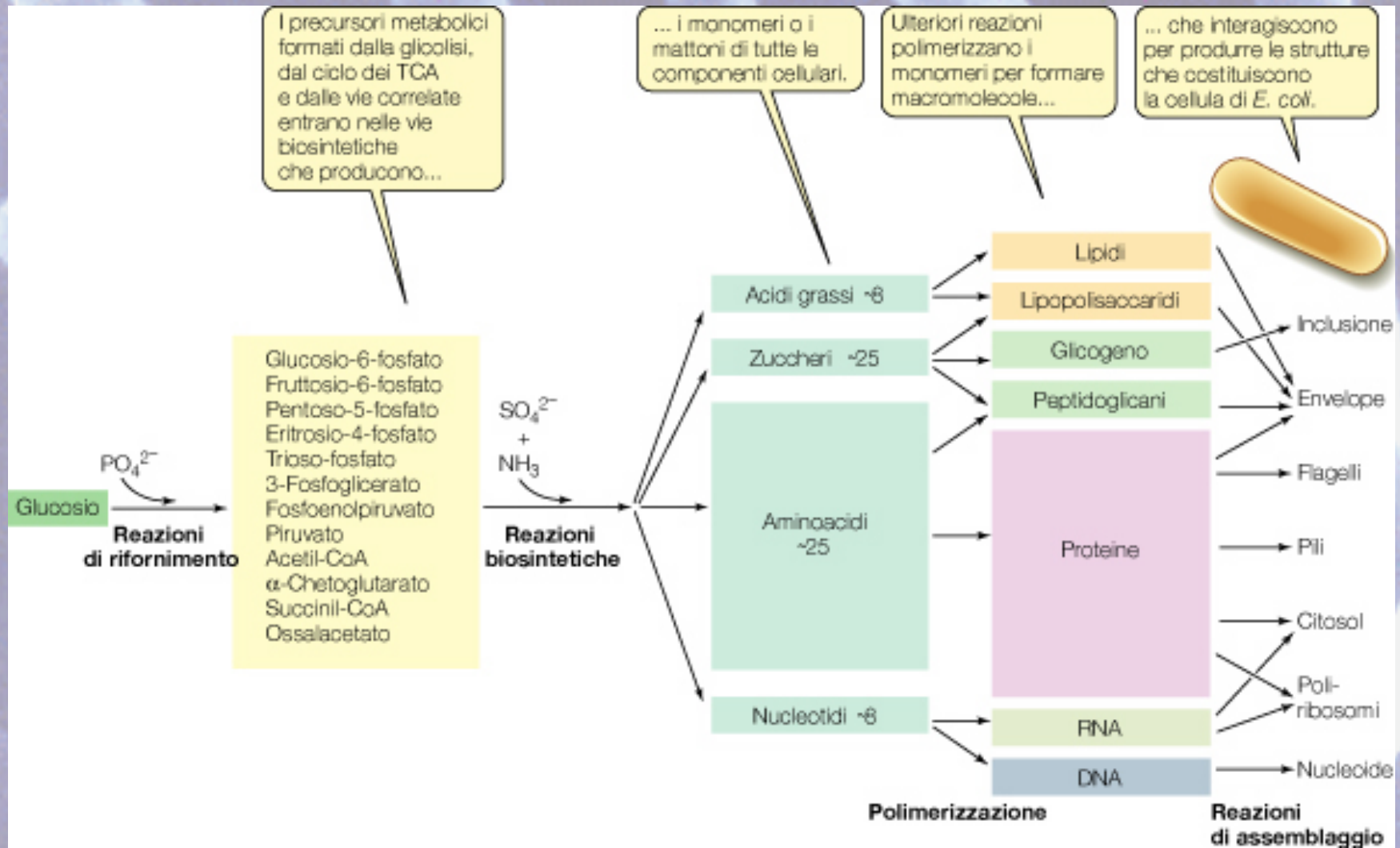


A microscopic image showing several rod-shaped bacteria, likely Bacillus or Clostridium species, arranged in various orientations. The bacteria are light blue or white against a darker background. Some are single, some are in pairs, and some are in chains. The image is used as a background for the text.

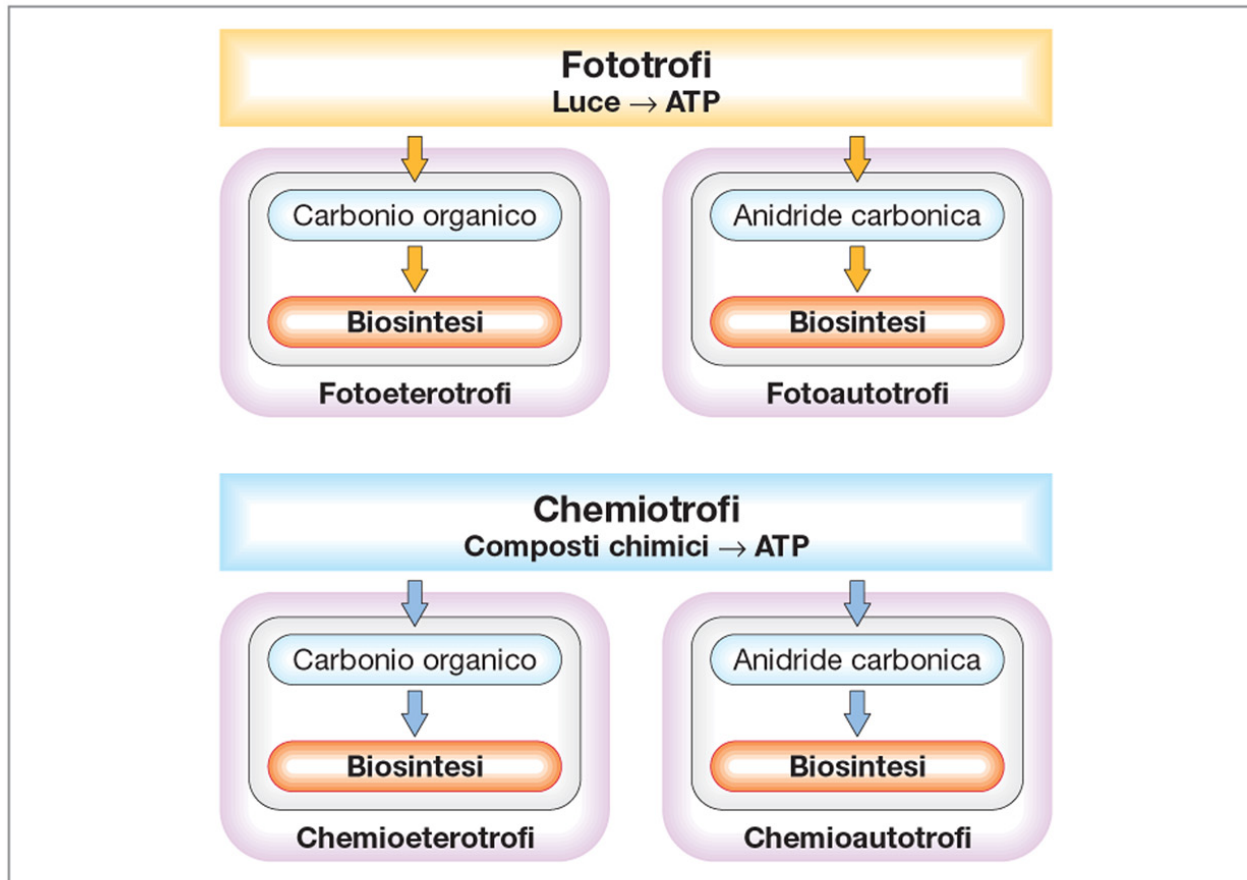
Microbiologia generale

Metabolismo

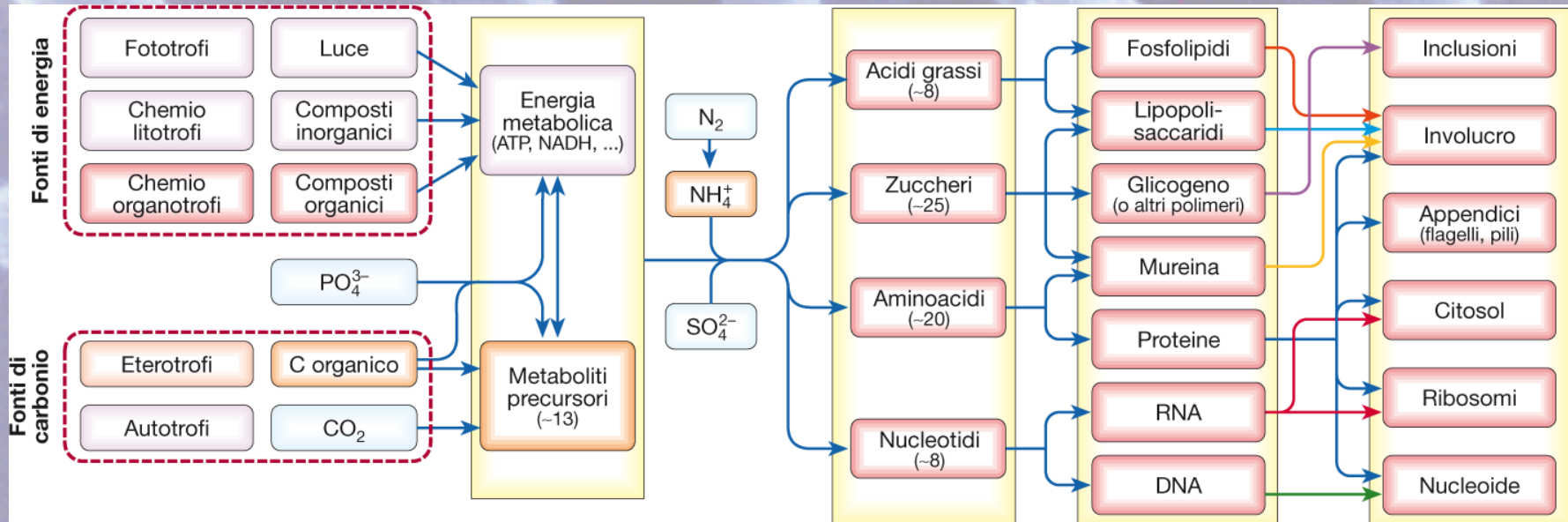
Il metabolismo e la formazione di nuove cellule



Fonte di energia nei processi metabolici



Schema generale del metabolismo



rete di reazioni che porta alla sintesi di una cellula batterica a partire da fonti di carbonio, fonti di energia e pochi semplici sali degli elementi chimici indispensabili alla cellula

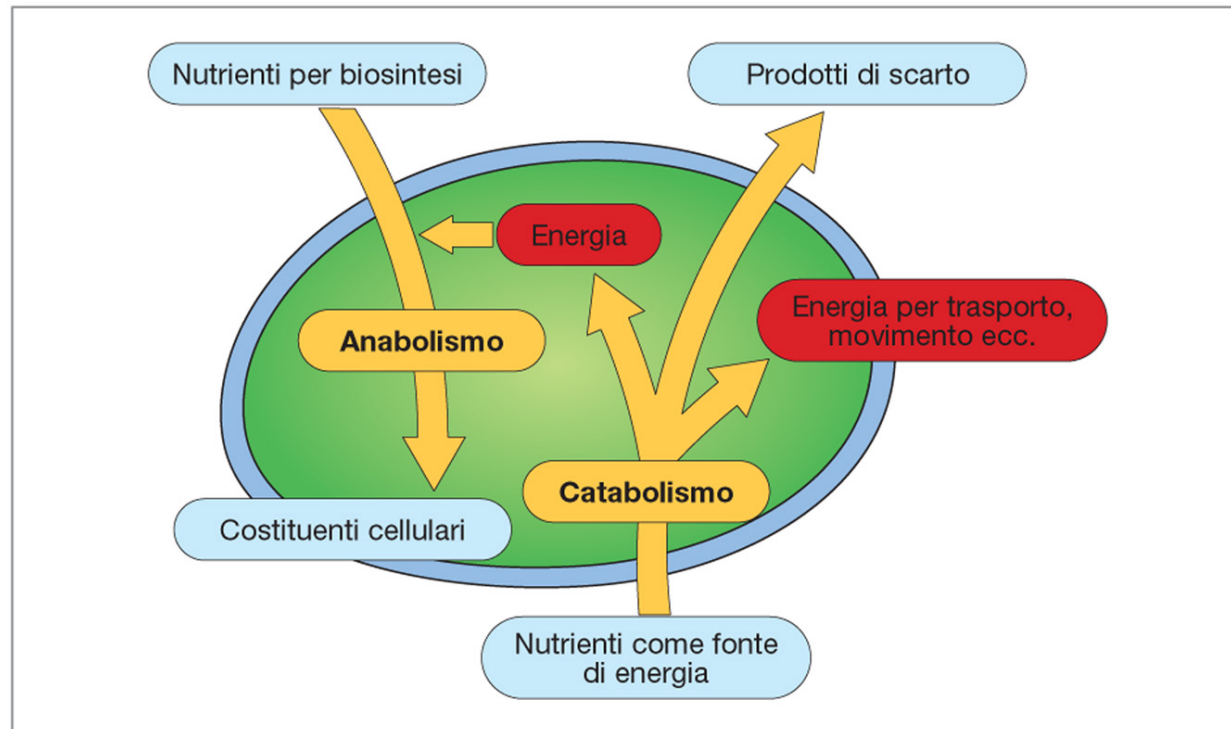
Altri fattori che influenzano il metabolismo: l'ossigeno

- **Aerobi stretti**: non possono crescere in assenza di ossigeno, che usano come accettore finale nelle catene respiratorie di trasporto degli elettroni
- **Microaerofili**: aerobi stretti che crescono meglio a basse concentrazioni di ossigeno
- **Anaerobi stretti**: non utilizzano l'ossigeno nel metabolismo energetico (usano la fermentazione o la respirazione anaerobia)
- **Anaerobi ossigeno tolleranti**: non usano l'ossigeno ma lo tollerano perché producono alcuni enzimi in grado di detossificare le ROS
- **Anaerobi facoltativi**: crescono sia in assenza di ossigeno (per fermentazione) che in presenza di ossigeno (respirazione).

I processi del metabolismo

- l'insieme di tutte le reazioni chimiche che avvengono nelle cellule:
 - **catabolismo**: reazioni chimiche che portano alla produzione di energia (ATP), potere riducente e precursori metabolici
 - **anabolismo**: reazioni endoergoniche che portano alla sintesi di blocchi di costruzione e di macromolecole complesse a partire da composti semplici

Il ciclo del metabolismo: catabolismo ed anabolismo



Substrates

Products

CATABOLISM
Energy generation



ATP \rightleftharpoons Proton motive force



ANABOLISM
Energy consumption

Monomers

Macromolecules and other
cellular constituents

Biosynthesis



Perché il metabolismo microbico è importante?

- **Deterioramento:** produzione di metaboliti maleodoranti o con sapori sgradevoli da parte di microrganismi aerobi o anaerobi;
- **Fermentazione:** produzione di metaboliti con odori e sapori gradevoli da parte di microrganismi aerobi o anaerobi; biosintesi di polisaccaridi, coloranti, etc.
- **Produzione di metaboliti primari, secondari, enzimi, biomasse**

Definizione di deterioramento

- Un alimento è deteriorato quando diventa inaccettabile per un dato gruppo di consumatori da un punto di vista sensoriale.
- Il tipo di deterioramento dipende largamente dalla comunità microbica (composta da una o più specie diverse) che si afferma al momento del deterioramento (**specific spoilage association**) e dai cambiamenti chimici o fisici che è in grado di produrre alterando uno o più componenti dell'alimento
- Il tipo di associazione che si afferma dipende dalla contaminazione iniziale e da un gran numero di fattori (composizione, tecnologia, etc.)

Principali modificazioni chimiche a carico degli zuccheri

Fermentazione

Prodotti

Fermentazione alcolica

Alcol etilico, CO₂

Fermentazione omo-lattica

Acido lattico

Fermentazione etero-lattica

Acido lattico, CO₂, etanolo

Fermentazione acetone-butirica
propilico

Acetone, butanolo, CO₂, etanolo, alcol iso-

Fermentazione propionica

Acido propionico, acido acetico, CO₂,

Fermentazione butirrica

Acido butirrico, acido acetico, CO₂, H₂

Fermentazione acetica

Acido acetico

Fermentazione citrica

Acido citrico

Microrganismi e deterioramento

Attributo sensoriale	Prodotto	Substrato	Alimento/SSO
Patine mucillaginose	esopolisaccaridi	Saccarosio, zuccheri semplici,	Kimchi/ <i>Leuconostoc</i> ; Carni sotto vuoto / <i>Leuconostoc</i> ; Pane / <i>Bacillus</i> ; Vino/ <i>Pediococcus damnosum</i>
Rammollimento	Vari	Pectine	Carote/ <i>Pectobacterium carotovorum</i> Frutta / <i>Penicillium</i>
Odore di pesce	Trimetilammina (TMA)	Ossido di trimetilammina	Pesce / <i>Shewanella putrefaciens</i> o <i>Photobacterium phosphoreum</i>

Microrganismi e deterioramento

Attributo sensoriale	Prodotto	Substrato	Alimento/SSO
Ammoniaca, odori putridi	Ammoniaca, amine biogene	Proteine, aminoacidi	Carne, pesce / molti microrganismi diversi
Odore di uova marce	H ₂ S, mercaptani	Proteine, cisteina	Carne, pesce, uova / <i>Shewaniella putrefaciens</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>
Inverdimento	H ₂ S H ₂ O ₂	Cisteina Carboidrati	Carni fresche / <i>Lb. sakei</i> Carni curate / <i>Weissella viridescens</i>
Odori /sapori acidi	Acido lattico, acido acetico	Zuccheri	Vari alimenti /fermenti lattici Conserve / <i>Geobacillus stearothermophilus</i>

Microrganismi e deterioramento

Attributo sensoriale	Prodotto	Substrato	Alimento/SSO
Odori fruttati	Esteri	Vari	Carne, pesce / <i>Pseudomonas fragi</i> Latte / <i>P. fragi</i> , <i>P. putida</i>
Odore di “formaggio”	Diacetile, acetoino	Zuccheri	Carne/ <i>Brochothrix thermosphacts</i> LAB
Odori “medicinali”	2-metil-fenolo	Zuccheri	Succo d’ arancia / <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>
Rigonfiamento della confezione	Gas (CO ₂ , H ₂)	Zuccheri, altro	Conserva / <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i> Carni sotto vuoto / LAB eterofermentanti

Energia nel metabolismo microbico

La quantità di energia liberata o assorbita nel corso di una reazione è detta **variazione di energia libera (ΔG)** della reazione che può essere definita come energia utile o utilizzabile (substrato \rightleftharpoons prodotto).

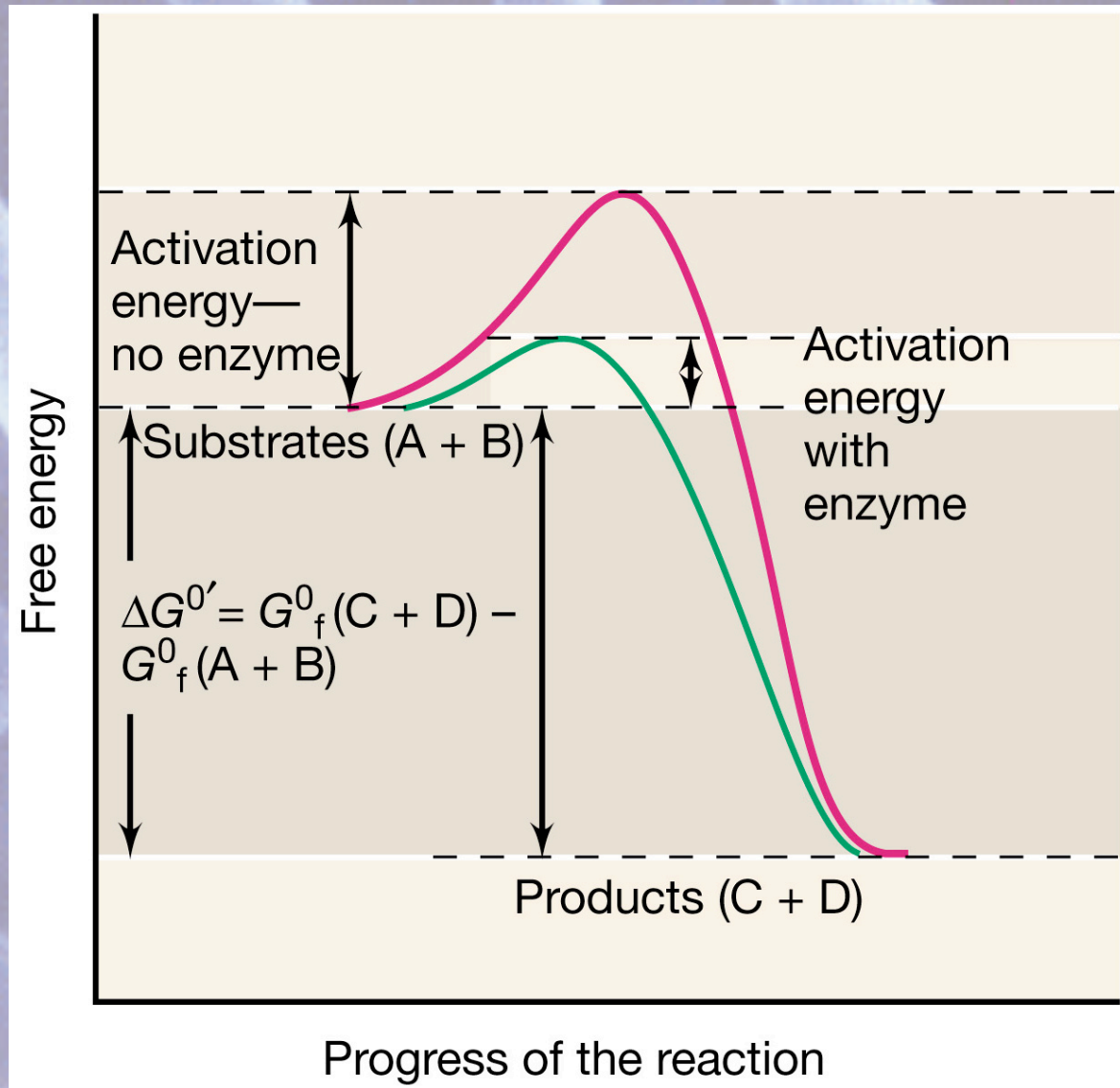
Nella reazione $A+B \rightleftharpoons C+D$ la variazione di energia libera standard è: **$\Delta G^0 = \sum G^0_f(C+D) - \sum G^0_f(A+B)$**

a concentrazioni 1 mol/L di prodotti e reagenti a (1 bar; 0.101 MPa) di pressione e 25° C

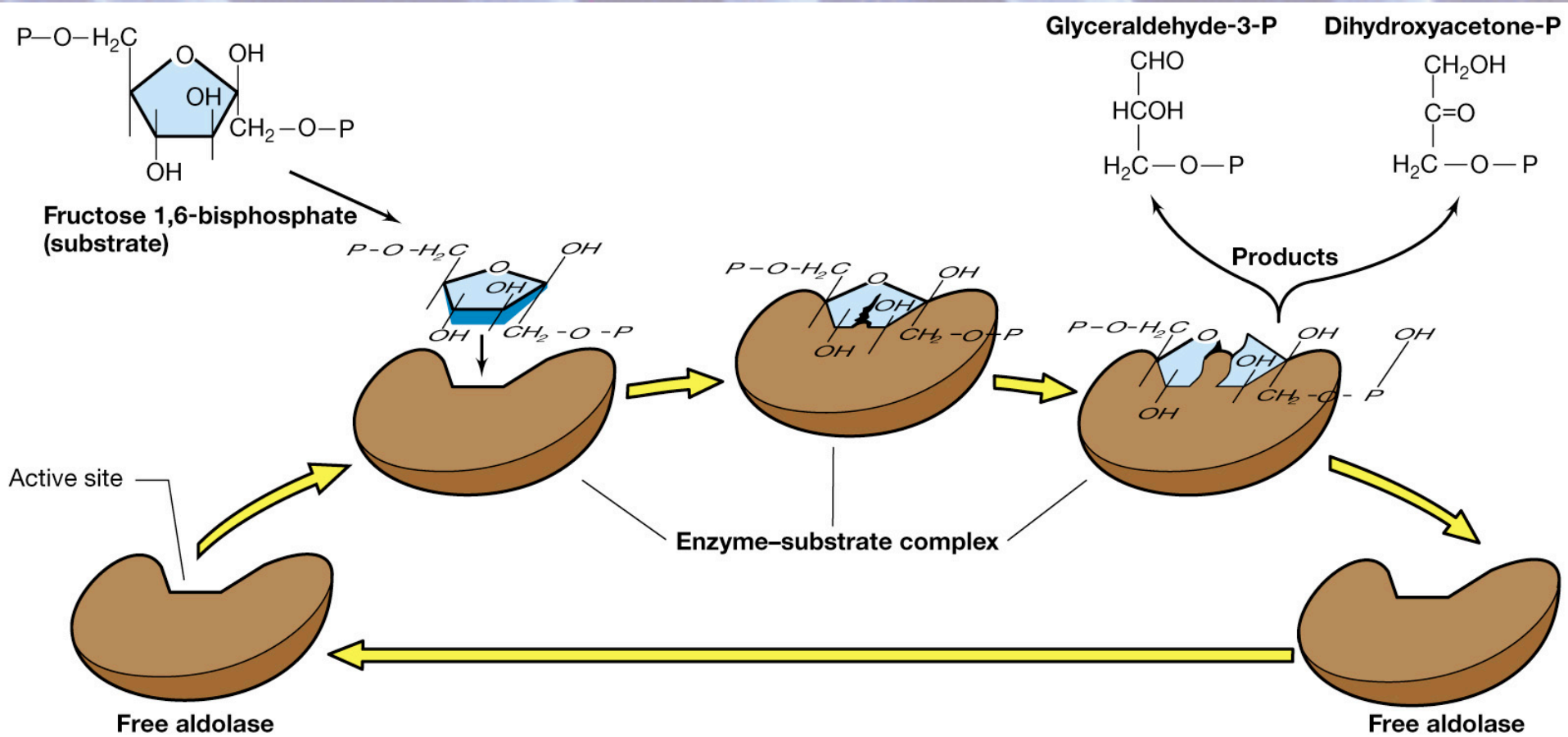
Variazioni di energia libera e reazioni metaboliche

- ♦ Produzione di energia (**catabolismo o metabolismo energetico**) attraverso **reazioni esoergoniche**, e il ΔG ha un valore negativo (**$-\Delta G$**);
- ♦ Uso di energia (**anabolismo o metabolismo biosintetico**), attraverso **reazioni endoergoniche**, e il ΔG ha un valore positivo (**$+\Delta G$**).

I catalizzatori delle reazioni metaboliche: gli enzimi



Il ciclo catalitico di un enzima



Le reazioni del metabolismo: reazioni di ossido-riduzione

Nei sistemi biologici, la conservazione dell'energia coinvolge reazioni di ossido-riduzione.

Il risultato della liberazione di energia durante queste reazioni è la produzione di **composti ad alta energia** come l'ATP.

La sostanza che si riduce nella coppia redox ha la massima tendenza ad acquistare elettroni, mentre la sostanza che si ossida della coppia sul fondo della torre ha la massima tendenza a cedere elettroni.

Esempi di reazioni con H_2
come donatore di e^-

La torre degli elettroni

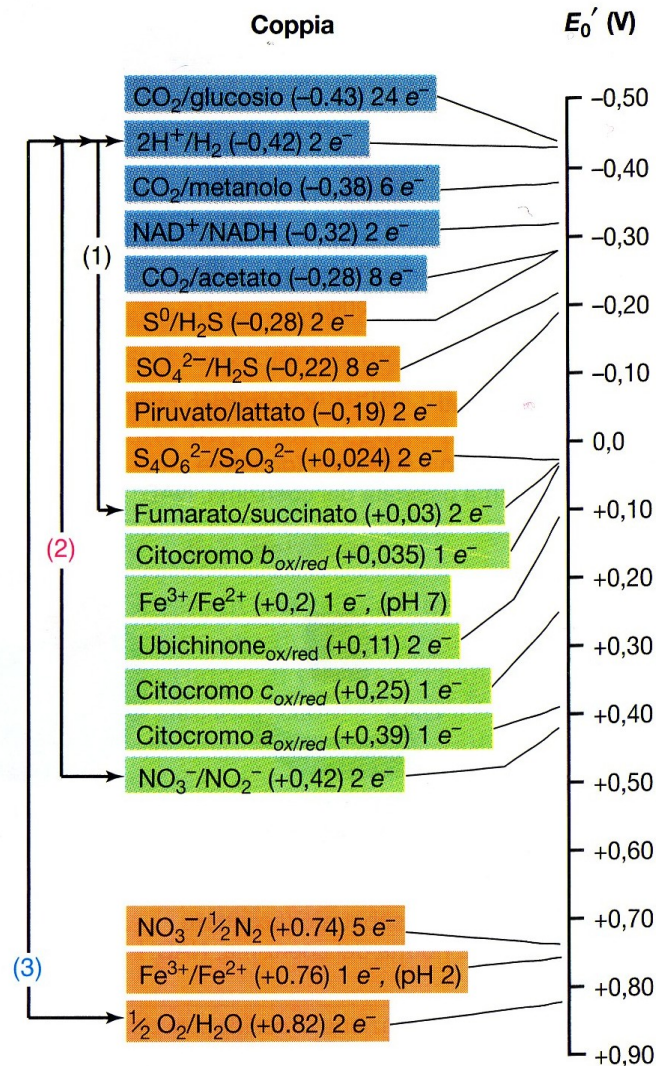
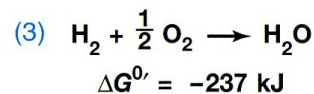
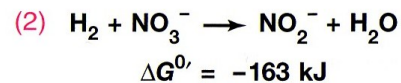
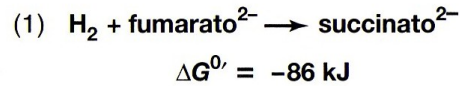


Figura 5.9 La torre degli elettroni. Le coppie redox sono sistemate a partire dai riducenti più forti (potenziale di riduzione negativo) in alto fino agli ossidanti (potenziale di riduzione positivo) in basso. Quando gli elettroni vengono donati dalla cima della torre, possono essere "catturati" dagli accettori dei vari livelli. Più in basso cadono gli elettroni prima di essere catturati, più è alta la differenza nel potenziale di riduzione tra il donatore e l'accettore di elettroni e maggiore è l'energia che viene rilasciata. Come esempio, a sinistra viene mostrata la differenza nel rilascio di energia quando un singolo donatore di elettroni, H_2 , reagisce con ciascuno dei tre differenti accettori di elettroni: fumarato, nitrato e ossigeno.

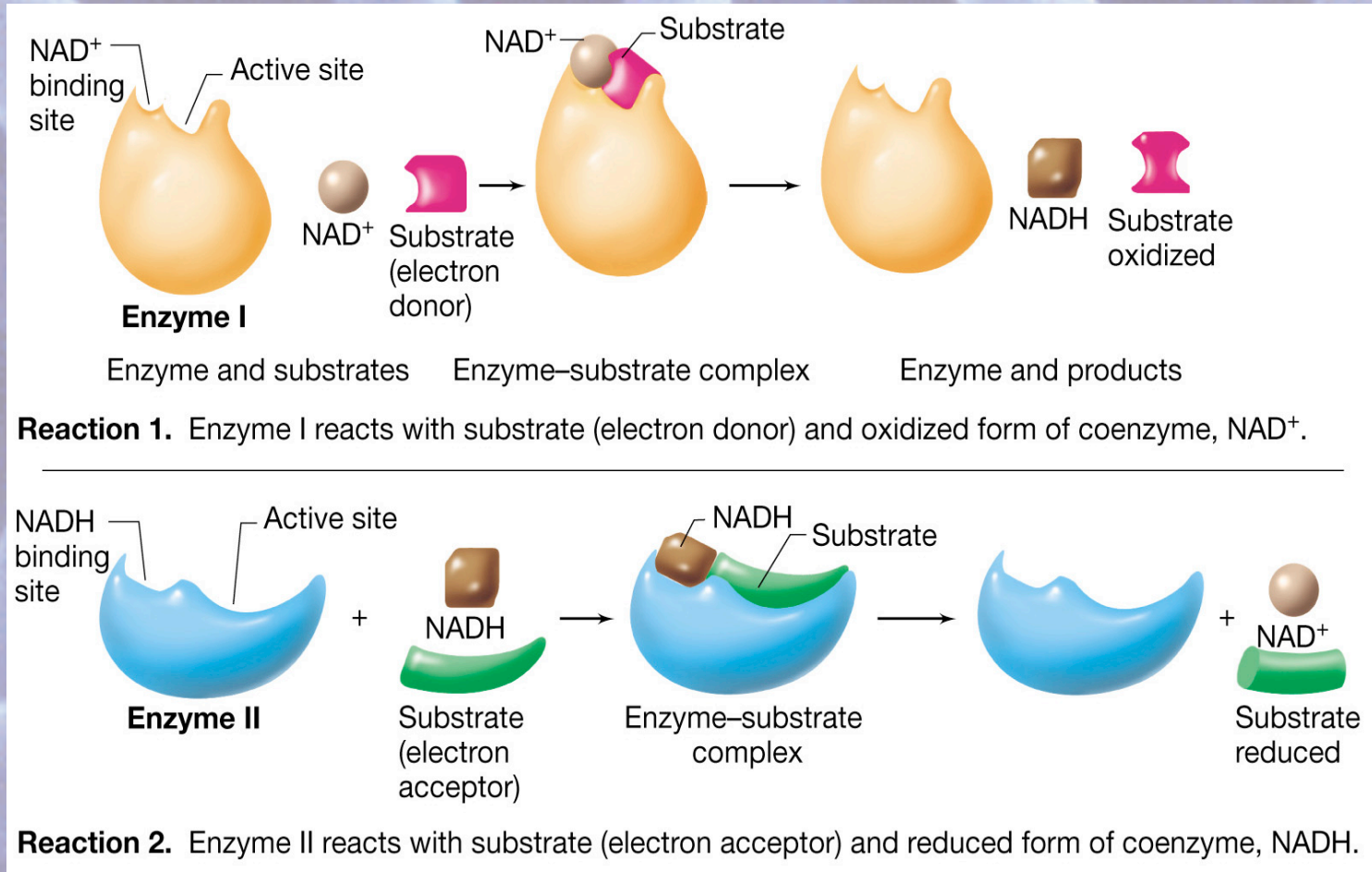
Trasportatori di elettroni

Nella cellula in una reazione redox il trasferimento di elettroni dal donatore all'accettore coinvolge uno o più intermediari: i **trasportatori**.

Esistono due classi di trasportatori:

- quelli **diffusibili liberi** (NAD^+ e NADP^+ , sono trasportatori di atomi di idrogeno=deidrogenazione). La coppia NAD^+/NADH è direttamente coinvolta in reazioni cataboliche, mentre la coppia $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ in reazioni biosintetiche;
- quelli strettamente **legati alla membrana citoplasmatica** (NADH deidrogenasi, flavoproteine FMN e FAD, citocromi contenenti eme, proteine ferro-zolfo non eme, chinoni).

Come funziona la coppia NADH/NAD⁺



I PRINCIPALI COMPOSTI AD ALTO CONTENUTO ENERGETICO CHE SI TROVANO NEI BATTERI SONO:

- **Adenosintrifosfato (ATP)** $\Delta G^\circ = - 7,3 \text{ cal} = -31,8 \text{ kJ}$
- Guanosintrifosfato (GTP) $\Delta G^\circ = - 7,3 \text{ cal}$
- Uridintrifosfato (UTP) $\Delta G^\circ = - 7,3 \text{ cal}$
- Citidintrifosfato (CTP) $\Delta G^\circ = - 7,3 \text{ cal}$
- Acetilfosfato $\Delta G^\circ = - 10,0 \text{ cal} = -44,8 \text{ kJ}$
- Fosfoenolpiruvato (PEP) $\Delta G^\circ = - 12,3 \text{ cal} = -51,6 \text{ kJ}$
- L' ATP svolge il duplice ruolo di conservare parte dell' energia libera resa disponibile nelle reazioni energetiche e di avviare le reazioni di biosintesi mediante l' attivazione di diversi intermedi biosintetici;
- il GTP è l' attivatore della sintesi proteica;
- l' UTP è l' attivatore della sintesi del peptidoglicano e del glicogeno;
- il CTP è l' attivatore della sintesi dei fosfolipidi;
- l' acetilfosfato è l' attivatore della sintesi degli acidi grassi.

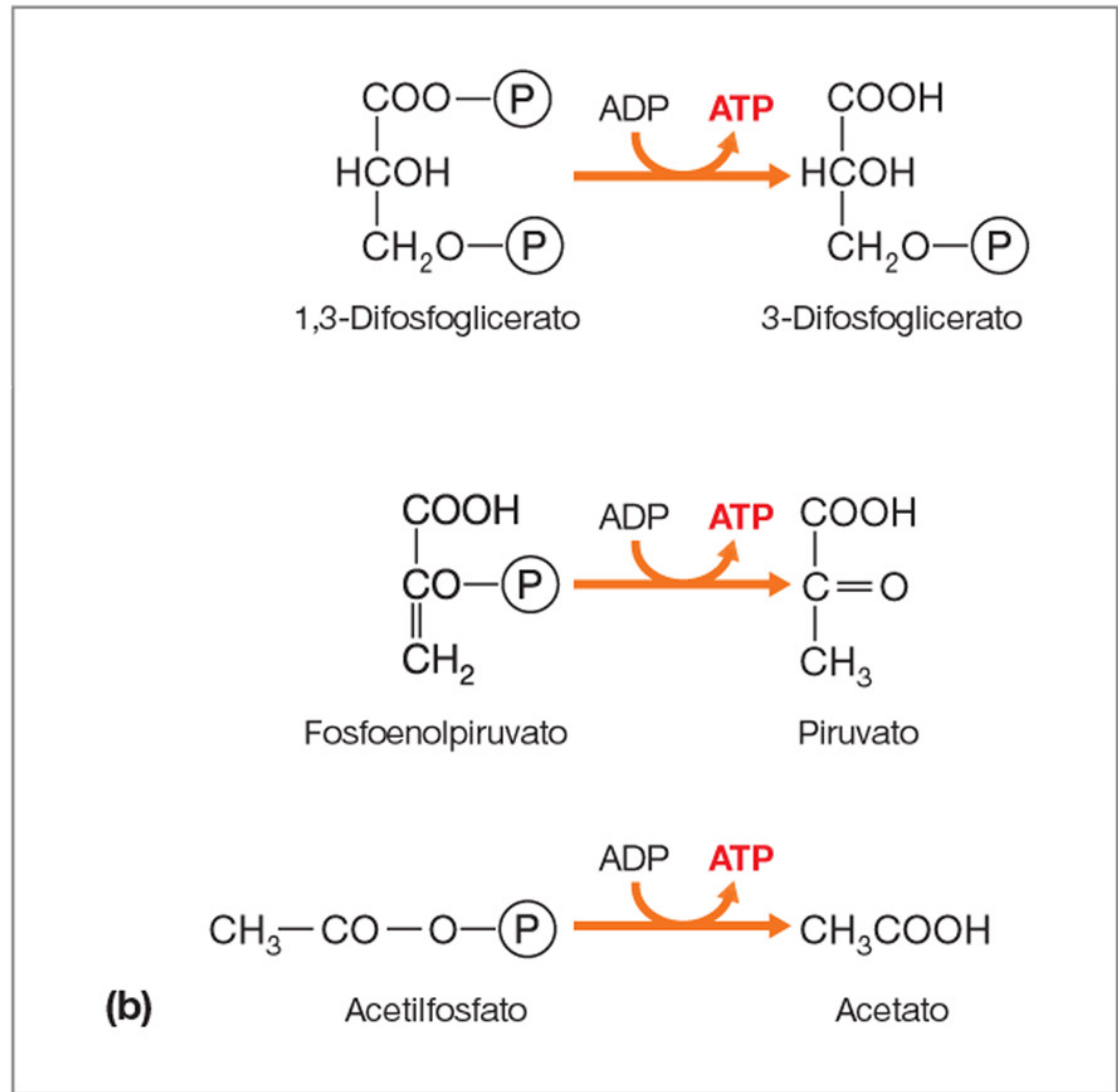
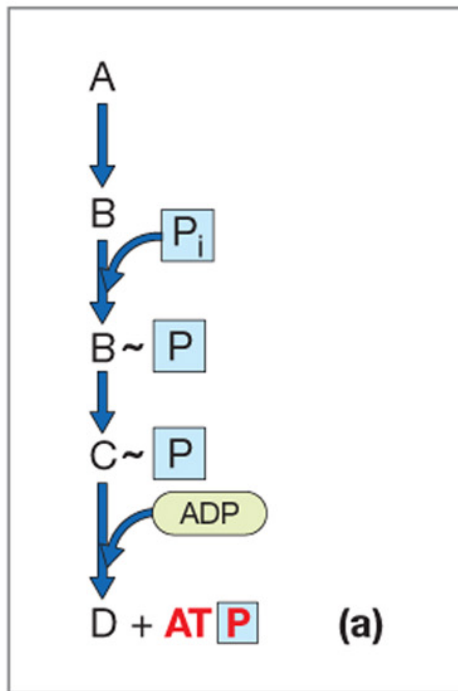
Come si ottiene l'energia utile per le attività metaboliche?

- Intero processo metabolico coinvolto nella conservazione dell'energia da utilizzare per la biosintesi e le altre funzioni cellulari
- I microrganismi ottengono l'energia per le attività metaboliche attraverso:
 - **fosforilazione a livello di substrato (SLP)**
 - **fosforilazione per trasporto di elettroni (ETP)**
 - **fosforilazione ossidativa (ETC)**

Fosforilazione a livello di substrato (SLP)

- avviene nel citoplasma: si ha la sintesi di ATP, per trasferimento di un gruppo fosfato da un intermedio fosforilato, formatosi nella via di degradazione di un substrato organico, ad una molecola di ADP.
- avviene sia in condizioni aerobiche che anaerobiche.

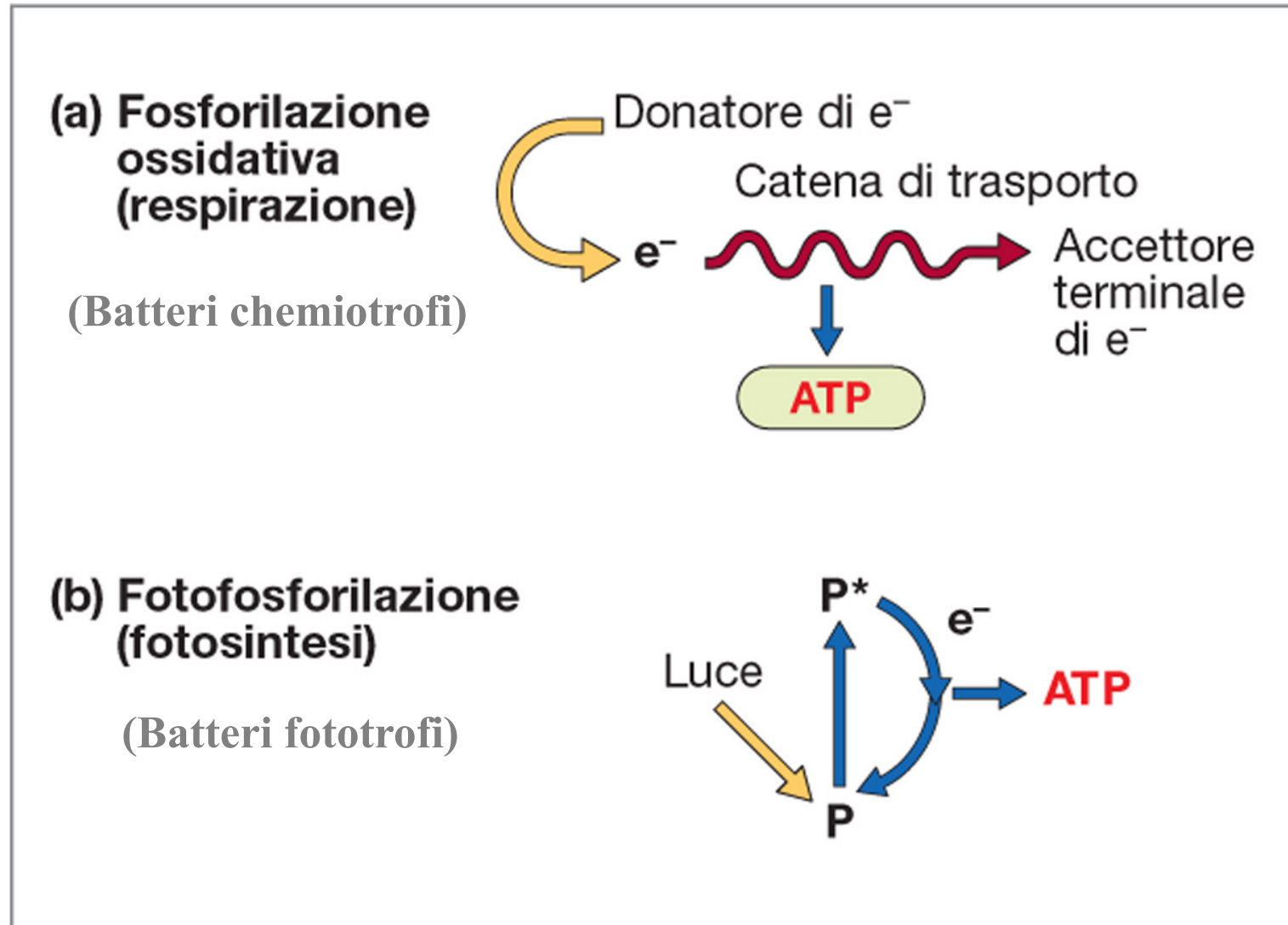
Fosforilazioni a livello di substrato



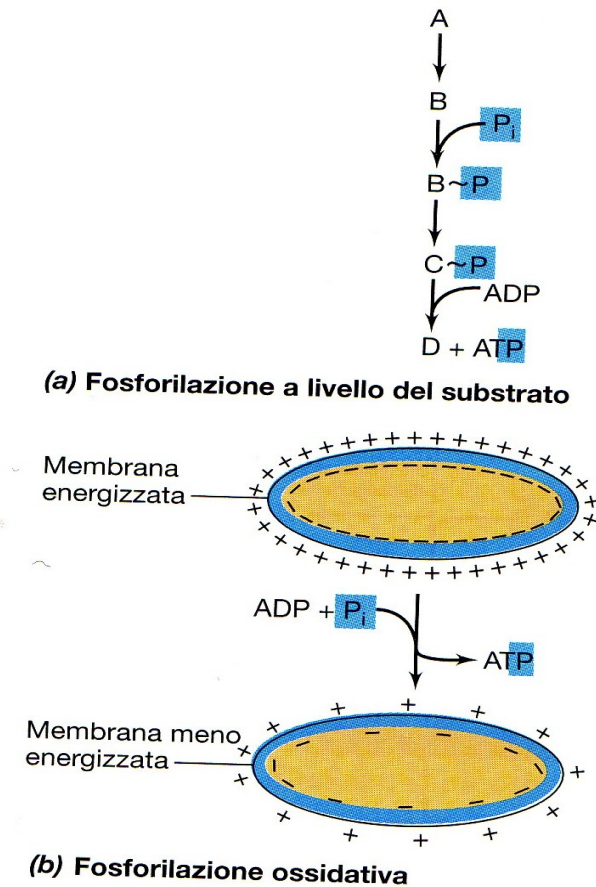
Fosforilazione per trasporto di elettroni

- Processo più complesso, presente sia nella fosforilazione ossidativa (respirazione) che nella fotosintesi, che procura alla cellula molta più ATP rispetto alla SLP

Fosforilazioni per trasporto di elettroni



Schema della fosforilazione ossidativa



(a) Fosforilazione a livello del substrato

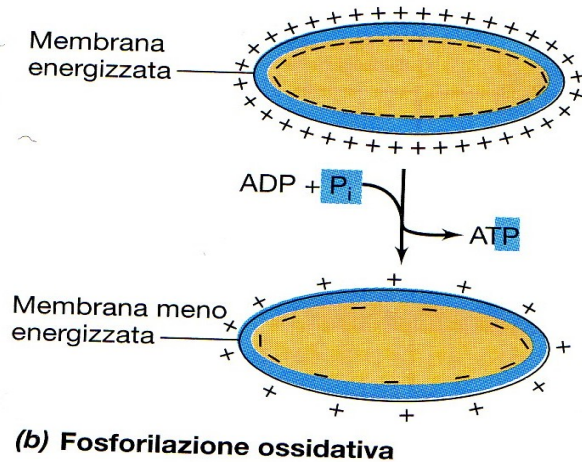


Figura 5.13 La conservazione dell'energia nella fermentazione e nella respirazione. (a) Nella fermentazione, la sintesi dell'ATP è il risultato della *fosforilazione a livello del substrato*; nella via biochimica viene aggiunto un gruppo fosfato a un intermedio, che diventa un gruppo fosfato ad "alta energia" e alla fine viene trasferito all'ADP per formare ATP. (b) Nella respirazione, la membrana citoplasmatica caricata energeticamente grazie alla forza proto-motrice, dissipa parte di quest'energia nella formazione di ATP a partire da ADP e fosfato inorganico (P_i) in un processo detto *fosforilazione ossidativa*. L'accoppiamento della forza proto-motrice alla sintesi di ATP avviene mediante un complesso enzimatico proteico di membrana detto ATP sintetasi (ATPasi) (si vedano par. 5.12 e fig. 5.21).

Nella **fosforilazione ossidativa** viene sfruttata la caratteristica di alcuni trasportatori di membrana di associare al trasporto di e⁻ la traslocazione di protoni da una faccia all'altra della membrana, determinando così un gradiente di concentrazione di protoni alle due facce della membrana stessa. Questa separazione di cariche genera una forza proton motrice che energizza la membrana e l'ATPasi di membrana sfrutta questa energia trasformandola nell'energia chimica necessaria a sintetizzare ATP da ADP e fosfato inorganico.

La forza proto-motrice: la chemiosmosi

Le **proteine di membrana** sono dette transmembranarie, cioè si affacciano sia all'interno che all'esterno della cellula.

I trasportatori sono orientati nella membrana in modo che durante il trasporto avvenga una separazione dei protoni dagli elettroni: gli elettroni vengono trasportati attraverso la catena da specifici trasportatori e i protoni pompato fuori dalle cellule, da ciò risulta una debole acidificazione della superficie esterna della membrana.

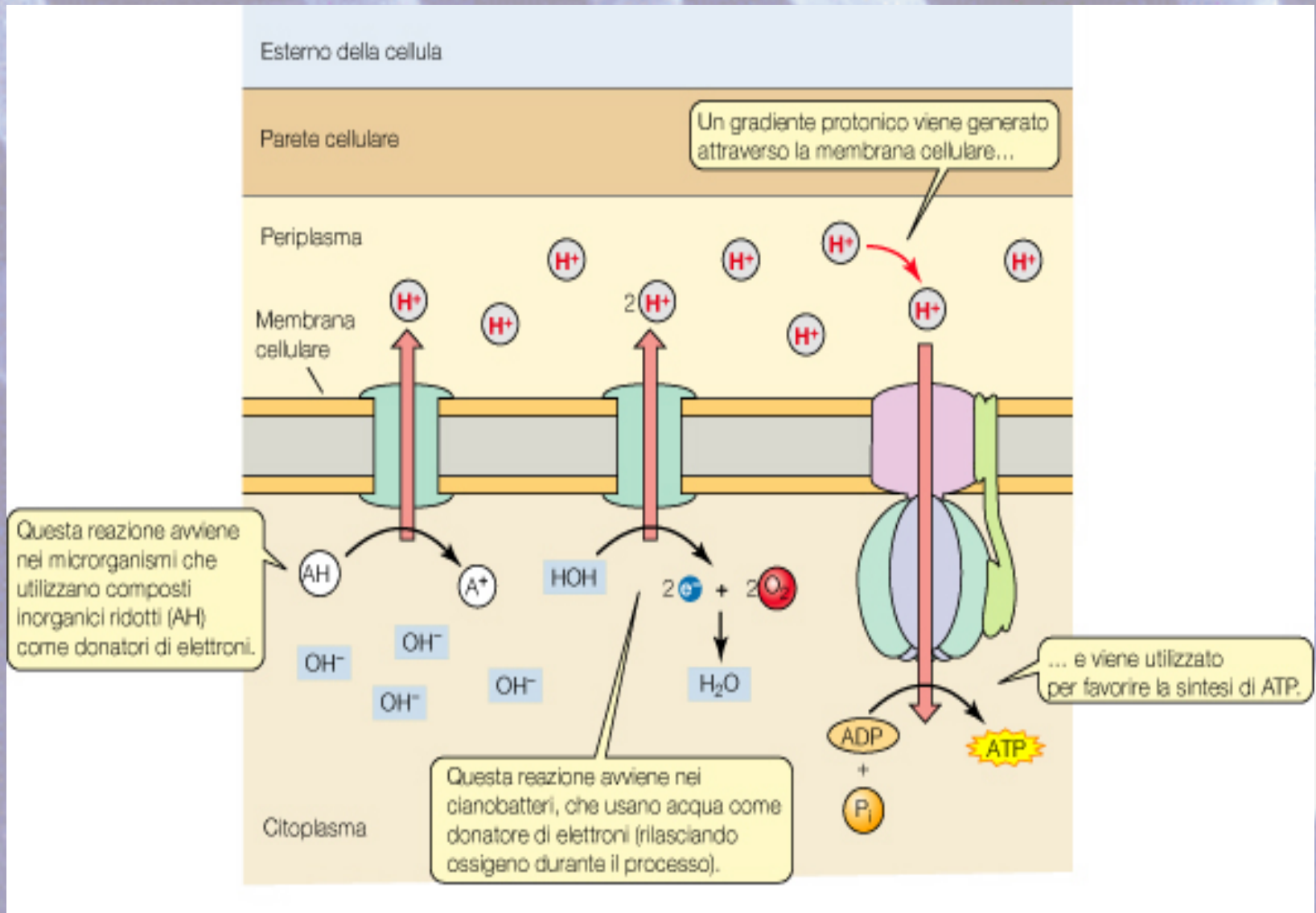
Quando l' O_2 è ridotto ad H_2O questa richiede H^+ dal citoplasma per completare la reazione per cui al termine avremo un accumulo di OH^- all'interno della cellula ed un accumulo di H^+ all'esterno con conseguente formazione di un **gradiente di pH** e un **potenziale elettrochimico attraverso la membrana** per cui:

- *l'interno del citoplasma è debolmente alcalino e carico negativamente,*
- *l'esterno è debolmente acido e carico positivamente.*

Si ha quindi l'**energizzazione della membrana** che è detta **forza proto-motrice** (volt).

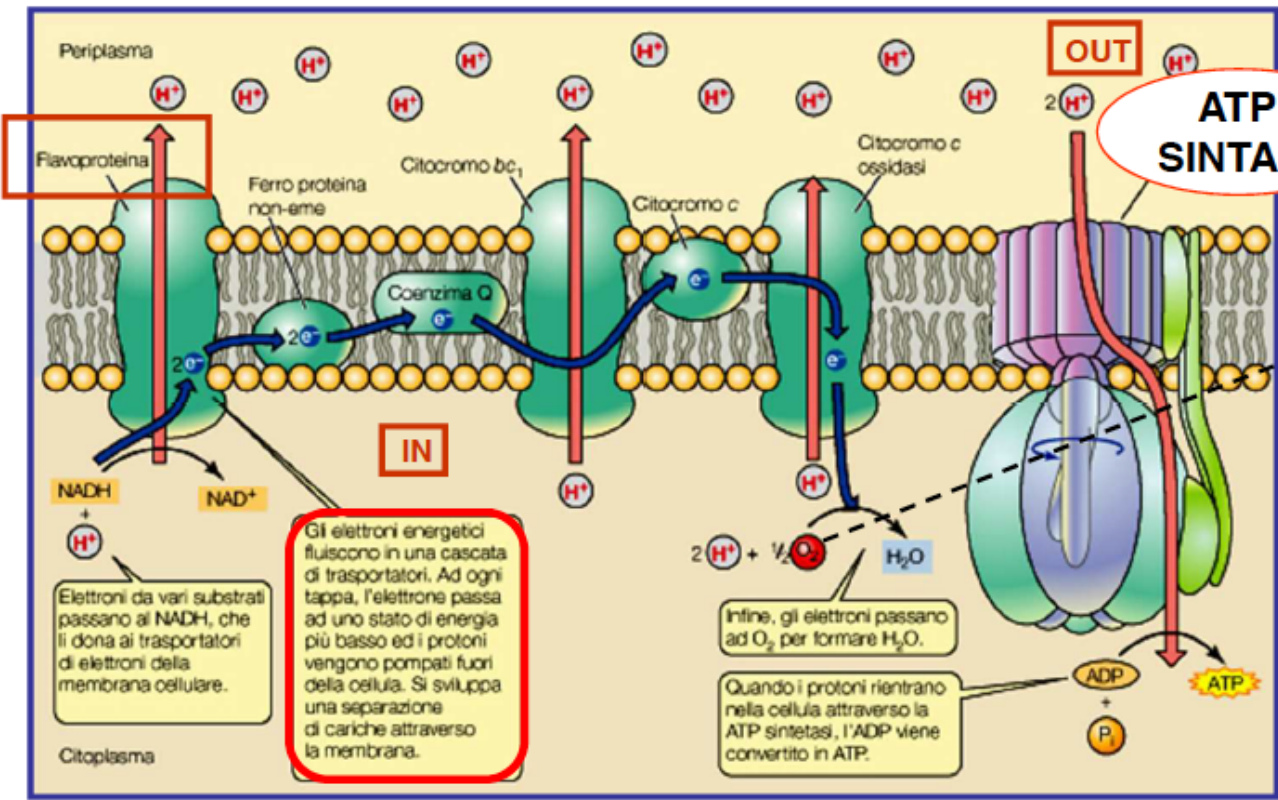
Lo stato energizzato può essere direttamente utilizzato per eseguire un lavoro utile (trasporto di ioni, rotazione flagellare, o formazione di legami fosfato ad alta energia nell'ATP).

Separazione di carica attraverso la membrana cellulare

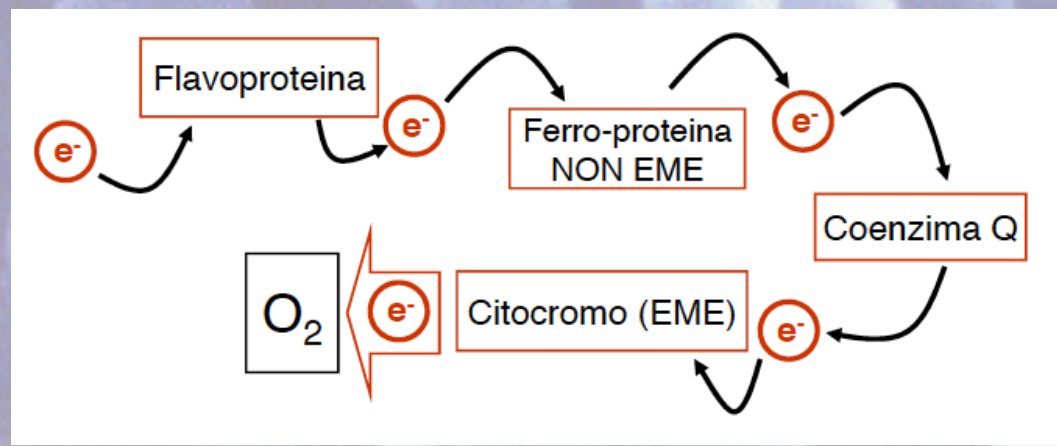


A RESPIRAZIONE:

catena di trasporto degli elettroni



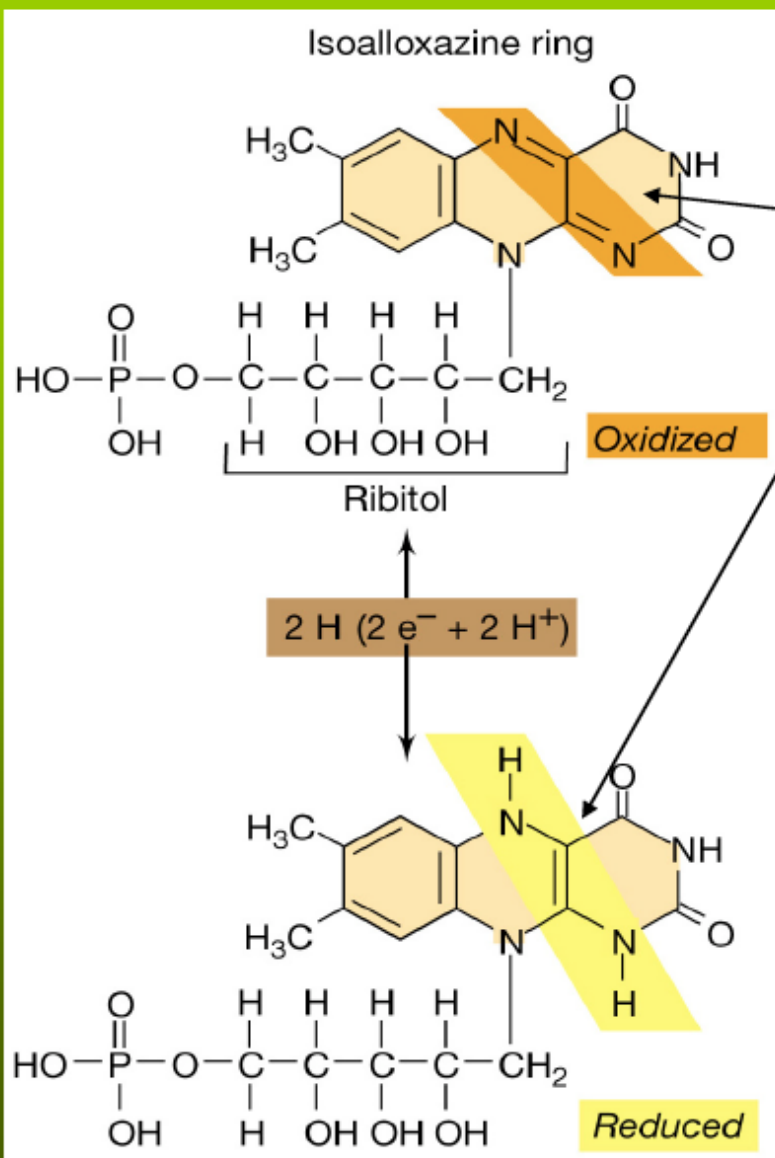
Al posto dell'ossigeno si possono avere altri accettori finali di e⁻ : SO₄²⁻, Fe³⁺, Mn⁴⁺, NO₃⁻, CO₂, S⁰ ...



Trasportatori di e- nella catena respiratoria

- **Flavoproteine:** contengono un cofattore flavinico, come il FMN oppure il FAD, che può accettare 1 o 2 e- (FMNH₂ o FADH₂)
- **Citocromi:** proteine che contengono generalmente ferro (Fe²⁺ nello stato ridotto) che trasferiscono gli e- nella membrana citoplasmatica; di colore rosso perché contengono il gruppo prostetico eme.
- **Proteine Fe-S (non-eme):** il Fe non è presente all'interno di un gruppo eme (come nei citocromi) ma è legato ad atomi di S inorganico e/o a residui di cisteina della proteina.
- **Coenzima Q o ubiquinone:** può accettare 1e- (radicale semichinonico) o 2e- (forma completamente ridotta di ubiquinol). UQ è molto piccolo e idrofobico e può passare attraverso la membrana.

Struttura flavoproteine



Nelle **flavoproteine** (derivati della riboflavina o vitamina B2):

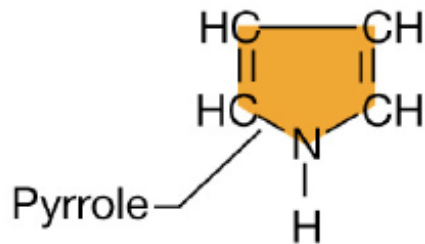
la **porzione flavinica**, è un gruppo prostetico che è ridotto quando accetta atomi di idrogeno ed ossidato quando dona elettroni.

Nelle cellule si osservano comunemente due flavine:

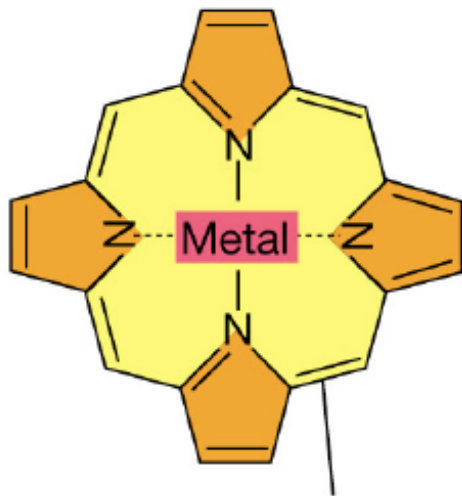
- **flavina mononucleotide (FMN)**
- **flavin adenin dinucleotide (FAD)**

che sono porzioni funzionali delle flavoproteine agendo da trasportatori di e^- .

Struttura citocromi



(a)



Porphyrin
(a tetrapyrrole, $C_{20}H_{14}N_4$)

(b)

Sono proteine con gruppi prostetici
costituiti da anelli porfirinici

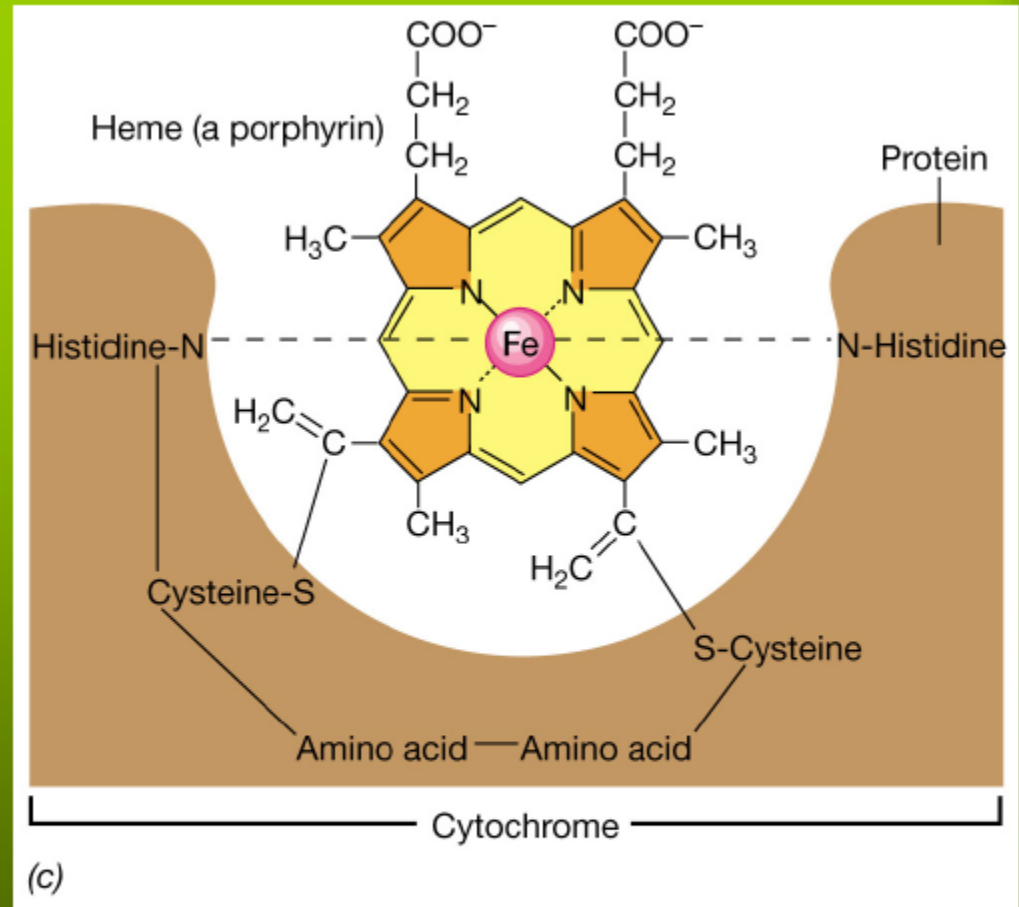
a) Struttura dell'anello pirrolico

**b) Quattro anelli pirrolici si
condensano e formano
l'anello porfirinico.**

Vari metalli possono essere
incorporati nel sistema
dell'anello porfirinico (Mg, Co,
Fe)

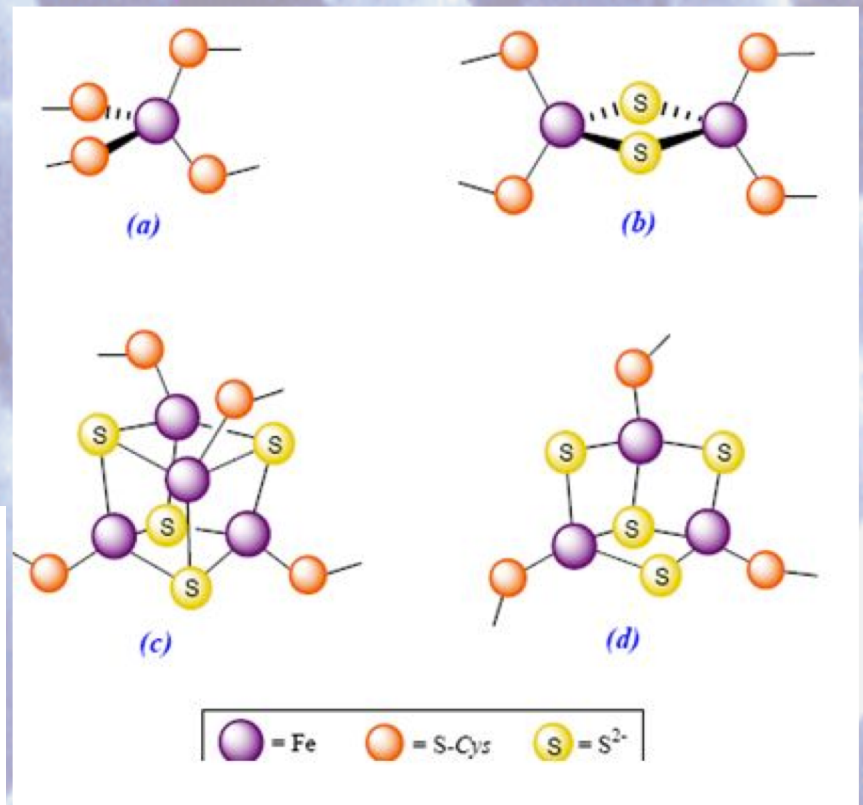
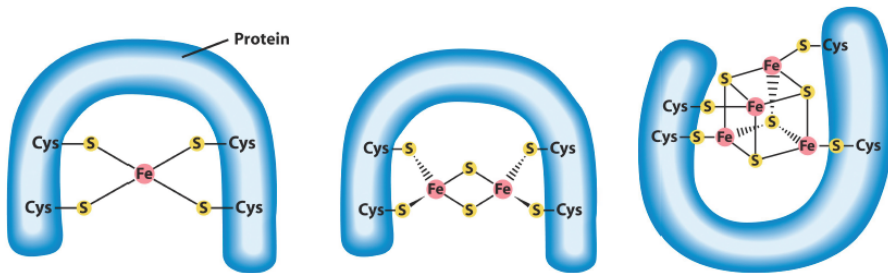
Struttura della citocromo c ossidasi

- L'anello porfirinico è legato covalentemente alla parte proteica con un ponte disolfuro.
- Al centro dell'anello è presente il ferro.
- Essi subiscono l'ossidazione e la riduzione attraverso la perdita o l'acquisizione di un singolo elettrone da parte dell'atomo di ferro al centro del citocromo
(sito redox: Fe^{2+} ed Fe^{3+})

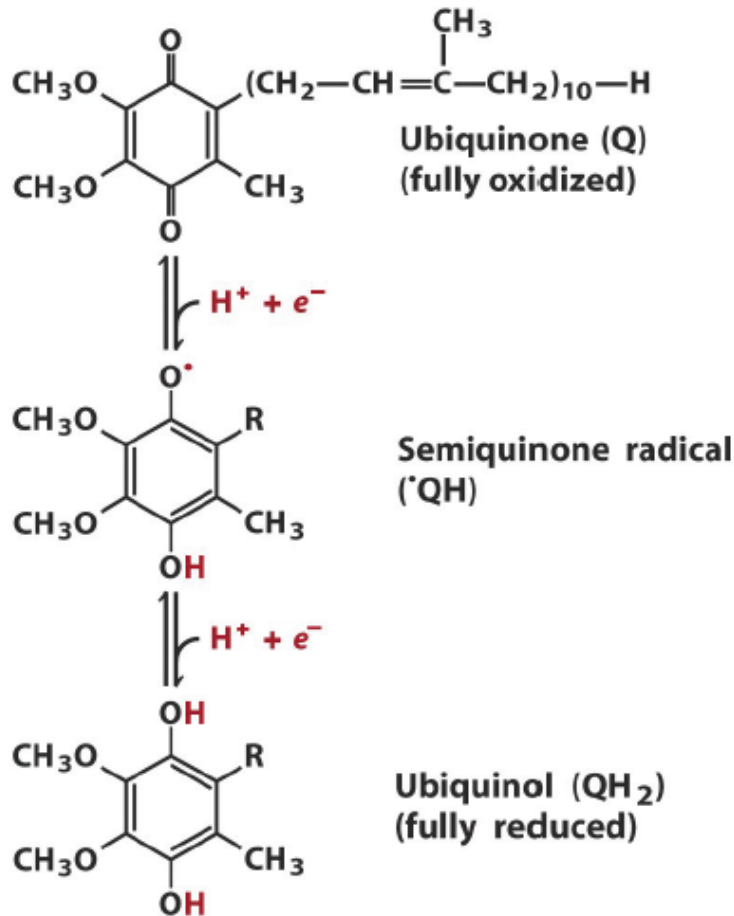


Proteine ferro-zolfo (non-eme ferro-proteine)

Le proteine ferro-zolfo contengono atomi di ferro associati ad atomi di zolfo (**centri ferro-zolfo**)

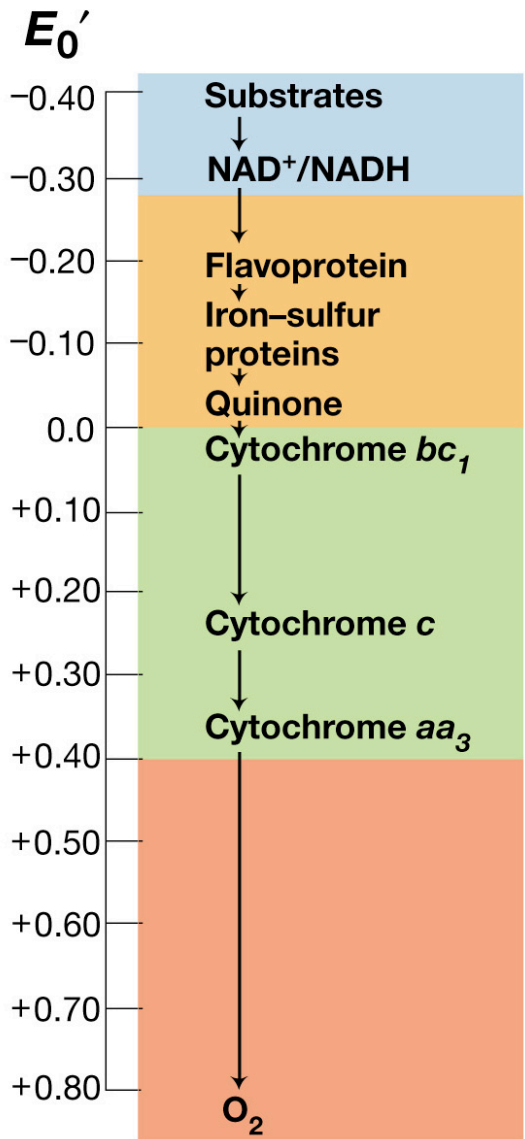


Coenzima Q (ubichinone)



Benzochinone con catena laterale isoprenoide
Può accettare un solo elettrone, trasformandosi in un radicale semichinonico, oppure può accettare due elettroni trasformandosi nella forma completamente ridotta (Ubichinolo)

Reduction potential (V)



Sistema di trasporto degli e⁻ delle cellule eucariotiche e di alcuni batteri:

- serie di trasportatori associati a membrane che funzionano in maniera integrata per trasferire gli elettroni dal donatore primario all'ossigeno, accettore terminale degli elettroni

Gli elettroni prelevati dal NADH vengono trasferiti all'ossigeno o ad altri accettori terminali di elettroni, attraverso l'azione di un sistema di trasporto di e⁻

ATP sintetasi

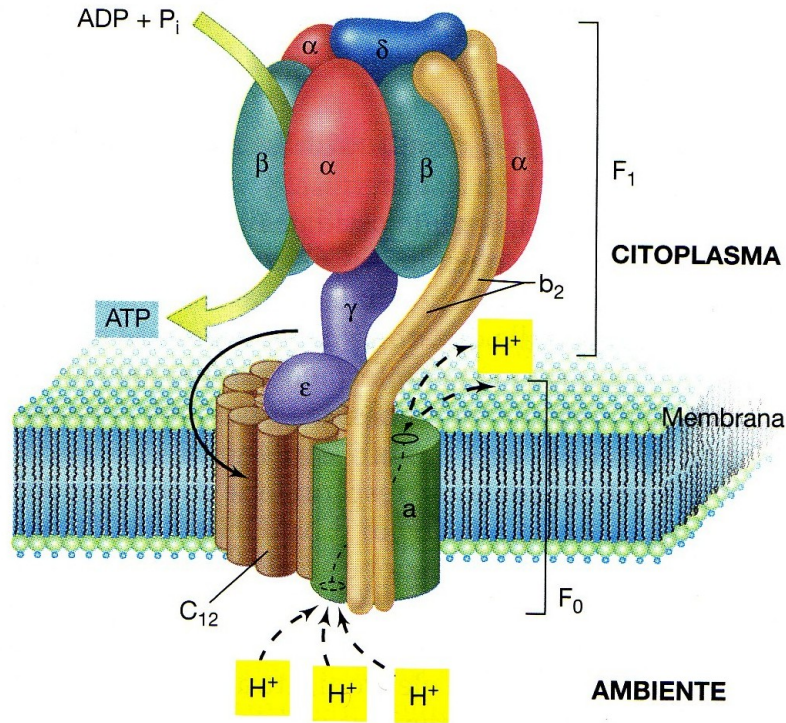


Figura 5.21 Struttura e funzione dell'ATP sintetasi (ATPasi). F_1 è costituita da cinque polipeptidi differenti, presenti come complesso $\alpha_3\beta_3\gamma\epsilon\delta$. F_1 è il complesso catalitico responsabile per la conversione di $ADP + P_i$ e ATP. F_0 è integrato nella membrana ed è costituito da tre polipeptidi disposti in un complesso ab_2c_{12} . La subunità a è responsabile della canalizzazione dei protoni attraverso la membrana, mentre la subunità b protrude al di fuori della membrana e forma, insieme alle subunità b_2 e δ , lo statore. Quando entrano i protoni, la dissipazione della forza proto-motrice conduce alla sintesi di ATP. L'ATPasi nella sua reazione è reversibile, cioè l'idrolisi di ADP porta alla formazione di forza proto-motrice.

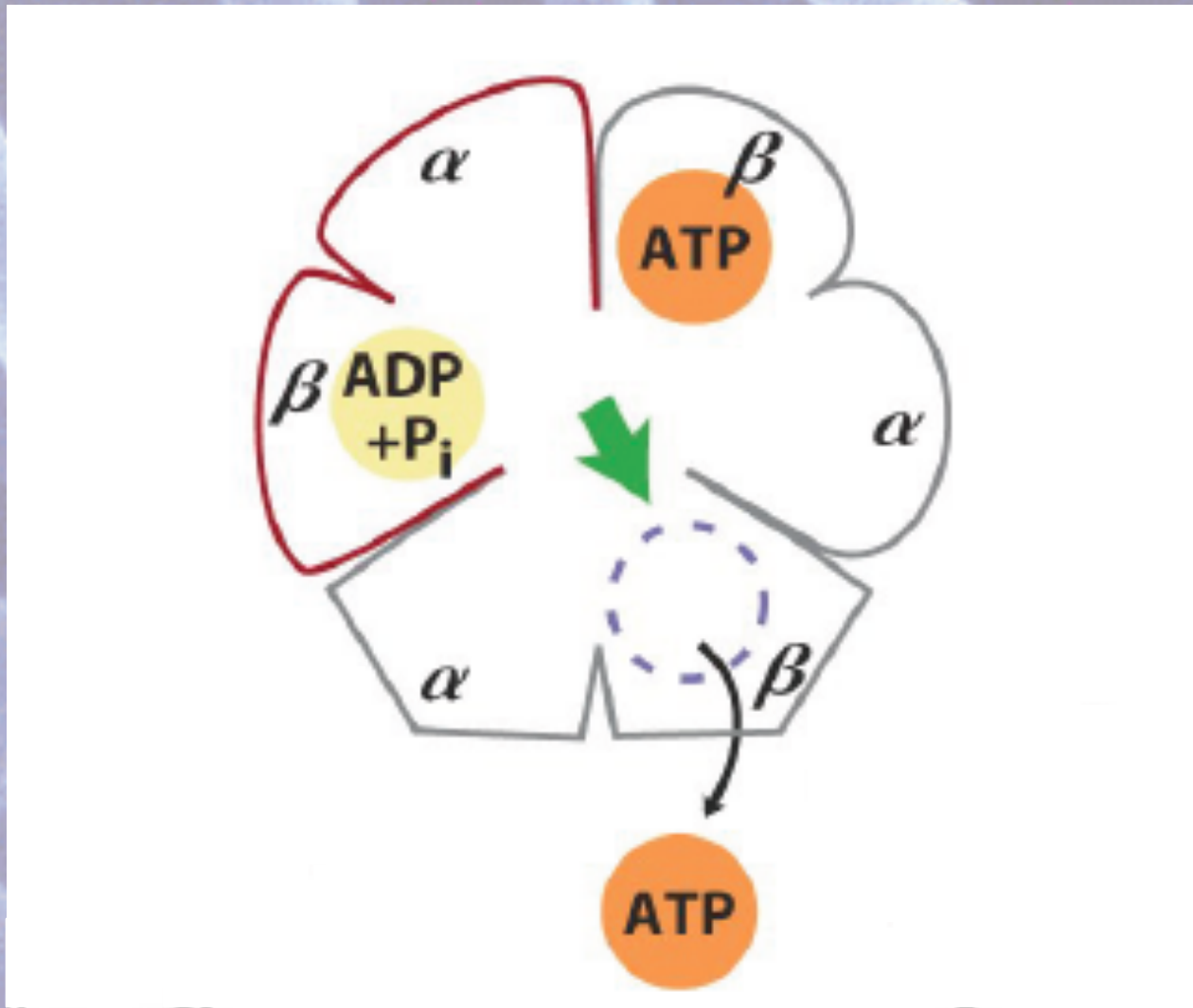
Secondo la **teoria della chemiosmosi** il **gradiente** generato dal trasporto di e^- viene impiegato per guidare l'**ATPasi**, un assetto di proteine transmembrana che **sintetizzano ATP da ADP e P_i** .

L' **energia** che si può trarre da un **gradiente protonico** dipende dalla differenza che intercorre tra il pH (concentrazione H^+) sulla superficie esterna e il pH sulla superficie interna, che viene detta **potenziale elettrochimico**. Questa differenza avviene perché una **membrana è impermeabile ai protoni** ed i protoni possono fluire dal citoplasma solo attraverso il sistema ATP sintetasi.

Il complesso dell' ATPasi può funzionare in entrambe le direzioni:

- quando i protoni fluiscono verso l' interno della cellula si forma ATP.
- L' ATP può essere idrolizzato a $ADP + P_i$ e l' energia viene utilizzata per stabilire un gradiente protonico.

Cambio di conformazione della subunità alfa-beta



La **fermentazione** e la **respirazione**

Nei **chemiotrofi**, organismi che nel metabolismo energetico utilizzano sostanze chimiche come donatori di elettroni, sono conosciuti due meccanismi destinati alla conservazione dell'energia: **la fermentazione e la respirazione**.

Il risultato è lo stesso: una reazione endoergonica con produzione di ATP.

In termini di reazioni redox, la fermentazione e la respirazione differiscono poiché:

- **nella fermentazione il processo avviene in assenza di accettori terminali di elettroni utilizzabili; l'ATP è prodotto mediante la fosforilazione a livello di substrato**
- **nella respirazione vi è un accettore finale, che solitamente è l'ossigeno molecolare; nella fosforilazione ossidativa l'ATP si produce a spese della forza proto-motrice.**

Respirazione

- Processo catabolico in cui il donatore di e^- può essere una sostanza organica o inorganica
- **Respirazione aerobia:** l' accettore terminale è l' O_2
- **Respirazione anaerobia:** accettori terminali sono sostanze inorganiche diverse dall' O_2

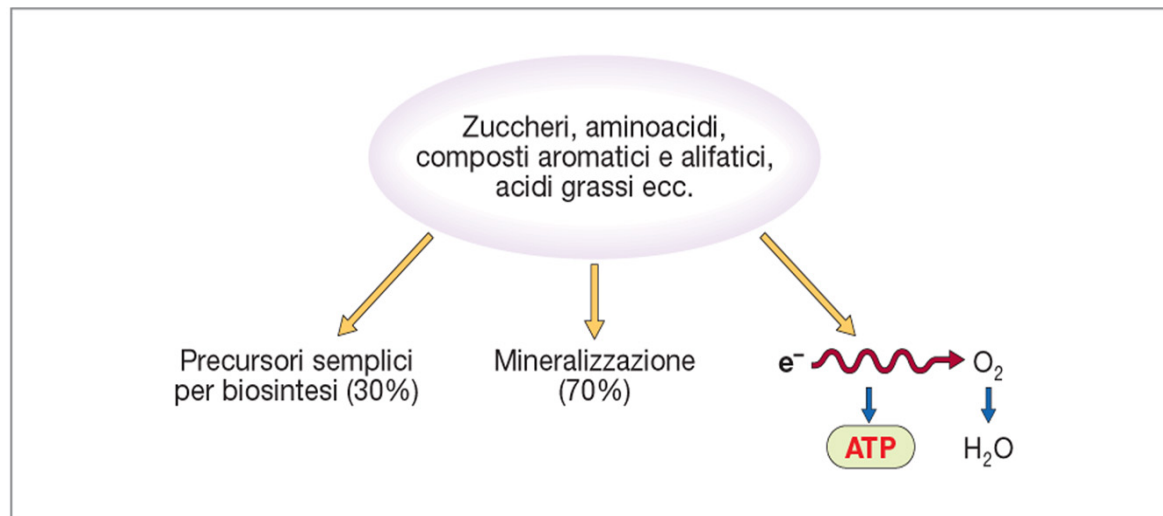
Respirazione aerobica della sostanza organica

- La sostanza organica funge da donatore di e^- , che percorrendo una catena di trasportatori con E_0 sempre più positivo, vanno a ricadere sull'ossigeno (accettore terminale) con generazione di energia e produzione di acqua

Le alternative metaboliche

ACCETTORE DI ELETTRONI	Prodotto finale	NOME DEL PROCESSO
O_2	H_2O	RESPIRAZIONE AEROBIA
NO_3^-	NO_2 , NH_3 or N_2	Respirazione anaerobia: denitrificazione
SO_4^-	S oppure H_2S	Respirazione anaerobia: riduzione solfati
fumarato	succinato	respirazione anaerobia: con accettore organico di e-
CO_2	CH_4	METANOGENESI (Archea)

Respirazione aerobia della sostanza organica



Vie di formazione del piruvato

I batteri eterotrofi richiedono composti organici (glu) come sorgenti di energia. Alcune sequenze di reazioni sono comuni sia al metabolismo respiratorio che a quello fermentativo; tra queste vi sono le tre vie di conversione degli zuccheri nel metabolita intermedio chiave : **l'acido piruvico:**

- 1. Via di Embden-Meyerhof (glicolisi)**
- 2. Via dei pentoso-fosfati**
- 3. Via di Entner-Doudoroff**

Le prime due si riscontrano in molti procarioti ed eucarioti, mentre la terza sostituisce la glicolisi in alcuni procarioti (*Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Thiobacillus*, *Xanthomonas*)

Il metabolismo energetico (catabolismo) degli eterotrofi

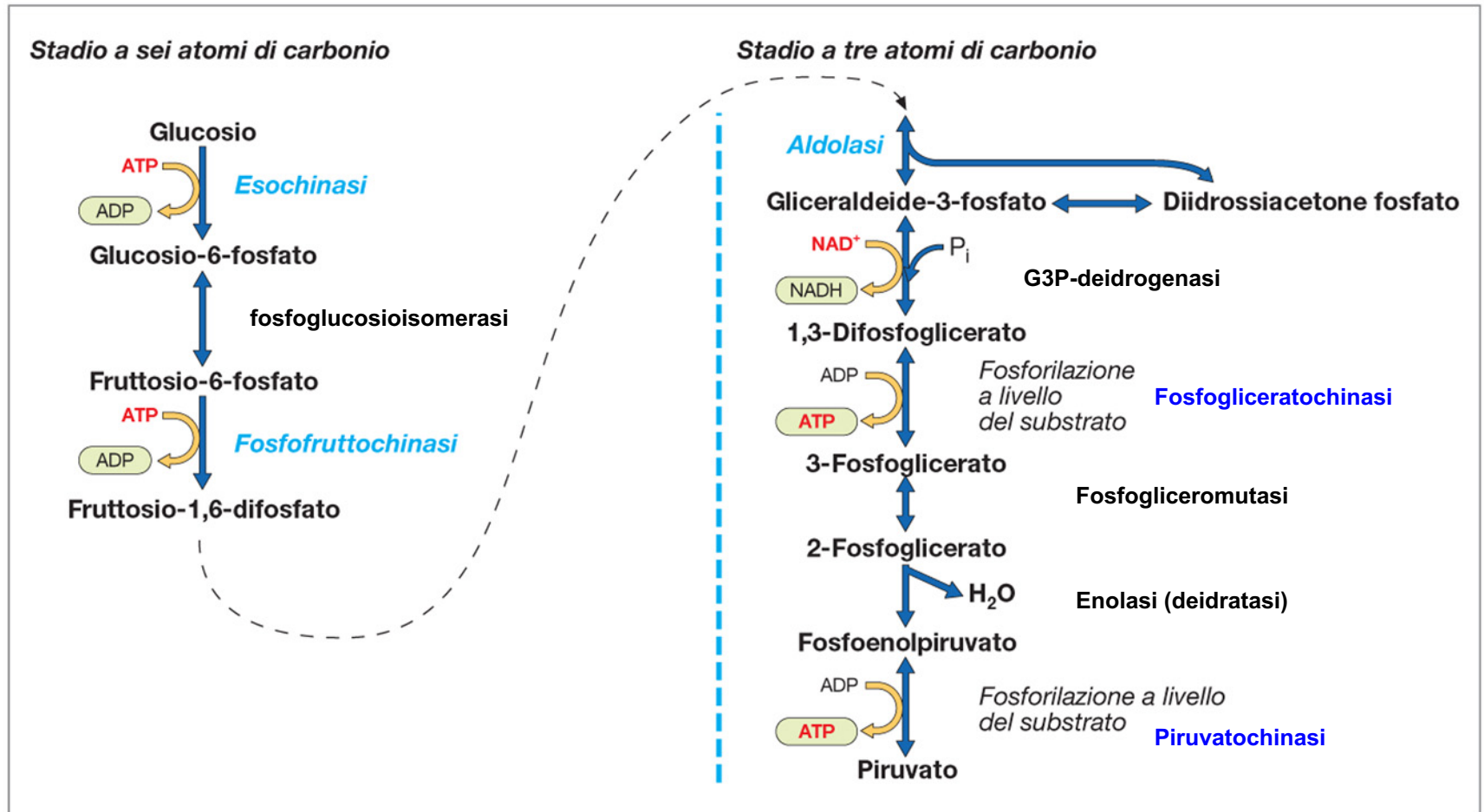
Il destino del glucosio in una cellula batterica



Catabolismo dei carboidrati

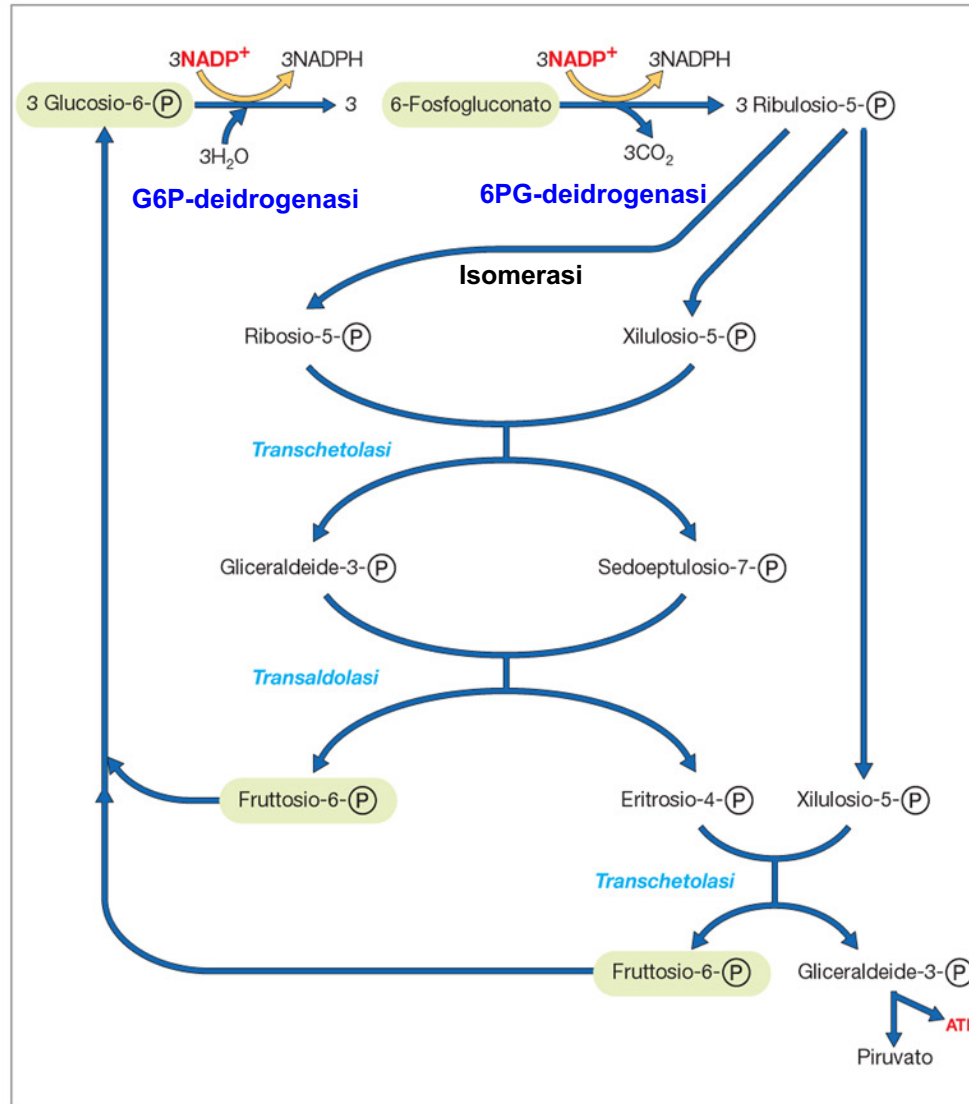
- Nella maggior parte dei batteri il catabolismo del glucosio avviene attraverso la **glicolisi**
- Glucosio \rightarrow 2 piruvato + 2 NADH + 2ATP

Glicolisi o via di Embden-Meyerhof



Ciclo dei pentosofosfati

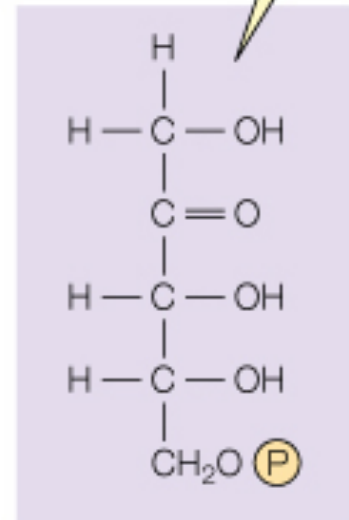
PRIMA REAZIONE
DELLA GLICOLISI:
GLU – GLU6P
ad opera di una
ESOCINASI



Via dei pentosofosfati

Il pentoso fosfato viene usato nella sintesi degli acidi nucleici e nei costituenti di altre cellule e, negli organismi fotosintetici, è un intermedio nel ciclo di Calvin e nella via di fissazione di CO₂.

Il NADPH prodotto in questa via fornisce il potere riducente per molte reazioni metaboliche.



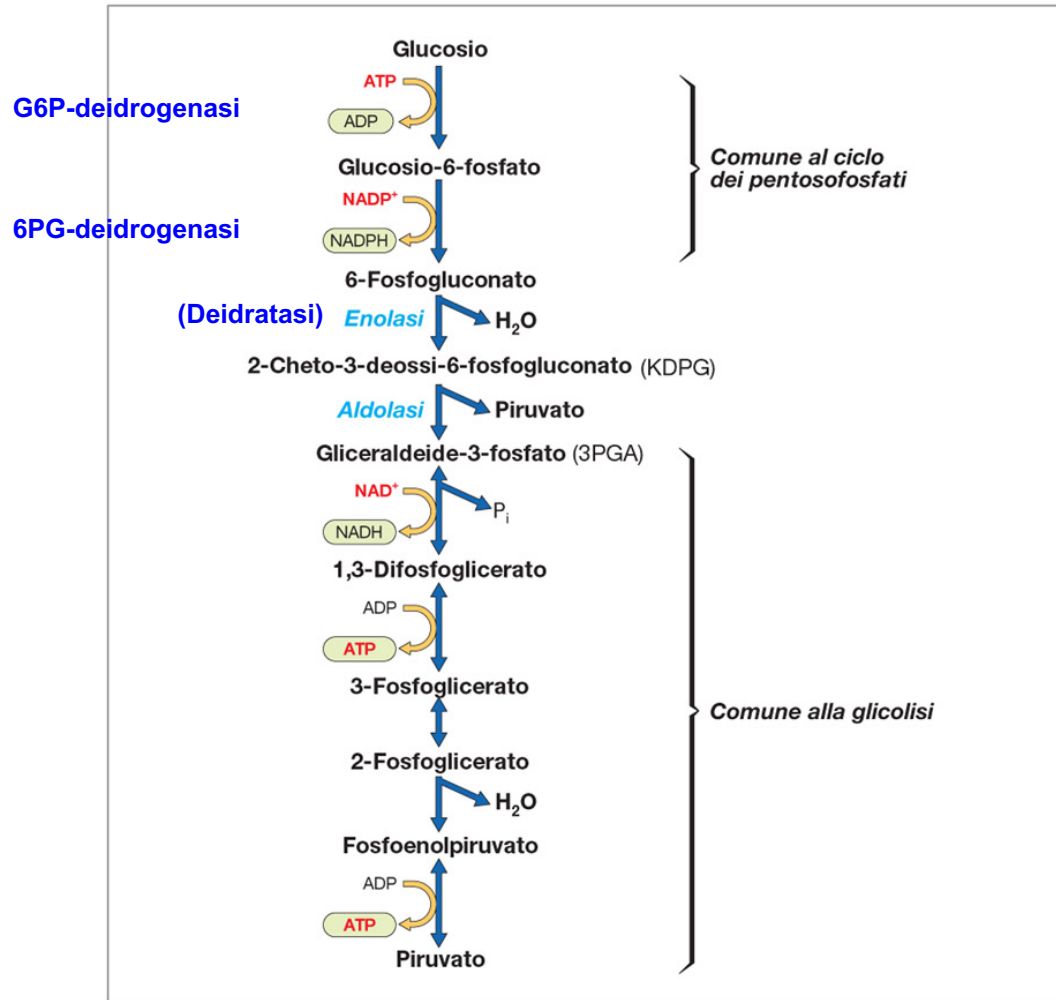
Ribulosio-5-fosfato*

Via di Entner-Doudoroff

- Via alternativa di trasformazione del glucosio (*Pseudomonas*, *Azotobacter*)



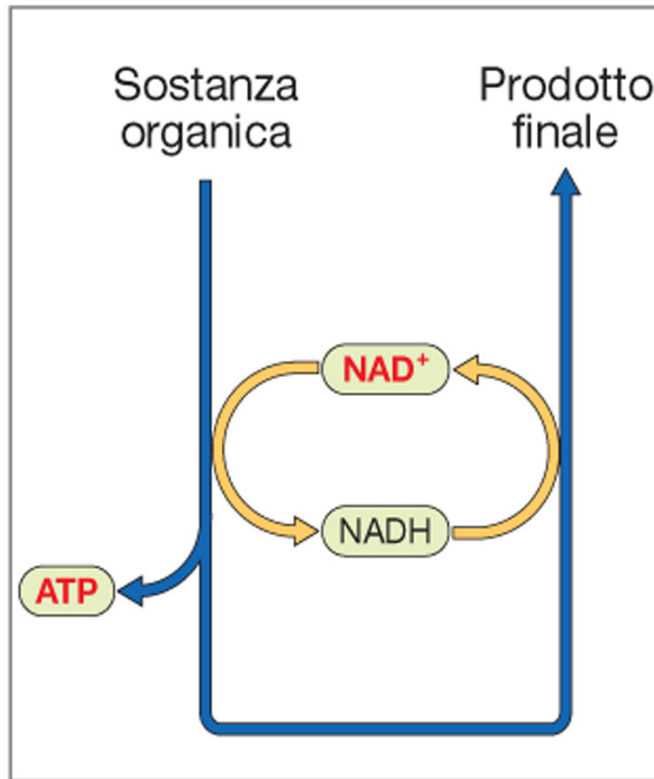
Via di Enter-Doudoroff



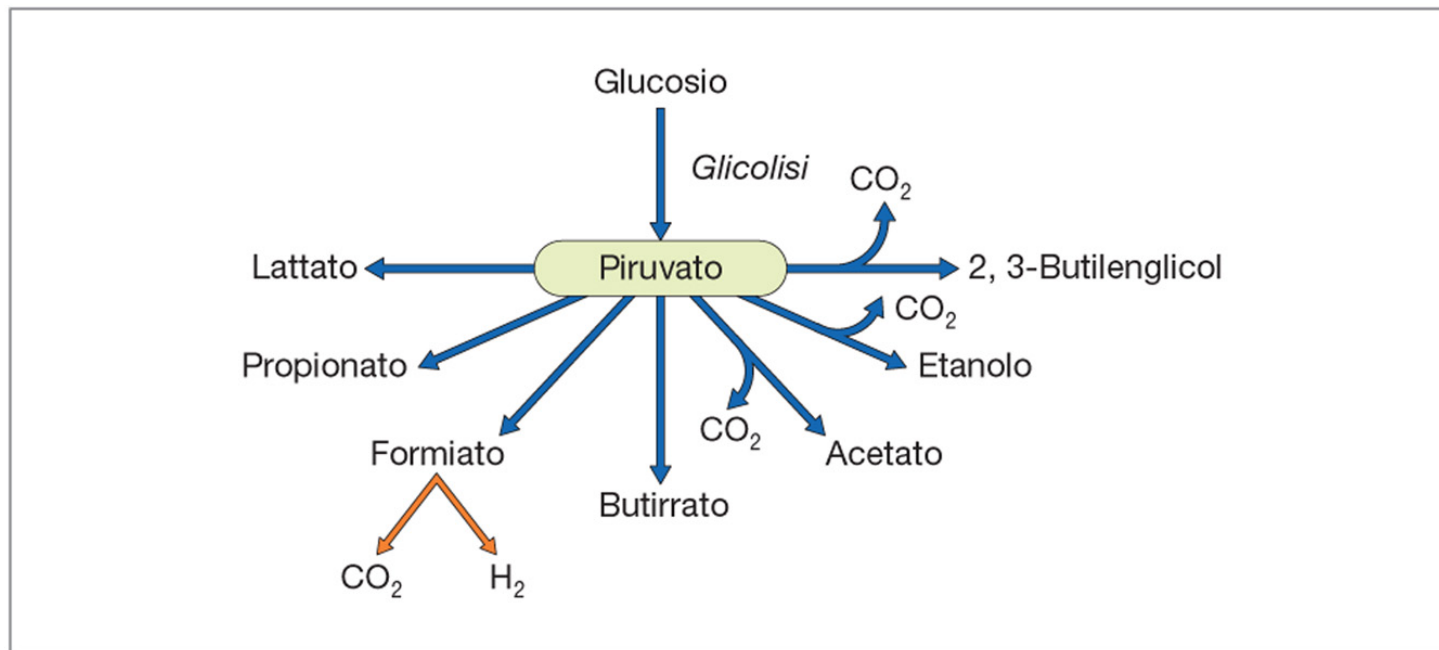
Fermentazione

- Processo metabolico anaerobico, in cui il donatore e l' accettore di e^- è una sostanza organica
- Il NADH prodotto dall' ossidazione di un composto organico si riossida a spese di un composto organico intermedio che funge da accettore di e^-

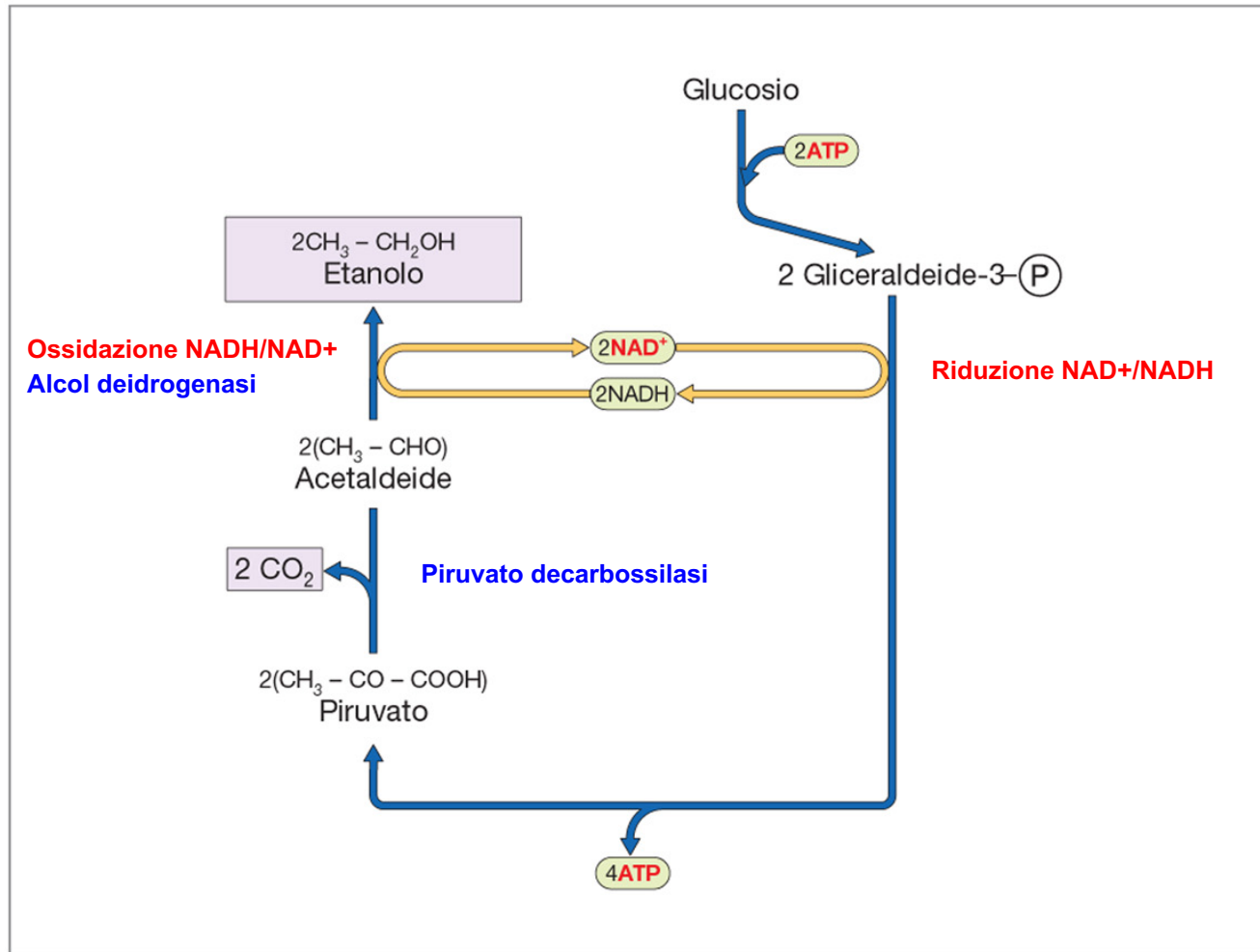
Fermentazioni



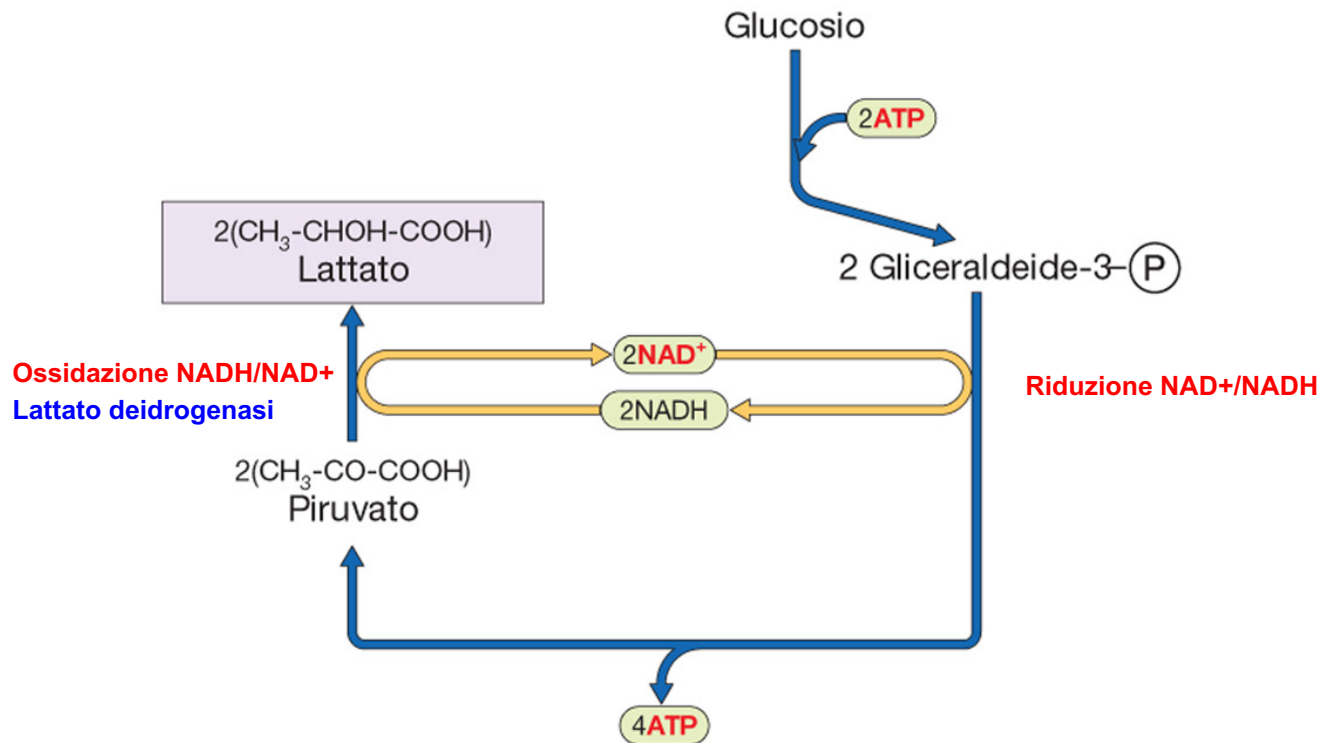
Il piruvato è l'intermedio centrale di diverse vie fermentative



Fermentazione alcolica



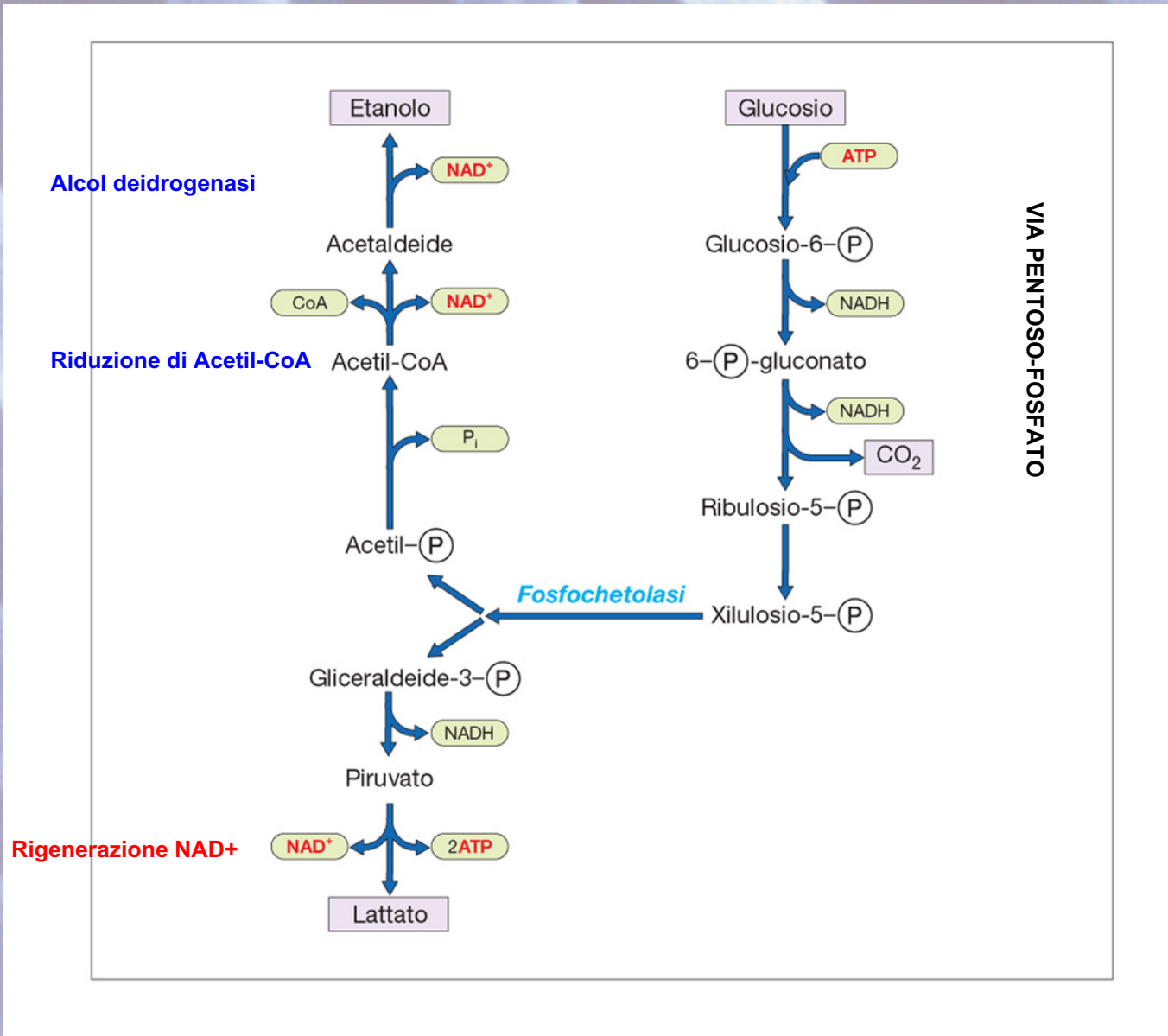
Fermentazione omolattica



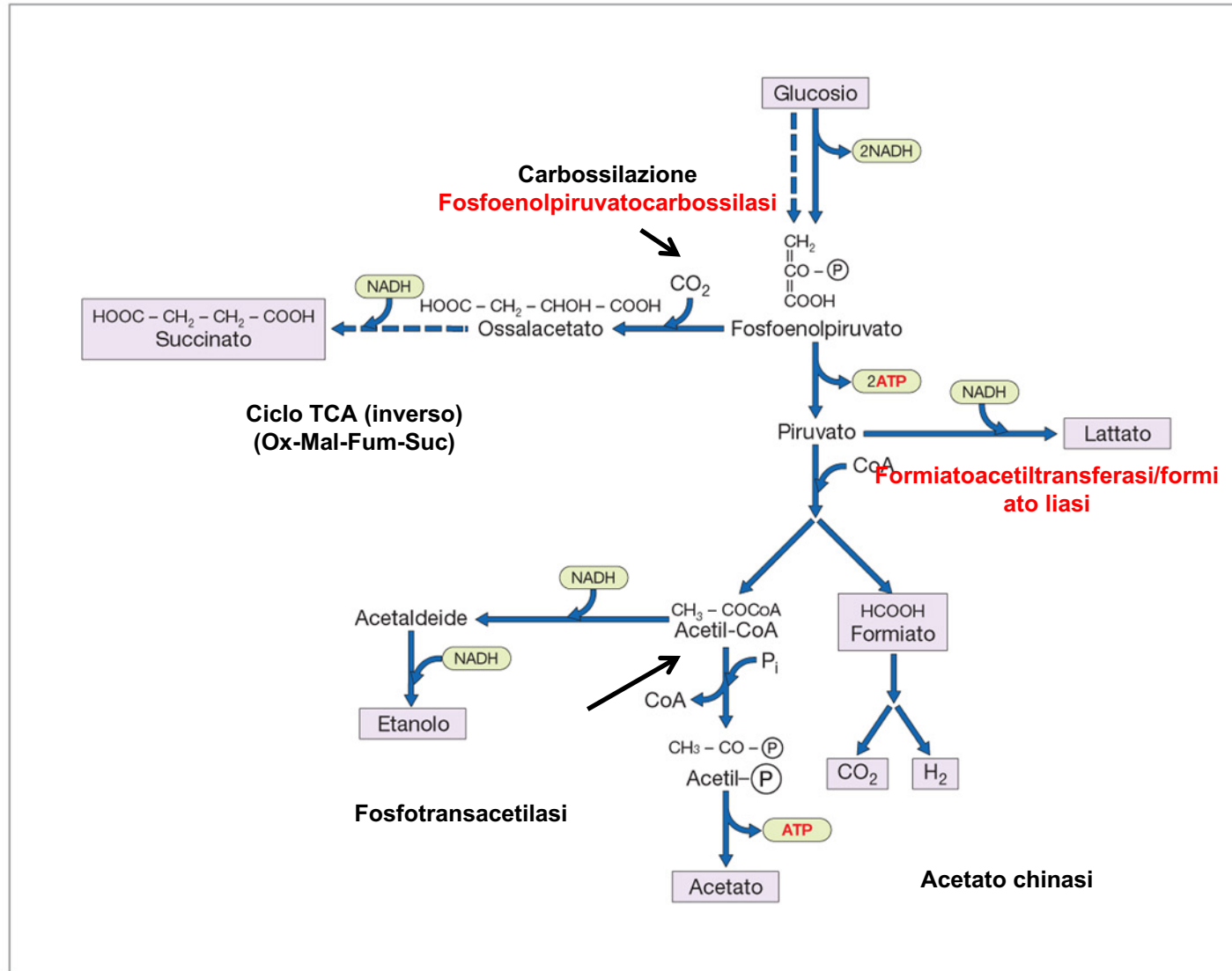
Fermentazione eterolattica

- La via dei pentosofosfati (fondamentale per la biosintesi della cellula) è la via iniziale della fermentazione del glucosio
- batteri lattici eterofermentanti (*Leuconostoc*, etc.)
- Glucosio \rightarrow lattato + etanolo + CO₂
- Resa : 1 ATP

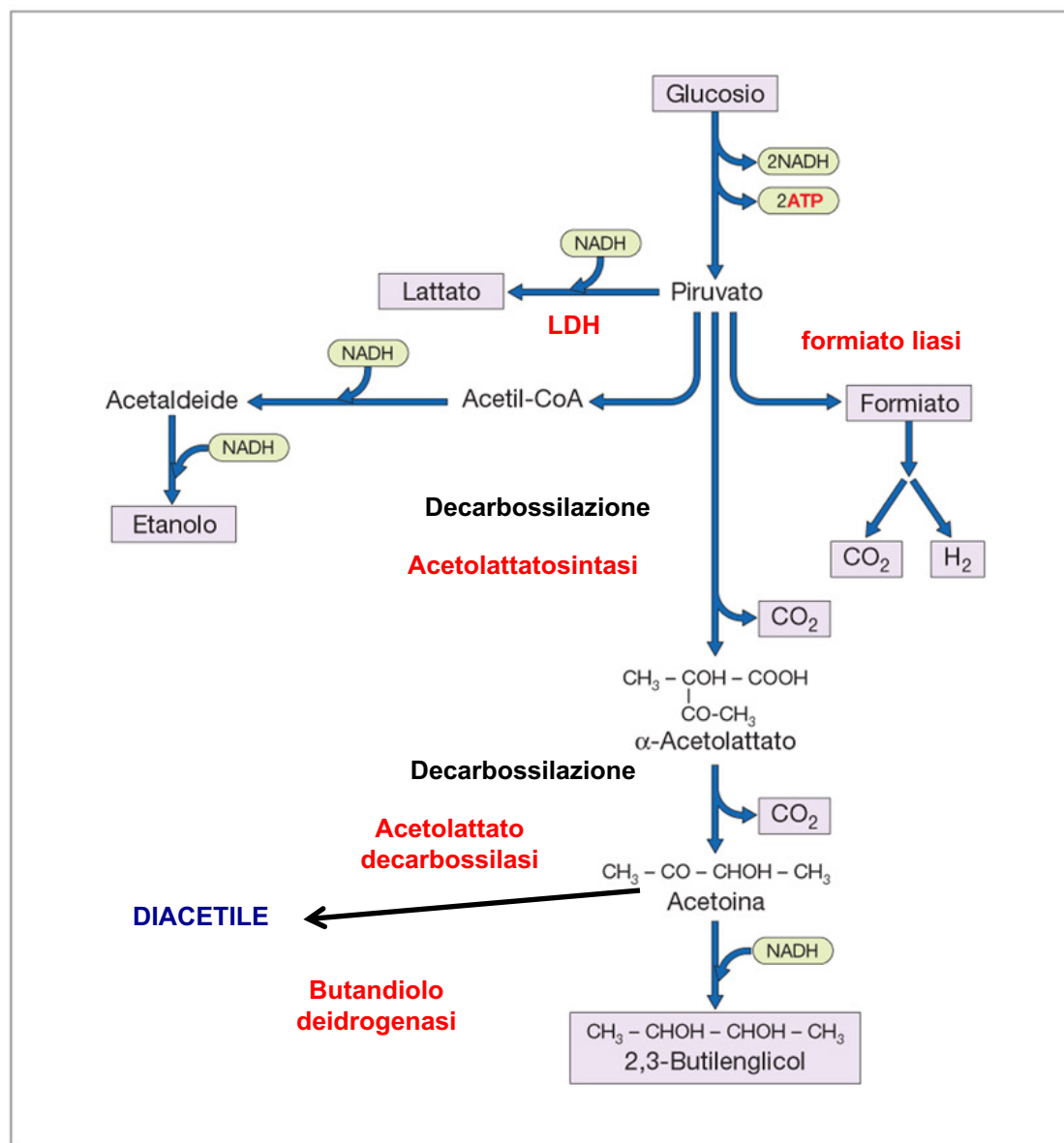
Fermentazione eterolattica



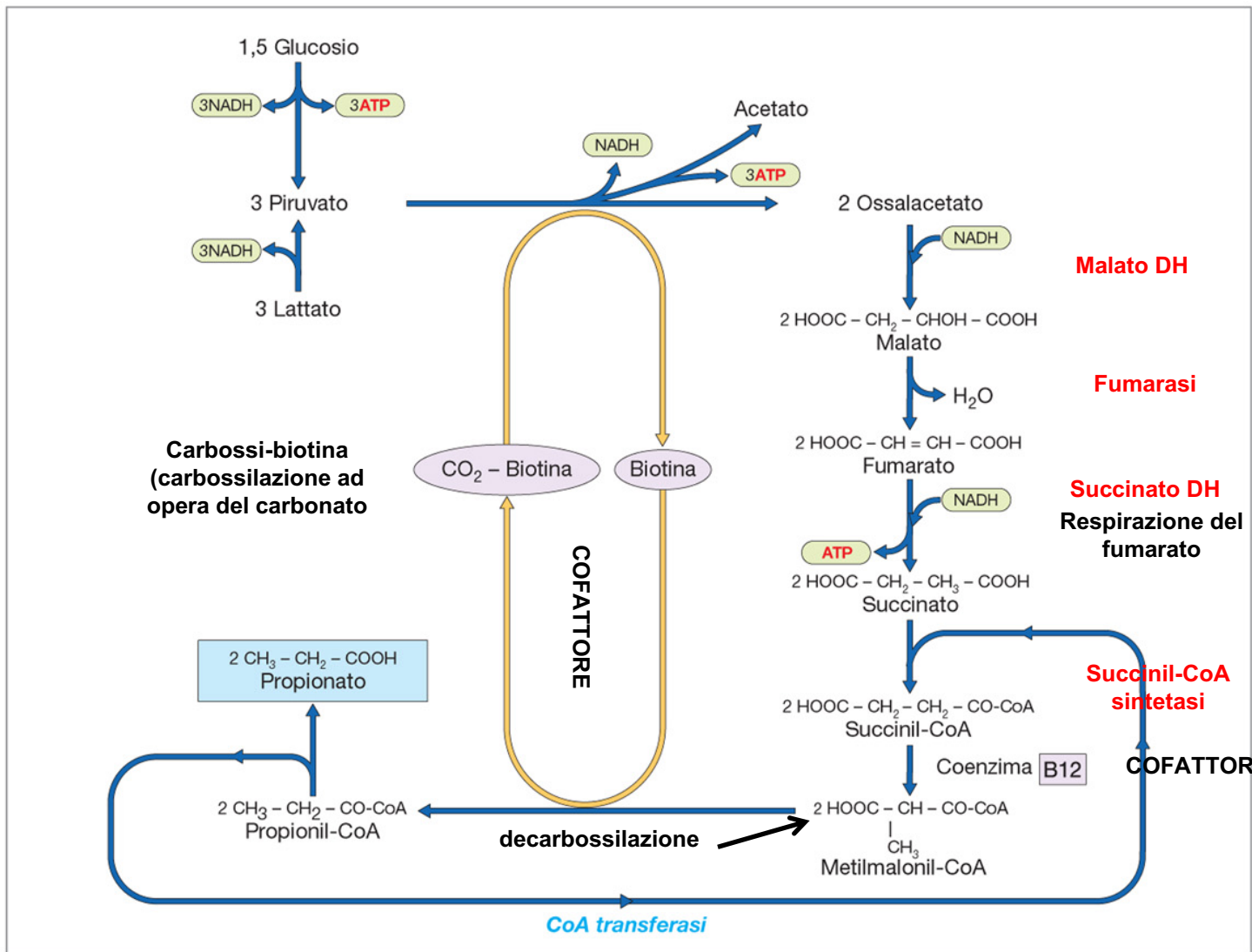
Fermentazione acido-mista



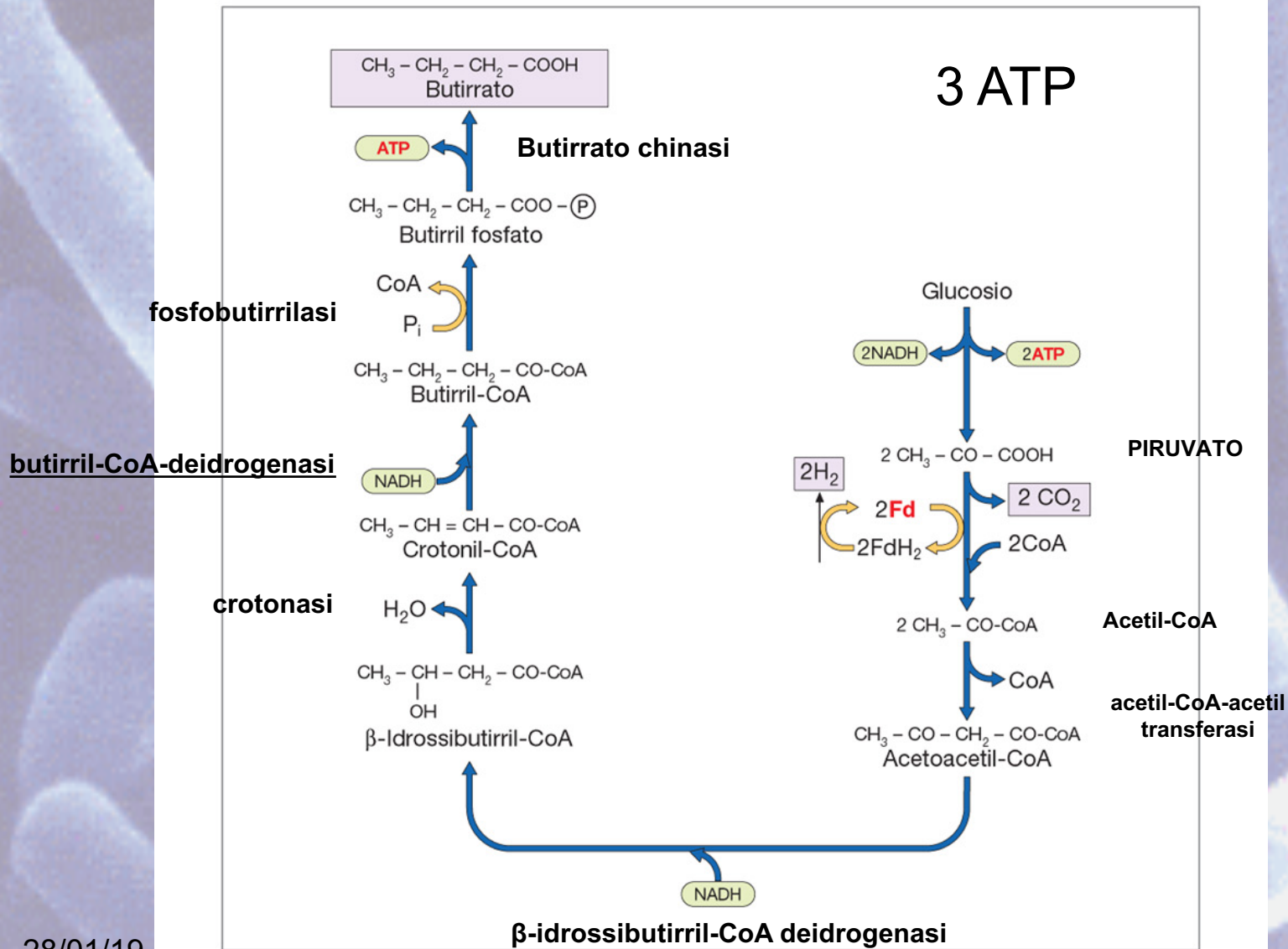
Fermentazione 2,3-butilenglicolica

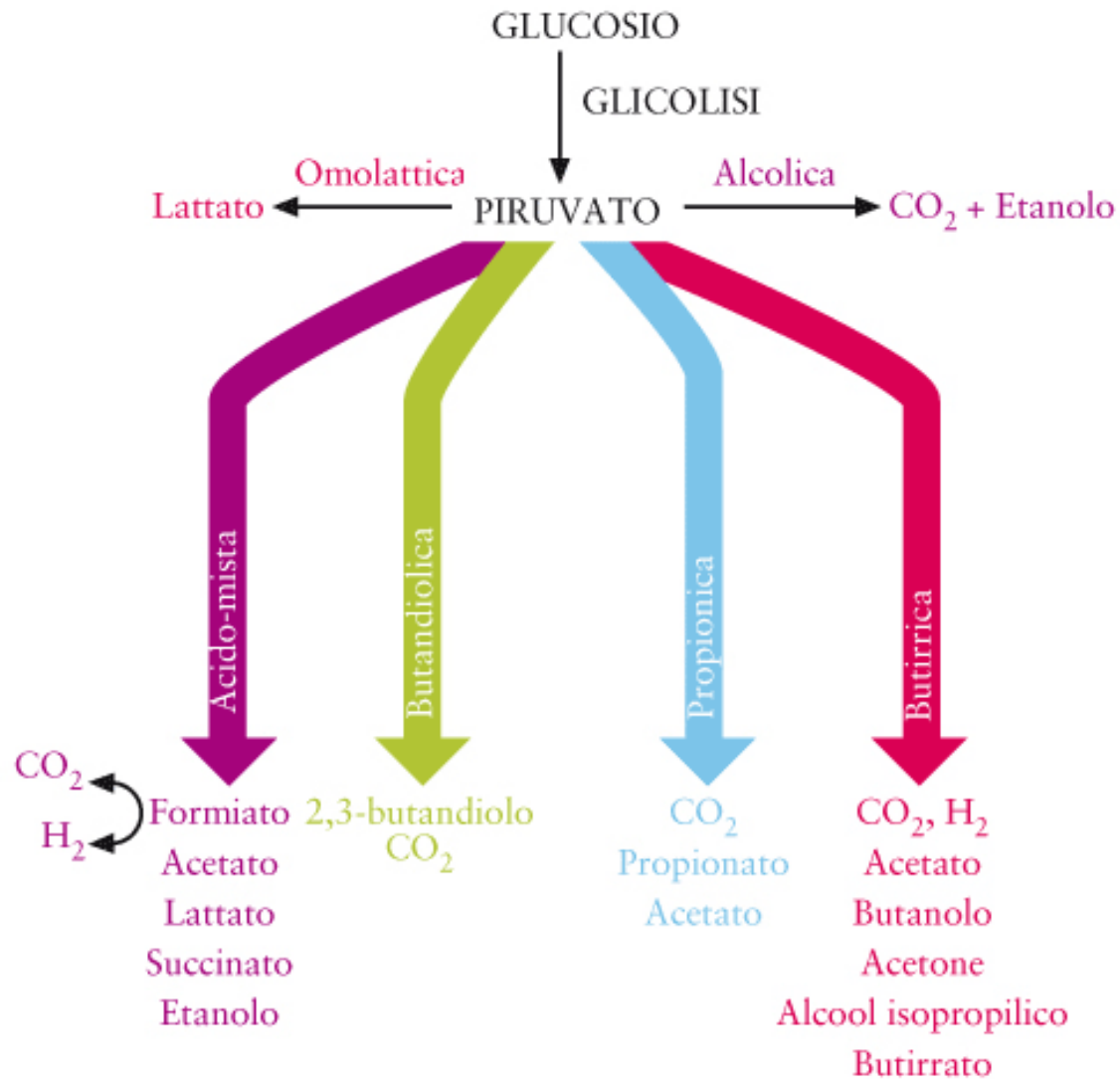


Fermentazione propionica



Fermentazione butirrica





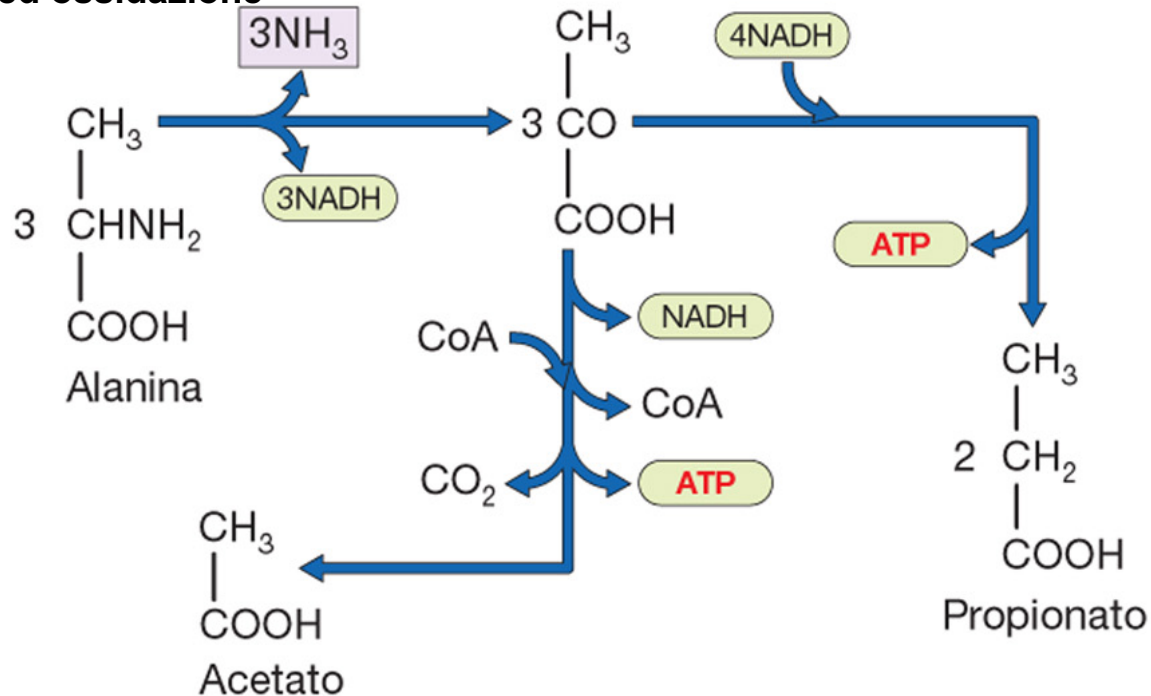
Fermentazione di aminoacidi

- Alcuni batteri appartenenti al genere *Clostridium* possono fermentare gli aa attraverso 2 modalità:
 - la fermentazione di un singolo aa con la produzione di acidi organici, NH_3 , CO_2 riossidando il NADH prodotto e producendo ATP
 - la fermentazione di aa in coppia: uno funge da donatore di e^- , l'altro da accettore

Fermentazione di aminoacidi

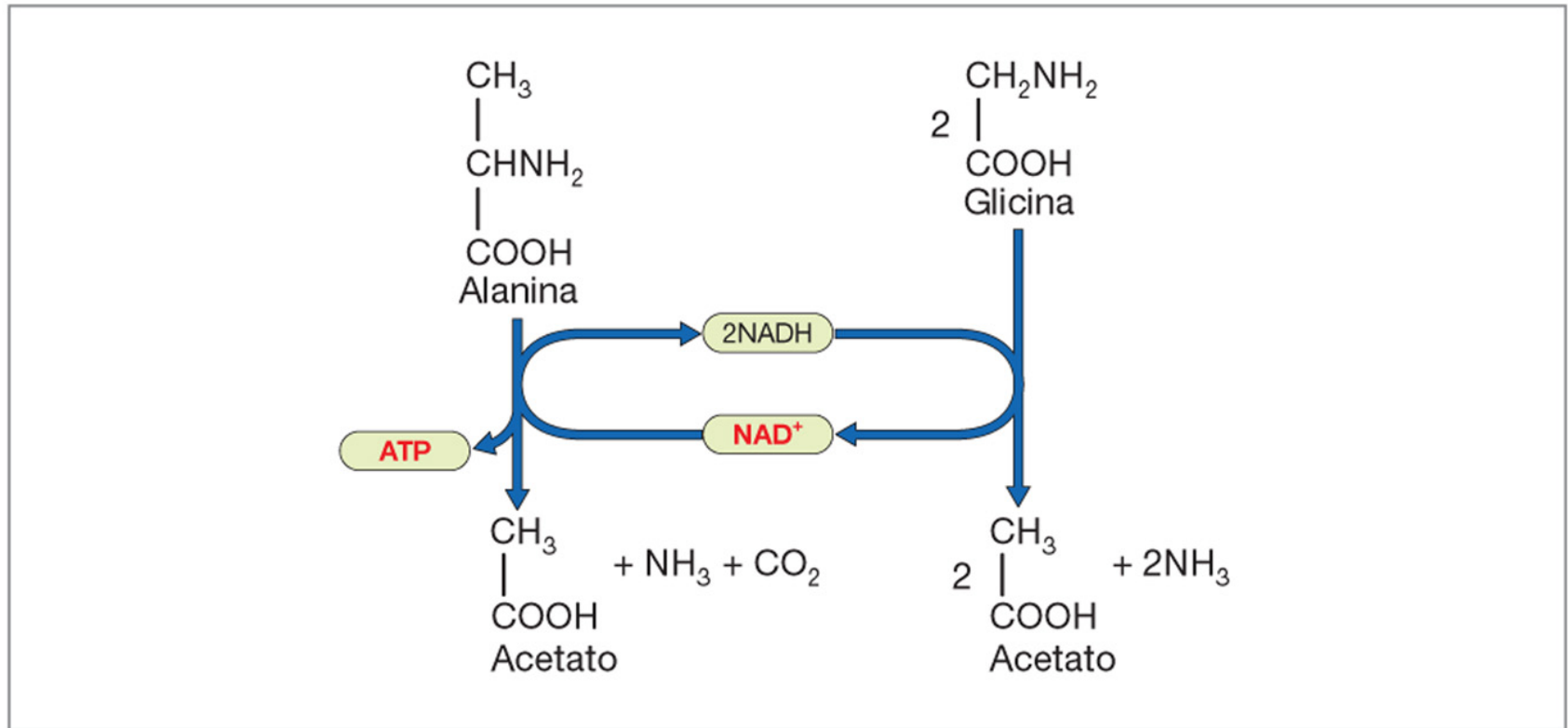
PIRUVATO

Deaminazione ed ossidazione



Fermentazione di aa in coppia

Donatore-accettore di e- (reazione di Stickland)



Vie di utilizzazione del piruvato

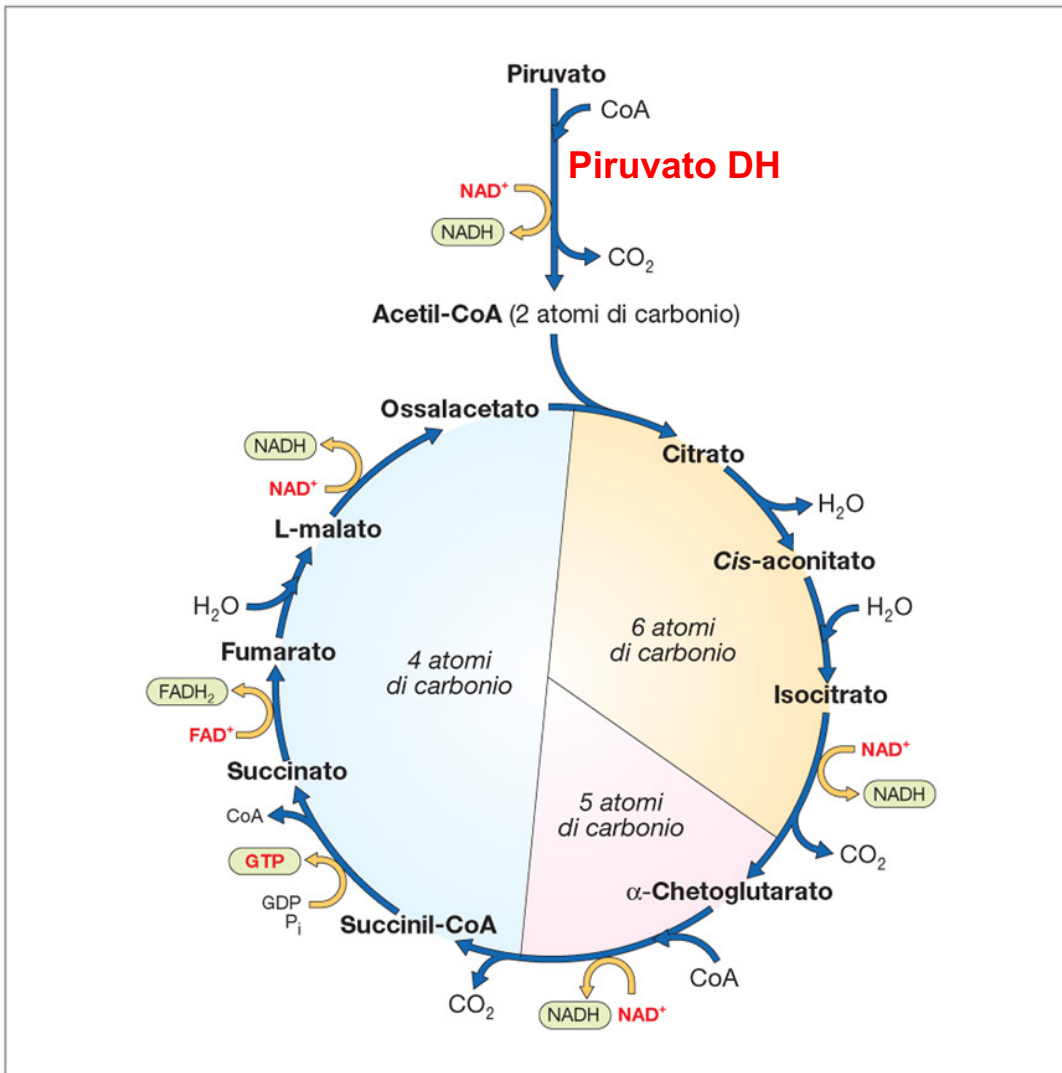
Nella maggior parte dei batteri aerobi il piruvato subisce una decarbossilazione ossidativa da parte della **piruvato deidrogenasi**.

Si forma **acetil-Coenzima A** secondo la reazione:

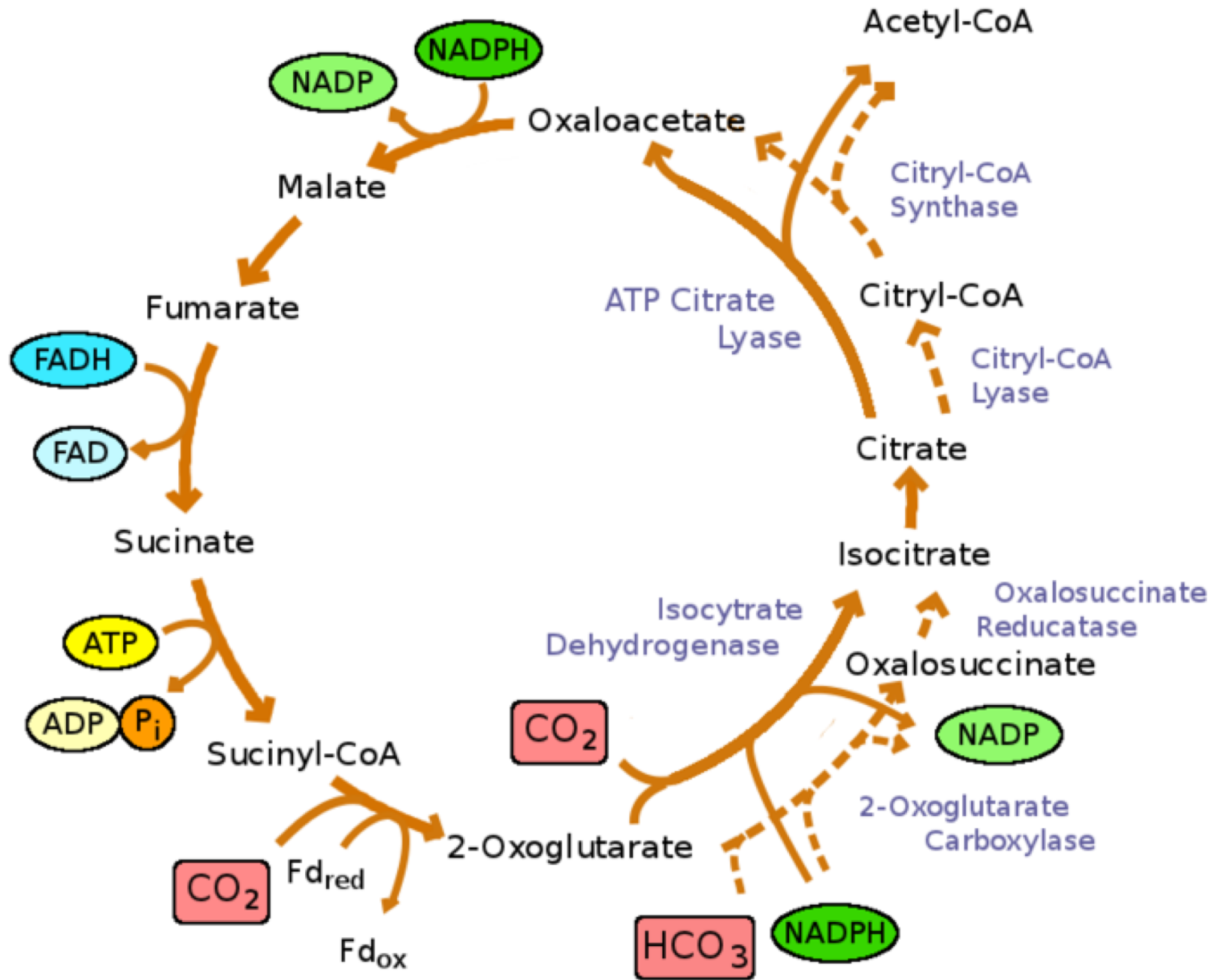


L' acetil-CoA entra come precursore nelle vie biosintetiche o può essere ossidato in maniera ciclica attraverso il ciclo di Krebs.

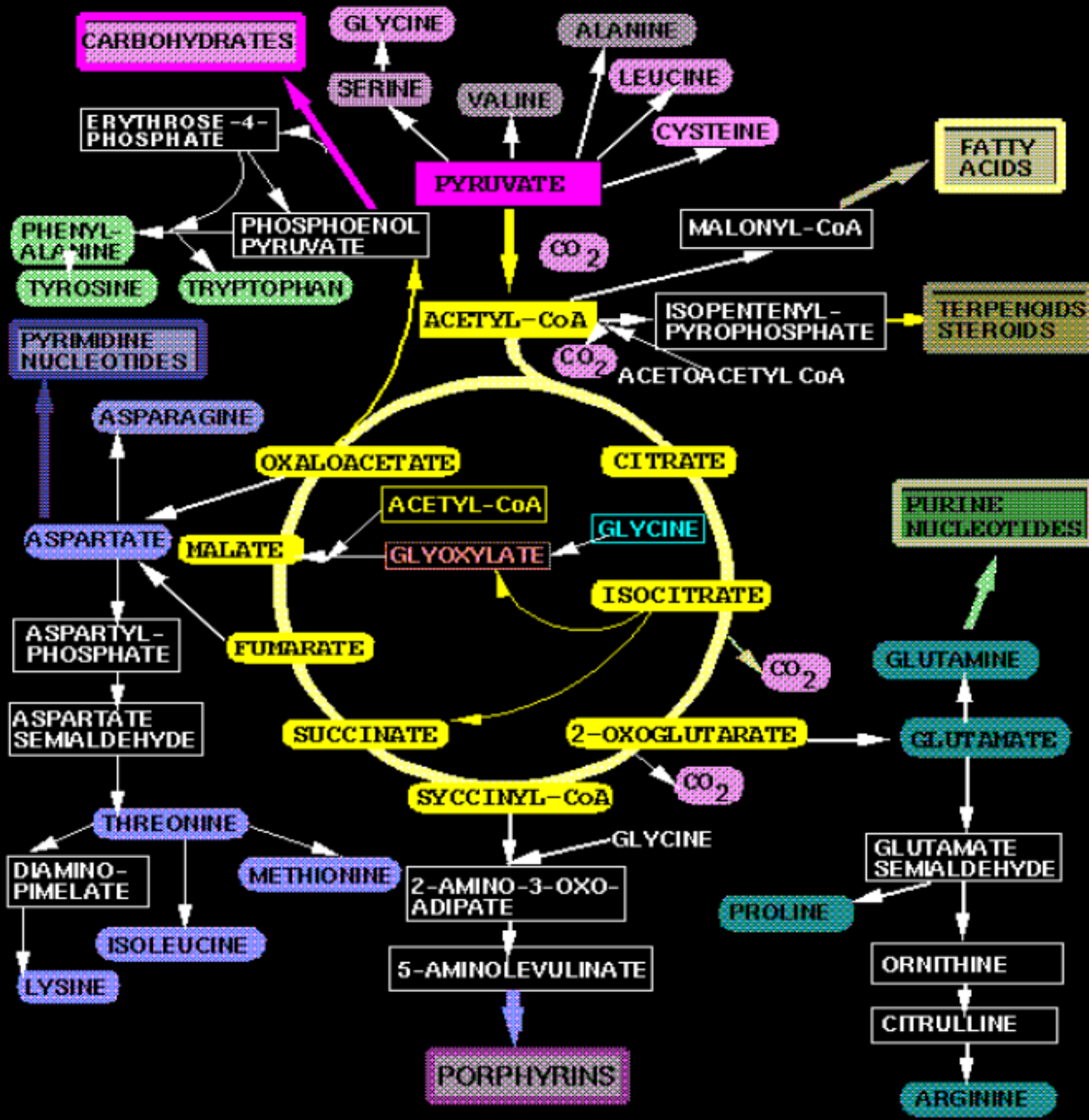
Ciclo di Krebs



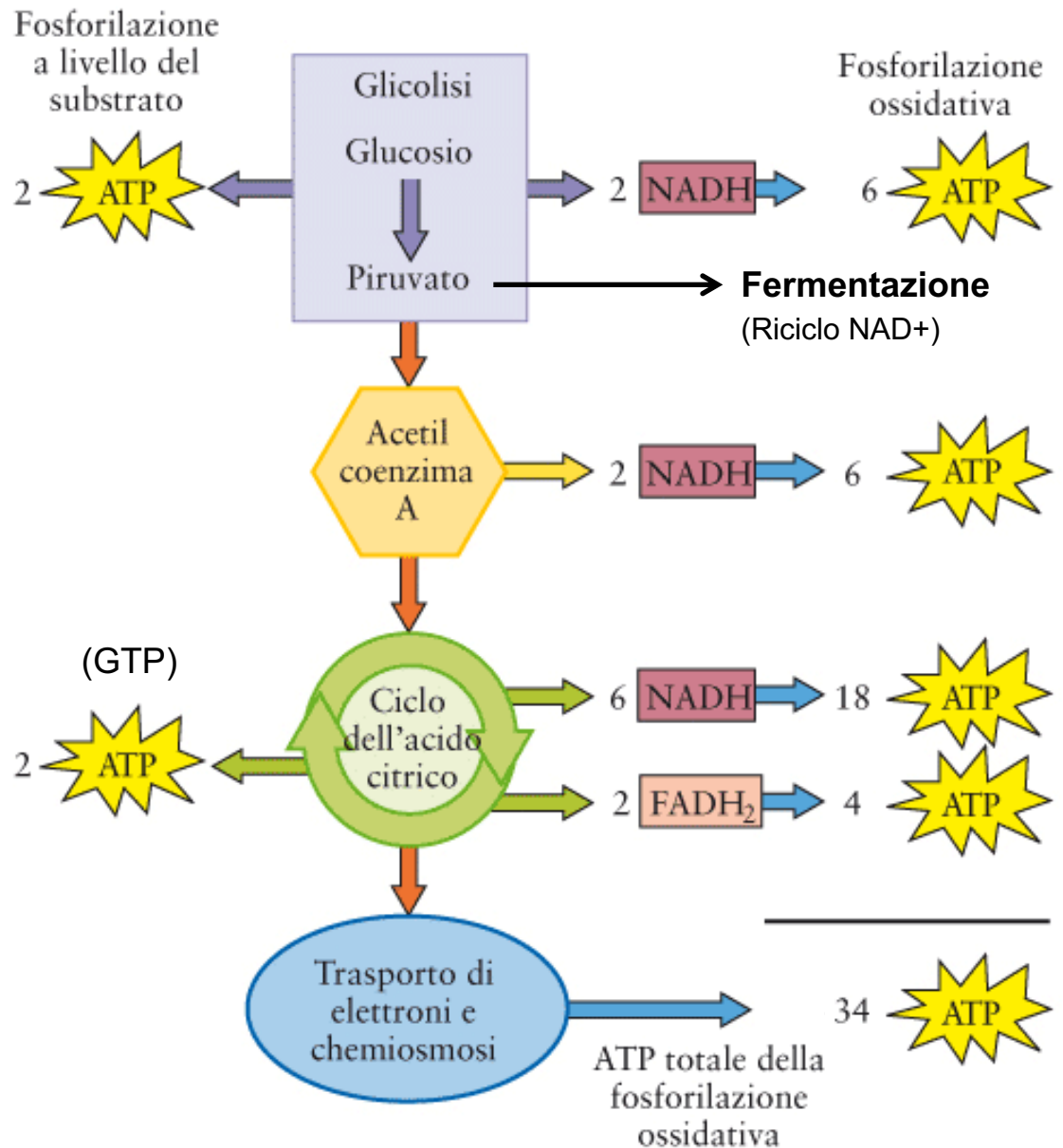
Nel percorso ciclico si completa l'ossidazione del glucosio (1 mole) a 6 moli di CO₂ con la produzione di altre 3 moli di NADH, di 1 mole di FADH₂ e di 1 mole di GTP.



THE BIOSYNTHETIC FUNCTIONS OF THE TCA



RICAPITOLANDO... Le rese energetiche



Rese energetiche

Tipo di ossidazione	Resa energetica
Via glicolitica	
Fosforilazione a livello di substrato	2 ATP
Fosforilazione ossidativa (2NADH)	6 ATP
Ossidazione del piruvato (2 piruvato → 2 acetil-CoA)	
Fosforilazione ossidativa (2NADH)	6 ATP
Ciclo degli acidi tricarbossilici	
Fosforilazione a livello di substrato (GTP)	2 ATP
Fosforilazione ossidativa (6NADH)	18 ATP
Fosforilazione ossidativa (2FADH ₂)	4 ATP
Resa totale	38 ATP

A microscopic image of lactic acid bacteria, showing several long, rod-shaped cells with rounded ends, some of which are arranged in chains. The background is a light blue color.

I metabolismo del piruvato e la respirazione aerobia in microrganismi di interesse industriale

I batteri lattici: un caso studio

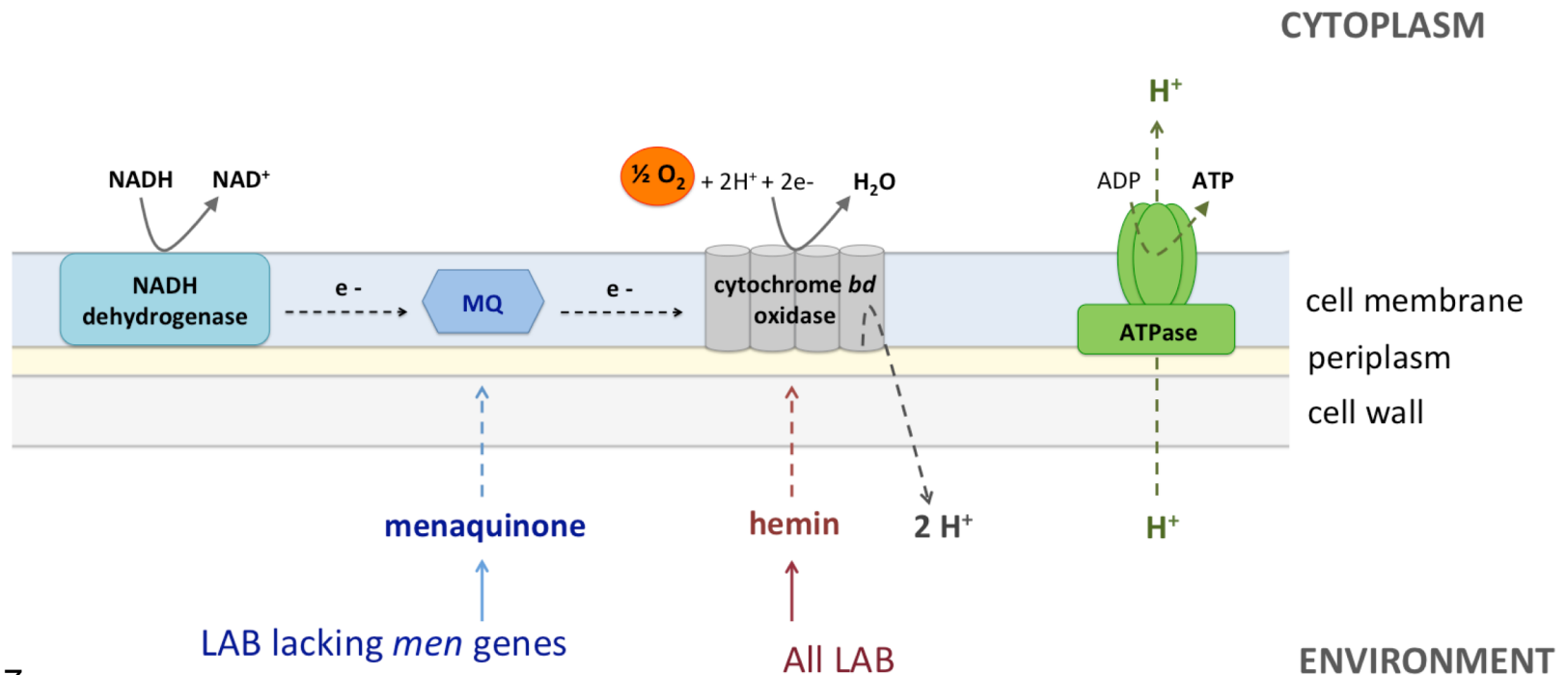
Catena di trasporto degli e⁻ nei batteri lattici

Vantaggi per la cellula:

- Maggiore produzione di energia (ATP)
- Maggiore produzione in biomassa
- Diminuzione dell'O₂ intracellulare
- Diminuzione dello stress ossidativo
- Maggiore sopravvivenza

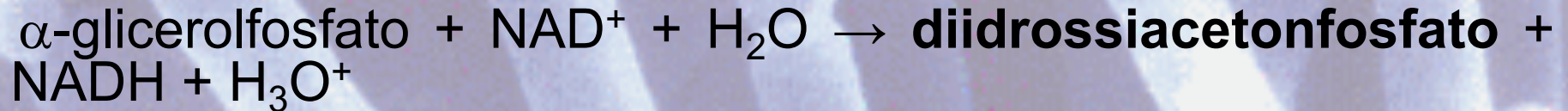
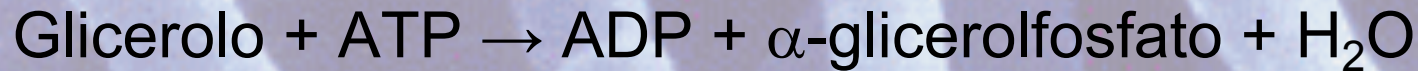


Importante per la produzione di colture starter, aggiuntive e/o probiotiche



Catabolismo dei lipidi

Il **glicerolo** può essere metabolizzato da molti microrganismi mediante il suo collegamento con il metabolismo dei carboidrati:



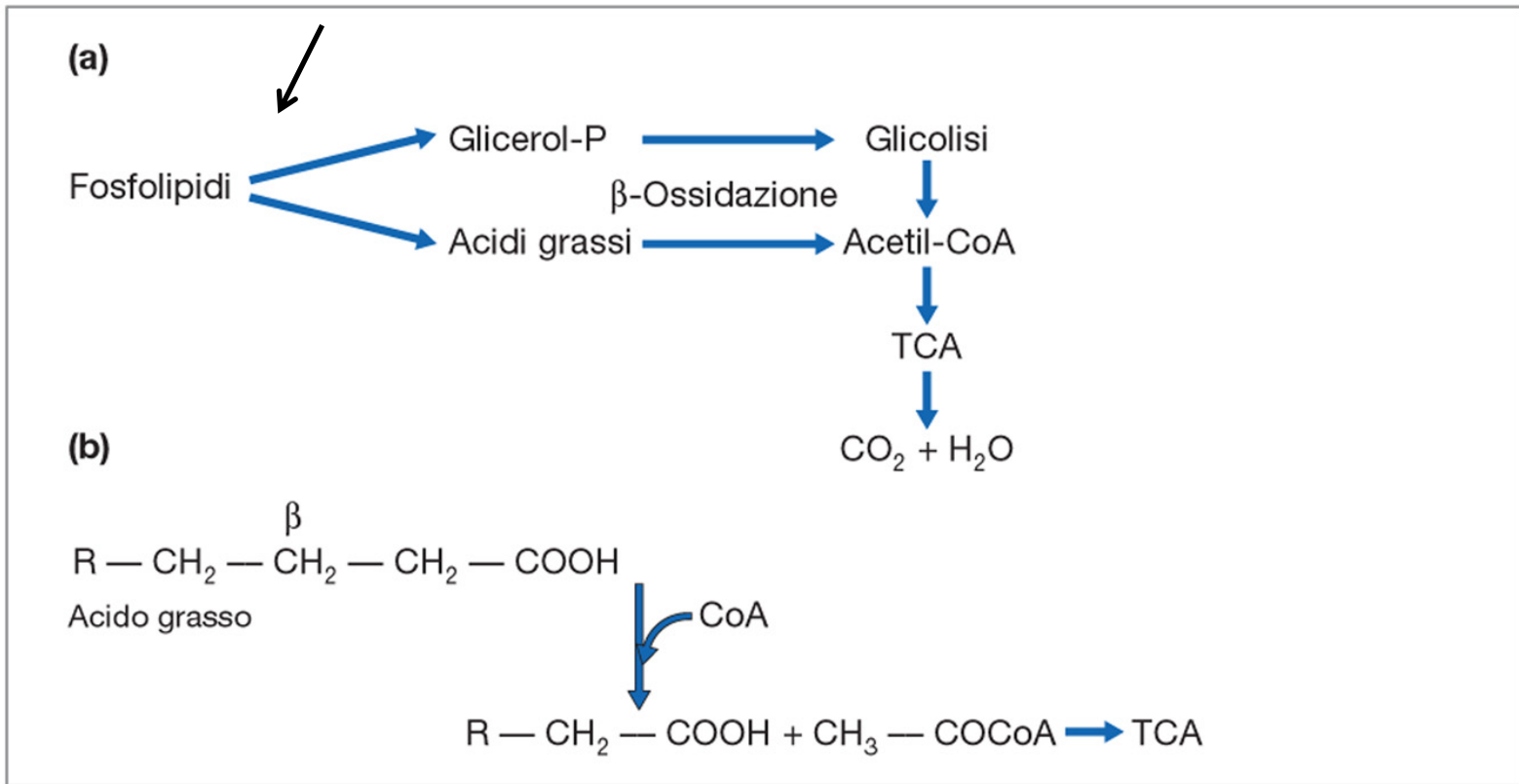
Il diidrossiacetonefosfato che si forma viene metabolizzato con la glicolisi.

Gli acidi grassi sono ossidati a formare acetil-CoA che può a sua volta entrare nel ciclo di Krebs, mentre gli H^+ o i loro elettroni entrano nella catena respiratoria.

Tuttavia solo un piccolo numero di specie batteriche riesce ad attaccare in maniera efficace i lipidi soprattutto a causa della scarsa solubilità di questi composti.

Catabolismo dei lipidi

Idrolisi del legame estere



Catabolismo delle proteine

Molti batteri eterotrofi riescono a degradare le proteine esogene usando i prodotti come fonti di C e di N per procurarsi energia.

Le proteine sono molecole troppo grandi per poter attraversare la membrana, pertanto i batteri producono:

- ***Proteasi***: idrolizzano le proteine trasformandole in peptidi
- ***Peptidasi***: degradano i peptidi a singoli aminoacidi.

Gli scheletri di carbonio degli aminoacidi utilizzati vengono trasformati in composti che possono entrare nel ciclo di Krebs per subire la degradazione ossidativa.

Degradazione di polimeri organici

Polimero	Enzimi
Proteine	Proteinasi (endo-, eso-), Peptidasi
DNA	Endo- ed esonucleasi, DNAsi, RNasi
Pectine	Poligalatturonasi, pectina-metil-esterasi, pectinaliasi
Amido	α -amilasi, β -amilasi, pullulanasi, glucoamilasi
Cellulosa	Complessi cellulolitici

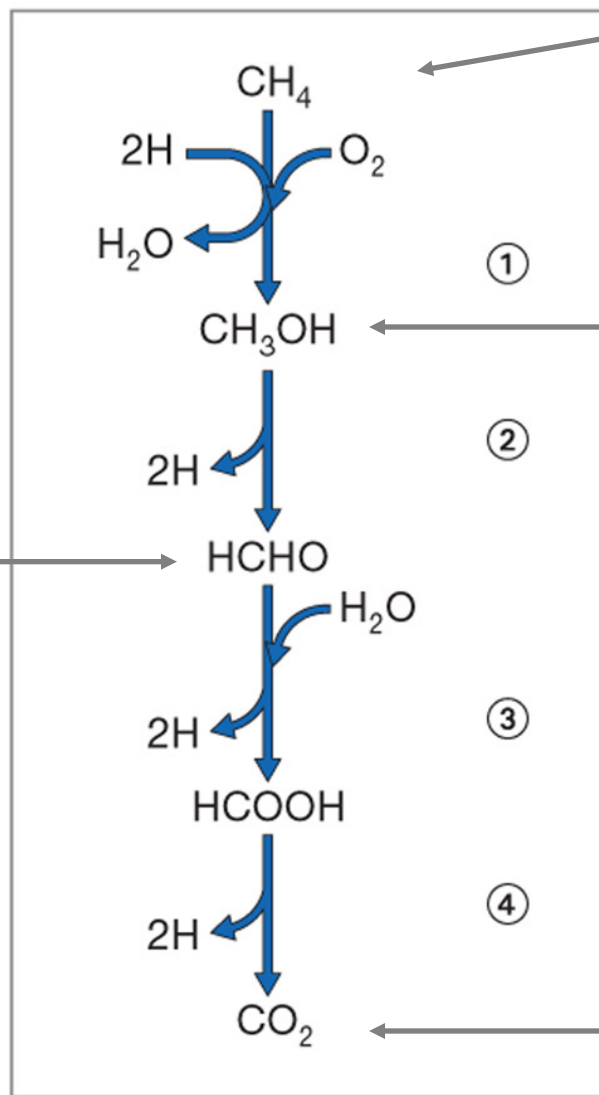
Catabolismo di idrocarburi alifatici, aromatici e loro derivati

- Utilizzato da microrganismi eterotrofi, come fonte di C e di energia.
- Subiscono una ossigenazione ad opera di mono e diossigenasi
- Gli intermedi ossigenati entrano nelle vie metaboliche centrali

Metilotrofia e metanotrofia

- **Metilotrofia:** Capacità di utilizzare per la crescita l'intera gamma dei composti C1 (idrocarburi)
- **Metanotrofia:** capacità da parte di alcuni microrganismi aerobi di utilizzare il metano

Metabolismo del CH_4 nei batteri metanotrofi



metano
mono-ossigenasi

metanolo
metanolo DH

aldeide formica
formaldeide ossidasi

acido formico
formiato DH

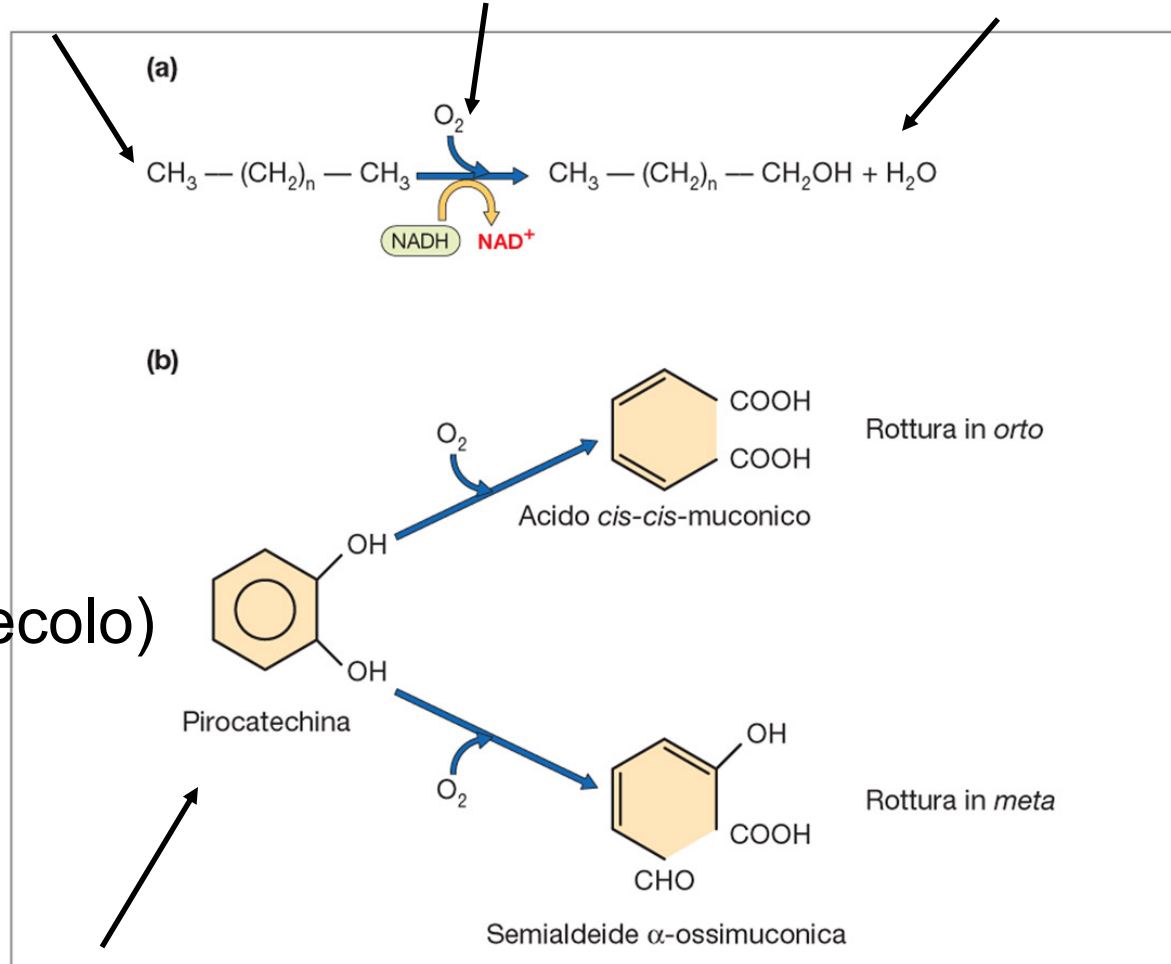
anidride carbonica

Vie periferiche

mono-ossigenasi

N-alcano

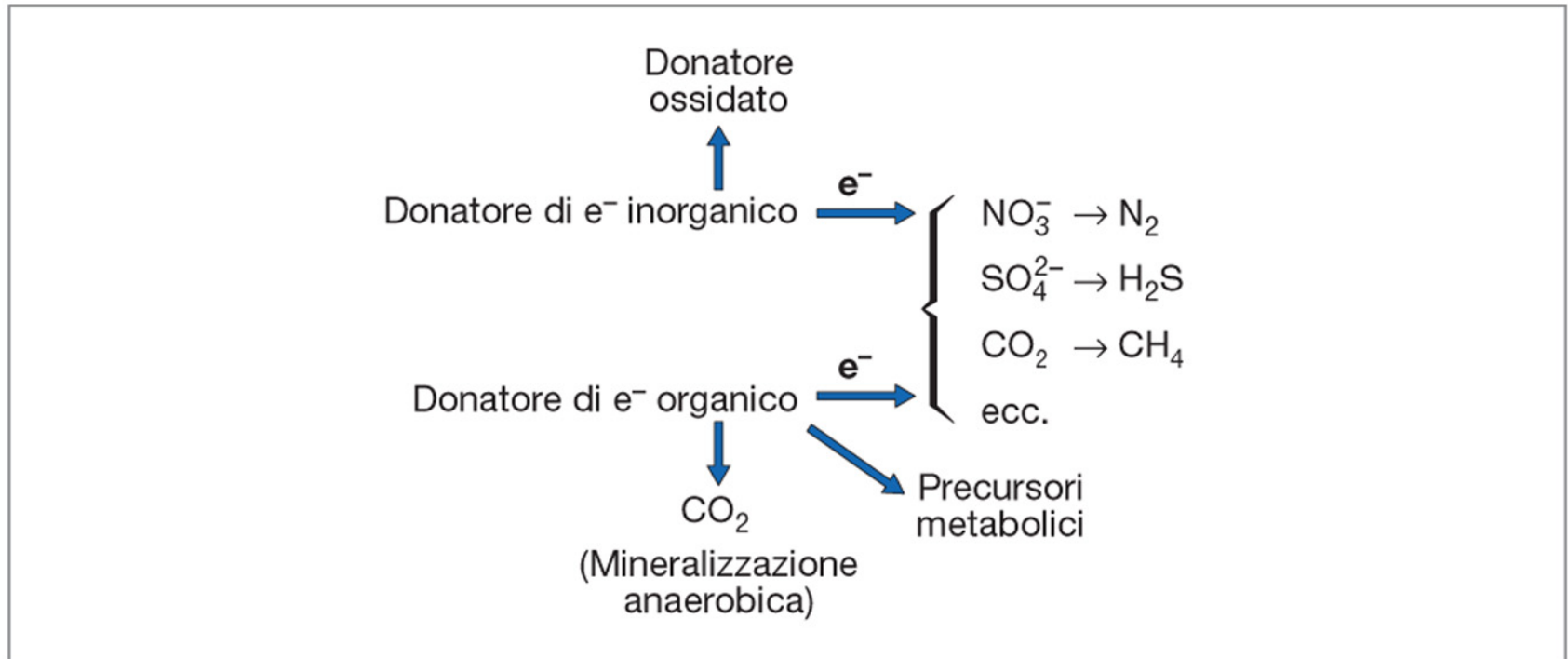
alcol



di-ossigenasi

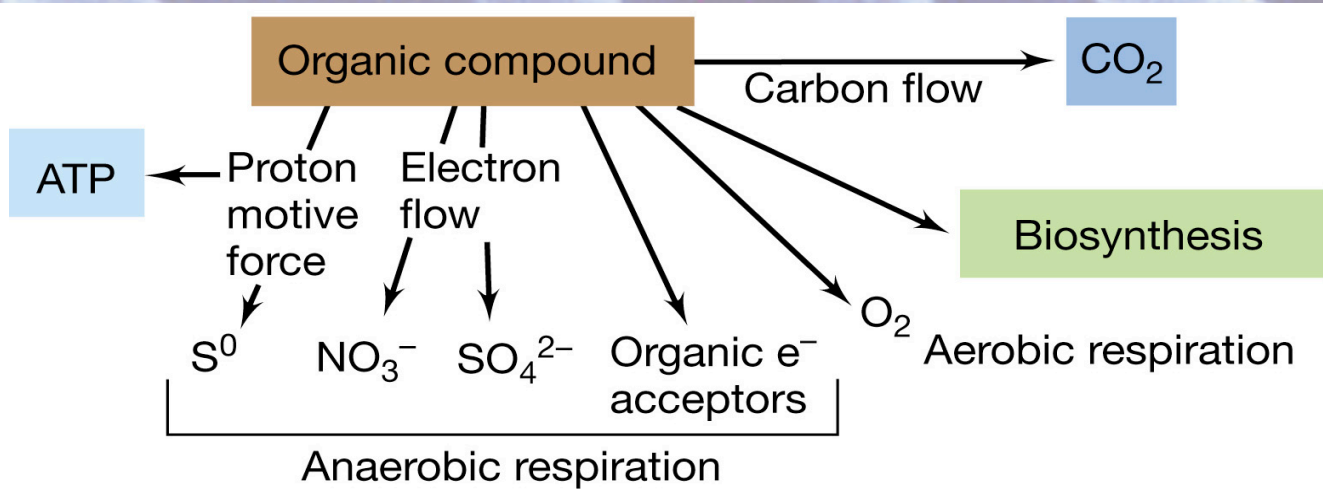


Respirazione anaerobica

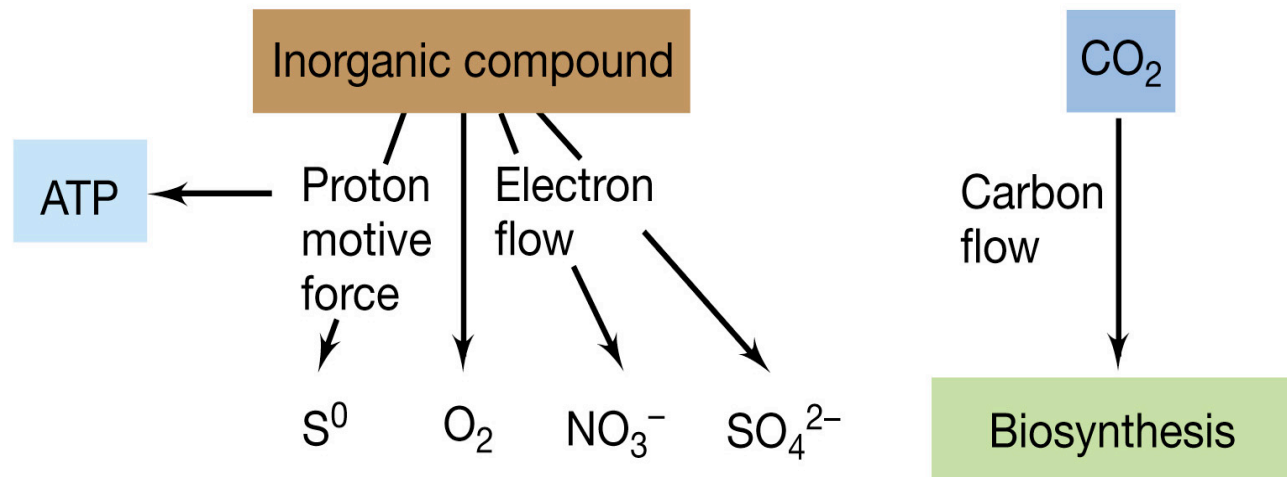


Efficienza minore rispetto alla respirazione aerobia

Flusso dell'energia e del C nel metabolismo chemiorganotrofo e chemiolitotrofo

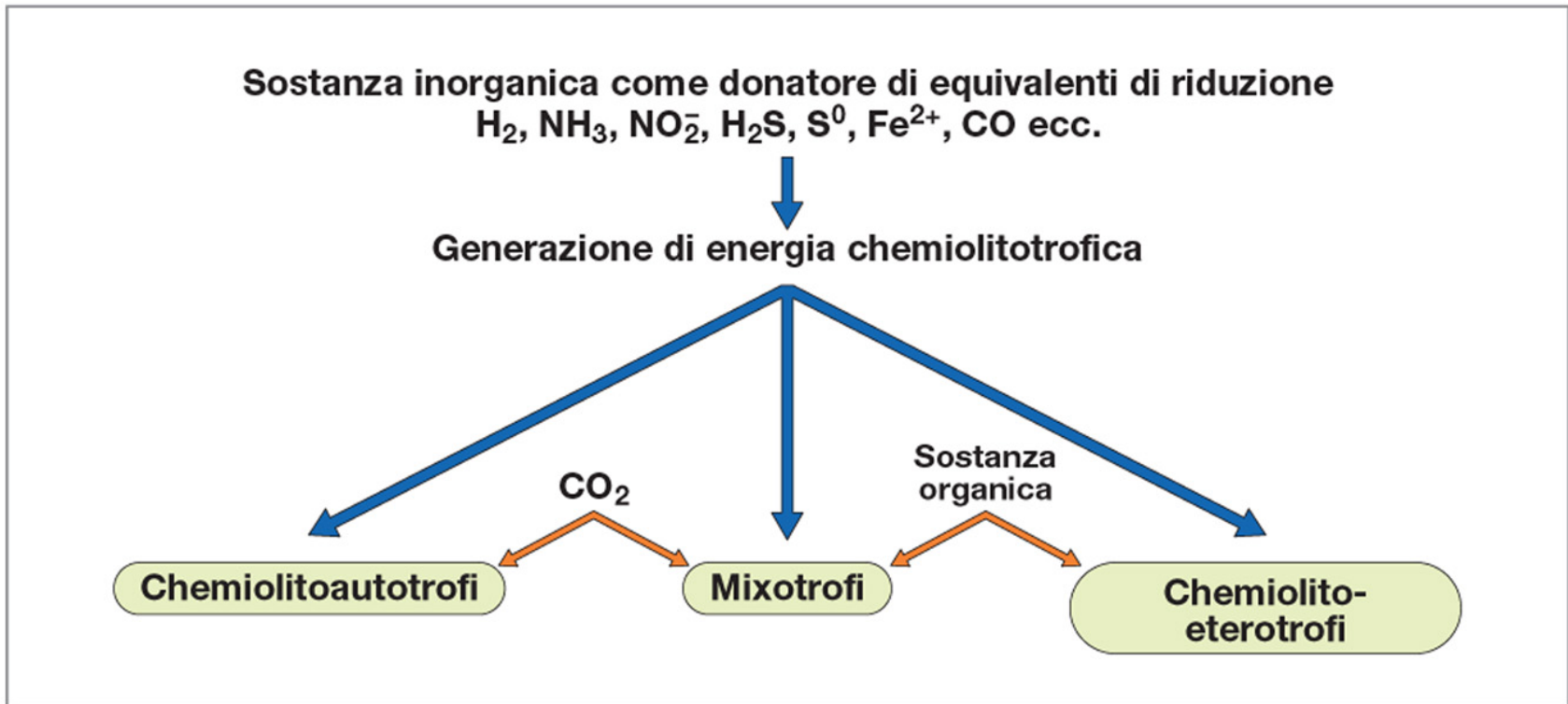


(a) Chemoorganotrophic metabolism



(b) Chemolithotrophic metabolism

Metabolismo chemiolitotrofico

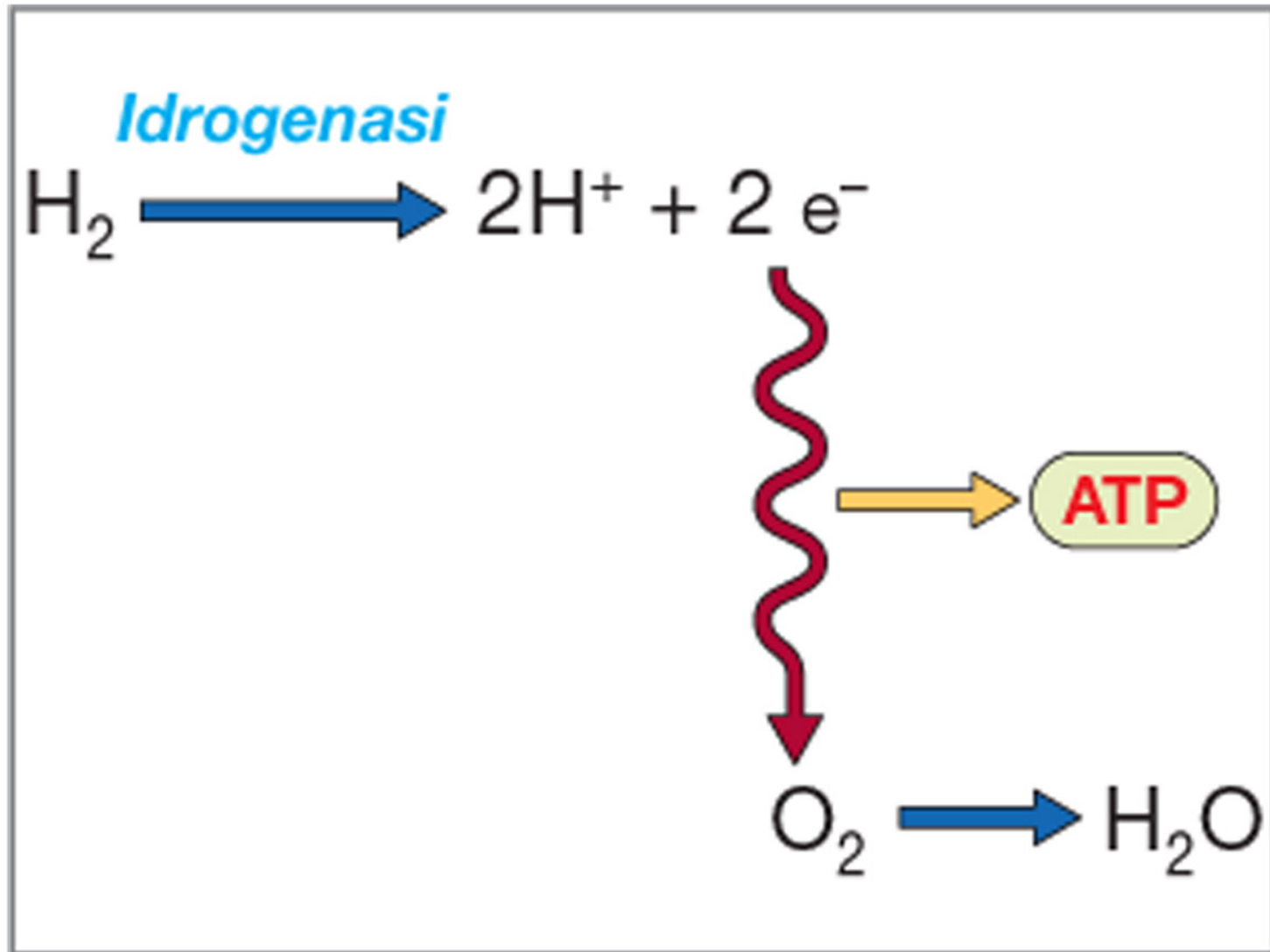


Sostanza inorganica come donatore di e⁻

Idrogeno H₂

- Batteri chemiolitotrofi, sia eterotrofi che mixotrofi, capaci di utilizzare anche la sostanza organica sia come fonte di e⁻ che di C
- La capacità di utilizzare H₂ dipende dalla presenza di **idrogenasi** che scindono l'H₂ in H⁺ ed e⁻, che vengono convogliati lungo la catena di trasporto degli e⁻ con produzione di ATP

Ossigenazione di idrogeno



NH_3 e NO_2^- come fonte di e^-

- Microrganismi in grado di ossidare le forme ridotte dell'azoto a nitrito e nitrato per ottenere energia (nitrificazione):
 - **nitrosanti o ammonio ossidanti:** ossidano NH_3 a nitrito (*Nitrosomonas*)
 - **nitricanti o nitrito ossidanti:** ossidano il nitrito a nitrato (*Nitrobacter*)

Riduzione del nitrato (denitrificazione)

- Batteri anaerobi facoltativi , capaci di compiere una respirazione aerobica in presenza di O_2 e una respirazione anaerobica in assenza di O_2 e in presenza di nitrato
- $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$
- In totale per la **riduzione dissimilativa** di 2 moli di NO_3^- sono richiesti $10e^-$
- $2NO_3^- + 10e^- + 12H^+ \rightarrow N_2 + 6H_2O$

Denitrificanti

- Chemiorganotrofi: utilizzano come donatore di e^- la sostanza organica che subisce una completa ossidazione a CO_2 (mineralizzazione aerobica)
- Alcuni batteri denitrificanti usano donatori di e^- inorganici (H_2 , H_2S): *Thiobacillus denitrificans* è un chemiolitrofo che utilizza il NO_3^- come accettore di e^- e H_2S come donatore

Composti ridotti dello S come fonte di e⁻

- Alcuni chemiolitoautotrofi (**sofobatteri**) sono in grado di utilizzare i composti ridotti dello zolfo (idrogeno solforato, S elementare, solfito, tiosolfato) come donatori di e⁻:
- $\text{H}_2\text{S} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$
- $\text{S}^0 + \frac{3}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4$
- $\text{H}_2\text{S} + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$
- Es. *Thiobacillus*, *Acidianus* (archea)

Solforiduzione

- Processo inverso della solfossidazione che porta alla produzione di solfuro
- **accettore di e- può essere il solfato**, ma anche solfito, tiosolfato e S elementare (o anche composti solforati come tritionato, tetrionato)
- Il donatore di e- è spesso un composto organico (acido grasso, etanolo, acetaldeide, etc.)

Microrganismi solforiduttori

- acquatici, anaerobi obbligati
- Alcuni archea (*Archeoglobus*) sono termofili e popolano ambienti estremi come fonti calde di origine vulcanica delle profondità marine e depositi di petrolio
- Alcune forme microbiche si comportano da chemilitotrofi: utilizzano sostanza inorganica come donatore di e- (es. H₂)

Fe^{2+} come fonte di e^-

- Microrganismi (**ferrobatteri**) in grado di ossidare il ferro ferroso a ferro ferrico:
- $\text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + e^-$
- Es: *Gallionella*, *Leptothrix*

CO come fonte di e⁻

- Batteri che ricavano energia ossidando il monossido di carbonio (CO) a CO₂
- carbossidotrofi: utilizzano CO come fonte di C
- $7\text{CO} + 5/2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + 6\text{CO}_2$

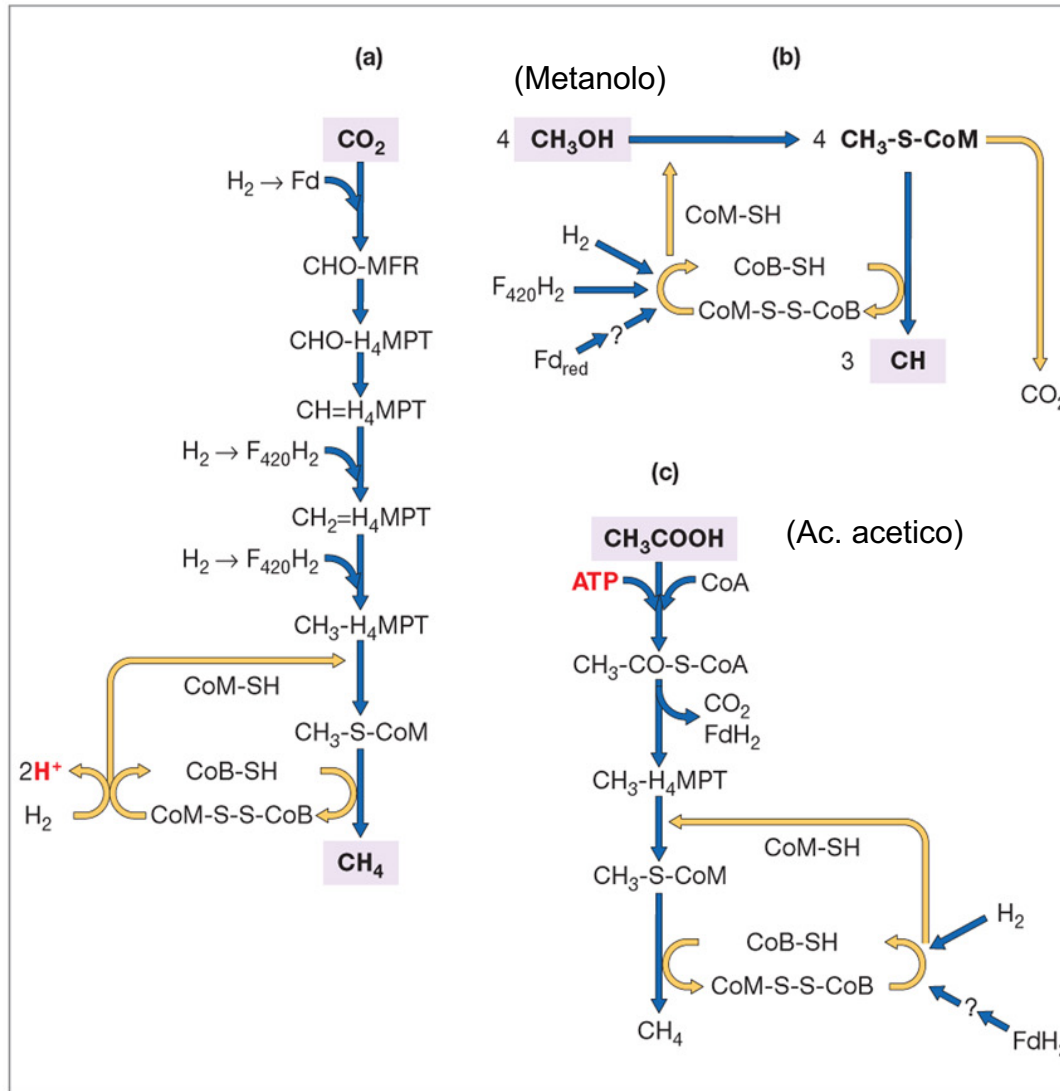
Riduzione della CO_2 o metanogenesi

- Metanogeni (archea) in grado di utilizzare la CO_2 come accettore di e- fino alla produzione di CH_4
- Alcuni sono in grado di produrre CH_4 da CO_2 e H_2 (chemiolitoautotrofi: la CO_2 è la fonte di C)
- Altri producono CH_4 da composti organici semplici (acido formico, metanolo, acetato etc.)

Riduzione della CO₂ o metanogenesi

MFR= metanofurano
MPT= metanoproteine

↓
COENZIMI



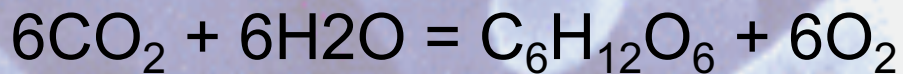
Reazioni di metanogenesi	ΔG^0 (Kcal/mol)
a) $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-130
b) $\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$	-113
c) $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-33

Acetogenesi

- Alcuni microrganismi anaerobi chemiolitotrofi (*Clostridium aceticum*) crescono a spese di composti inorganici (CO₂ e H₂), che vengono trasformati in ac.acetico (microrganismi acetogeni):
- $\text{CO}_2 + 4\text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$

Fototrofi

- microrganismi che utilizzano la luce come fonte di energia nel processo di **fotosintesi**, che porta alla generazione di forza protomotrice che può essere utilizzata per la sintesi di ATP:
 - **Fotoautotrofi**: utilizzano l'energia conservata nell' ATP per assimilare la CO₂ come fonte di C per le biosintesi
 - **Fotoeterotrofi**: usano come fonte di C composti organici e come fonte di energia la luce



Photoheterotrophy

Organic compound

Carbon flow

Biosynthesis

Light

Electron flow

Proton motive force

ATP

Photoautotrophy

CO₂

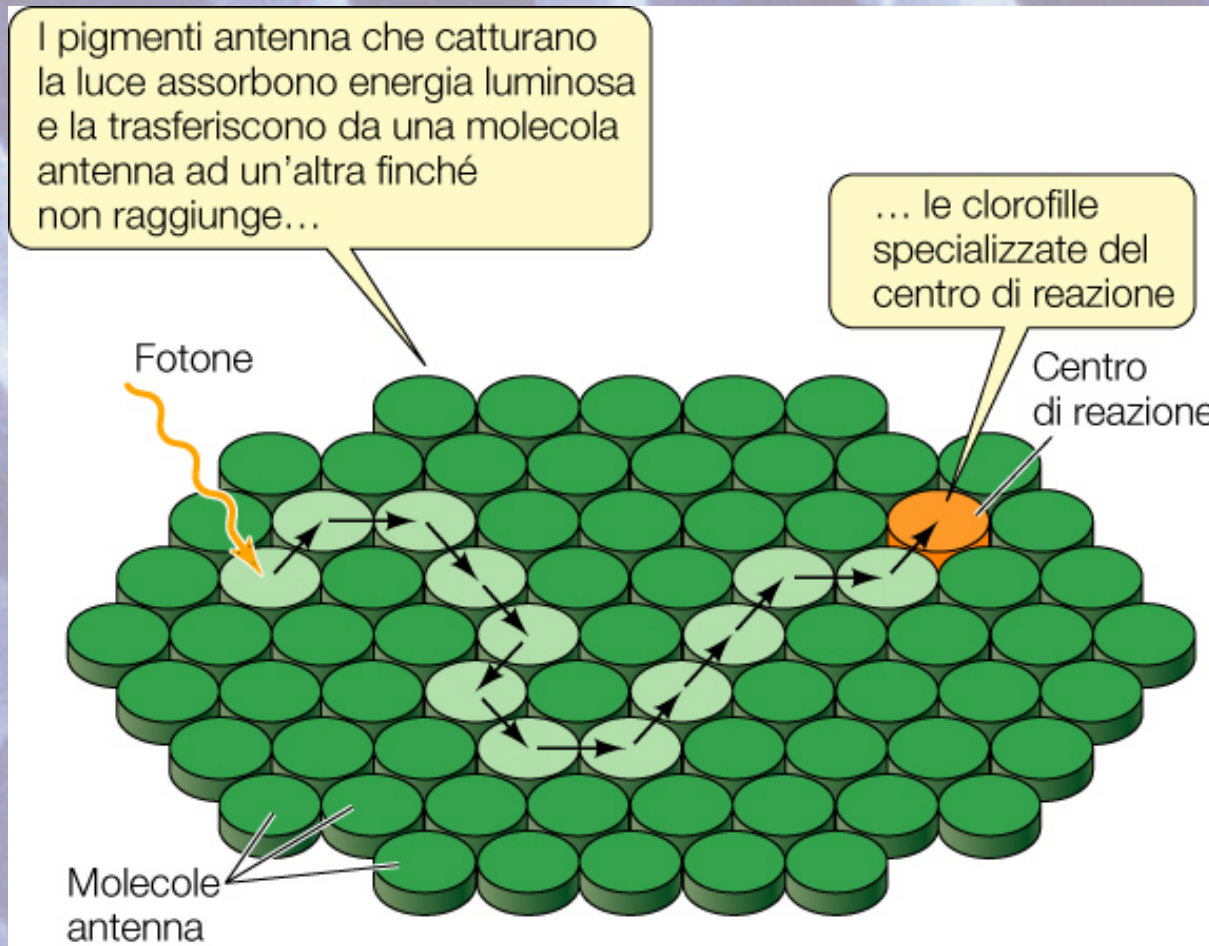
Carbon flow

Biosynthesis

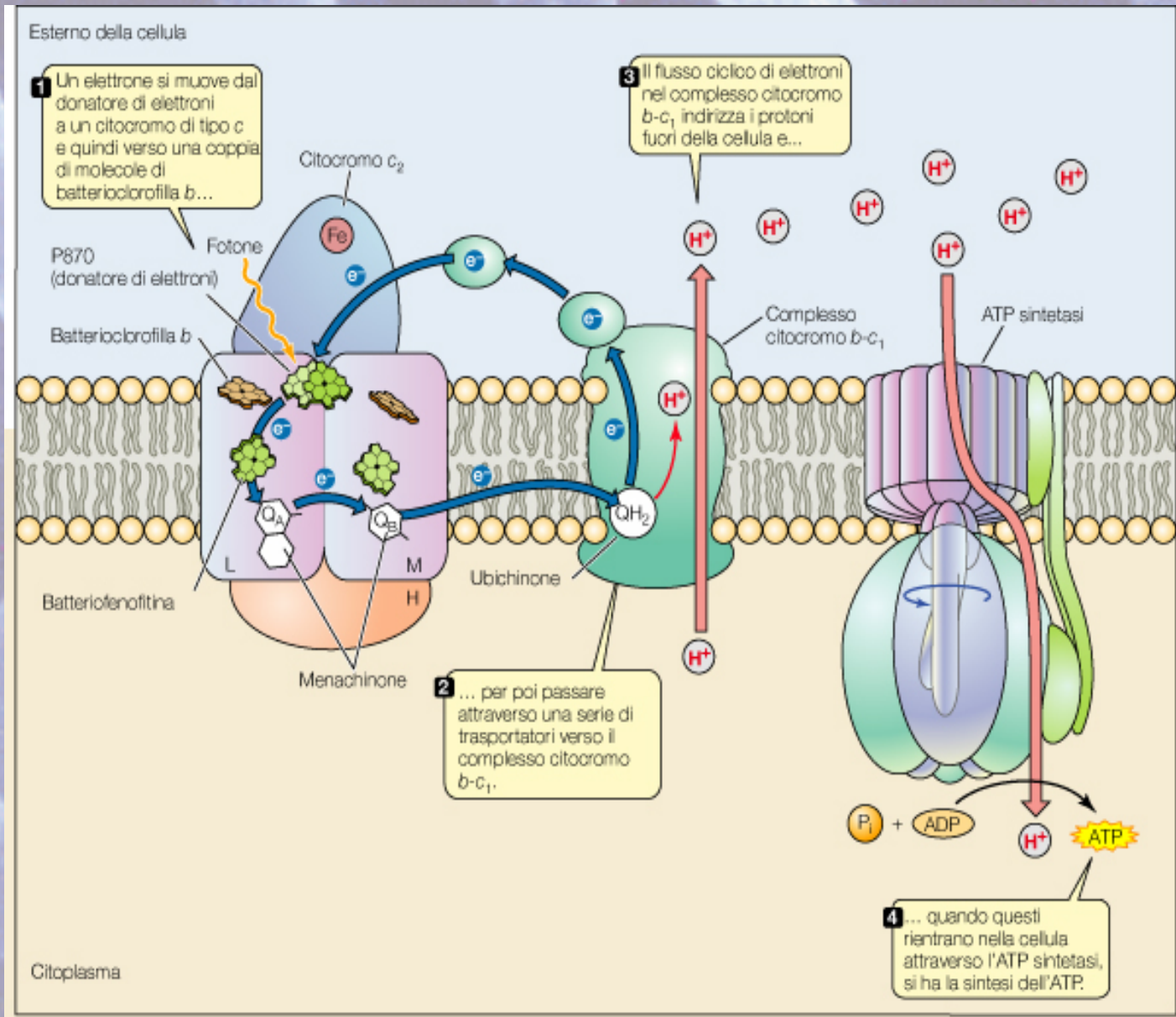
(c) Phototrophic metabolism

Pigmento	Lunghezza d'onda del massimo di assorbimento (nm)	Microrganismi
Clorofille (<i>a</i> e <i>b</i>)	675-680	Cianobatteri e microalghe
Batterioclorofille (<i>a</i> e <i>b</i>)	850-1035	Batteri rossi
Batterioclorofille (<i>c</i> , <i>d</i> , <i>e</i>)	715-760	Batteri verdi
Carotenoidi (aromatici, alifatici, aliciclici)	430-555	Ampia distribuzione
Ficobiliproteine	560-650	Cianobatteri

Sistemi di pigmenti antenna



Centro di reazione in un batterio purpureo

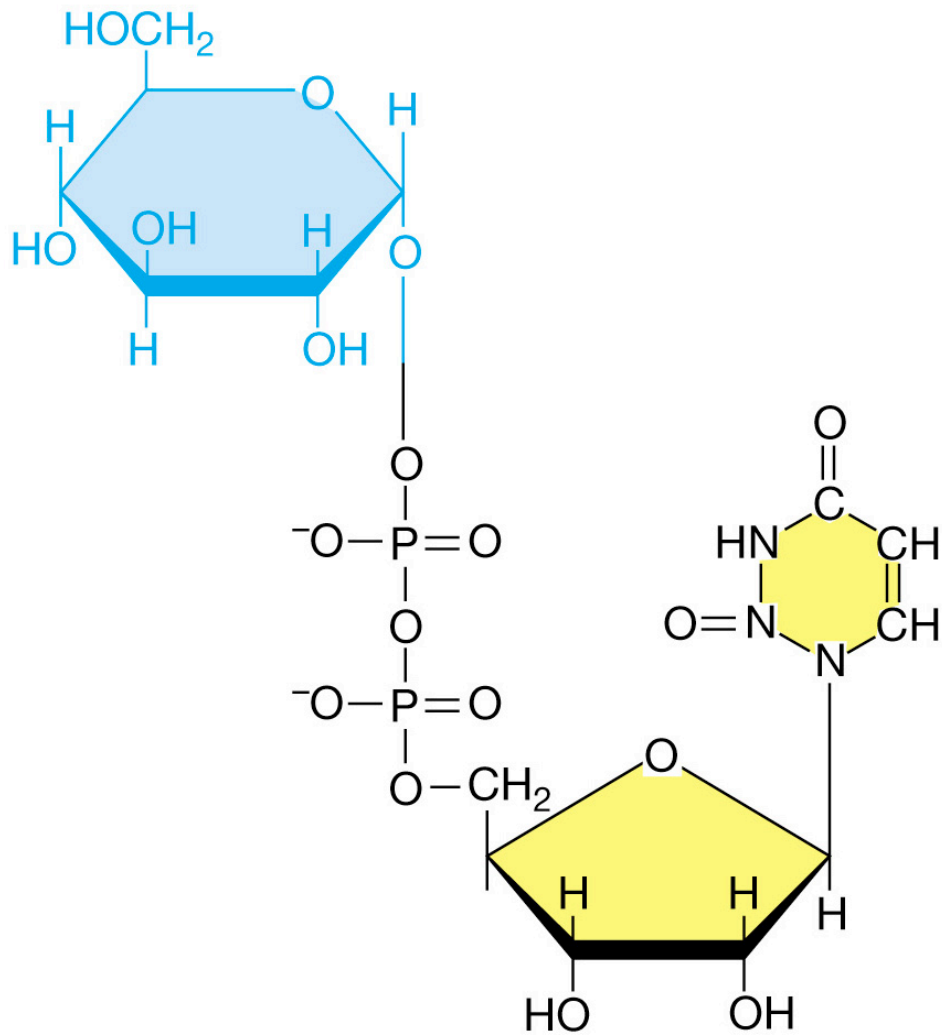


Anabolismo

- Processi attraverso cui i microrganismi riescono a costruire le sostanze chimiche di cui sono composti
- L'energia è fornita dall' ATP o dalla forza proto-motrice (prodotta nei processi catabolici) e viene consumata per la formazione dei monomeri, per la formazione delle macromolecole attraverso la polimerizzazione dei monomeri.

Il metabolismo dello zucchero

- I polisaccaridi sono costituenti delle pareti cellulari (la parete di peptidoglicano ha un'ossatura polisaccaridica) e sono sintetizzati nei procarioti sia dall'UDPG che dall'ADPG, forme attive del glucosio:
 - UDPG è il precursore dei vari derivati del glucosio
 - L'ADPG è il precursore della biosintesi del glicogeno (polisaccaride di riserva)



(a) **Uridine diphosphoglucose (UDPG)**



(b)

Metabolismo dello zucchero:

- struttura dell'UDPG, precursore dei vari derivati del glucosio, necessari per la sintesi di altri polisaccaridi presenti nella cellula (peptidoglicano e lipopolisaccaride)
- Il glucosio viene sintetizzato dall'ADPG mediante l'aggiunta sequenziale di glucosio.

Glucose-6-P

Sintesi dei pentosi

Ribulose-5-P + CO₂

Ribose-5-P

Ribonucleotides

RNA

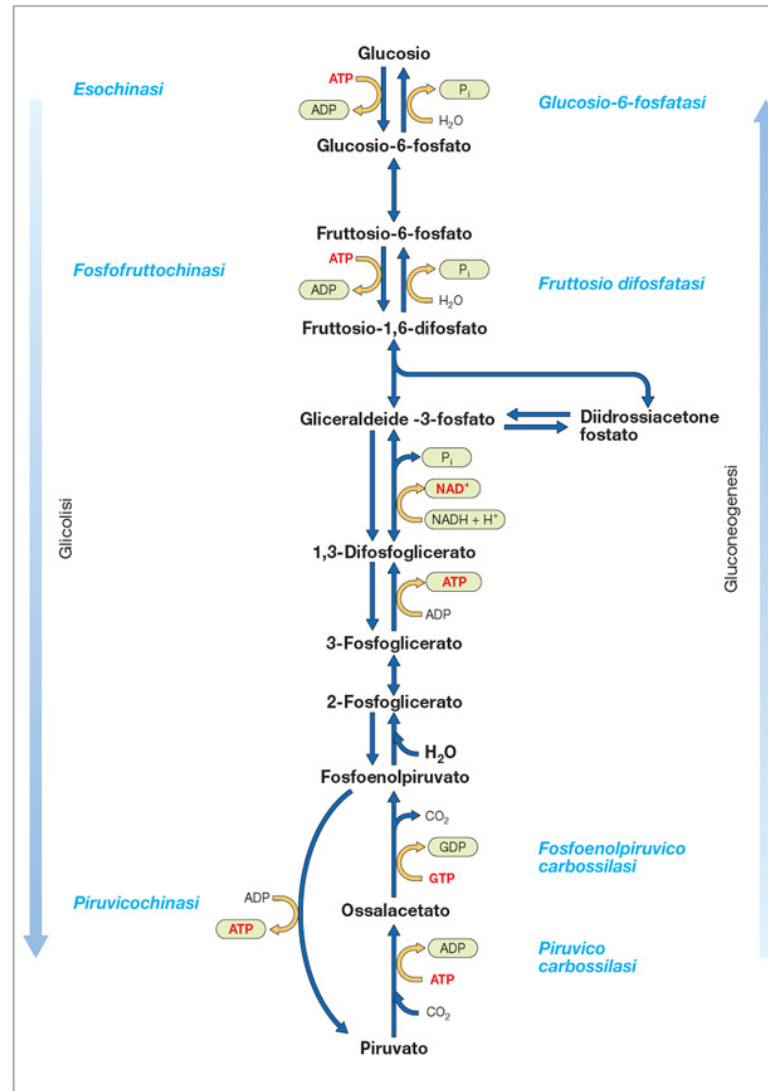
Ribonucleotides

NADPH \downarrow Ribonucleotide reductase

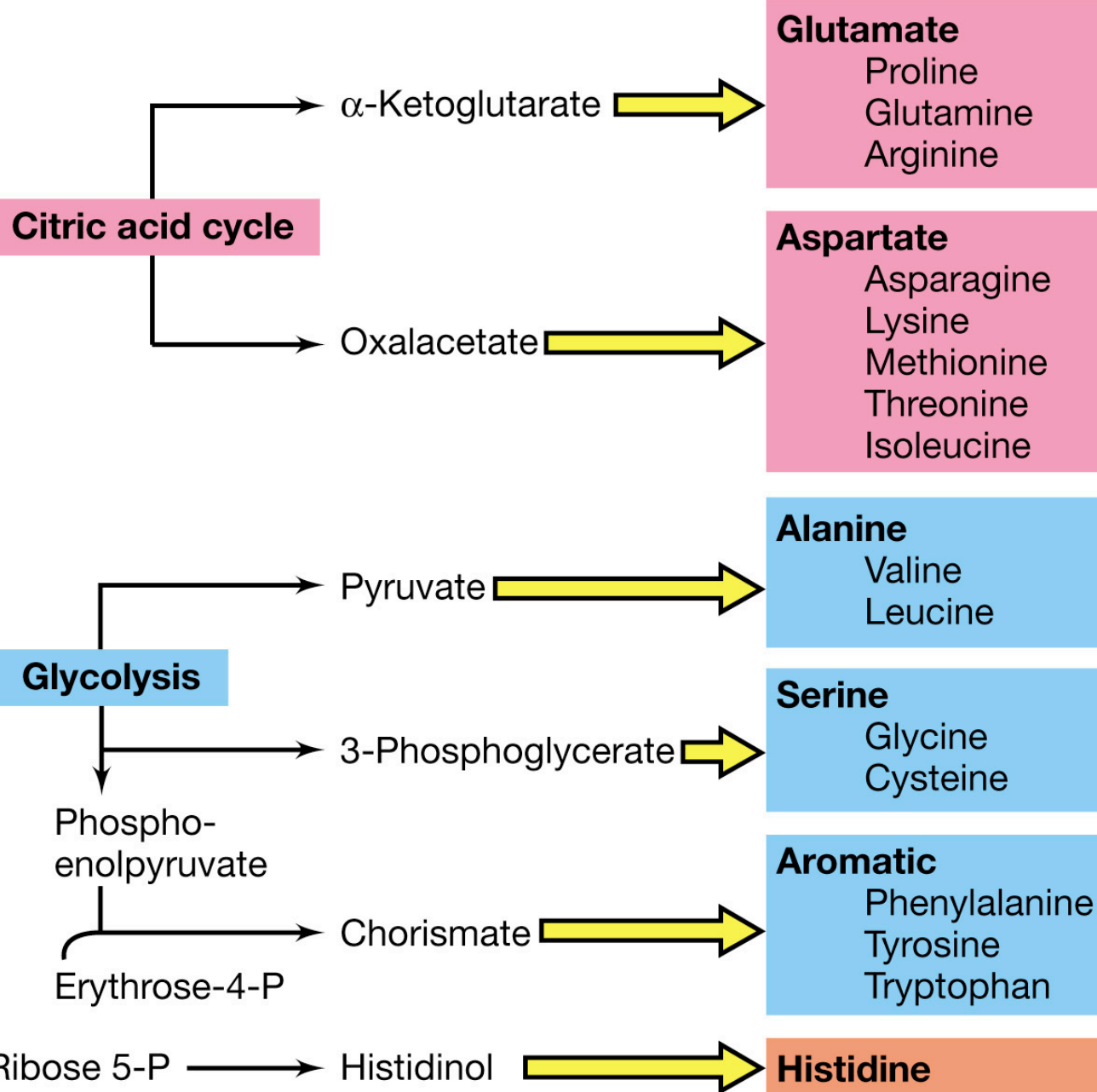
Deoxyribonucleotides \rightarrow DNA

(c)

Gluconogenesi a confronto con la glicolisi

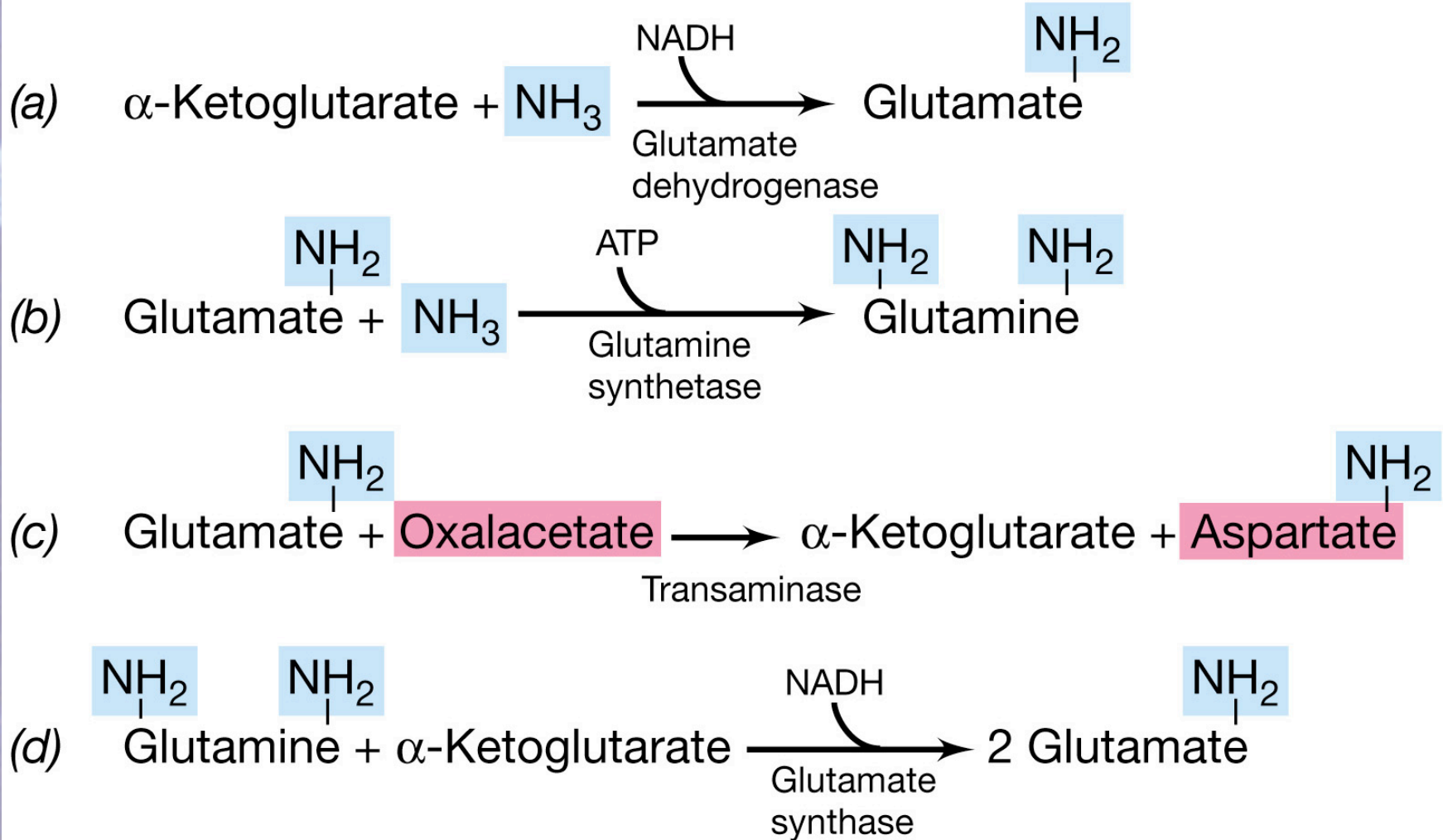


SINTESI degli aminoacidi



Famiglie di aa:
gli scheletri di C
della maggior
parte degli aa
derivano dal
ciclo dell'acido
citrico e dalla
glicolisi

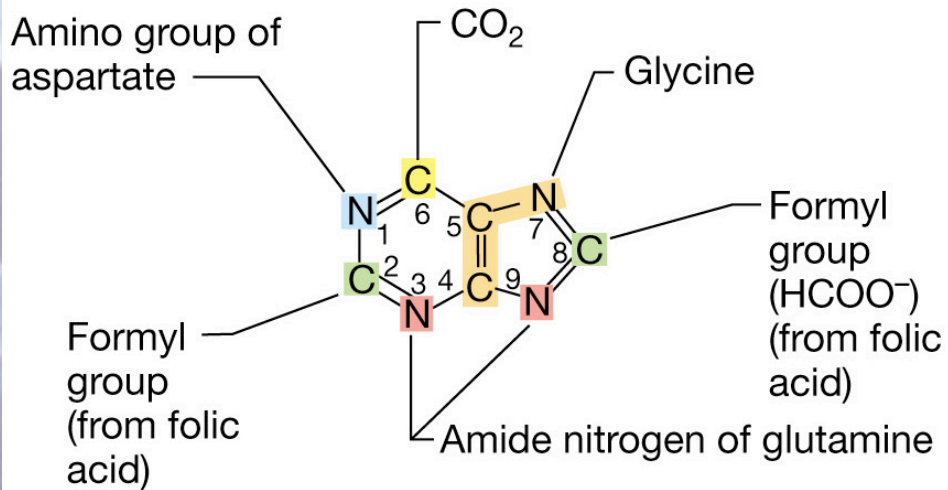
Incorporazione dell'ammonio nei batteri



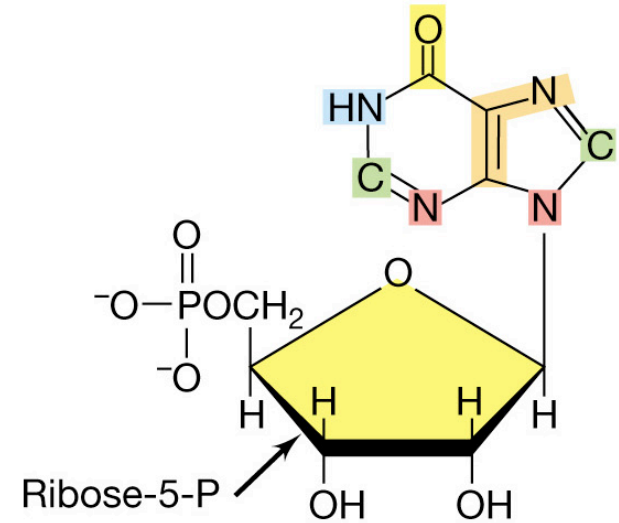
Biosintesi dei nucleotidi

- La biosintesi delle purine e delle pirimidine è complessa:
- sono costruite atomo per atomo da diverse fonti di C e di N (compresa CO_2).
 - La purina chiave è l'acido inosinico
 - La pirimidina chiave è l'uridilato

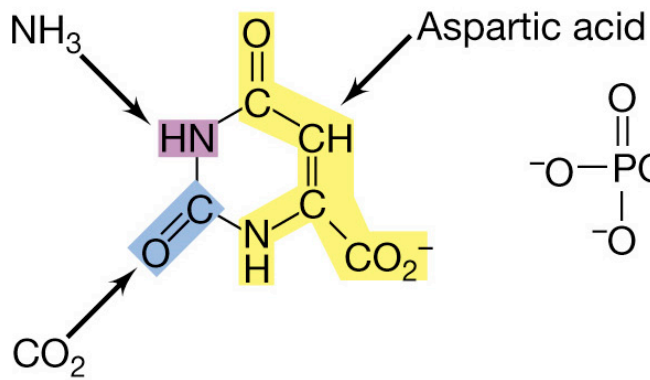
Biosintesi delle purine e delle pirimidine



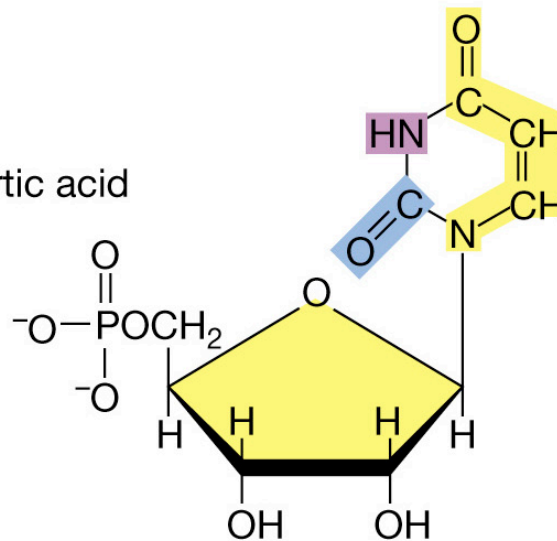
(a)



(b)



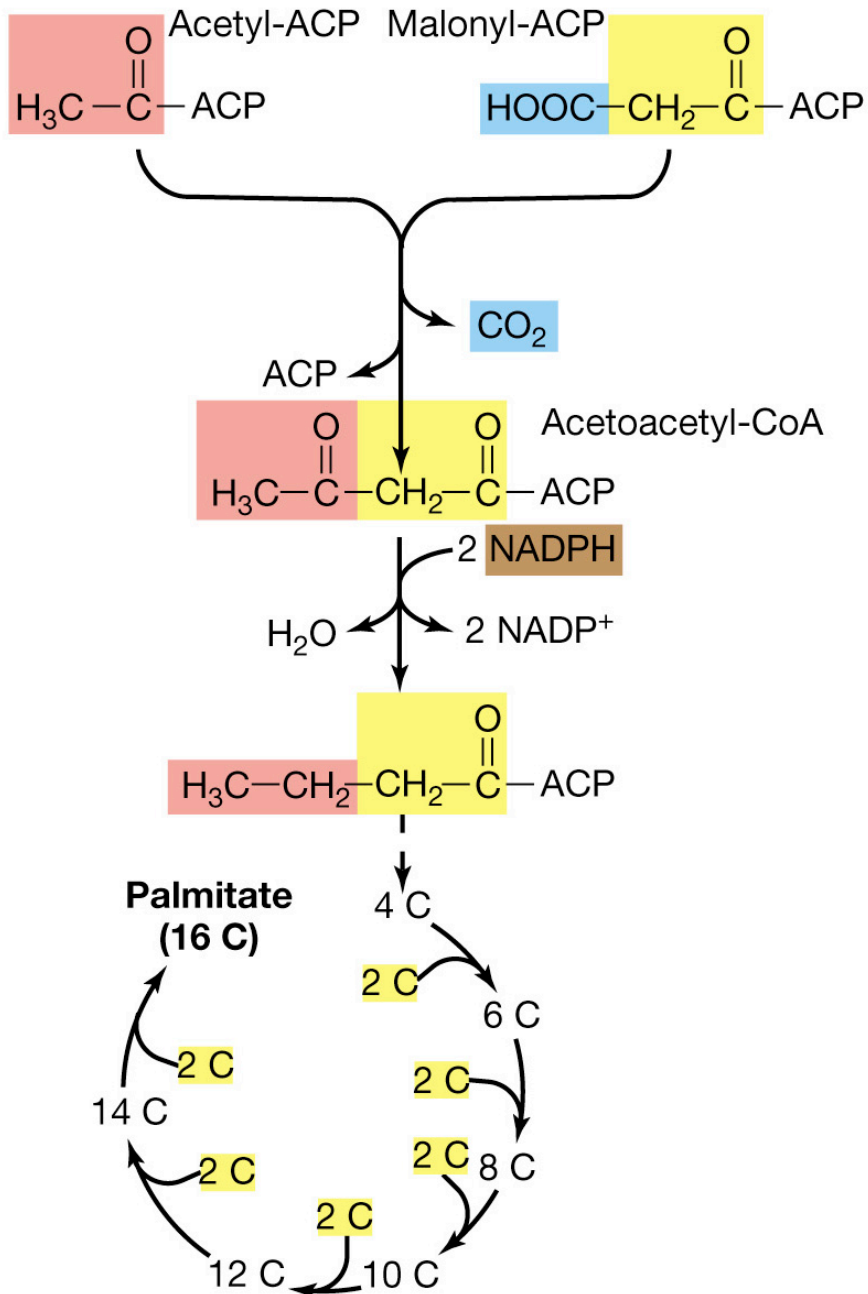
(c)



(d)

Biosintesi degli acidi grassi

- Sintetizzati mediante l'inserimento di 2 atomi di C alla volta, con l'aiuto di una proteina per il trasporto di acile (ACP)
- L'ACP sostiene l'acido grasso in crescita e lo rilascia quando ha raggiunto la lunghezza richiesta



Biosintesi dell'acido grasso C16, acido palmitico):

la condensazione di un acetil-ACP e un malonil-ACP forma l'acetoacetyl-CoA.

Ogni aggiunta successiva di una unità acetilica proviene dal malonil-ACP