

# Fermentazioni, riduzioni del nitrito e del solfato

---

# Fermentazione

---

Le Fermentazioni sono metabolismi anaerobi che non richiedono accettori esterni di elettroni. I microrganismi fermentanti raggiungono l'equilibrio redox e conservano l'energia formando vari prodotti di fermentazione che vengono escreti dalla cellula

## Ossidazioni CHO

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

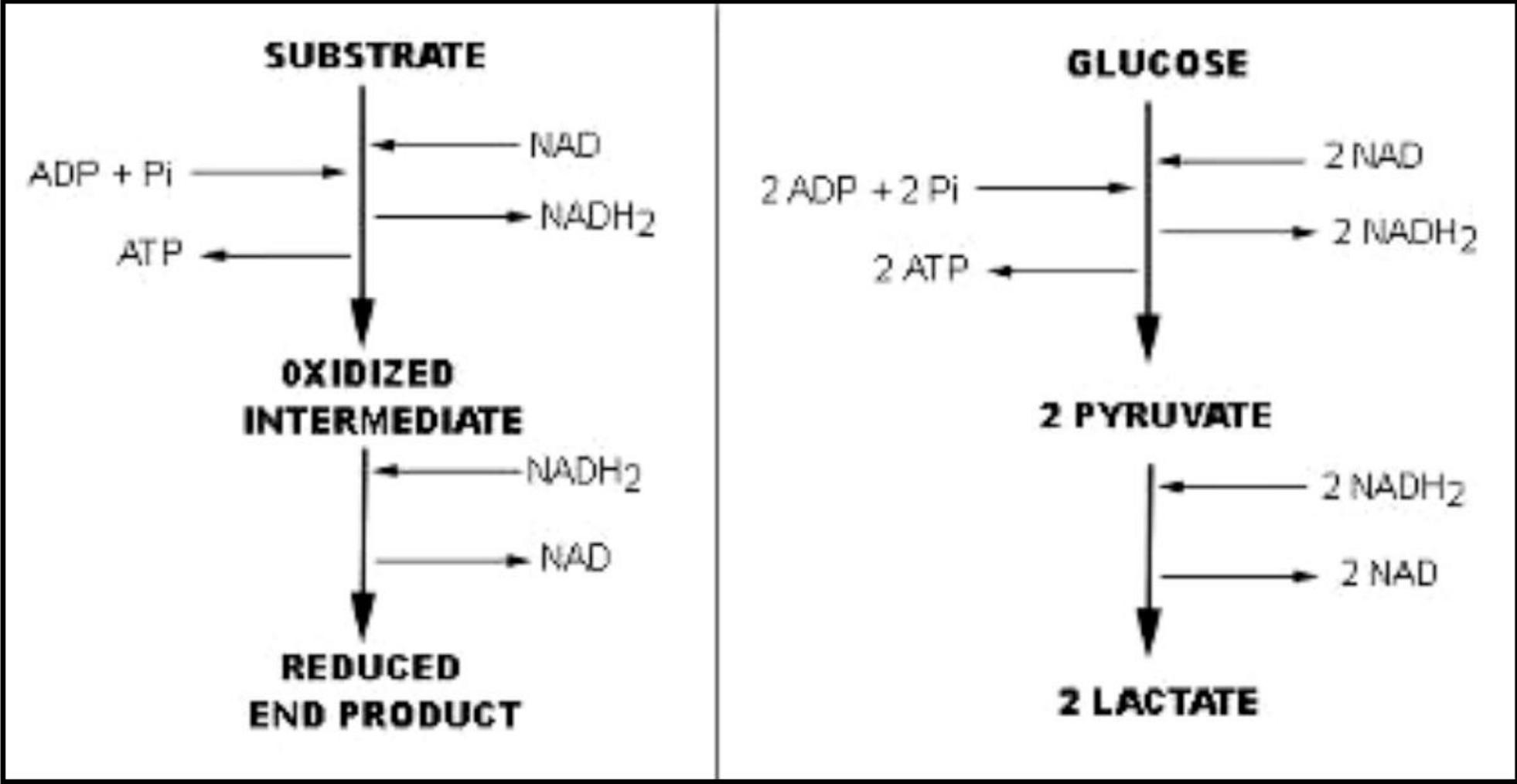
### CHO/CHO

Queste ossidazioni, in cui una parte del substrato è ossidato a spese di una parte di substrato ridotto e dove si ottiene ATP per fosforilazione a livello di substrato, si chiamano **FERMENTAZIONI**. È importante osservare che non è necessario nessun accettore di e<sup>-</sup> esterno.

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

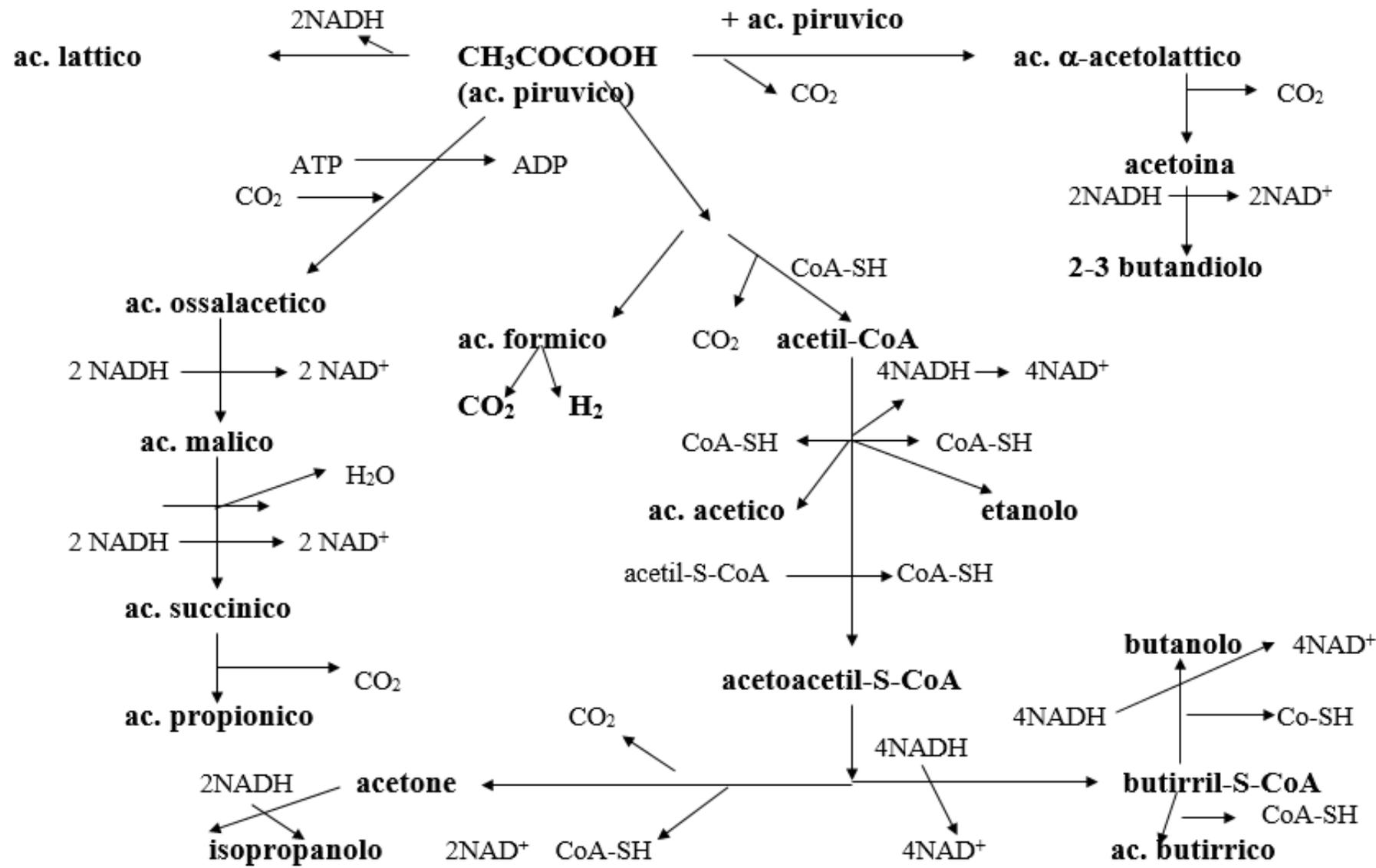
CO<sub>2</sub>, HCOO<sup>-</sup>, CHCOO<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>, HOOCCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>CHOHCOO<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH.

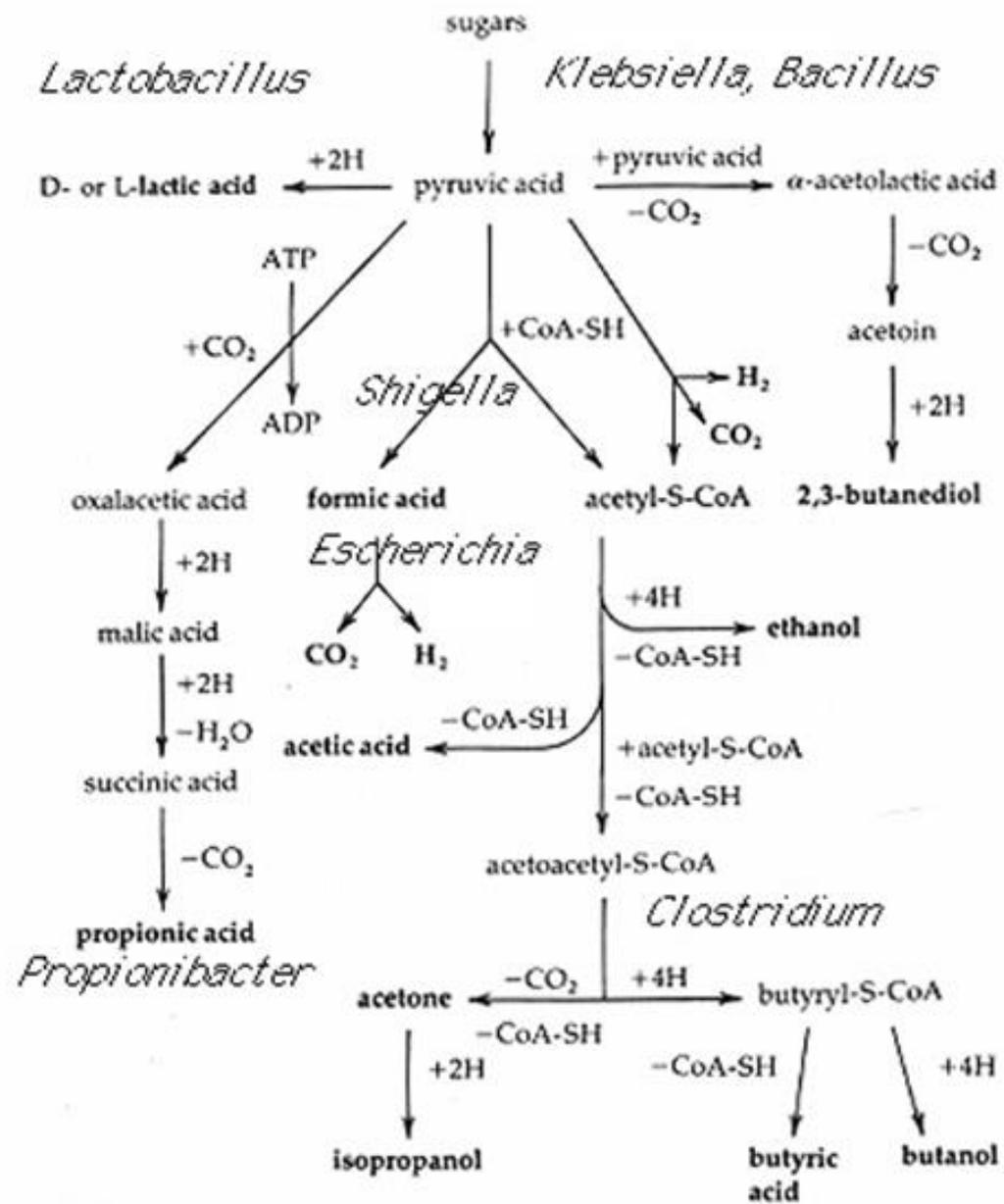
Alcuni anaerobi fermentanti possono incorporare sino al 30% del substrato.



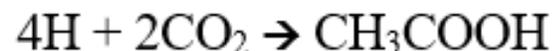
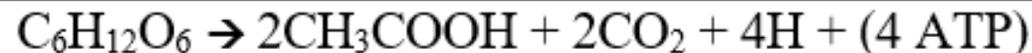
## FERMENTAZIONI

Tipo	Prodotti	Batteri
OMOLATTICA	$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ (ac.lattico)	Fermenti lattici ( <i>Streptococcus</i> , <i>Pediococcus</i> , alcuni lattobacilli)
ACIDO MISTA	$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ (ac. lattico) $\text{CH}_3\text{COOH}$ (ac. acetico) $\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (ac. succinico) $\text{HCOOH}$ (ac. formico) o $\text{CO}_2$ e $\text{H}_2$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (etanolo)	Molti enterobatteri ( <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Yersinia</i> )
BUTANDIOLO	come sopra ed in più $\text{CH}_3(\text{CHOH})_2\text{CH}_3$ (2,3 butandiolo)	<i>Aereobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus polymixa</i>
AC.BUTIRRICO	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (ac.butirrico) $\text{CH}_3\text{COOH}$ (ac.acetico) $\text{CO}_2$ e $\text{H}_2$	Molti sporigeni anaerobi (clostridi), qualche aerobio non sporigeno ( <i>Butirribacterium</i> )
BUTANOLO ACETONE	Come sopra ma anche $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ (butanolo) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (etanolo) $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ (acetone) $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$ (isopropanolo)	Alcuni sporigeni anaerobi (clostridi)
AC.PROPIONICO	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ (ac.propionico) $\text{CH}_3\text{COOH}$ (ac.acetico) $\text{HOOCCH}_2\text{COOH}$ (ac.succinico) $\text{CO}_2$	Propionibatteri



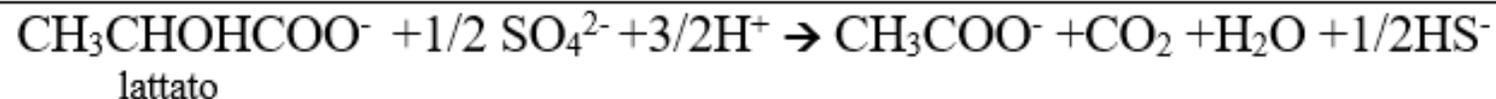


**CHO/CO<sub>2</sub>**



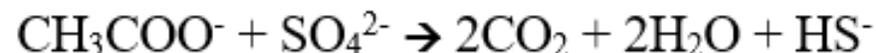
*Clostridium thermoaceticum*

**CHO /SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**



*Desulfovibrio* spp.

$\Delta G_o' = -8.9 \text{ kcal}$



*Desulfotomaculum acetoxidans*

$\Delta G_o' = -9.7 \text{ kcal/mole}$

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

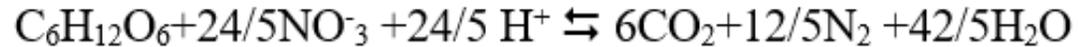
**CHO /S°**



*Desulfuromonas acetoxidans*

$\Delta G_0' = -6.0 \text{ kcal}$

**CHO /NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**

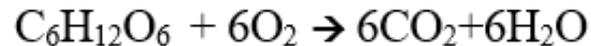


*E. coli*, *Bacillus*, *Proteus* ecc.

$\Delta G_0' = -649 \text{ kcal}$

Molti batteri aerobi/anerobi facoltativi sono capaci di effettuare la respirazione nitrato. Questa riduzione dissimilativa del NO<sub>3</sub> avviene solo in assenza di O<sub>2</sub>

**CHO /O<sub>2</sub>**



Processo eseguito da tutti i batteri aerobi dotati di catena respiratoria .

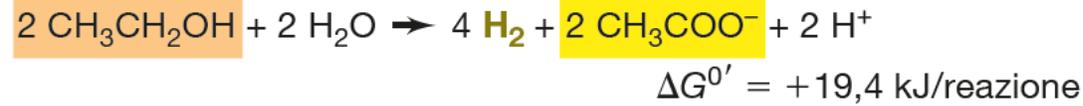
$\Delta G_0' = -686 \text{ Kcal}$

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

**Tabella 14.6 Comuni tipi di fermentazione e loro energetica in organismi di riferimento**

Tipo	Reazione	Resa energetica ( $\Delta G^{0'}$ , kJ/mol)	Organismi
Alcolica	Esoso $\rightarrow$ 2 etanolo + 2CO <sub>2</sub>	-239	Lievito, <i>Zymomonas</i>
Omolatticca	Esoso $\rightarrow$ 2 lattato <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup>	-196	<i>Streptococcus</i> , alcuni <i>Lactobacillus</i>
Eterolattica	Esoso $\rightarrow$ 2 lattato <sup>-</sup> + etanolo + CO <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	-216	<i>Leuconostoc</i> , alcuni <i>Lactobacillus</i>
Acido propionico	3 lattato <sup>-</sup> $\rightarrow$ 2 propionato <sup>-</sup> + acetato <sup>-</sup> + CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	-170	<i>Propionibacterium</i> , <i>Clostridium propionicum</i>
Acido-mista	Esoso $\rightarrow$ lattato <sup>-</sup> + acetato <sup>-</sup> + succinato <sup>2-</sup> + formiato <sup>-</sup> + etanolo + H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	Dipende dal rapporto dei prodotti	Batteri enterici inclusi <i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>
Butandiolo	Esoso $\rightarrow$ 2,3 butandiolo + etanolo + lattato <sup>-</sup> + acetato <sup>-</sup> + succinato <sup>2-</sup> + formiato + H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	Dipende dal rapporto dei prodotti	<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>
Acido butirrico	Esoso $\rightarrow$ butirrato <sup>-</sup> + 2H <sub>2</sub> + 2CO <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	-264	<i>Clostridium butyricum</i>
Butanolo	2 esoso $\rightarrow$ butanolo + acetone + 5 CO <sub>2</sub> + 4 H <sub>2</sub>	-468	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
Caproato/butirrato	6 etanolo + 3 acetato <sup>-</sup> $\rightarrow$ 3 butirrato <sup>-</sup> + caproato <sup>-</sup> + 2 H <sub>2</sub> + 4 H <sub>2</sub> O + H <sup>+</sup>	-183	<i>Clostridium kluyveri</i>

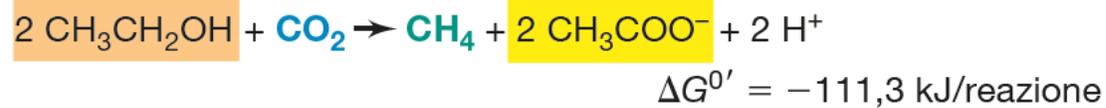
**Fermentazione dell'etanolo condotta dal batterio sintrofico:**



**Metanogenesi condotta dal metanogeno:**



**Reazione accoppiata condotta mediante un'associazione tra un batterio sintrofico e un metanogeno:**



(a) **Reazioni**

**Batterio che fermenta etanolo**



**Metanogeno**



Trasferimento interspecifico di idrogeno.



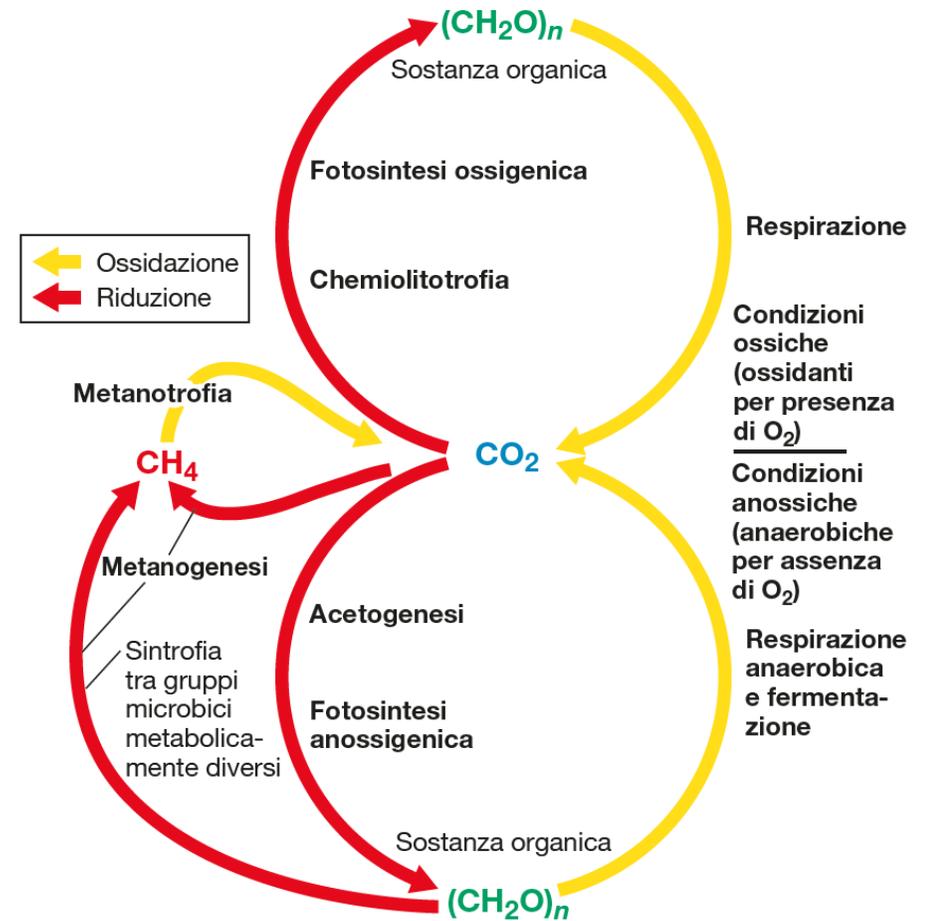
(b) **Visione d'insieme del trasferimento sintrofico di H<sub>2</sub>**

**Figura 14.51 Sintrofia: trasferimento interspecifico di H<sub>2</sub>.**

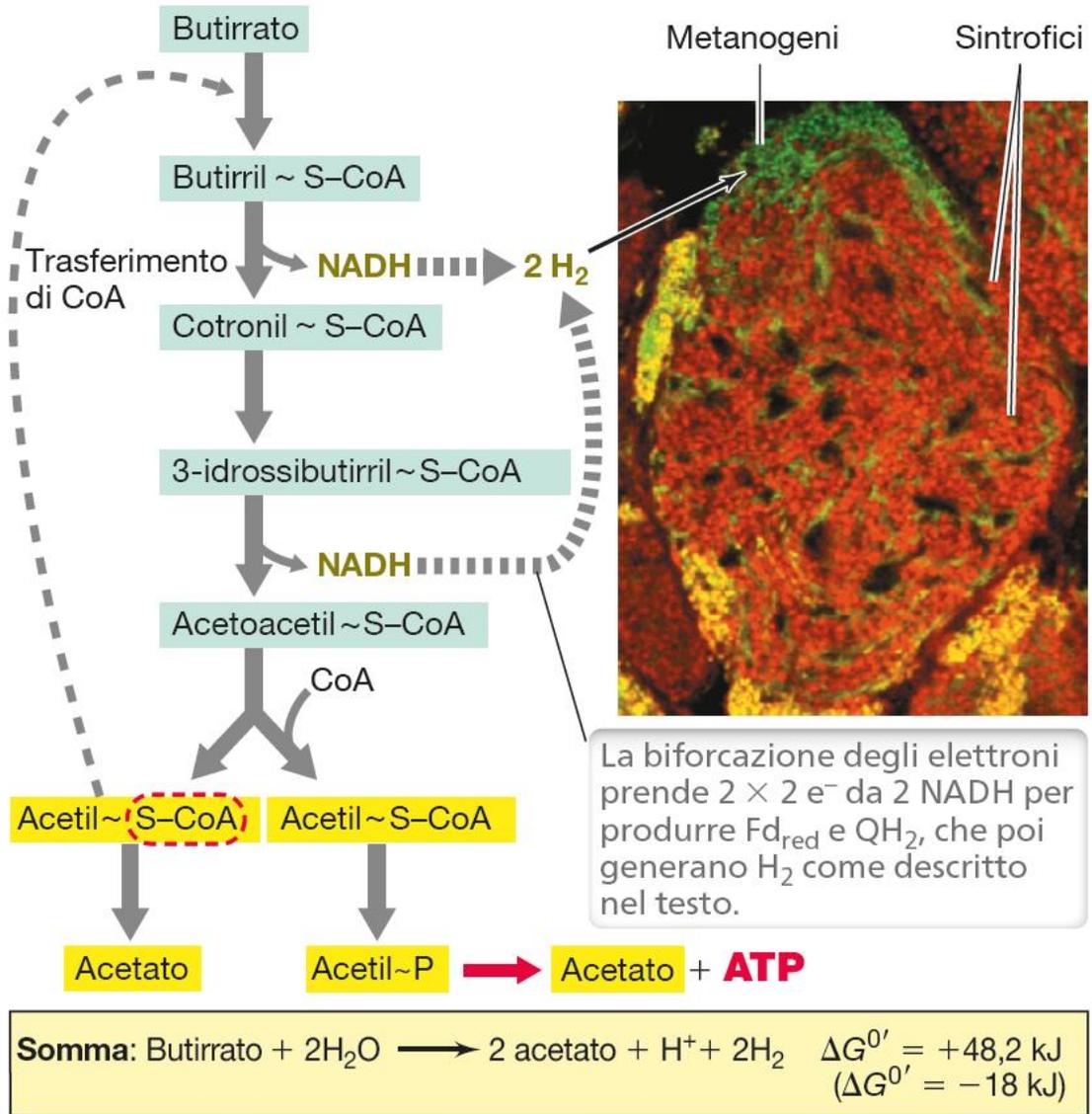
La fermentazione dell'etanolo a metano e acetato, mediante un'associazione sintrofica tra un batterio che fermenta l'etanolo e un partner che consuma H<sub>2</sub> (in questo caso, un metanogeno). (a) Reazioni coinvolte. I due microrganismi condividono l'utilizzo dell'energia rilasciata dalle reazioni accoppiate. (b) Visione d'insieme del trasferimento sintrofico di H<sub>2</sub>.

Dal punto di vista ecologico, gli organismi sintrofici sono elementi di congiunzione delle fasi anossiche del ciclo del carbonio rilasciando H<sub>2</sub> ed altri prodotti chiave per il metabolismo degli organismi anaerobici.

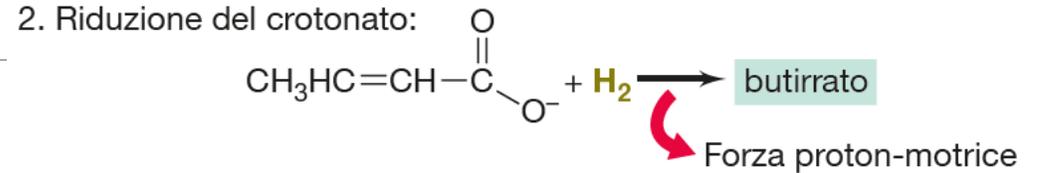
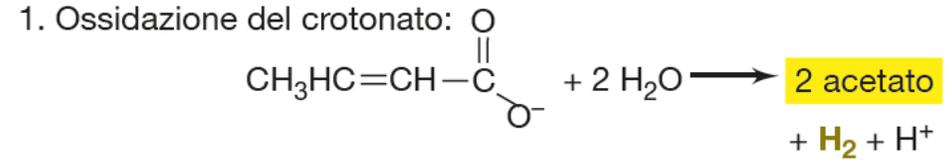
Le reazioni sintrofiche diventano superflue allorché siano disponibili accettori diversi da substrati carboniosi come l'NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e O<sub>2</sub>.



**Figura 21.2** Ciclo di ossidoriduzione del carbonio. Lo schema mette a confronto i processi autotrofi (CO<sub>2</sub> → composti organici) e quelli eterotrofi (composti organici → CO<sub>2</sub>).



(a) Coltura sintrofica



(b) Coltura pura

**Figura 14.52 Energetica della crescita di *Syntrophomonas* in coltura sintrofica e in coltura pura.** (a) Nella coltura sintrofica la crescita dipende dalla presenza di un microrganismo, come un metanogeno, che consuma H<sub>2</sub>. La produzione di H<sub>2</sub> è guidata da un trasporto inverso degli elettroni, in quanto i valori di E<sub>0'</sub> della coppia NADH sono più elettropositivi di quelli della coppia 2H<sup>+</sup>/H<sub>2</sub>. (b) In coltura pura la conservazione dell'energia è legata alla respirazione anaerobica, con la riduzione del crotonato a butirrato. Insetto: fotomicrografia di cellule di un batterio sintrofico (in rosso) che degrada acidi grassi in associazione con un metanogeno (in giallo-verde).

## Altri processi fermentativi

---

In base ai substrati fermentati si parla di:

- fermentazione degli aminoacidi, operata da molti batteri sporigeni anaerobi (*Clostridium*) i cui prodotti finali sono acetato, ammoniaca, CO<sub>2</sub> e 3 ATP (reazione di Stickland).
- fermentazione delle purine, operata da alcune specie di Clostridi che fermentano la xantina o l'adenina, con produzione di acetato, formiato, ammoniaca ed anidride carbonica
- fermentazione di composti aromatici da parte di altri anaerobi

# Processi respiratori definiti dall'accettore di elettroni

---

La respirazione anaerobica si verifica quando l'accettore finale di elettroni è diverso dall'ossigeno come forme ossidate dell'azoto e dello zolfo, nonché zolfo elementare. In alcuni casi, anche metalli, metalloidi e sostanze organiche supportano questo processo

# Riduzione del nitrato e denitrificazione

---

I composti ossidati dell'azoto sono tra i più comuni accettori di elettroni nella respirazione anaerobica.

Dalla riduzione del  $\text{NO}_3^-$ , si ottiene prima il nitrito poi per ulteriore riduzione dell'azoto si ottiene l'ossido nitrico (NO), poi l'ossido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) ed, infine,  $\text{N}_2$

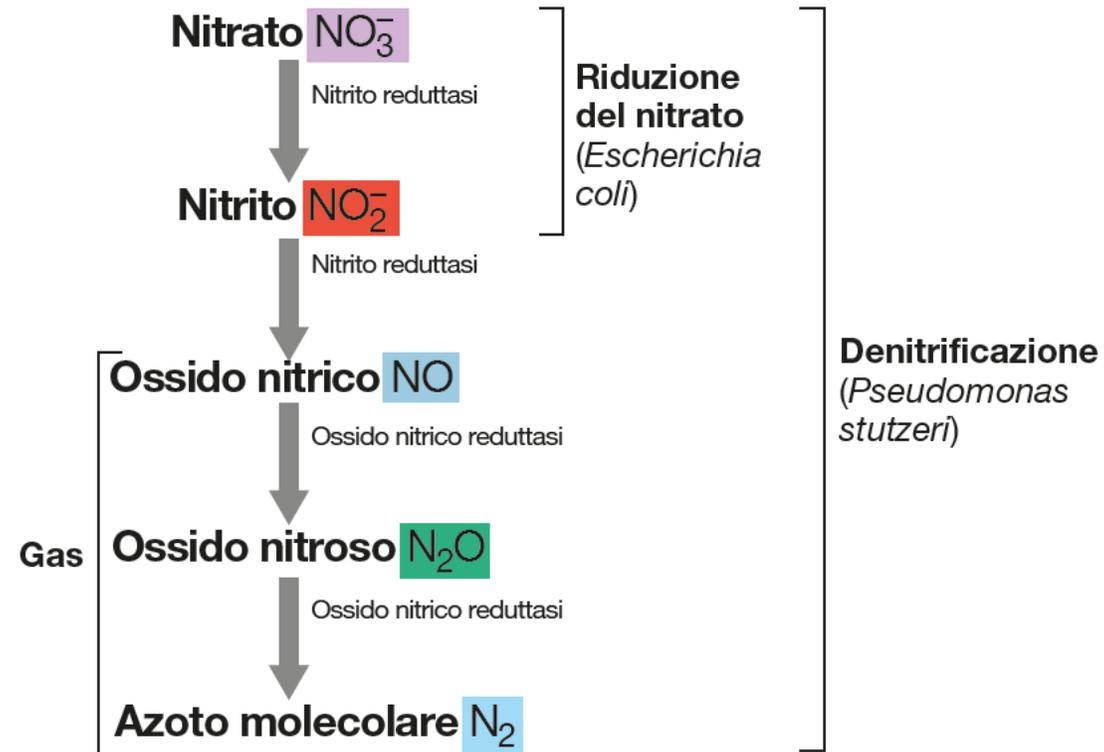
Poiché NO,  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$  sono gassosi essi vengono liberati nell'ambiente e la loro produzione biologica viene chiamata denitrificazione.

Non tutti gli organismi eseguono la denitrificazione completa ma possono ridurre il nitrato a nitrito (E.coli). Altri, possono produrre  $\text{NH}_3$  dal nitrito in un processo dissimilativo.

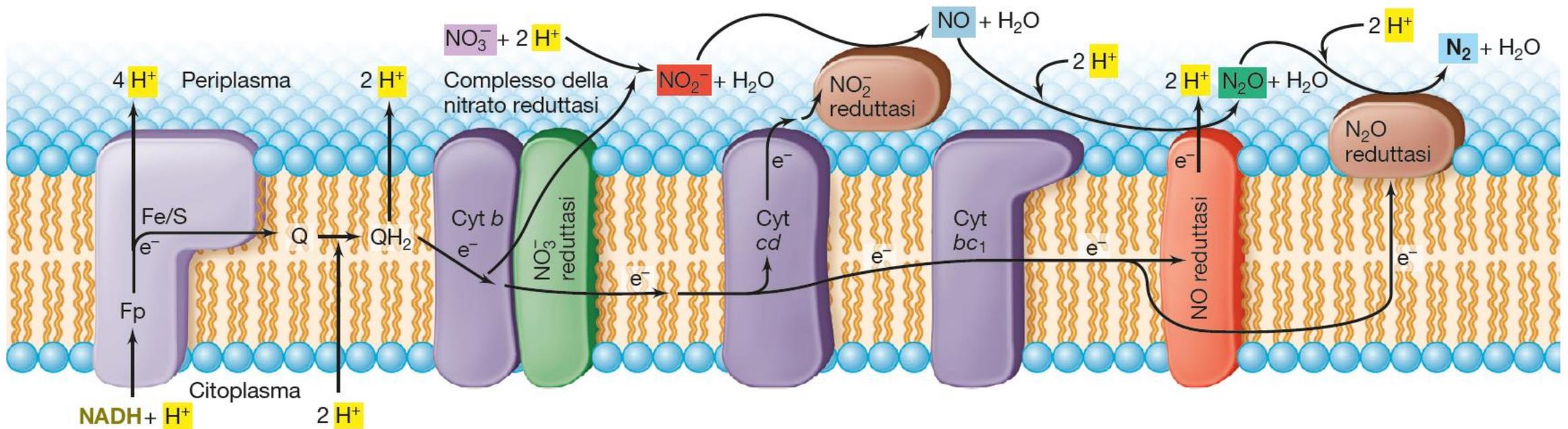
I batteri denitrificanti sono versatili in termini di meccanismi di produzione dell'energia (fermentazione, respirazione aerobica, uso di ioni metallici come accettori)

**Tabella 14.3 Stati di ossidazione dei principali composti dell'azoto**

<b>Composto</b>	<b>Stato di ossidazione dell'atomo di N</b>
Azoto organico ( $-\text{NH}_2$ )	-3
Ammoniaca ( $\text{NH}_3$ )	-3
Azoto gassoso ( $\text{N}_2$ )	0
Ossido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ )	+1 (media per N)
Ossido nitrico ( $\text{NO}$ )	+2
Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ )	+3
Diossido d'azoto ( $\text{NO}_2$ )	+4
Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )	+5



**Figura 14.27** Passaggi della riduzione dissimilativa del nitrato. Alcuni organismi possono effettuare solo la prima reazione. Tutti gli enzimi coinvolti sono attivati in condizioni anaerobiche. Sono noti alcuni batteri in grado di ridurre  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$  nel metabolismo dissimilativo. Si noti che i colori utilizzati qui coincidono con quelli utilizzati nella Figura 14.28.

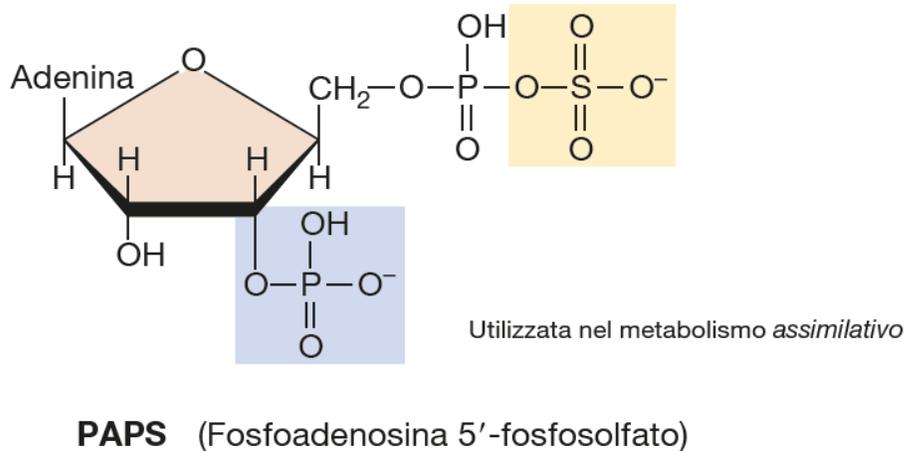
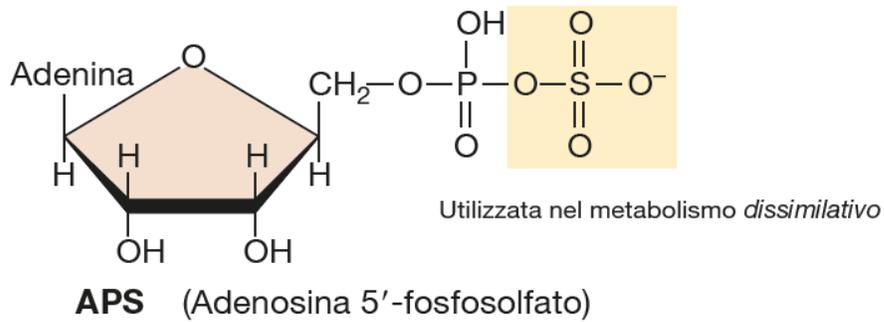


**Figura 14.28 Denitrificazione.** Schema del trasporto di elettroni nella membrana di *Pseudomonas stutzeri* durante la denitrificazione. La nitrato reductasi e la ossido nitrico reductasi sono proteine

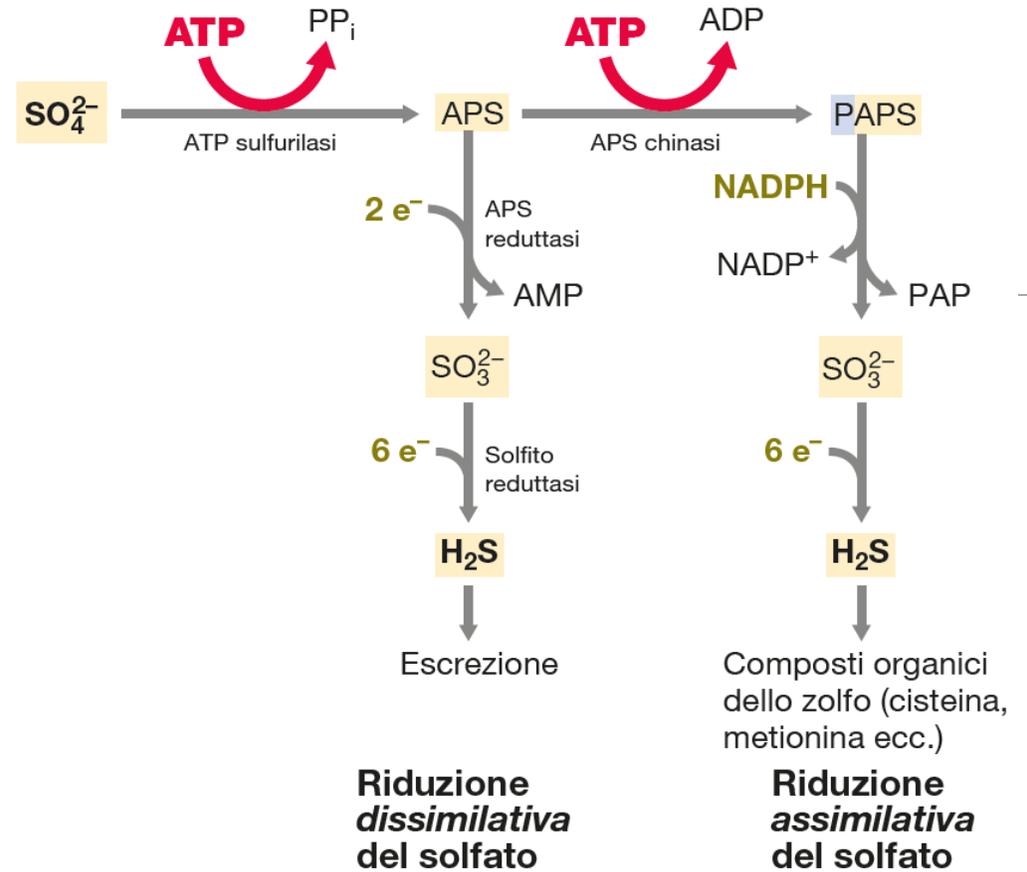
integrali della membrana, mentre la nitrito reductasi e l'ossido nitroso reductasi sono enzimi periplasmatici. Fp, flavoproteina; Q, ubiquinone; Cyt, citocromo.

**Tabella 14.4 Stati di ossidazione dei principali composti dello zolfo**

<b>Composto</b>	<b>Stato di ossidazione dell'atomo di S</b>
Zolfo organico (RO—SH)	-2
Solfuro (H <sub>2</sub> S)	-2
Zolfo elementale (S <sup>0</sup> )	0
Tiosolfato (—S—SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	-2/+6
Diossido di zolfo (SO <sub>2</sub> )	+4
Solfito (SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	+4
Solfato (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	+6

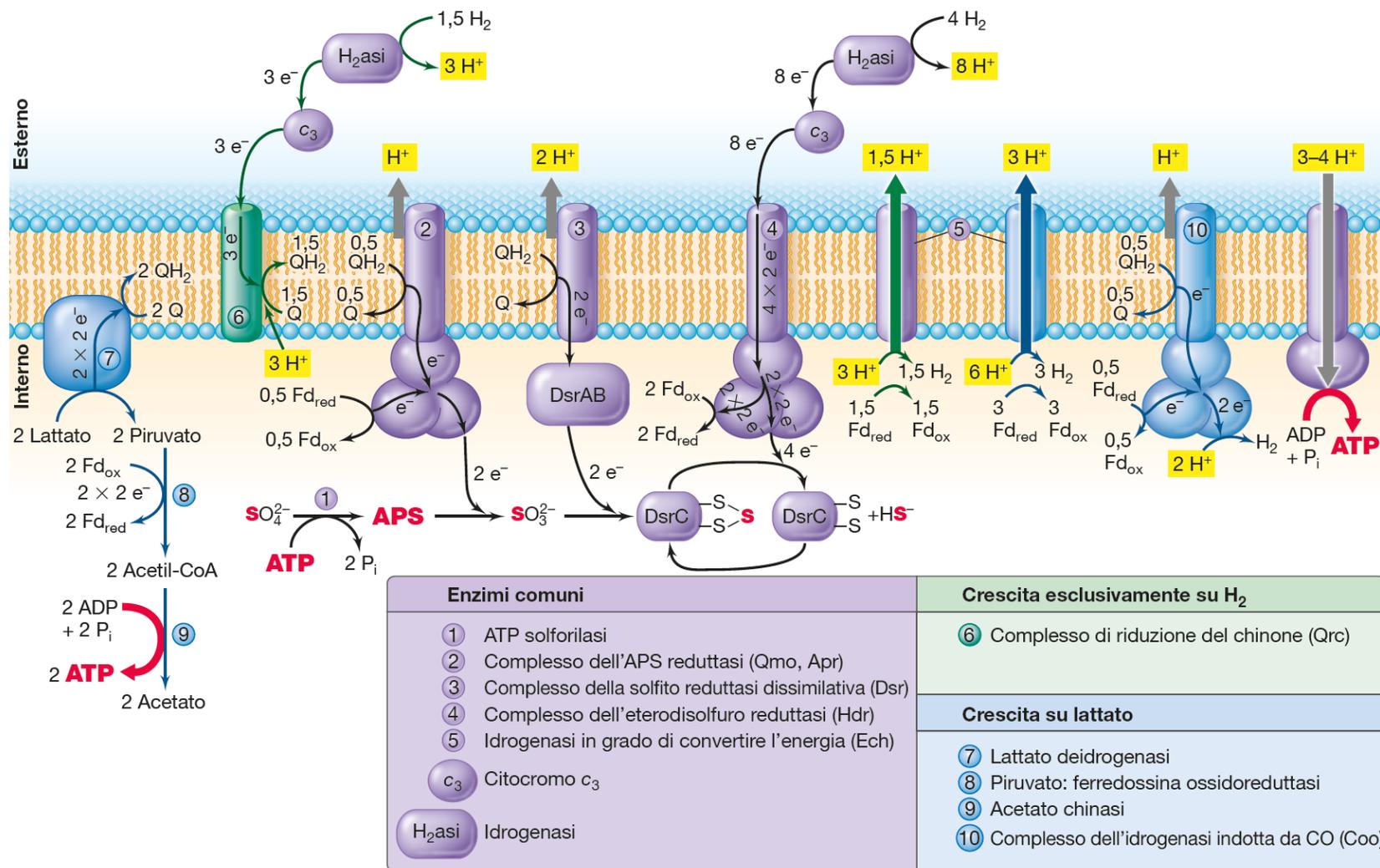


(a)



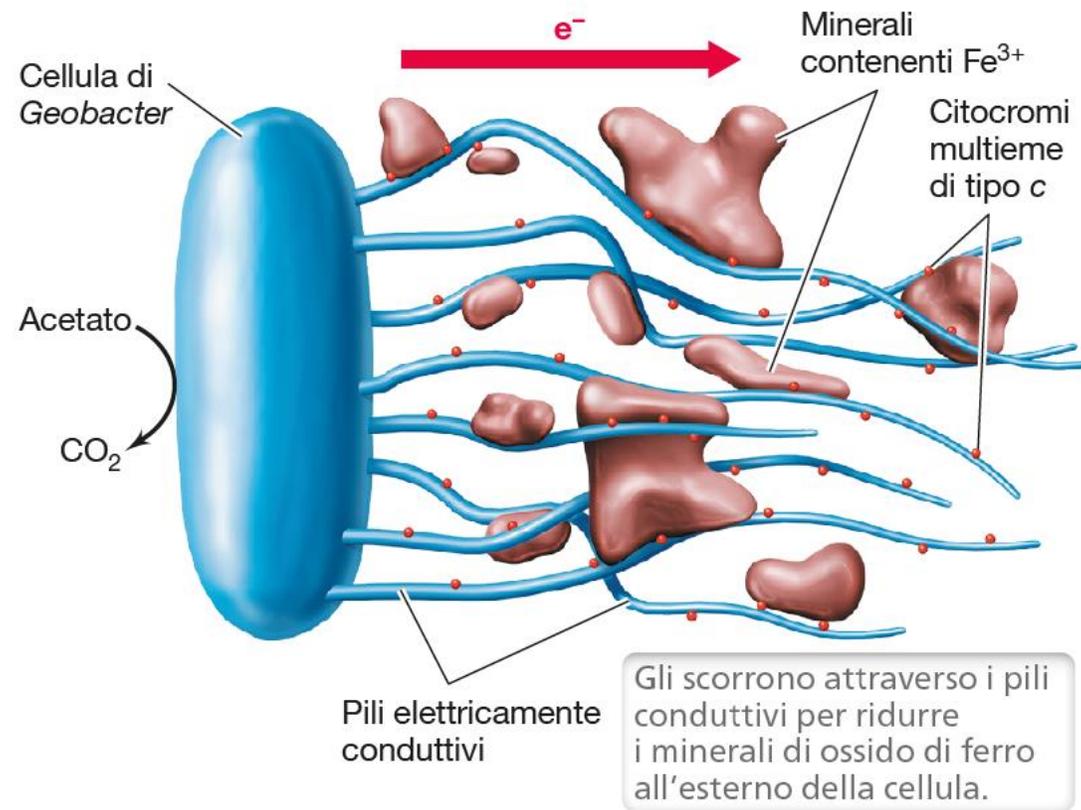
(b)

**Figura 14.29 Biochimica della riduzione del solfato: solfato attivato.** (a) Il solfato può essere attivato in due forme, adenosina 5'-fosfosolfato (APS) e fosfoadenosina 5'-fosfosolfato (PAPS). Entrambe sono derivate dall'adenosina difosfato (ADP) mediante sostituzione del secondo fosfato dell'ADP con  $\text{SO}_4^{2-}$ . (b) Rappresentazione schematica della riduzione assimilativa e dissimilativa della riduzione del solfato.



**Figura 14.30** Trasporto degli elettroni e conservazione dell'energia nei batteri solfato-riduttori. L' $\text{H}_2$  funge da donatore primario di elettroni per la riduzione del solfato e la crescita su composti organici come il lattato determina la produzione di  $\text{H}_2$  come intermedio. Il citocromo  $c_3$  periplasmatico trasferisce gli elettroni da un sistema di idrogenasi periplasmatiche ( $\text{H}_2\text{asi}$ ) alle proteine legate alla membrana che mediano le reazioni di trasferimento degli elettroni. I componenti principali del trasferimento degli elettroni sono mostrati in viola; inoltre, sono mostrati i componenti necessari per la crescita esclusiva

su  $\text{H}_2$  (in verde) e su lattato (in blu). Lo schema include tre enzimi biforcanti. La biforcazione degli elettroni nel complesso dell'APS reduttasi consiste nella cessione di elettroni all'APS. La biforcazione degli elettroni del complesso eterodisolfuro reduttasi (Hdr) consiste nella cessione di elettroni a Dsr-C e nel rilascio di  $\text{HS}^-$ . Una conformazione di elettroni nel complesso dell'idrogenasi indotta da CO (Coo) contribuisce all'equilibrio redox durante la crescita sul lattato. Le idrogenasi che convertono l'energia (si veda il Paragrafo 14.17) contribuiscono alla conservazione dell'energia oltre che al riciclo del chinone.

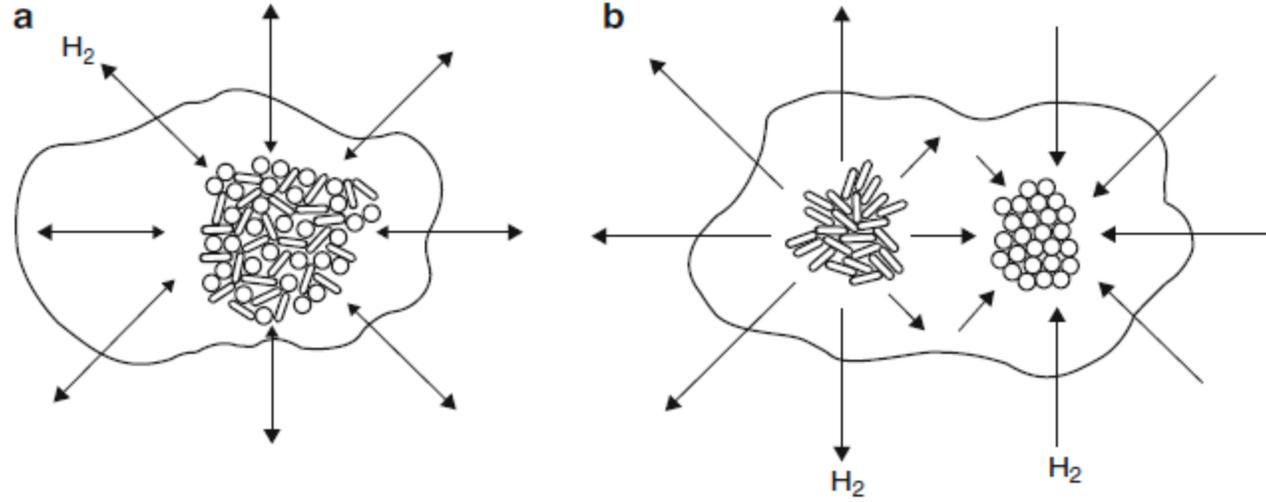


**Figura 14.31** I batteri ferro-riduttori possono ridurre accettori extracellulari di elettroni. Gli ossidi di ferro sono insolubili e non possono essere trasportati nella cellula. Il batterio *Geobacter* produce pili (nanocavi) di tipo IV elettricamente conduttivi che trasferiscono gli elettroni all'esterno della cellula, dove riducono i minerali di ferro ossidati.



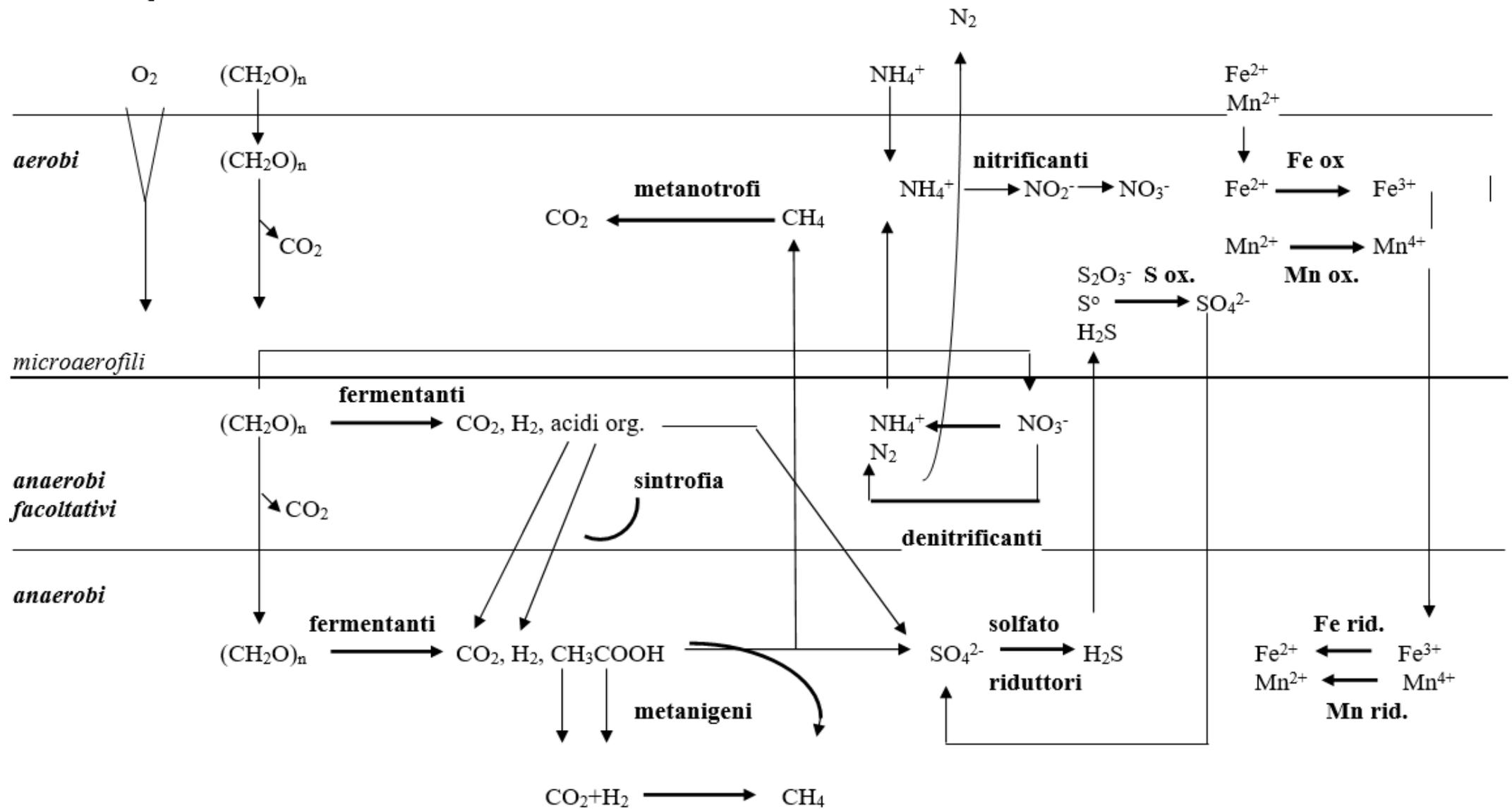
Dianne K. Newman e Stephen Tay

**Figura 14.32** Biomineralizzazione durante la riduzione dell'arsenato da parte del batterio solfato-riduttore *Desulfotomaculum auripigmentum*. A sinistra, aspetto del flacone dopo l'inoculo. A destra, dopo la crescita di due settimane e la biomineralizzazione a trisolfuro di arsenico ( $\text{As}_2\text{S}_3$ ), chiamato anche orpimento. Al centro, campione sintetico di  $\text{As}_2\text{S}_3$ .



■ Fig. 21.4

Exchange of hydrogen (or other intermediates) in anaerobic bacterial flocs containing (a) a homogeneously mixed community of hydrogen formers and hydrogen consumers or (b) hydrogen producers and hydrogen consumers in spatially separated nests



Reazioni chemiorganotrofe e chemiolitotrofe in funzione della disponibilità di accettori finali di elettroni

**Strategia alimentare NON FAGOTROFA**