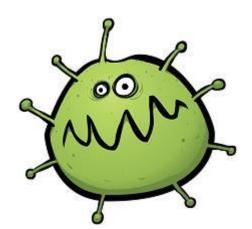
Metabolismo microbico

Richieste per la crescita microbica



Acettori di elettroni $(O_2, NO_3^-, SO_4^2^-, et c.)$

Fonte di C e di energia

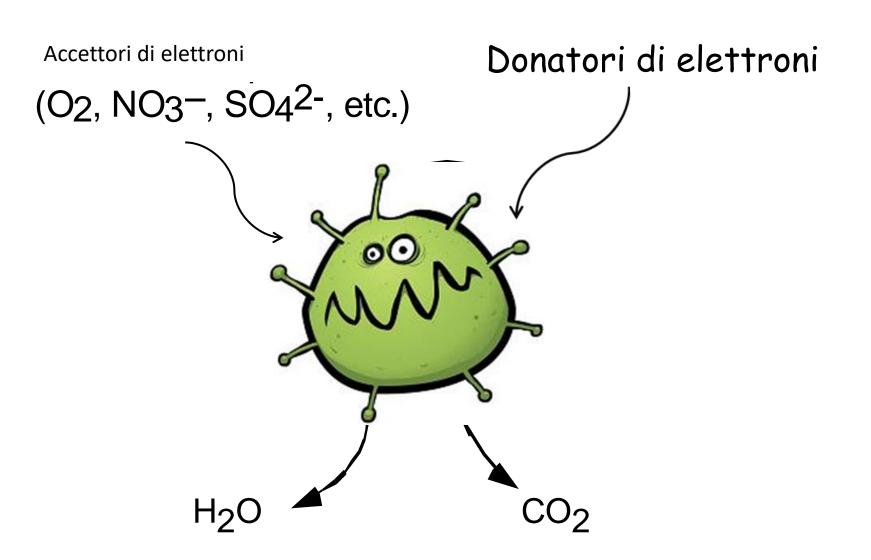


Condizioni ambientali (temperatura, pH, Eh)

Nutrienti (N,P,K)

Elementi traccia

Flusso di elettroni



IL METABOLISMO MICROBICO

Gli esseri viventi hanno bisogno di spendere energia per mantenere e moltiplicare le proprie strutture ed, eventualmente, per compiere alcune funzioni particolari, come movimento, trasporto attivo di molecole ect. Non tutte le forme di energia sono utilizzabili da parte degli esseri viventi: gli strumenti che essi hanno a disposizione non sono certo tali da poter sfruttare l'energia nucleare, l'elettricità ad alto potenziale, le radiazioni cosmiche. Queste forme di energia sono troppo concentrate, esse anzi sono pericolose per i danni che possono fare alle stesse strutture viventi. Altre forme di energia sono troppo diluite od intrasformabili con i meccanismi messi a punto nella cellula, come le onde a bassa frequenza, il calore etc. Nelle condizioni attuali della Terra, l'energia si ritrova sotto varie forme alcune delle quali raggiungono la densità e si presentano sotto forme che ne permettono l'uso con i metodi utilizzabili dalla cellula.

Il contenuto energetico medio dei costituenti delle cellule è superiore a quello ambientale medio; ciò comporterebbe la inesorabile degradazione della cellula fino a raggiungere lo stesso livello energetico dell'ambiente: in altri termini, l'estinzione della vita. Gli esseri viventi invece riescono a mantenere e moltiplicare le loro strutture pompando energia dall'ambiente, immagazzinandola in composti particolari e passandola da questi ai propri costituenti funzionali. A queste trasformazioni si da il nome di metabolismo.

Metabolismo

Il termine "metabolismo" si riferisce a tutte le reazioni biochimiche che avvengono in una cellula o in un organismo e può essre diviso concettualmente in:

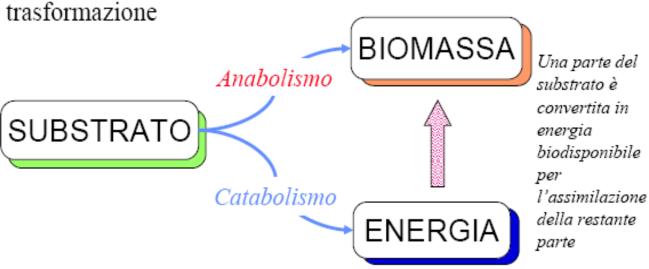
CATABOLISMO → reazioni di ossidazione e dissimilazione del substrato. Queste reazioni sono indirizzate verso l'ottenimento di energia. Le reazioni cataboliche sono esoergoniche (si ricava energia).

ANABOLISMO → assunzione ed utilizzazione di composti organici ed inorganici richiesti per la crescita e per il mantenimento delle strutture e funzioni cellulari (reazioni assimilative). Le reazioni anaboliche sono endoergoniche (richiedono energia) e consumano l'energia prodotta dalle reazioni cataboliche.

Metabolismo cellulare

- Il metabolismo dei microorganismi sfrutta il substrato attraverso due diversi percorsi metabolici
- Il cammino anabolico converte il Substrato in Biomassa

Il cammino catabolico produce l'Energia necessaria a questa trasformazione



Ingredienti per il metabolismo cellulare

- ☑ La cellula ricava energia per la crescita ed il mantenimento attraverso reazioni di Ossido-Riduzione (RedOx)
- Esse hanno bisogno dei seguenti quattro elementi:
 - Sorgente di Energia
 - Normisce l'energia per le reazioni Anaboliche (Sintesi)
 - Sorgente di Carbonio (e di N, P, K, S, Na, Fe, ecc.)
 - Viene convertito in materiale cellulare (protoplasma)
 - ➡ Donatore di Elettroni
 - Alimenta la semireazione di ossidazione
 - Accettore di Elettroni
 - Alimenta la semireazione di riduzione

Metabolismo cellulare

 Le macromolecole costituiscono circa il 30% del materiale cellulare (biomassa)

Macromolecule	Percentage of total dry weight	Different kinds of molecules
Protein	55.0	1050
RNA	20.5	
rRNA	16.7	3
tRNA	3.0	60
mRNA	0.8	400
DNA	3.1	1
Lipid	9,1	4
Lipopolysaccharide	3,4	1
Peptidoglycan	2.5	1
Glycogen	2.5	1
Soluble pool	3.9	

 Le macromolecole sono sintetizzate molto velocemente a partire da riserve di composti a basso peso molecolare. Tali riserve sono continuamente ripristinate dalla degradazione di metaboliti derivanti dalle fonti di carbonio.

Dipartimento di Processi Chimici dell'Ingegneria - Universita' degli Studi di Padova - Corso di Tecnologie Biochimiche Industriali - Principi di Metabolismo Cellulare

Reazioni del Metabolismo

• Reazioni di ossidazione e degradazione

Producono i 12 metaboliti, il potere riducente (i trasportatori di elettroni NADH e NADPH) necessari alla biosintesi, nonche' l'energia libera (sotto forma di ATP) richiesta da tutte le altre reazioni. Le reazioni di ossidazione e degradazione costituiscono il catabolismo (degradazione ed ossidazione dei substrati).

Reazioni di biosintesi

Producono le molecole attive necessarie alle reazioni di polimerizzazione. Inoltre formano co-enzimi, co-fattori e molecole usate nella trasmissione dei segnali.

Le reazioni di biosintesi costituiscono l'anabolismo della cellula e coinvolgono tutte (direttamente o indirettamente) 12 precursori metabolici.

• Reazioni di assemblaggio

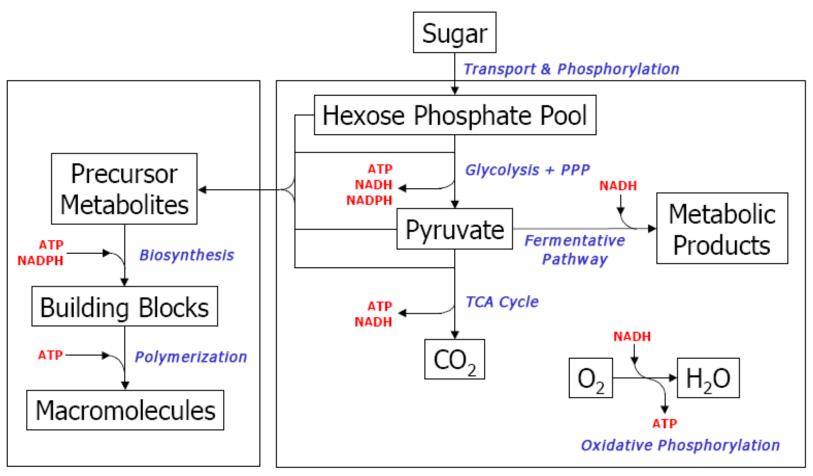
Comprendono la modificazione chimica delle macromolecole, il loro trasporto in luoghi specifici della cellula e la loro associazione per formare strutture cellulari (membrane, nucleo, pareti cellulari).

Reazioni di polimerizzazione

Rappresentano l'assemblaggio di molecole chimicamente attive (building blocks) per formare lunghe catene polimeriche.

Dipartimento di Processi Chimici dell'Ingegneria - Universita' degli Studi di Padova - Corso di Tecnologie Biochimiche Industriali - Principi di Metabolismo Cellulare

Reazioni del Metabolismo



Anabolismo

Catabolismo

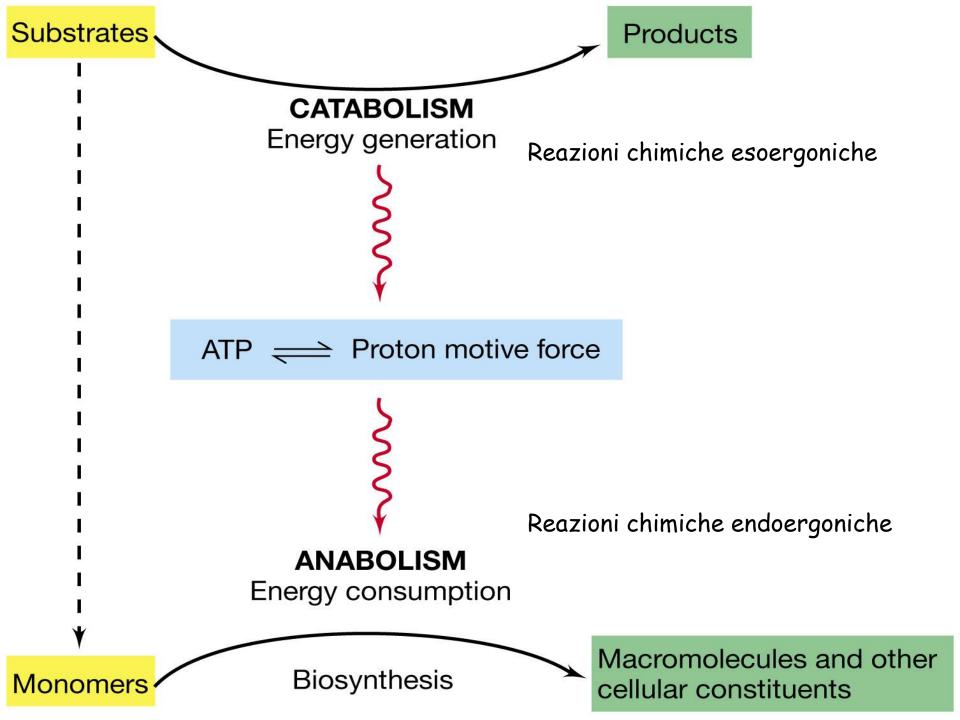
Dipartimento di Processi Chimici dell'Ingegneria - Universita' degli Studi di Padova - Corso di Tecnologie Biochimiche Industriali - Principi di Metabolismo Cellulare

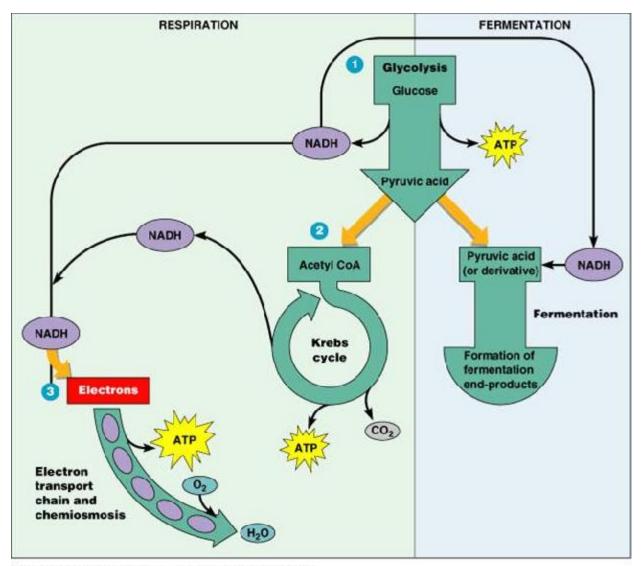
Metabolismo batterico

- 1) Fonte di Energia
 - \$fototrofia (luce)
 - chemiotrofia (donatore di elettroni)
- 2) Accettore di elettroni
- 3) C, N, P ed altri macronutrienti
- 4) Micronutrienti (Fe, Cu, ecc..)

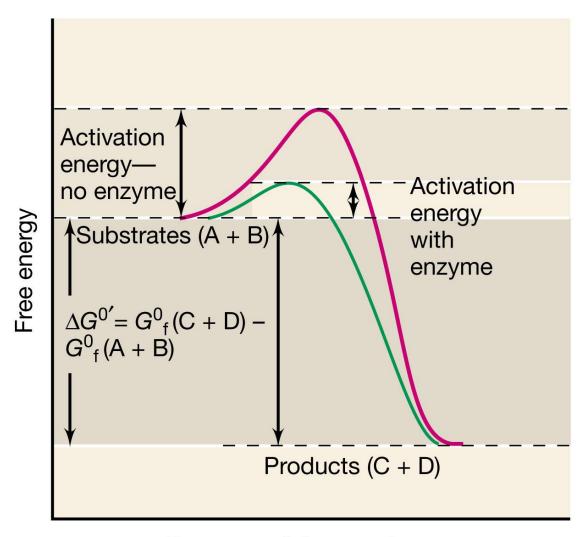
H₂O	Rappresenta l'80-90% del peso totale della cellula ed è
	perciò sempre l'elemento nutritizio fondamentale.
Fonte di carbonio	É utilizzata per:
	✓ sintesi dei composti organici
	✓ produzione di energia
	A seconda di quale forma di Carbonio utilizzano, i
	microrganismi si distinguono in:
	✓ autotrofi (CO₂; carbonio inorganico)
	✓ eterotrofi (zuccheri, amido: carbonio organico)
	(according annual can be no or games)
Fonte di azoto	È il costituente principale delle proteine (10% del peso
Torre di decio	secco dei batteri)
	Capacità di utilizzare varie forme di azoto (N)
	✓ N atmosferico (pochi batteri)
	✓ N inorganico (sali di ammonio, NO₃, NO₂ ecc.)
	N organico (aminoacidi, peptoni, urea)
	(uninoaciai, pepioni, area)
	Esigenze e tolleranze molto diverse tra i batteri
O ₂	Langenze e Toner anze morro diverse in a l'outreri
Fosforo	Componente di acidi nucleici (DNA, RNA), fosfolipidi
	Company of alcohological distribution methods a
Zolfo	Componente di alcuni aminoacidi (cisteina, metionina)
Altri elementi	K, Mg, Ca, Na
ATTI ElemenT	11, mg, 54, 144
Fattori di	Composti di cui il batterio ha assoluta necessità per il
	proprio accrescimento, ma che non è capace di
crescita organici	sintetizzare.
	Devono essere forniti al batterio preformati
	Le esigenze di fattori di crescita variano da batterio a
	batterio
	✓ Aminoacidi
	✓ Vitamine
	✓ Alcune purine o pirimidine
	Alcune purine o pirimidine

Macronutrienti





Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



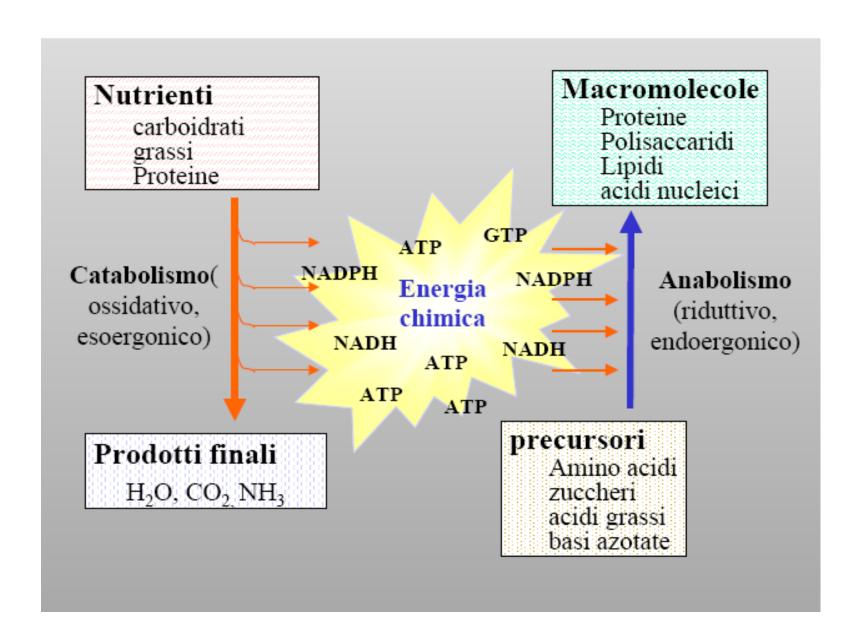
Progress of the reaction

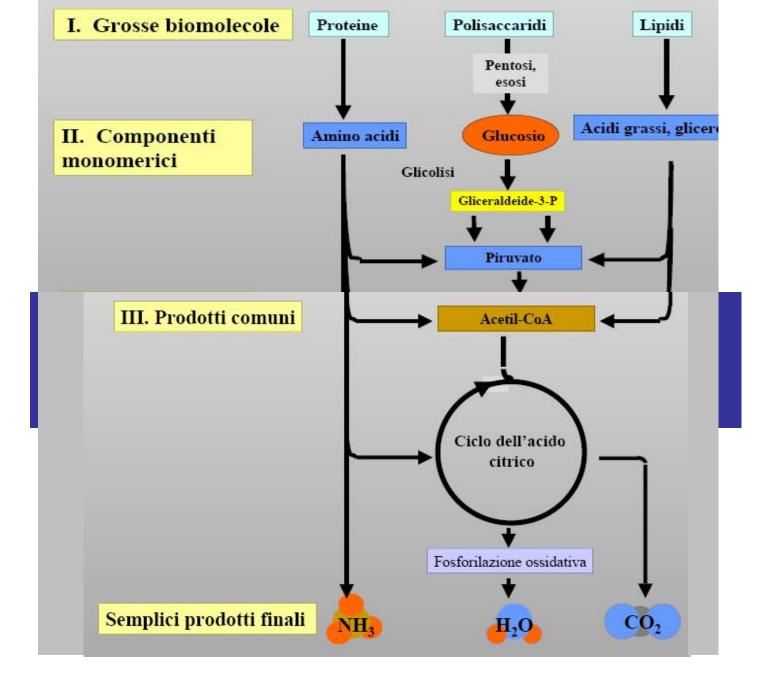
Cellular Fuel

- carbohydrates (sugars)
- lipids (fatty acids)
- proteins (amino acids)

Each of these components will enter the cell using membrane transport pathways. Once in the cell they can be utilized in a number of different capacities

- used to build macromolecular structures unique to that particular cell
- lipids and sugars can be polymerized and stored for future utilization.
- metabolized for the energy liberated





<u>Biodegradazione</u>

- Tutti I composti organici sono teoricamente biodegradabili, ma la biodegradazione richiede specifiche condizioni
- There is no Superbug!!
- I contaminanti devono essere biodisponibili
- La quantità ed il tasso di biodegradazione sono controllati da <u>fattori limitanti</u>

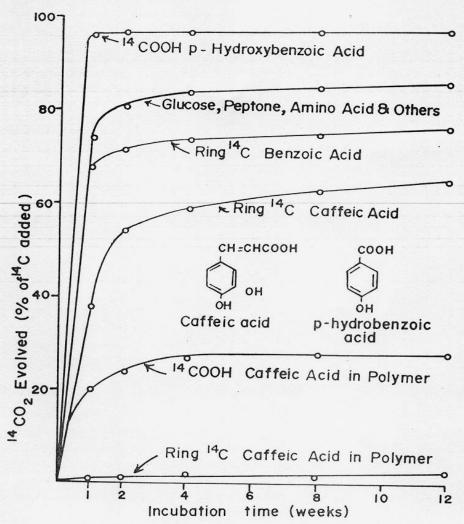
<u>Processi di biodegradazione e biotrasformazione</u> <u>degli inquinanti</u>

- Biodegradazione: conversione dei contaminanti in prodotti minerali (CO₂, H₂O, sali minerali) attraverso meccanismi biologici
- <u>Biotransformazione</u>: processo biologico che trasforma composti organici (per esempio la trasformazione di Tricloroetano a Dicloroetano) e non porta a prodotti minerali

Microbial Metabolism

- Need nitrogen, phosphorus, sulfur, and a variety of trace nutrients other than carbon
- Carbon is often the limiting factor for microbial growth in most natural systems
- Acclimatization period a period during which no degradation of chemical is evident; also known as adaptation or lag period
- Length of acclimatization period varies from less than 1 h to many months
- Acclimatization of a microbial population to one substrate frequently results in the simultaneous acclimatization to some structurally related molecules

Figure 6.5. Decomposition of specifically ¹⁴C-labeled benzoic and caffeic acids, caffeic acid linked into phenolic polymers, and several simple organic compounds in Greenfield sandy loam. (From Haider and Martin, 1975).



Classificazione nutrizionale degli organismi

Energia per il metabolismo

Luminosa

Chimica

Donatore potere riducente inorganico

🔖 <u>Fotolitrotrofi</u>

Donatore di potere riducente organico

🦴 <u>Foto-organotrofi</u>

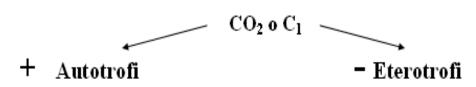
Donatore potere riducente inorganico

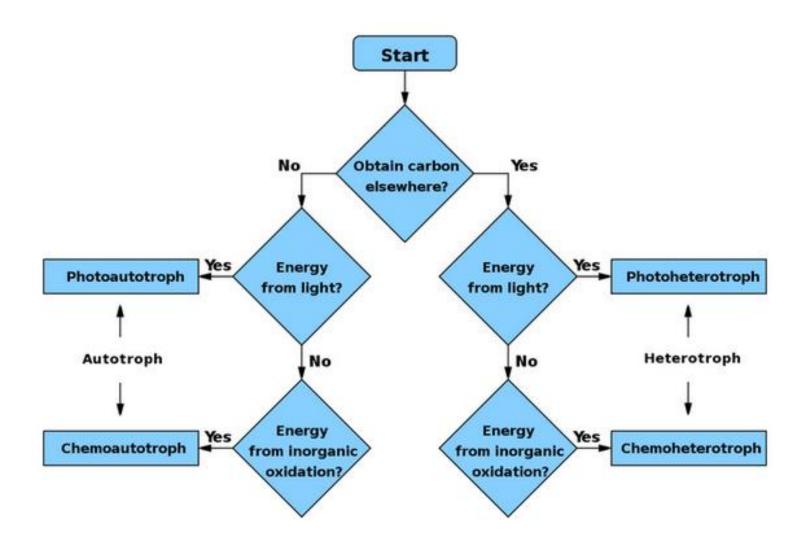
🥸 <u>Chemiolitrotrofi</u>

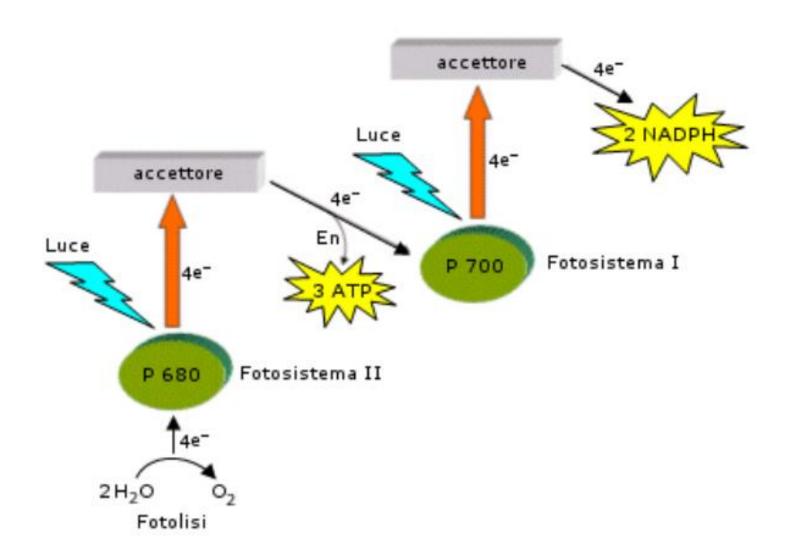
Donatore di potere riducente organico

🔖 Chemio-organotrofi

Assimilazione del Carbonio







FOTOAUTOTROFI (Fotolitotrofi) – Il carbonio cellulare deriva dalla fissazione della CO_2 e l'energia dalla luce. Questi organismi non necessitano di composti organici. La maggior parte dei cianobatteri, i batteri rossi fotosintetici e le piante usano questo meccanismo.

FOTOETEROTROFI – Il carbonio cellulare viene ricavato da composti organici, ma l'energia deriva dalla luce. Di questo gruppo fanno parte gli archibatteri alofili e i batteri rossi e verdi non sulfurei.

CHEMOETEROTROFI (anche detti eterotrofi chemo-organotrofi; o semplicemente eterotrofi) - I microrganismi che richiedono una fonte di carbonio organica hanno la tendenza a impiegare un donatore di elettroni organico anche nei processi di produzione di energia, se la fonte dell'energia è chimica.

CHEMOAUTOTROFI (autotrofi chemiolitotrofi): il carbonio cellulare viene ricavato fissando CO_2 , e l'energia in genere da fonti inorganiche come composti dello zolfo o dell'azoto, ferro, idrogeno etc.. La produzione di ATP avviene per mezzo della respirazione (aerobia o anaerobia) e i donatori di elettroni possono essere:

Donatore di e minerale LITOTROFI

Donatore di e organico ORGANOTROFI

Energia luminosa FOTOTROFI

FOTOLITROFI

Piante verdi

Alghe

 $CO_2+2H_2O \rightarrow$

 \rightarrow (CH₂O)+H₂O+O₂

Batteri sulfurei porpora Batteri sulfurei, verdi

 $CO_2+2H_2A\rightarrow (CH_2O)+H_2O+2A$

Energia chimica CHEMIOTROFI CHEMIOLITOTROFI

Batteri nitrificanti

Batteri solfo-ossidanti.

Ferrobatteri

 NH_4 ⁺+3/2O₂ \rightarrow

 \rightarrow NO₂·+H₂O+2H⁺

FOTO-ORGANOTROFI

Batteri porpora non sulfurei

CO₂ + (piruvato) →

(CH₂O) + (malato)

CHEMIO-ORGANOTROFI

Animali.

Vegetali senza clorofilla

Microrganismi eterotrofi

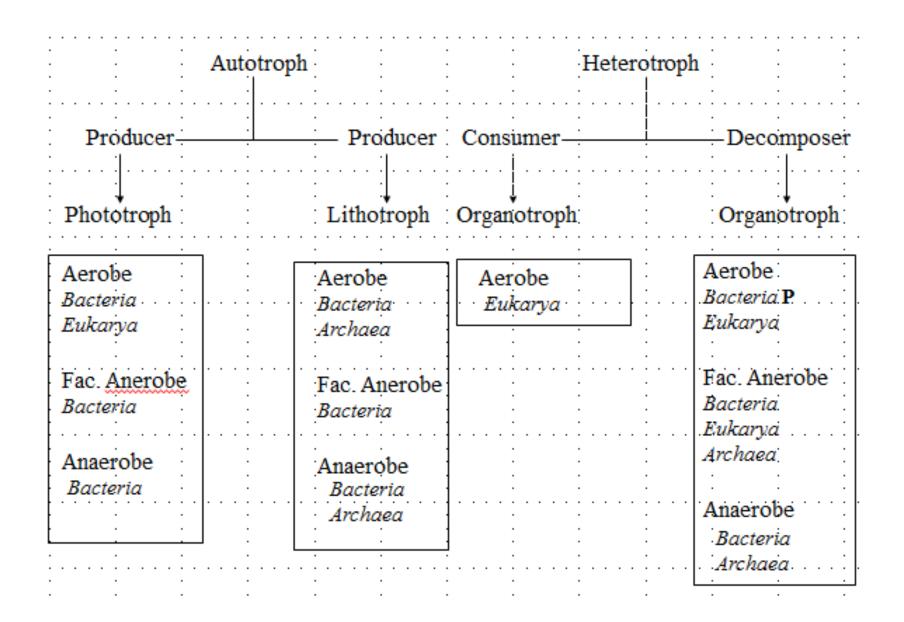
 $DH_2+A\rightarrow D+AH_2$

RESPIRAZIONE ACCETTORE DI e→O2

RESPIRAZIONE ANAEROBIA ACCETTORE FINALE DI & COMPOSTO

MINERALE DIVERSO DALL' O2 (ad esempio NO3"; SO4")

FERMENTAZIONE ACCETTORE FINALE DI e→ COMPOSTO ORGANICO interno alla cellula

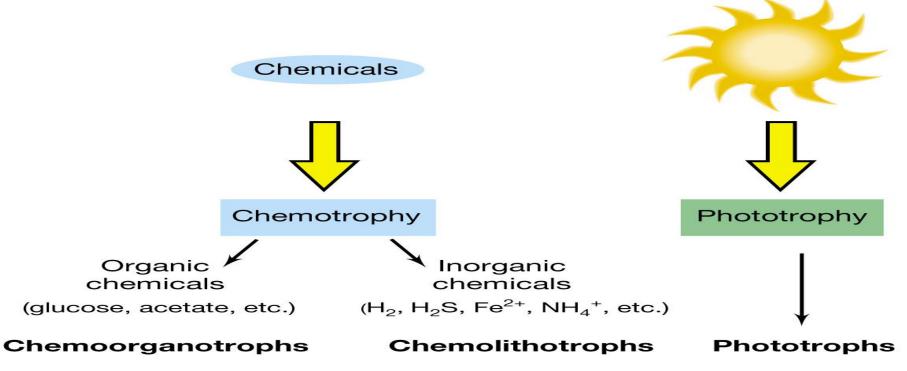


Fonte di Energia

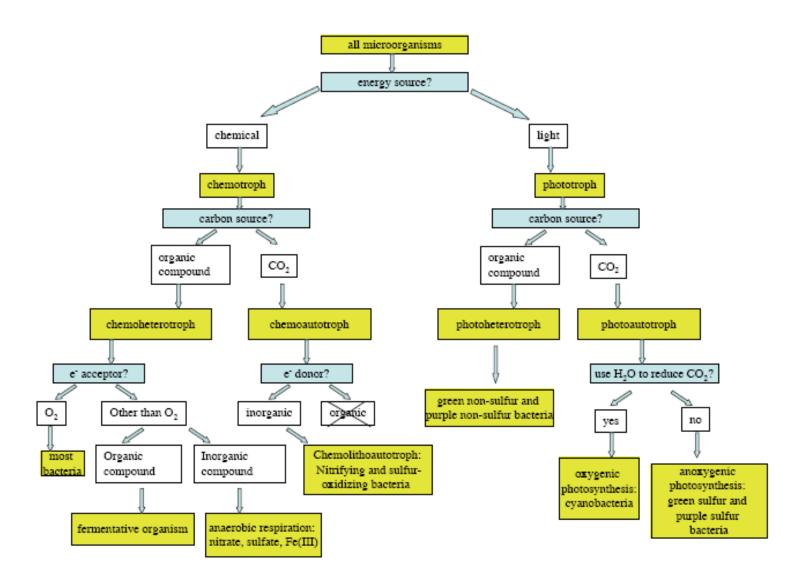
LUCE — fotosintetici (fotoautotrofi)

ENERGIA CHIMICA — chemioorganotrofi

chemioautotrofi (chemiolitotrofi)



(glucose + $O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$) ($H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$) (light $\sim \sim ATP$)



Versatilità metabolica

La versatilità dei procarioti risiede nel loro metabolismo. Tutti i procarioti hanno un meccanismo simile per la conservazione dell'energia (generazione di un gradiente protonico attraverso la membrana) e la produzione di ATP, essi differiscono molto in termini di varietà di substrati che possono essere utilizzati e di accettori di elettroni che possono ossidare tali substrati

Processo	Dettagli	Procarioti	Eucarioti
Fotoautotrofia	Ossigenica		
	Donatore di e- H ₂ O	si	si
	Anossigenica		
	Donatori di e- H ₂ ; S ² -; S°; C org; Fe ²⁺	si	no
Litoautotrofia	Donatori di e-H ₂ ; S ²⁻ ; S°; S ₂ O ₃ ²⁻ ; NH ₄ +,NO ₂ -Fe ²⁺ ; Mn ²⁺ ;	si	no
	Accettori di e- O2; NO3-; SO42-; CO2		
chemio-orga-	Composti organici come donatori di 🗨		
notrofia	Respirazione aerobica (O2 accettore di e-)	si	si
	Fermentazione	si	alcuni lieviti
	Respirazione anaerobica (NO ₃ -; S°; SO ₄ ² - accettori di e-	si	e ciliati
			no

Principali forme minerali di C, N, S e P

Elemento	In ambiente ossigenato	In ambiente anossico	
С	CO_2	$\mathrm{CO}_2,\mathrm{CH}_4$	
N	NO_3^-, NO_2^-, N_2	N_2 , $NH4^+$	
S	SO_4^{2-}	S, SH-	
P	PO_4^{3-}	PO_4^{3-}	

Reazioni chemiotrofiche che sostengono la crescita batterica

Ossidanti	Riducenti							
	H ₂	СНО	CH₄	HS-	NH ₄ ⁺	N ₂	NO ₂ -	Fe ⁺²
сно	si	si	no	no	no	no	no	no
CO ₂	si	si	no	no	no	no	no	no
CO ₂ SO ₄ ² -	si	si	?	no	no	no	no	no
NO ₃ -	si	si	no	si	no	no	no	no
O ₂	si	si	si	si	si	no	si	si

Composizione della cellula batterica

Elemento	% del peso secco	
C	. 55	
O	20	
N	10	
H	8	
P	3	
S	1	

Monomero	Elementi Polimero		%Polimero nella cellula.	
Amino acido	CHNOS	Proteine	52.4	
Basi organiche	CNOHP	Acidi nucleici	19.9	
Zuccheri	CHO	Polisaccaridi	16.6	
Acidi grassi a C16+P	CHOP	Fosfolipidi	9.4	
		Totale	97.3	

I valori percentuali sono riferiti al peso secco

Batteri

Optimun nutrizionale microflora eterotrofa

C/N = 5

C/N/P = 133 / 8.6/3

C/P = 20

C/N = 15.5

ADP+Pi+energia=ATP+H₂O

glucosio+6O₂=6CO₂+6H₂O

 $\Delta G_{o}' = -686$ kcal mole

Processo	% di ATP utilizzato in ciascun processo		
Sintesi:			
Polisaccaridi	6.5		
Proteine	61.1		

0.4

13.5

18.3

Per una cellula che cresce su glucosio

Trasporto nella cellula

Lipidi

Ac. nucleici

REAZIONI DI OSSIDO RIDUZIONE CHEMIOTROFICHE

L'idrogeno molecolare è molto reattivo e raramente si accumula nell'ambiente ed è prodotto in quantità significative solo in ambienti anossici

H₂ / COH

COOHCHCHCOO + $H_2 \rightarrow$ COOHCH2CH2COO Vibrio succinogenes firmarato

succinato

 $\Delta G_0' = -20.6 \text{ kcal/mole}$

Questa reazione non è comune perchè è difficile che coesistano nell'ambiente concentrazioni sufficienti di accettori di e- organici e H2

H₂ / CO₂

 $H_2 + 1/4 CO_2 \rightarrow 1/4 CH4 + 1/2 H_2O$ Tutti i batteri metageni

 $\Delta G_0' = -8.3 \text{ kcal/mole}$

Quantativamente questo è il piu importante processo che coinvolge H_2 in ambiente senza SO_4^{2-}

 $H_0+1/2CO_2 \rightarrow 1/4CH_3COO^2 + 1/2 H_2O^2$

- Clostridium aceticum

 $\Delta Go' = -4.3 \text{ kcal /mole}$

Reazione energeticamente meno favorevole della produzione di metano. Avviene nei fanghi degli impanti di depurazione. L'acetato è poi convertito di nuovo in metano da altri batteri (acetoclastici)

$$H_2/SO_4^{2-}$$
 $H_2+1/4SO_4^{2-}+1/4H^+ \rightarrow 1/4HS^- + H_2O$ Desulfovibrio $\Delta G_0' = -9.1 \text{ kcal/mole}$

Questa ossidazione produce maggiore energia di quella con CO₂ e probabilmente avviene preferenzialmente quando ambedue gli ossidanti sono presenti .

H₂/NO₃ H₂ + 2/5 NO₃ + 2/5 H⁺ → 1/5 N₂ + 6/5 H₂O Paracoccus denitrificans Alcaligenes eutrophus
$$\Delta G_0$$
 = -53,6 kcal/mole

Questo processo rilascia un considervole quantitativo di energia. E' improbabile che nitrato ed idrogeno raggiungano concentrazioni significative nello stesso ambiente

$$H_2/O_2$$
 $H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$ molti batteri chemioautotrofi
 $\Delta G_0' = -56,7$ kcal/mole

Benché molti chemioautotrofi possano vivere ossidando l'idrogeno con ossigeno è molto improbabibile che questi due composti raggiungano concentrazioni significative nello stesso ambiente

Ossidazioni CHO

Queste ossidazioni sono eseguite da batteri chemiorganotrofi (eterotrofi). Sono molto importanti perche' la maggior parte delle reazioni dissimilative del ciclo del C passano attraverso di esse .

СНО/СНО

Queste ossidazioni, in cui una parte del substrato e' ossidato a spese di una parte di substrato ridotto e dove si ottiene ATPper fosforilazione a livello di substrato, si chiamano FERMENTAZIONI. E' importante osservare che non è necessario nessun accettore di e- esterno. (vedi anche pagine 17 e 18)

Il tipo piu' comune di fermentazioni è quello che coinvolge zuccheri. Sono portate avanti da una gran varieta' di batteri *E.coli, Clostridium, Ruminococcus, Bacillus, Lactobacillus* ecc. e producono una gran varieta' di prodotti finali:

 CO_2 , $HCOO^-$, CH_3COO^- , $CH_3CH_2COO^-$, $CH_3CH_2COO^-$, $HOOCCH_2COO^-$, $CH_3CHOHCOO^-$, H_2 , $CH_3CH_2OH^-$

Alcuni anaerobi fermentanti possono incorporare sino al 30% del substrato.

Fermentazioni non $CH_3COO^- + CH_3CH_2OH \rightarrow CH_3CH_2COO^- + H_2O$ a carico di zuccheri Acetato etanolo butirrato $Clostriduim \ kluyveri$ $\Delta G_0' = -9.2 \ kcal/mole$

 $CH_3COO^- \rightarrow CH_4+CO_2$ Methanosarcina barkeri $\Delta G'_0 = -6.6$ kcal/mole

Queste due reazioni successive sono un buon esempio di come acetato ed etanolo, loro stessi prodotti di fermentazione, possano essere ulteriormente metabolizzati per produrre energia.

La reazione acetoclastica è un'importante via per la produzione di CH4 nei fanghi degli impianti di depurazione

Fermentazione $CH_3CHNHCOOH + 2CH_2NHCOOH \rightarrow 3CH_3COO^- + 3NH_4^+ + CO_2$ dell'alanina glicina

Clostridium spp. $\Delta G_0' = 147.9 \text{ Kcal}$

Di solito l'alanina (donatore di e') è ossidato ad AcetilCoA via piruvato. L'AcetlCoA può fornire ATP per fosforilazione a livello di substrato

$$\begin{array}{ll} \textbf{CHO/CO_2} & \textbf{C_6H_{12}O_6} \rightarrow \textbf{2CH_3COOH} + \textbf{2CO_2} + \textbf{4H} + (\textbf{4 ATP}) \\ \\ \textbf{4H} + \textbf{2CO_2} \rightarrow \textbf{CH_3COOH} \\ \\ & \textbf{Clostridium thermoaceticum} \\ \end{array}$$

CHO /SO₄²- CH₃CHOHCOO⁻ +1/2 SO₄²- +3/2H⁺
$$\rightarrow$$
 CH₃COO⁻ +CO₂ +H₂O +1/2HS-lattato

Desulfovibrio spp.
$$\Delta G_{o}' = -8.9 \text{ kcal}$$

CH₃COO⁻ + SO₄²- \rightarrow 2CO₂ + 2H₂O + HS-

Desulfotomaculum acetoxidan
$$\Delta G_{o}' = -9.7 \text{ kcal/mole}$$

Respirazione solfato. Importante in ambienti anerobi ricchi in solfato, dove il lattato è disponibile da altre fermentazioni.

CHO /S°
$$CH_{3}COO^{-} + 2H_{2}O + 4S^{\circ} \rightarrow 2CO_{2} + 4HS^{-} + 3H^{+}$$

$$Desulfuromonas\ acetoxidans$$

$$\Delta G_{0}' = -6.0\ kcal$$

CHO /NO-3
$$C_6H_{12}O_6 + 24/5NO_3 + 24/5 H^+ \leftrightarrows 6CO_2 + 12/5N_2 + 42/5H_2O_3 + 24/5 H^+ \hookrightarrow 6CO_2 + 12/5N_2 + 42/5H_2O_3 + 24/5 H_2O_3 + 24/5 H$$

E.coli, Bacillus, Proteus ecc. $\Delta G_0' = -649$ kcal

Molti batteri aerobi/anerobi facoltativi sono capaci di effettuare la respirazione nitrato. Questa riduzione dissimilativa del NO-3 avviene solo in assenza di O2

CHO
$$/O_2$$
 $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$

Processo eseguitoda tutti i batteri aerobi dotati di catena respiratoria.

 $\Delta G_o' = -686 \text{ Kcal}$

Gli aerobi sono un gruppo di batteri molto importante. Predominano negli ambienti ossigenati grazie alla grande quantità di energia che questa reazione produce

Ossidazioni CH4

Il metano è ossidato principalmente con O_2 e richiede l'intervento di una ossigenasi. I batteri che respirano NO_3 -non possono utilizzare CH_4

$$CH_4 / SO_4^{2-}$$
 $CH_4 + SO_4^{2-} \rightarrow CO_2 + 2H_2O + HS^{-}$

 $\Delta G_o' = -3.1 \text{ kcal/mole}$

Vista la bassa resa energetica di questa reazione vi è qualche dubbio che vi possano essere dei batteri in grado di vivere solo su CH 4. Vi sono comunque evidenze che dimostrano che quest'ossidazione avviene in sedimenti anossici e ricchi di SO₄2.

CH ₄ /O ₂	$CH_4+2O_2 \rightarrow CO_2 +2H_2O$
	$Pseudomonas,\ Methylomonas\ ,Methylobacter$
	Methylococcus.
	$\Delta G_o' = -193,5 \text{ kcal/mole}$

Ossidazioni con composti inorganici di N

L'ossigeno è l'unico accettore di elettroni in grado di ossidare i composti ridotti dell'azoto

NH_4^+/O_2	$NH_4^+ + 3/2O_2 \rightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O$
	Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosolobus ΔG_o ' = -65.7 kcal/mole

$$NO_2$$
- $/O_2$ NO_2 - $+1/2O_2 \rightarrow NO_3$ - $Nitobacter, Nitrococcus, Nitrospina ΔG_o ' = -18.1 kcal/mole$

$$N_2/O_2$$
 $N_2 + 5/2O_2 + H_2O \rightarrow 2NO_3 + 2H^+$ $\Delta G_o' = -15.6 \text{ kcal/mole}$

Benchè la reazione sia termodinamicamente favorita nessun batterio è in grado di utilizzare questa fonte di energia vista la stabilità della molecola di N₂.

Ossidazioni Fe⁺

$$Fe^{+2}/O_2 \hspace{1cm} Fe^{2+} + 1/4O_2 + H^+ \rightarrow Fe^{-3+} + 1/2H_2O \\ Thiobacillus ferrooxidans \\ \Delta G_o' = -10,6 \text{ kcal/mole (a pH 2)} \\$$

Ossidazioni HS

I batteri possono ossidare non solo HS⁻, ma anche S^o ed S₂O₃²- per generare energia

HS-
1
 HS- 1 +8/5NO $_{3}$ - 1 +3/5H → SO $_{4}$ - 2 +4/5N $_{2}$ +4/5 H $_{2}$ O

Thiobacillus denitrificans
1
 1
 2
 3
 4
 4
 5
 6
 7
 7
 7
 8
 9
 8
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 9
 $^$

$$HS^-/O_2$$
 $HS^-+2O_2 \to SO_4^{2-}+H^+$

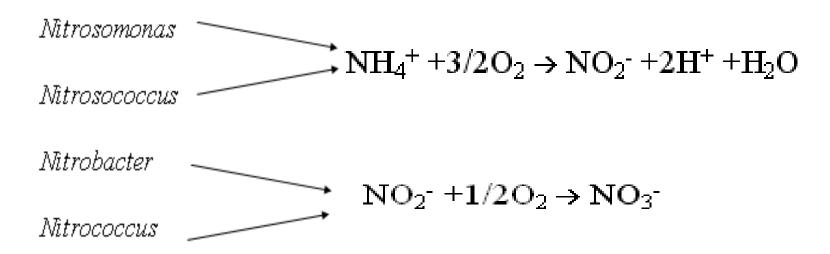
Thiobacillus, Beggiatoa, Thioploca, Achromatium, Thiovolum ΔG_o' = -190.4 Kcal

La biochimica di quest 'ossidazione è complessa e coinvolge un composto inusuale l'adenosina 5-fosfosulfonato (APS). E' l'unica reazione litotrofica ad avere fosforilazione a livello di substrato.

S₂O₃²-/NO₃⁻
$$5S_2O_3^{2-} + 8NO_3^{-} + H_2O \rightarrow 10SO_4^{2-} + 4N_2 + 2H^+$$
Thiobacillus denitrificans
$$\Delta G_o' = -193 \text{ kcal/mole}$$

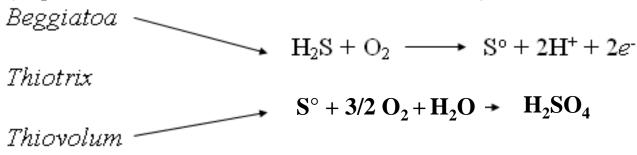
Schema riassuntivo delle reazioni condotte da batteri chemiolitotrofici autotrofi (usano il ciclo di Calvin per organicare la CO₂)

<u>Batteri nitrificanti</u>



Batteri solfo-ossidanti

(depositano lo zolfo all'interno della cellula)



(non depositano lo zolfo all'interno della cellula)

Thiobacillus
$$\longrightarrow$$
 $HSO_3^- + H_2O \longrightarrow SO_4^{2-} + 3H^+ + 2e^-$

$$\begin{cases} HSO_3^- + O_2 \rightarrow \\ H_2O + SO_3 \end{cases}$$

Batteri metano-ossidanti

Batteri metano-ossidanti
$$SO_3 + H_2O \rightarrow H_2SO_4$$
Methylococcus

Methylobacter
$$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O$$
Methylomonas

Batteri ferro-ossidanti

Galionella (pH neutro)
$$Fe^{2+} \xrightarrow{2e^{-}} Fe^{3+}$$
Thiobacillus ferroxidans (pH 2)
$$Fe^{2+} + 1/4O_2 + H^+ \rightarrow Fe^{3+} + 1/2H_2O$$

<u>Batteri idrogeno-ossidanti</u>

(aerobi)

Molti batteri batteri possono vivere

$$H_2 + 1/2 O_2 \longrightarrow 2H_2O$$

chemioautotroficamente

utilizzando H_2 e O_2

(anaerobi)

Methanobacterium $\longrightarrow 4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$ (metanobatteri)

Acetobacterium $\longrightarrow 4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_3COOH + 2H_2O$ (acetobatteri)

Alcuni accettori finali di elettroni

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

$$\Delta G'_0 = -686$$
kcal

NO₃ Respirazione nitrato

$$C_6H_{12}O_6+24/5NO_3+24/5H^+ \rightarrow 6CO_2+12/5N_2+42/5H_2O$$

$$\Delta G'_0 = -649$$
kcal

CHO Fermentazione Gran varietà di prodotti finali (vedi pagina seguente)

SO₄²⁻ Respirazione solfato

$$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2CO_2 + 2H_2O + HS^-$$

$$\Delta G'_0 = -9.7$$
kcal

CO₂ Metanogenesi

$$H_2+1/4CO_2 \rightarrow 1/4CH_4+1/2H_2O$$

$$\Delta G'_{o}$$
= -8.3 kcal

Riducente	Ossidante	Prodotto	Organismo
Composto organici	O_2	CO ₂ + H ₂ O	Piante, animali, molti batteri
H ₂	O_2	H ₂ O	Idrogenobatteri
NH ₃	O ₂	NO ₂ - + H ₂ O	Batteri nitrificanti
NO ₂	O ₂	NO ₃ ⁻ + H ₂ O	Batteri nitrificanti
Fe ²⁺	O ₂	Fe ³⁺	Ferrobacillus
S ²⁻	O_2	SO ₄ ²⁻ + H ₂ O	Thiobacillus
H ₂	SO ₄ ²⁻	H ₂ O + S ²⁻	Batteri desolforanti
Composto organici	NO ₃	$N_2 + CO_2$	Batteri denitrificanti
Glucosio (H ₂)	(CO ₂)	acido acetico	Batteri acetogenici
H ₂	CO ₂	CH ₄	Metanobatteri

Summary of Metabolism Modes

Reductant electron donor	Oxidant electron acceptor	End products
Aerobic respiration		
Organic substrates (benzene, toluene, phenol)	0,	CO₂, H₂O
NH₄	0,	NO ₂ -, NO ₃ -, H ₂ O
Fe ²⁺	02	Fe ³⁺
S ² -	O_2	SO ₄
Anaerobic respiration		
Organic substrates (benzene, toluene, phenol, trichloroethylene) Organic substrates (benzene, trichloroethylene) H ₂ H ₂	NO ₃ - SO ₄ 2- SO ₄ 2- CO ₂	N ₂ , CO ₂ , H ₂ O, CI ⁻ S ²⁻ , H ₂ O, CO ₂ , CI ⁻ S ₂ ⁻ , H ₂ O CH ₄ , H ₂ O
Fermentation		
Organic substrates	Organic compounds	Organic compounds CO2, CH4

<u>I MICRORGANISMI E LA CATENA ALIMENTARE</u> <u>DEL DETRITO</u>

<u>I MICRORGANISMI E LA CATENA ALIMENTARE</u> <u>DEL DETRITO</u>

- Il mantenimento della vita sulla terra è basato su disequilibri ossido-riduttivi locali generati dalla radiazione solare.
- ▶ L'energia chimica delle molecole organiche e di quelle inorganiche ridotte è la base energetica della vita. Tale energia è tanto maggiore quanto più l'ambiente è ossidante.
- La causa principale dell'arricchimento in ossigeno dell'atmosfera è la fotosintesi, attiva da circa 3x10 9 anni.
- La biosfera attuale presenta uno squilibrio redox tra atmosfera e idrosfera ossidanti e:
 - 1) l'ambiente riducente costituito dagli organismi viventi e dal compartimento temporaneo della sostanza organica morta
 - gli ambienti divenuti riducenti a causa dell'ossidazione della sostanza organica

I cicli microbici degli elementi sono condotti principalmente dalla energia chimica della sostanza organica morta ,anche se i donatori di elettroni dei batteri fotosintetici sono composti organici parzialmente mineralizzati .

Ruolo ecologico principale dei microrganismi



mineralizzazione della sostanza organica

In molti ecosistemi una larga parte della sostanza organica prodotta non è consumata da erbivori o carnivori, ma si aggiunge al pool di **DETRITO** demolito dall'azione microbica.

➤ DEFINIZIONI

≻Detrito



Carbonio organico perso da processi che non comprendono la predazione a tutti i livelli trofici.

➤Catena alimentare del detrito



ogni via attraverso la quale l'energia contenuta nel carbonio organico del detrito diviene disponibile.

Questa definizione esclude la sostanza organica viva ed include i composti organici solubili. Riconosce, inoltre, che il trasferimento di energia nella catena alimentare del detrito coinvolge composti inorganici .

Motivi che spiegano il ruolo dominante dei microrganismi come decompositori primari del detrito .

- Possono utilizzare una varietà di composti organici, alcuni totalmente indigeribili dagli animali.
- 2) Possono utilizzare nutrienti in concentrazioni estremamente diluite.
- 3) La loro piccola taglia e gli enzimi idrolitici legati alla loro superficie esterna rendono possibile un contatto stretto tra substrato nutritivo e cellule minimizzando le perdite di prodotti.
- 4) Hanno una grande superficie specifica
- 5) Possono efficacemente mineralizzare substrati organici in anaerobiosi

CINETICHE DI ASSUNZIONE DI SOSTANZE ORGANICHE DISCIOLTE

I microrganismi hanno meccanismi di "uptake" per substrati organici ed inorganici.

Questi meccanismi possono essere saturati.

Nelle condizioni ambientali la cinetica di "uptake" per un dato substrato ed un dato microrganismo è del primo ordine.

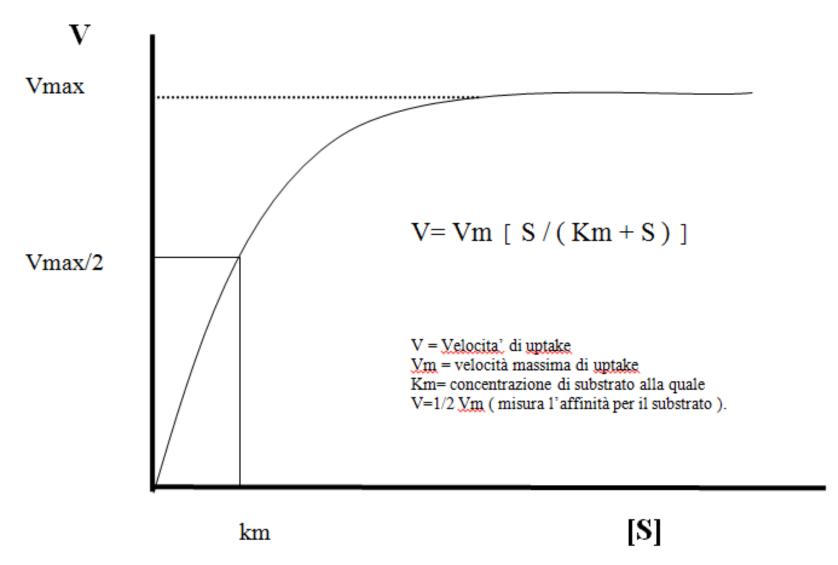
Tale cinetica può essere efficacemente descritta dall'equazione di Michaelis - Menten.

$$V = Vm [S/(Km + S)]$$

V = Velocita' di uptare

Vm = velocità massima di uptake

Km= concentrazione di substrato alla quale V=1/2 Vm (misura l'affinità per il substrato).



Vm alto= alta capacità di uptake

Km basso = alta affinità per il substrato

In natura i valori di <u>Vm</u> e Km di differenti microrganismi per un dato substrato sono correlati in modo che :

- <u>microrganismi con alto Vm per un substrato hanno alto Km.</u>
- ➤ microrganismi con bassa Vm per un substrato hanno basso Km

Il significato ecologico di questa situazione può essere evidenziato considerando che:

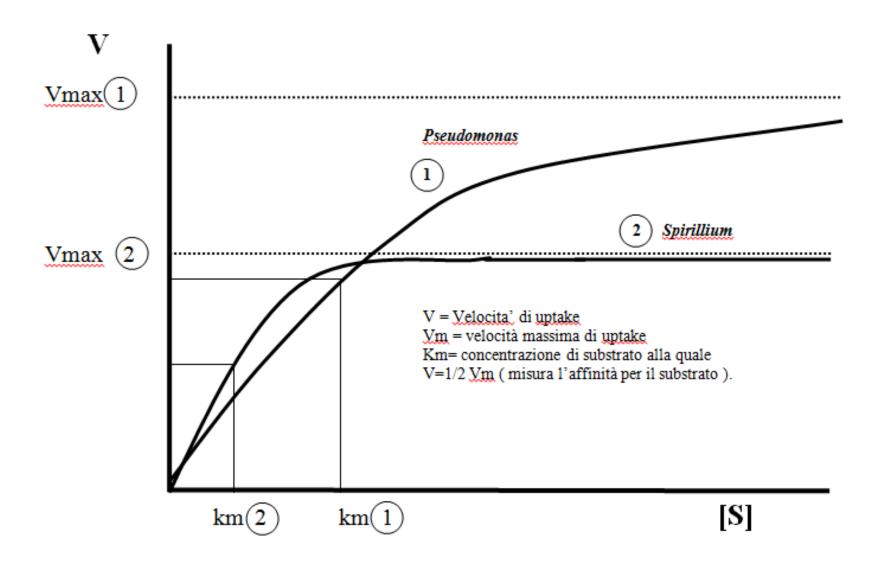
❖i microrganismi possono specializzarsi nell'avere un elevato tasso di uptare ad elevate concentrazioni di substrato (Km elevato)

оррше

i microrganismi possono essere competitori efficienti a basse concentrazioni di substrato (Km basso).

Queste considerazioni evidenziano due comportamenti distinti:

- batteri che crescono lentamente ,che hanno un'alta capacità competitiva a basse concentrazioni di substrato (autoctoni)
- batteri con alta capacità di crescita ad alte concentrazioni di substrato (zimogeni)

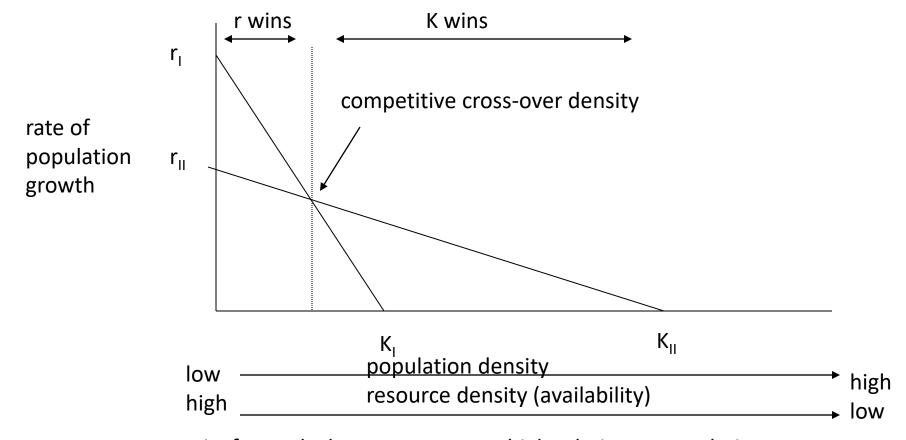


- ➤ STRATEGIA K Batteri capaci di crescere in ambienti oligotrofi (bassa concentrazione di nutrienti).Questi batteri sono detti
 - paucitrofi
 - oligotrofi (obbligati o facoltativi)
 - autoctoni
- ➤ STRATEGIA r Batteri forti competitori in ambienti eutrofi (alta concentrazione di nutrienti). Questi batteri sono detti
 - copiotrofi
 - eutrofi
 - zimogeni

r- and K-strategists

- Mathematical model developed from studies on population dynamics of animals and plants
- r = rate of population increase, K = carrying capacity of the environment (carrying capacity = density of organisms that can be supported
- •K -strategists: optimized to function at high population sizes (high K), but low growth rate (low r).
- •r-selected: optimized to function at low population sizes (low K), but high growth rates (high r)

Organism type	r value	K value
r-strategist	high	low
K-strategist	low	high



r-strategist favored when resources are high relative to population K-strategist favored when resources are low relative to population

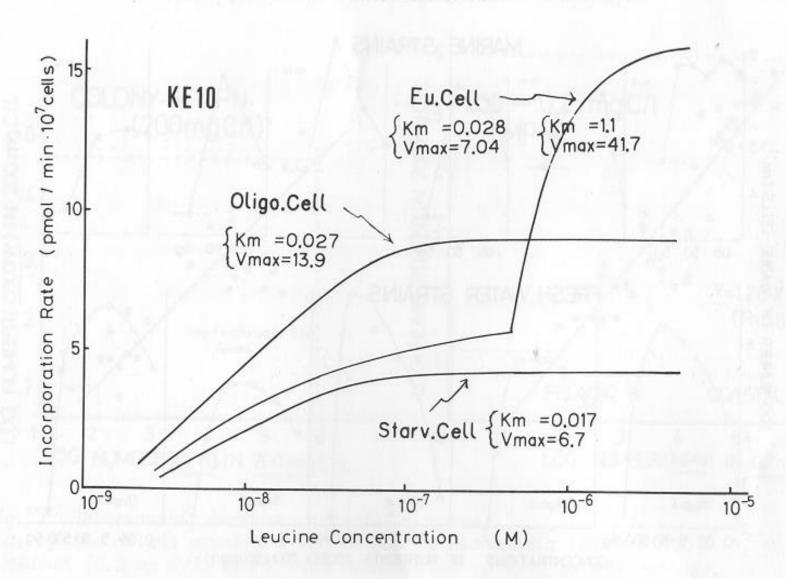


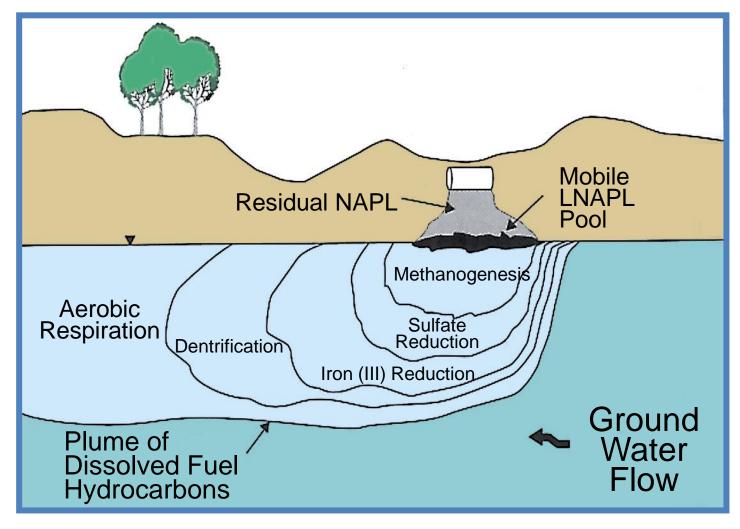
Fig. 3. Leucine uptake patters among the oligotrophic cells, starved cells and eutrophic cells prepared from KE-10 (FO).

Scambio elettronico nei vari metabolismi eterotrofi

Il tipo di trasformazione che il Carbonio organico subisce dipende dai livelli energetici disponibili, che sono tipici di ciascun metabolismo.

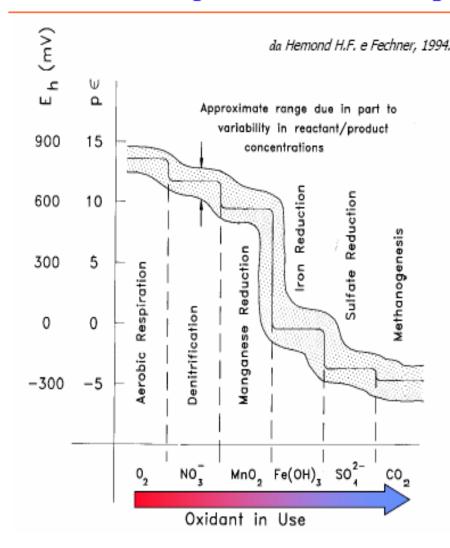
	Fermentazione anaerobica	Respirazione anossica	Respirazione aerobica
Trasformazione del Carbonio	Substrato C Prodotti di fermentazione	Substrato CO2	Substrato CO2
Accettore di elettroni	Flusso interno di e ⁻ Ossido-Riduzioni interne	e- NO ₃ -, SO ₄ , CO ₃ POTENZIALE REDOX	e- O ₂
	molto negativo	debolmente negativo o circa zero	positivo
	$\approx -400 mV \div -100 mV$	$\approx -50 \ mV \div 10 \ mV$	>10 mV

Electron Acceptor Zone Formation



(Source: W,R, N, & W, 1999.) (Adapted from Lovley et al., 1994b.)

La sequenza RedOx nei processi naturali

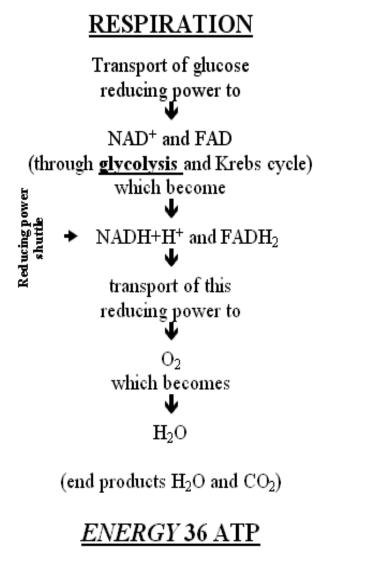


In un ambiente ricco di sostanze organiche ed isolato dall'atmosfera i batteri, dopo aver consumato tutto l'ossigeno disponibile, utilizzano ossidanti alternativi, nella sequenza mostrata a lato.

Durante l'utilizzo di ciascun ossidante, il potenziale E_h si trova nei valori indicati.

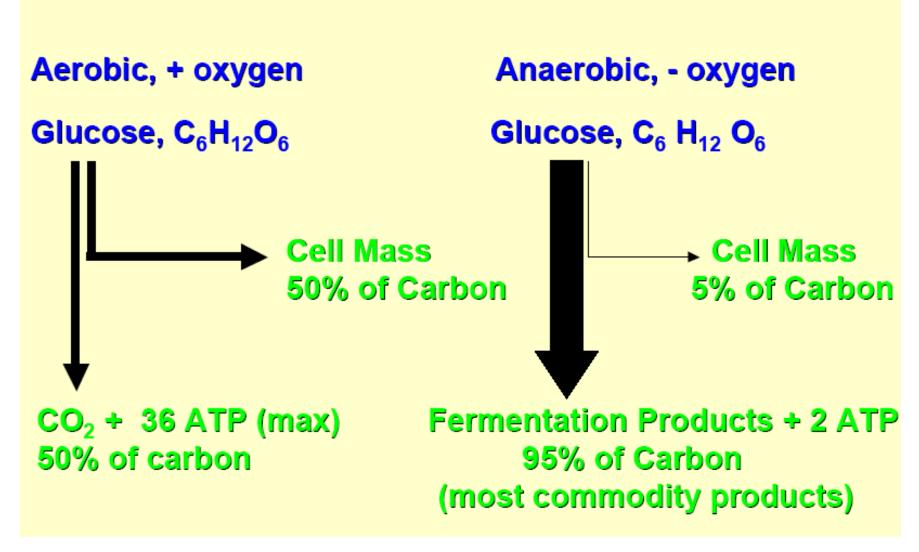
La fascia indica le possibili variazioni di E_h dovute alla concentrazione dell'ossidante, considerato all'equilibrio, mentre in natura i sistemi RedOx non sono in equilibrio.

Riassumendo

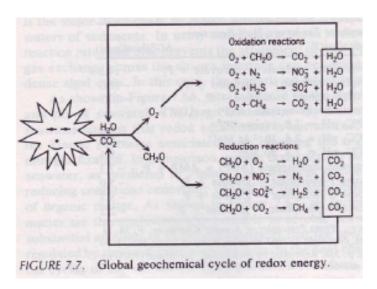


FERMENTATION Transport of glucose reducing power to or Piruvic acid Pentose phosphate then end products Glycolyisis Entner-Doudoroff Pentose phosphate pathway piruvic acid piruvic acid Ribose and xilulose Homolactic Heterolactic Phosphoketolase Mixed acid pathway Buranedio1 Butyrric Heterolactic Butano1-aceton 1 ATP Propionic acid 2 ATP ENERGY -

Overview of Metabolism



Global Redox Cycle



- This cycle is driven by solar energy;
- Solar energy is converted into thermodynamically namically unstable chemical species;
- Electron transfer from H₂0 to CO₂;
- Organic matter is electron-rich and O2 electron-poor;
- The heterophic organims restore the system in equilibrium by catalyzing the oxidation of organic matter;
- Electron from organic matter reduce O2, nitrate, sulfate, and CO2 to H2O, N2, H2S, and CH4, respectivley;
- In present O2, the above reduced compounds is regenerated to the oxidized species (NO₃-, SO₄²-, and CO₂) for the cycle.
- Marine sediments are one part of the global geochemical cycle.