 DM DBT como única fuente de azufre. En la figura 1 se muestran los resultados de la actividad específica para cada uno de los compuestos organoazufrados probados, siendo las cepas S02 y S06 las de mayor actividad. En todos los sustratos la cepa *R. erythropolis* IGTS8 presentó mejor crecimiento que las cepas silvestres. En cada uno de los cultivos se detectó una disminución del DBT o del SDBT y la aparición de hidroxibifenilo como metabolito de la biodesulfuración. El hidroxibifenilo es un producto típico de la desulfuración por la vía 4S (1) descrita para *R. erythropolis* IGTS8. Por lo que suponemos que las cepas aisladas deben seguir una ruta semejante.

**Fig 1.** Actividad específica por sustrato y microorganismo.

En el caso del 4,6 DM DBT se observó su disminución y



la aparición de un compuesto más polar que el DBT, de acuerdo al orden de elución, este producto pudiera ser el hidroxibifenilo del 4,6 dimetil DBT. Es importante señalar que en este sustrato el crecimiento es menor, resultado previsto debido a que este último compuesto es más complejo y por lo tanto más difícil de degradar debido a la presencia de grupos metilos que dificultan el acceso de las enzimas al átomo de azufre.

**Conclusiones.** Los productos de degradación de los sustratos azufrados son los mismos para todos los microorganismos. En el caso del DBT y la SDBT la molécula se oxida hasta hidroxibifenilo por lo que podríamos suponer que son las mismas rutas metabólicas de tipo 4S. En el caso del 4,6 DM DBT los microorganismos pueden emplearlo como fuente de azufre pero no se ha podido identificar hasta el momento el producto de la desulfuración. Las cepas tienen la misma capacidad de asimilar el azufre del DBT que del SDBT. Las cepas silvestres que dieron mejores resultados fueron S06 y S02.

### Bibliografía

- Groosman, M., Lee, M., Price R., Minak-Bernero, V., George, G. y Pickering, I. (2001) Deep Desulfurization of extensively hydrodesulfurized middle distillate oil by *Rhodococcus* sp. strain ECRD-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(4):1949-1952.
- Gilbert, S.C., Morton, J., Buchanan, S., Oldfield, C. y McRoberts, A. (1998) Isolation of a unique benzothiophene desulfurizing bacterium, *Gordona* sp. strain 213E (NCIMB 40816), and characterization of the desulfurization pathway. *Microbiol.*, 144:2545-2553.