



ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACIÓN DE TOLUENO A TRAVÉS DE UNA RUTA MODELO EMPLEANDO EL ANÁLISIS DE FLUJOS METABÓLICOS

Cristal Zúñiga Peña, Alejandro Zepeda Pedreguera, Luciano Aguilera Vázquez*

Universidad Politécnica de Pachuca, Carr. Pachuca – Cd. Sahagún km 20, Rancho Luna, Zempoala, Hgo. C.P. 43830, luciano.aguilera@gmail.com

Degradación de tolueno, análisis de flujo

Introducción. El análisis de flujos metabólicos permite conocer más a fondo la fisiología celular de microorganismos, sin necesidad de conocer cada uno de las reacciones bioquímicas que intervienen en el metabolismo. Esta estrategia ha permitido conocer el catabolismo de microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* y *Escherichia coli* (Chasnole *et al.*, 2002; Rizzi *et al.*, 1997). Aplicando esta misma metodología es posible conocer la fisiología de microorganismos involucrados en la degradación de contaminantes como tolueno por parte de microorganismos como *Pseudomonas sp.* La Figura 1 muestra una red metabólica de las posibles rutas involucradas en la degradación de tolueno por el género *Pseudomonas*. Estas bacterias son capaces de degradar contaminantes como los BTEX, mismos que son parte importante en las gasolinas.

El presente trabajo tiene por objeto brindar una primera aproximación de la distribución de flujos de carbono durante la degradación de tolueno por parte del género de bacterias *Pseudomonas*.

Materiales y Métodos. Para el análisis de este tipo de redes metabólicas se programó una librería en lenguaje de álgebra simbólica de Maple V, versión 10. Dicha librería se realizó en base al análisis de un sistema sobredeterminado y en la identificación y corrección de errores en las velocidades de reacción medidas. En modelo seleccionado se basa en la siguiente ecuación escrita en notación matricial:

$$AS + BP + \Gamma X_{\text{macro}} + GX_{\text{met}} = 0$$

donde **A**, **S**, Γ y **G** son matrices estequiométricas que contienen los coeficientes de todas las reacciones, así como las velocidades de reacción de las enzimas involucradas. Para la validación del modelo empleado se utilizaron datos experimentales publicados (Stephanopoulos *et al.*, 1998), considerando la redundancia de datos para dicho proceso de validación.

Resultados y Discusión. Para el análisis de flujos se recabó información cinética publicada para las enzimas involucradas en la ruta de la Figura 1. En los análisis se encontró que existía dependencia lineal en el balance general propuesto. Se consideró además que la ruta tiene una parte lineal que pudo ser sustituida por una sola reacción. Se realizaron experimentos considerando que era posible tener las tres reacciones iniciales en un solo microorganismo, observándose que se acelera el paso inicial en la degradación de tolueno pero con una acumulación de HOV en la parte inferior de la ruta. Además,

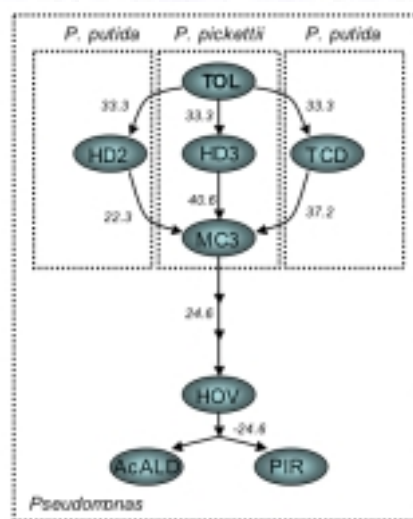


Fig. 1. Red metabólica de la degradación del tolueno. TOL: Tolueno, HD2: 2-hidroxitolueno, HD3: 3-hidroxitolueno, MC3, 3-Metilcatecol, HOV: 4-hidroxi-2-oxo-valerato, PIR: Piruvato, AcALD: Acetaldehído.

estimaciones de los flujos realizadas considerando sólo una reacción de las tres que degradan inicialmente tolueno indican que se le incorporan tres flujos rutas externas más como son la ruta del m-xileno y o-xileno, la ruta del 1-metilnaftaleno y la del carbazole.

Conclusiones. Así, el estudio realizado con apoyo en la librería programada permitió establecer que es necesario incorporar varias enzimas en una ruta para poder aumentar la velocidad global del proceso degradativo de tolueno. Aumentar o disminuir la velocidad de una única enzima puede tener repercusiones importantes en el procesos completo.

Agradecimientos. Se agradece a la Universidad Politécnica de Pachuca por las facilidades prestadas para la realización del presente trabajo.

Referencias.
Stephanopoulos, G. N., Aristidou, A. A., & Nielsen, J. (1998). *Metabolic Engineering. Principles and Methodologies*, Academic Press
Chasnole, C., Noisommit-Rizzi, N., Schmid, J. W., Mauch, K., & Reuss, M. (2002). Dynamic modeling of the central carbon metabolism of *Escherichia coli*. *Biotechnology and Bioengineering*, 79(1):53-73.
Rizzi, M., Balthes, M., Theobald, U., & Reuss, M. (1997). *In vivo* análisis of metabolic dynamics in *Saccharomyces cerevisiae*: II Mathematical model. *Biotechnology and Bioengineering*, 55:592-608.