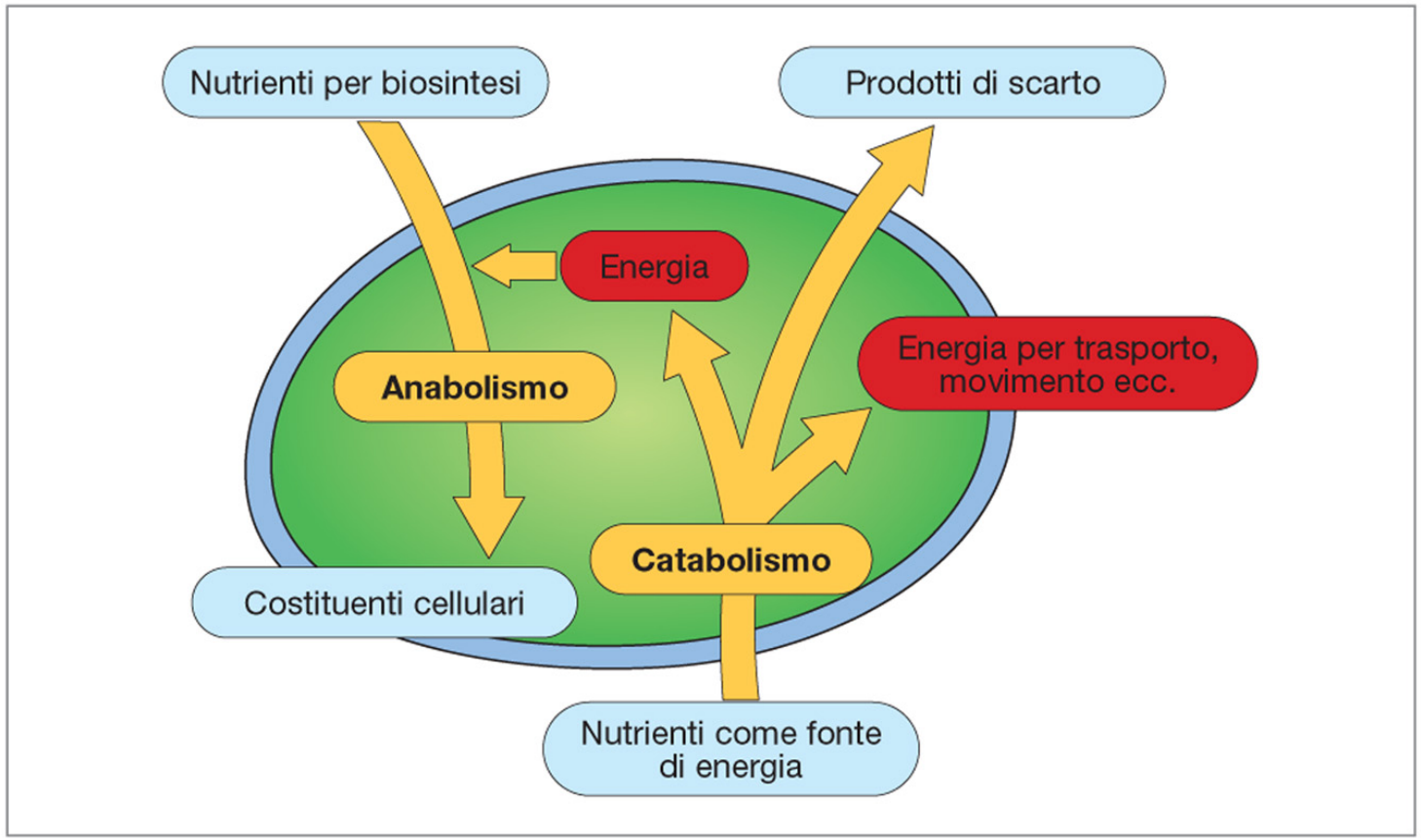
I Lincei per una nuova didattica nella scuola: una rete nazionale

Lezione 2 – 14 dicembre 2017 – ore 15.00-18.00

Il metabolismo dei carboidrati: respirazione aerobica e anaerobica, fermentazione

Prof. Carlo Viti

Metabolismo



 Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

La nutrizione microbica

Processo mediante il quale i microrganismi assumono dall'ambiente tutte le sostanze necessarie (NUTRIENTI) per:

SINTESI DEL MATERIALE CELLULARE

crescita-moltiplicazione

COMPOSIZIONE CHIMICA della CELLULA BATTERICA

Molecole	% peso umido
Acqua	70
Macromolecole tot.	26
• proteine	15
• polisaccaridi	3
• lipidi	2
• DNA	1
• RNA	5
Monomeri tot.	3
• aminoacidi e prec.	0.5
• zuccheri e prec.	2
• nucleotidi	0.5
Ioni inorganici	1
TOTALE	100%

ANALISI degli ELEMENTI in una CELLULA BATTERICA

Peso secco di 1 cellula ca. 3×10^{-13} g

Elemento	% peso secco
Carbonio	50
Ossigeno	20
Azoto	14
Idrogeno	8
Fosforo	3
Zolfo	1
Sodio	1
Potassio	1
Calcio	0,5
Magnesio	0,5
Cl	0,5
Ferro	0,2
Cu,Zn Mb,V,Se, Ni,Cr,Co,Mn,W	0,3
	100 %

Nutrizione Microbica

Fonte di energia

Fonte di carbonio

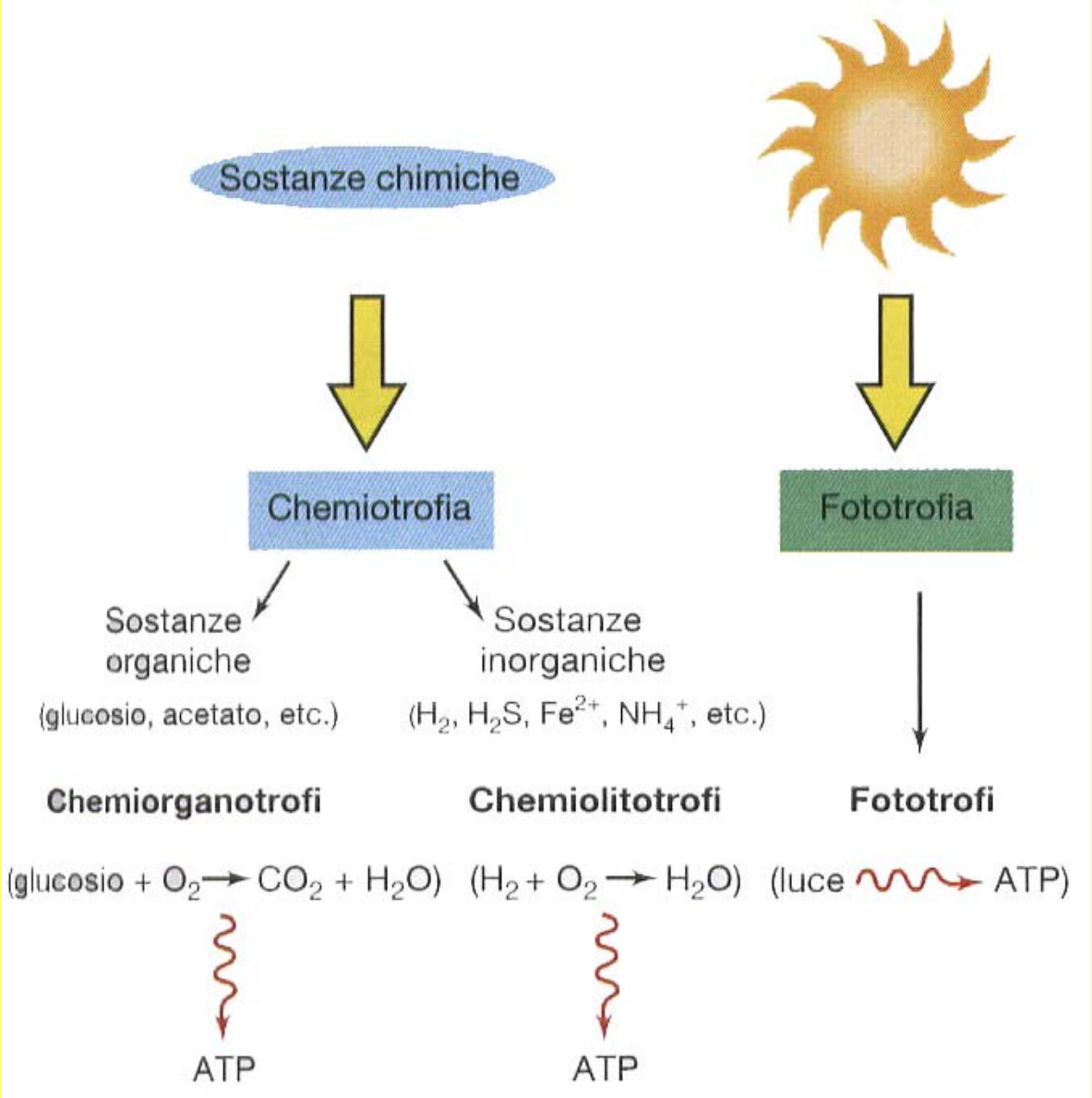
Fonte di azoto

Macronutrienti: necessari in quantità elevate perché entrano a far parte dei componenti strutturali o svolgono un ruolo fisiologico (es. P, S, Mg, K, Ca, Na)

Micronutrienti: necessari in piccole quantità perché entrano a far parte degli enzimi (es. Cu, Mn, Zn, B, Co, Mo)

Fattori di crescita: Composti organici necessari in piccola quantità necessari per la crescita di quei microrganismi che non riescono a sintetizzarli (aminoacidi, basi puriniche e pirimidiniche, vitamine, acidi grassi a lunga catena…..)

Fonti di energia

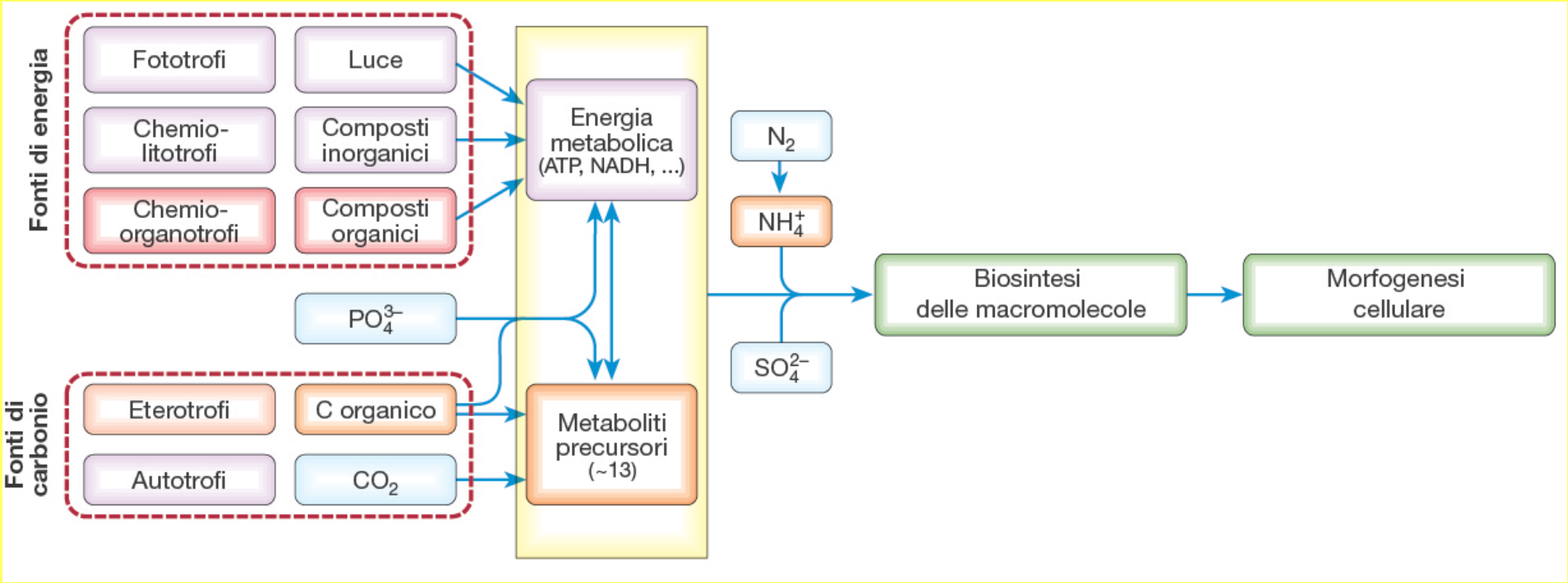


Fonte di carbonio

- Autotrofi: utilizzano come principale fonte di carbonio il carbonio inorganico

- Eterotrofi: utilizzano come principale fonte di carbonio il carbonio organico

Schema generale del metabolismo



Fonti di energia e di carbonio

	Fonte di E	Fonte di C		Esempio
FOTOTROFI	Luce Luce	CO_2 Composto organico	Fotoautotrofi Fotoeterotrofi	Cianobatteri Batteri rossi non-sulfurei
CHEMIOTROFI	Composto inorganico Composto organico	CO_2 Composto organico	Chemio-autotrofi Chemio-eterotrofi	Batteri nitrificanti Moltissimi batteri

Table 1

The metabolic definitions of some reduced sulphur compound-oxidizing bacteria

Metabolic type	Energy source		Carbon source	
	Inorganic sulphur	Organic compounds	CO_2	Organic compounds
Obligate chemolithotroph	+	−	+	−
Facultative chemolithotroph	+	+	+	+
Chemolithotrophic heterotroph	+	+	−	+

Il metabolismo energetico

Per la seconda legge della termodinamica un sistema tende spontaneamente a passare da uno stato di ordine a uno di disordine

entropia

Per diminuire l'entropia di un sistema e passare da uno stato di disordine a uno di ordine è necessario compiere un lavoro fornendo energia

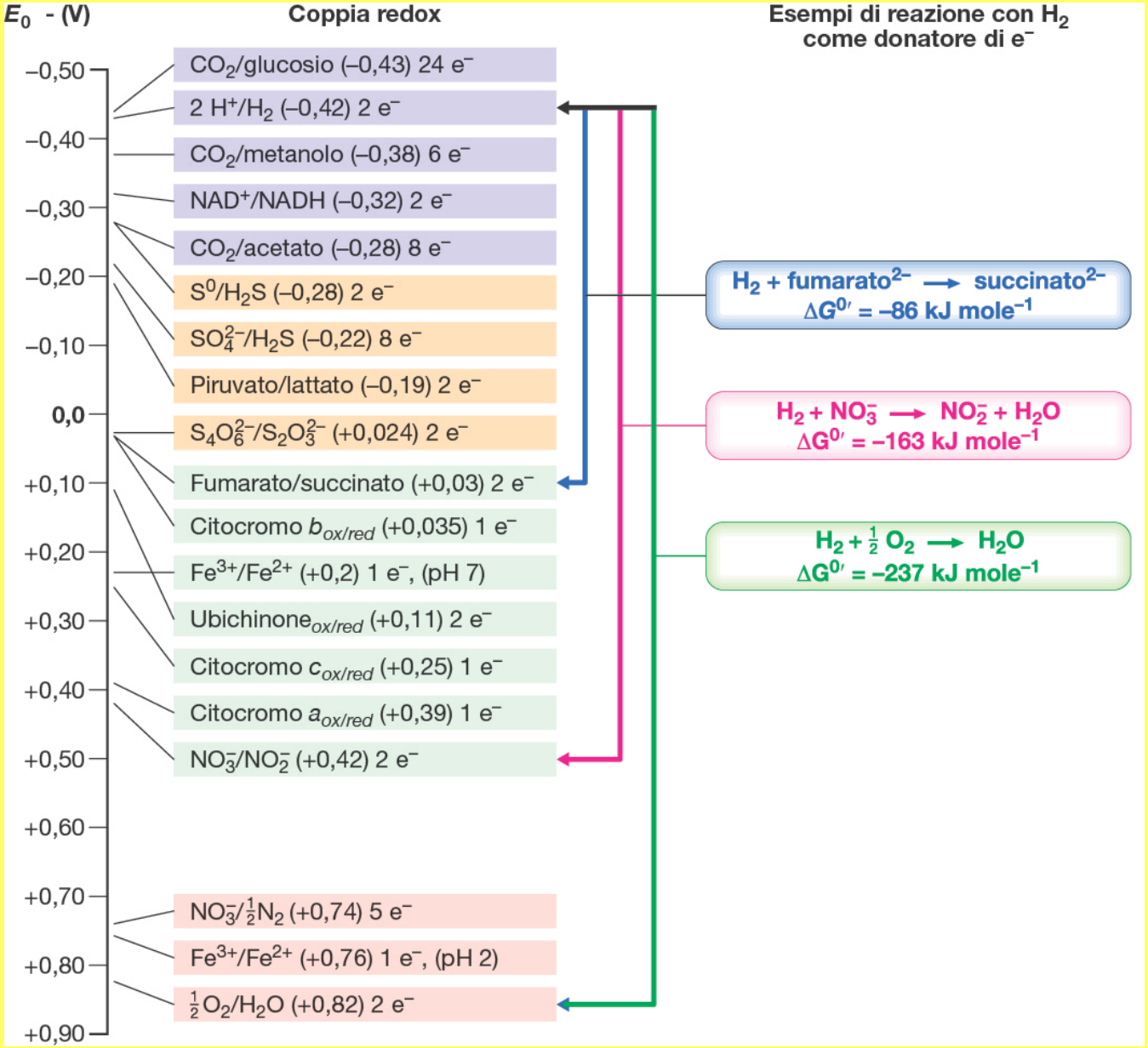
- Mantenere la propria organizzazione molecolare e sopramolecolare (omeostasi)
- Compiere operazioni ordinate (movimento, differenziamento, etc.)
- Accrescersi, riprodursi trasformando selettivamente la materia circostante in strutture cellulari

Ossido-riduzione

- $H_2 \rightarrow 2\ e^- + 2\ H^+$ (semireazione della donazione degli elettroni - ossidazione)
- $\frac{1}{2}\ O_2 + 2\ H^+ + 2e^- \rightarrow H_20$ (semireazione dell'accettazione degli elettroni-riduzione)
- $H_2 + \frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow H_20$

Reazioni di ossido-riduzione (potenziali di ossidoriduzione)

torre degli elettroni



Trasportatori di elettroni

Il trasferimento di elettroni da un donatore ad un accettore in una reazione cellulare di ossidoriduzione coinvolge uno o più intermedi che possono essere o liberamente diffusibili (es. NAD e NADP) o sulla membrana citoplasmatica (flovoproteine, coenzima Q, citocromi ecc.)

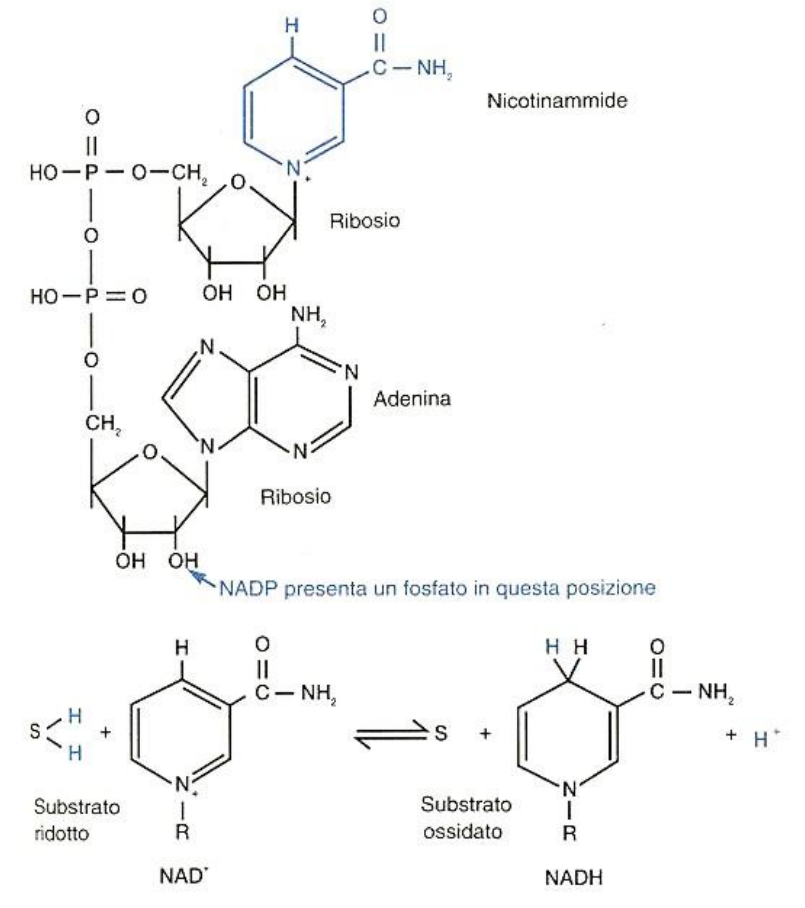
Donatore primario di e-

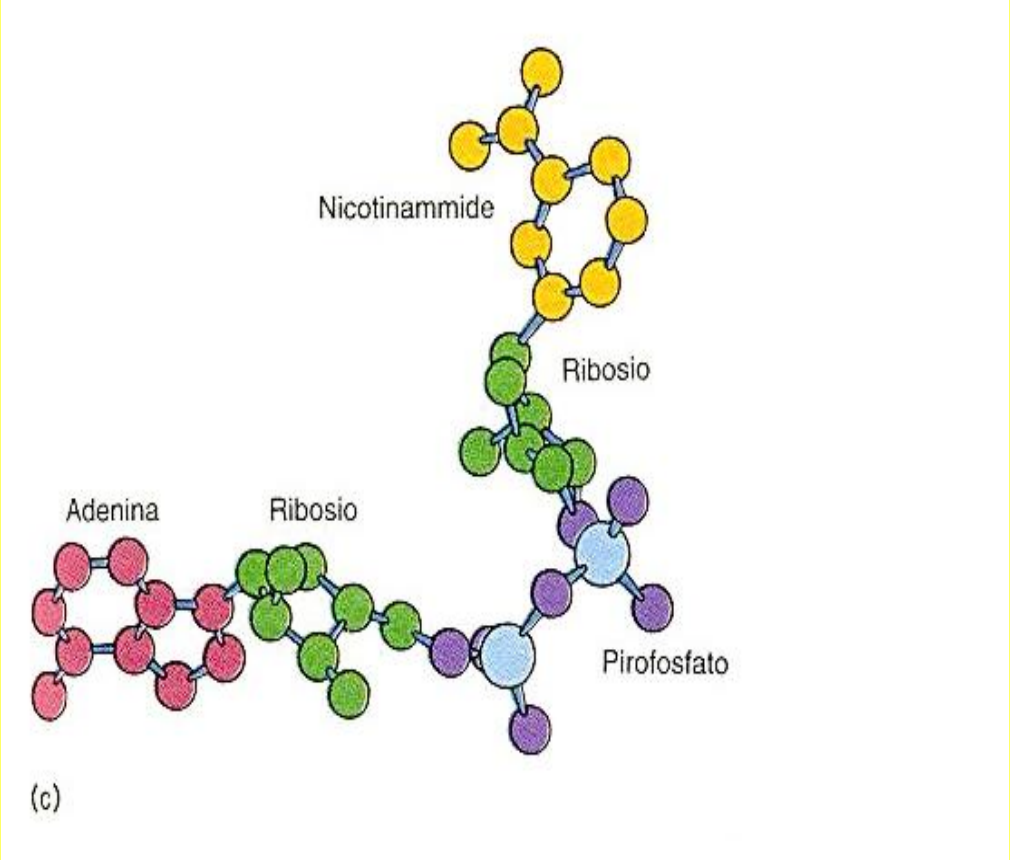
Accettore terminale di e-

Il guadagno netto di energia nella reazione completa è dato dalla differenza nei potenziali di riduzione tra donatore primario e accettore finale

Struttura chimica della nicotinamide-adenina-dinucleotide.

(potenziale di ossido-riduzione della coppia NAD+/NADH -0,32V)





Coenzimi.

Simbolo	Coenzima	Entità trasferita
NAD	Nicotinamide adenin dinucleotide	Atomi di idrogeno (elettroni)
NADP	Nicotinamide adenin dinucleotide fosfato	Atomi di idrogeno (elettroni)
FMP	Flavin mononucleotide	Atomi di idrogeno (elettroni)
FAD	Flavin adenin dinucleotide	Atomi di idrogeno (elettroni)
CoQ	Coenzima Q	Atomi di idrogeno (elettroni)
TPP	Tiamina pirofosfato	Aldeidi
COA	Coenzima A	Gruppi acile
–	Lipoamide	Gruppi acile
–	Coenzimi cobamidici	Gruppi alchilici
–	Biotina	Anidride carbonica
PALP	Piridossal fosfato	Gruppi amminici
THF	Coenzimi tetraidrofolici	Gruppi metilici, metilenici, formilici o formiminici

ATP e altri composti ad alta energia

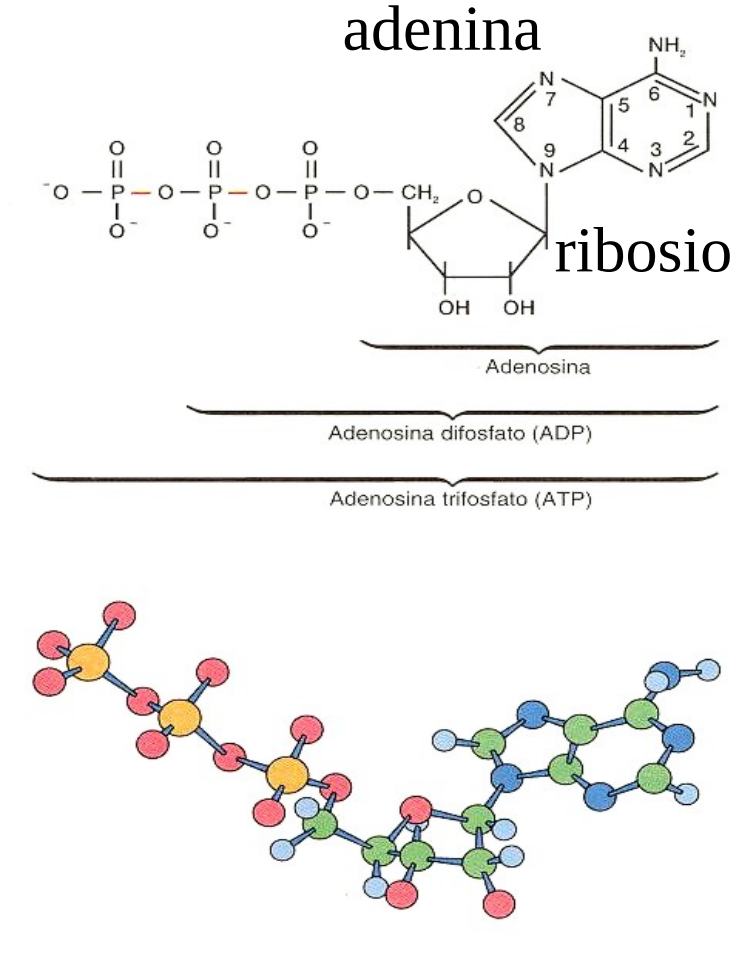
L'energia rilasciata nelle reazioni di ossidoriduzione non è persa ma è conservata tramite la formazione di composti che contengono legami fosfato ad alta energia, il più importante dei quali è l'ATP

- Fosforilazione a livello di substrato
- Fosforilazione ossidativa (catena di trasporto degli e-)
- Fosforilazione fotosintetica

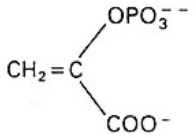
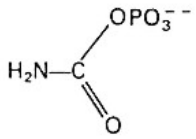
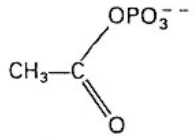
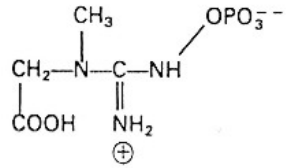
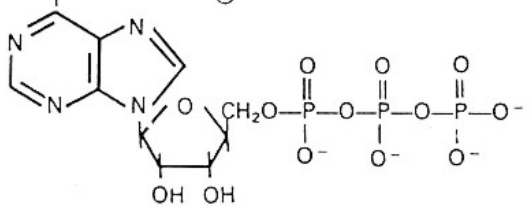
Tabella 4.2 MOLECOLE CON LEGAMI AD ALTA ENERGIA ED ENERGIA LIBERA DI IDROLISI.

Composti con legami ad alta energia (oltre ad ATP)	Energia libera di idrolisi $\Delta G^{0\boxtimes}$ (kJ mole^{-1})
Energia dall'idrolisi di ATP (ATP → ADP + P_i)	–31,8
Adenosina-fosfosolfato (APS)	–88,0
1,3-difosfoglicerato	–51,9
Fosfoenolpiruvato	–51,6
Acetilfosfato	–44,8
Carbamilfosfato	–43,1
Acetil~CoA	–35,7

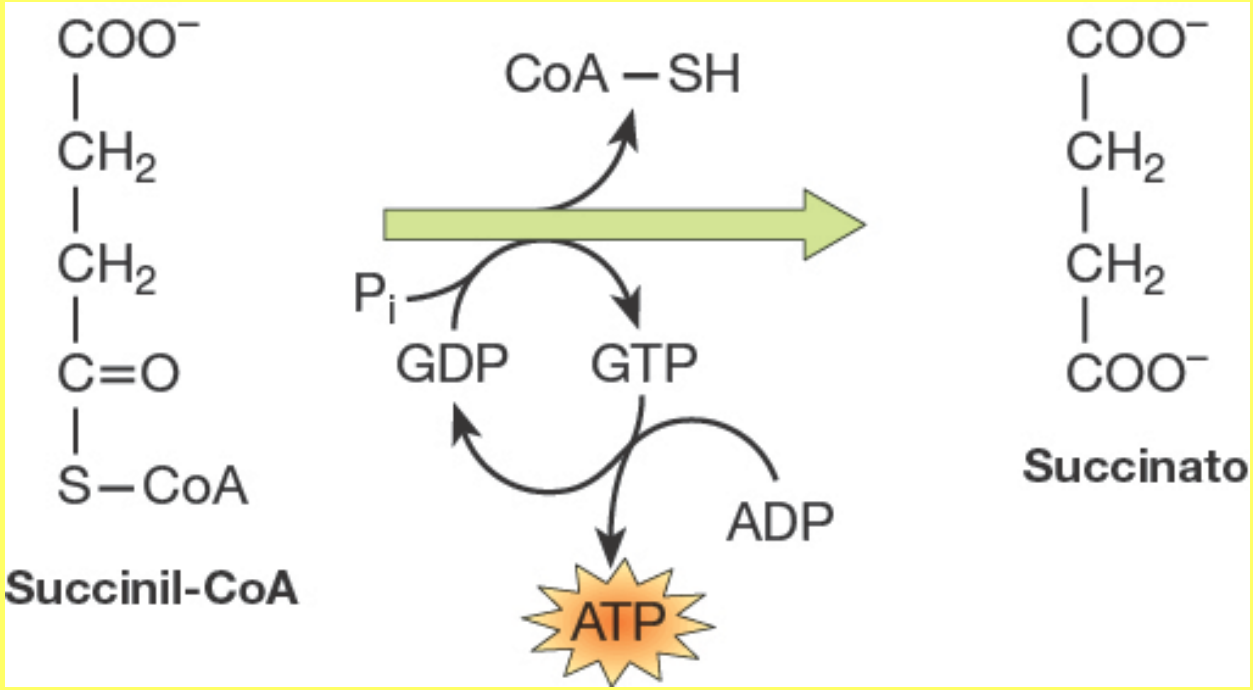
Struttura chimica dell’adenosina-5′-trifosfato.



Composti ad alta energia.

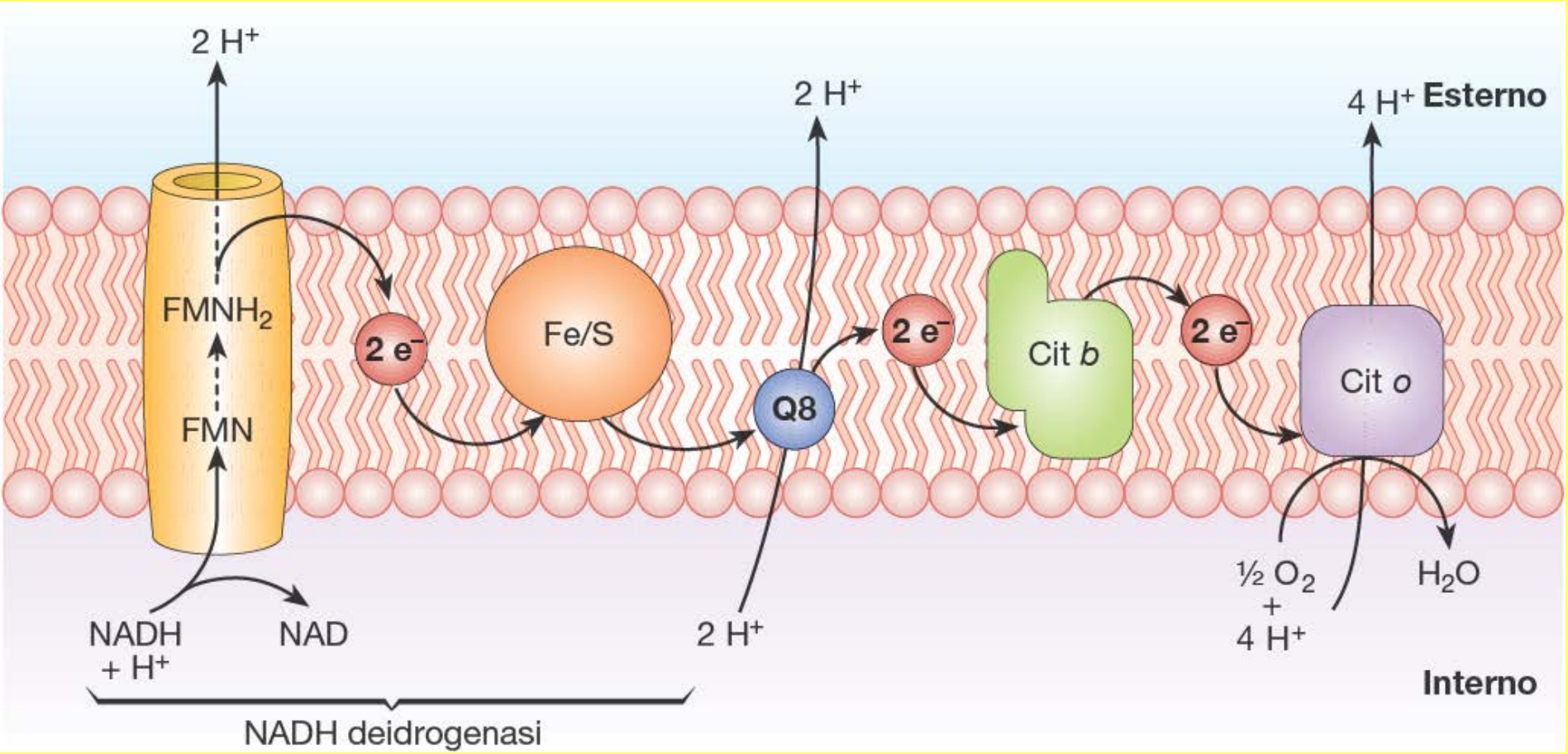
Composto	Simbolo	$\Delta G^{0'}$ (Kcal/mol)	Struttura
Fosfoenolpiruvato	PEP	−14,8	
Carbamoilfosfato	–	−12,3	
Acetilfosfato	–	−10,3	
Creatinfosfato	–	− 8,0	
Adenosintrifosfato	ATP	− 7,3	

Fosforilazione a livello di substrato



Esempio nel ciclo di Krebs (intervento di guantrifisfato)

Fosforilazione ossidativa (catena di trasporto)



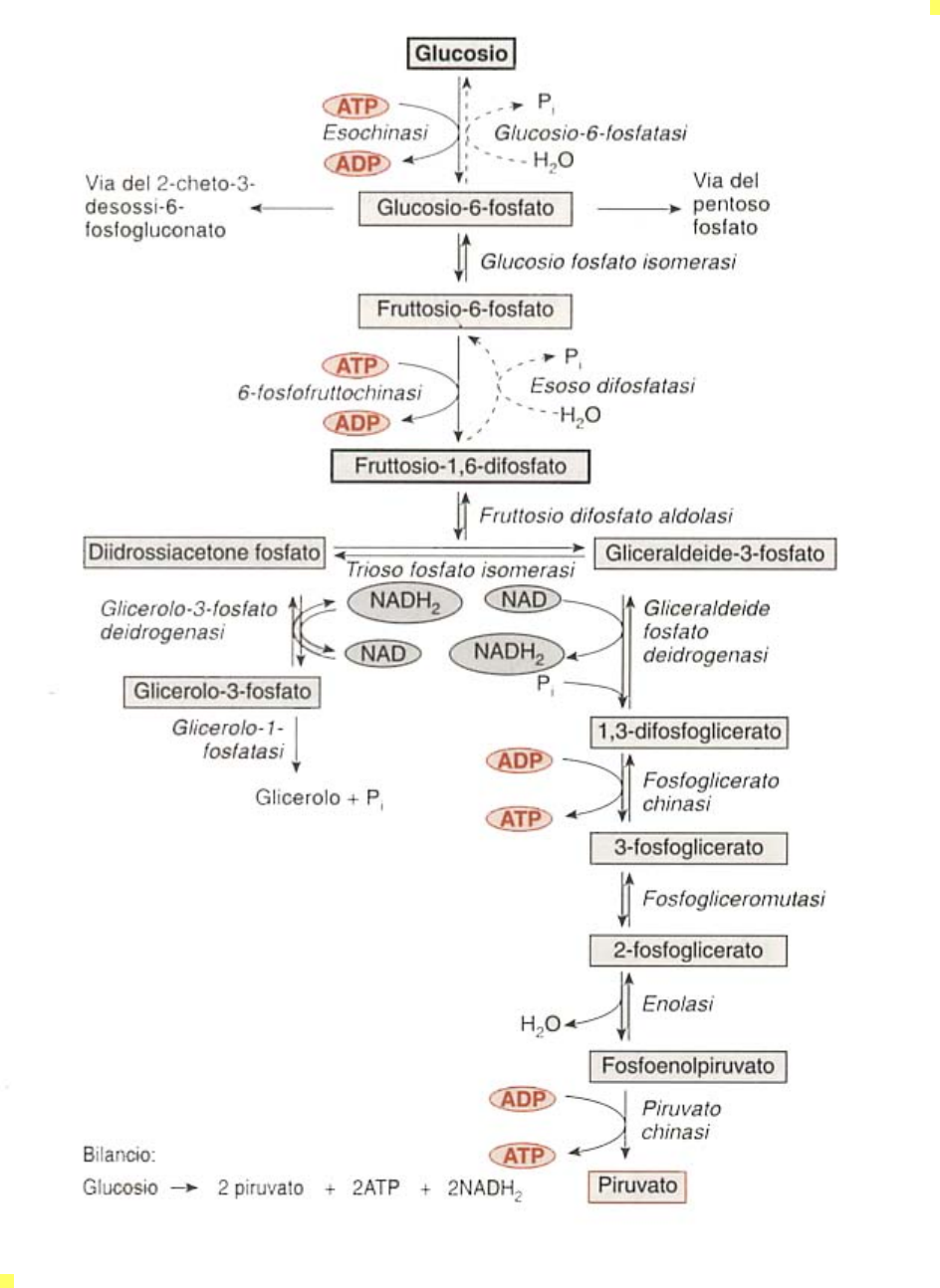
Processi che portano alla formazione di ATP

- Respirazione (aerobica e anaerobica)
- Fermentazione
- Fotosintesi (ossigenica e anossigenica)

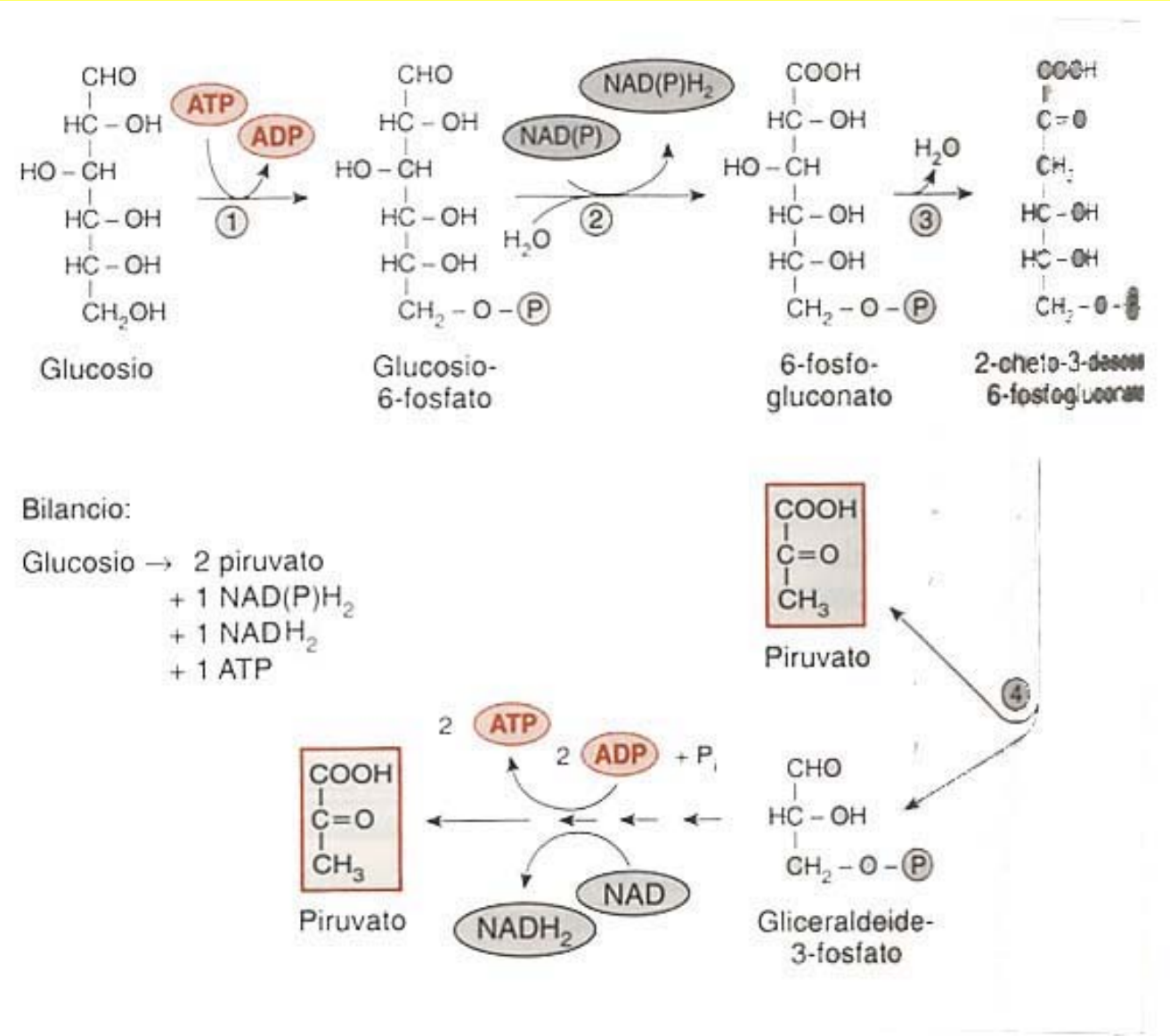
Respirazione

Via del fruttosio 1,6 difosfato, o via di Emden-Meyerhof-Parnas

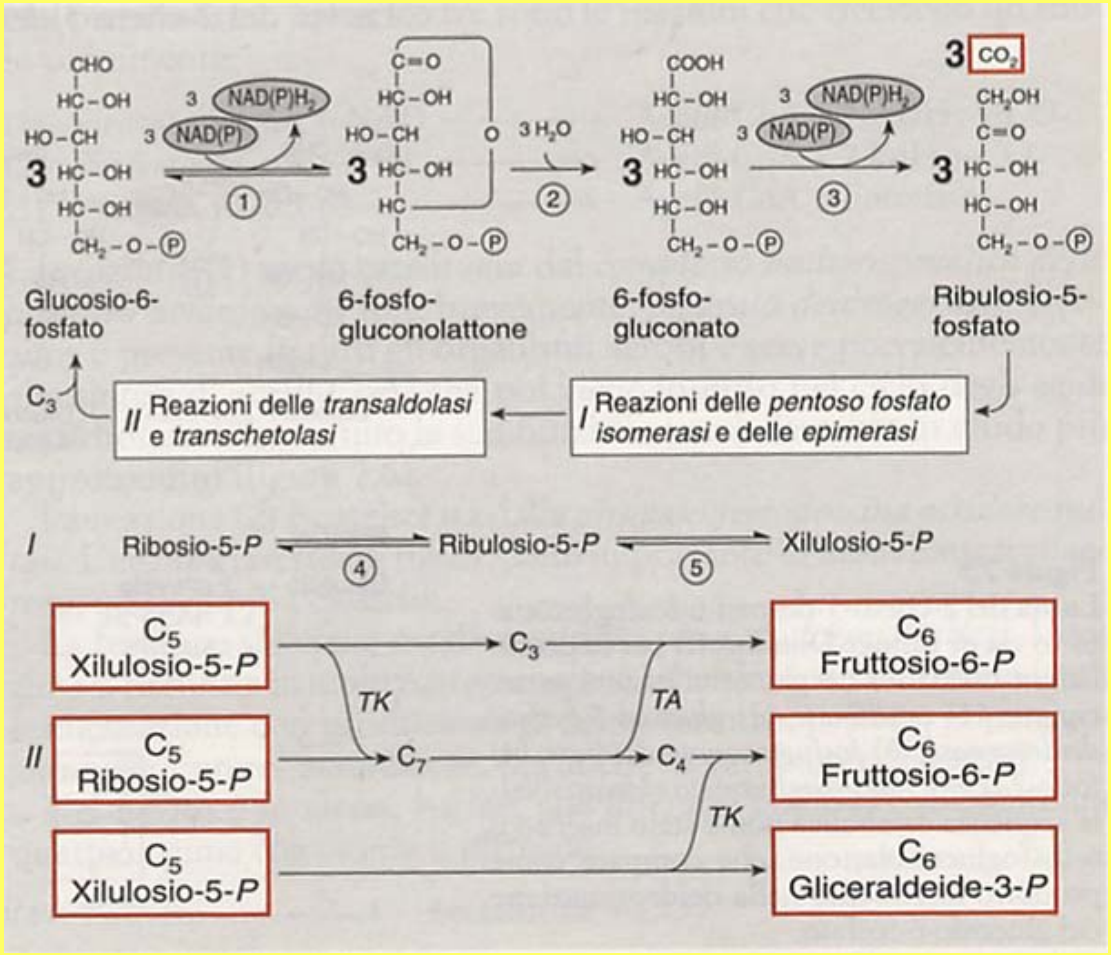
Glicolisi



Via del 2-cheto-3-deossi-6-fosfogluconato (Entner-Doudoroff)



Via del pentoso fosfato



Ossidazione del piruvato

Piruvato + CoA + NAD ⟶ Acetil-CoA+$NADH_2$+CO_2

Piruvato deidrogenasi

(Prevalente in tutti gli organismi aerobi)

Piruvato + CoA + 2 FAD ⟶ Acetil-CoA+2 $FADH_2$+CO_2

Piruvato: ferrodossina ossireduttasi

(batteri anaerobi es. clostridi)

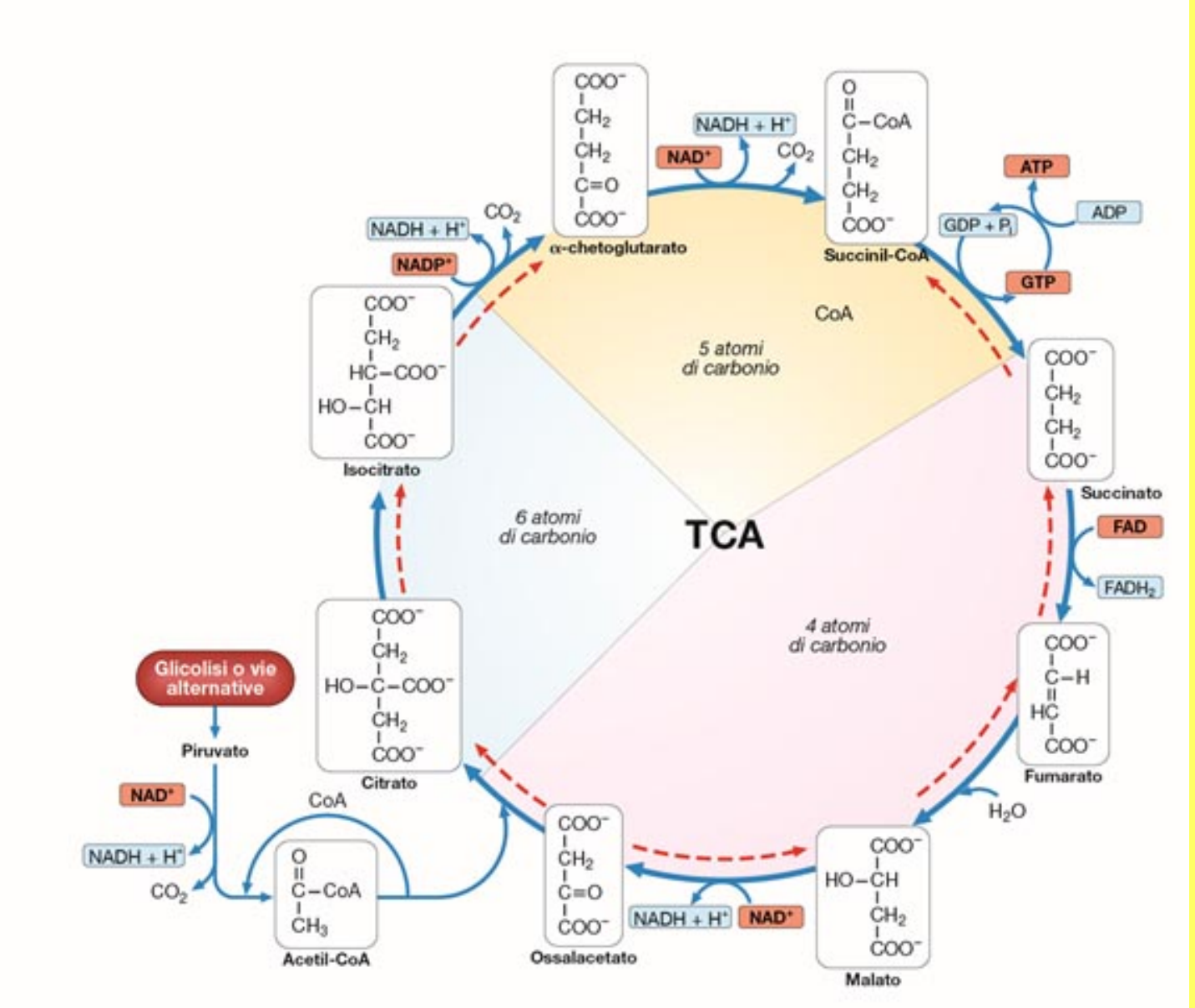
Piruvato + CoA ⟶ Acetil-CoA+formiato

Piruvato: formiato liasi

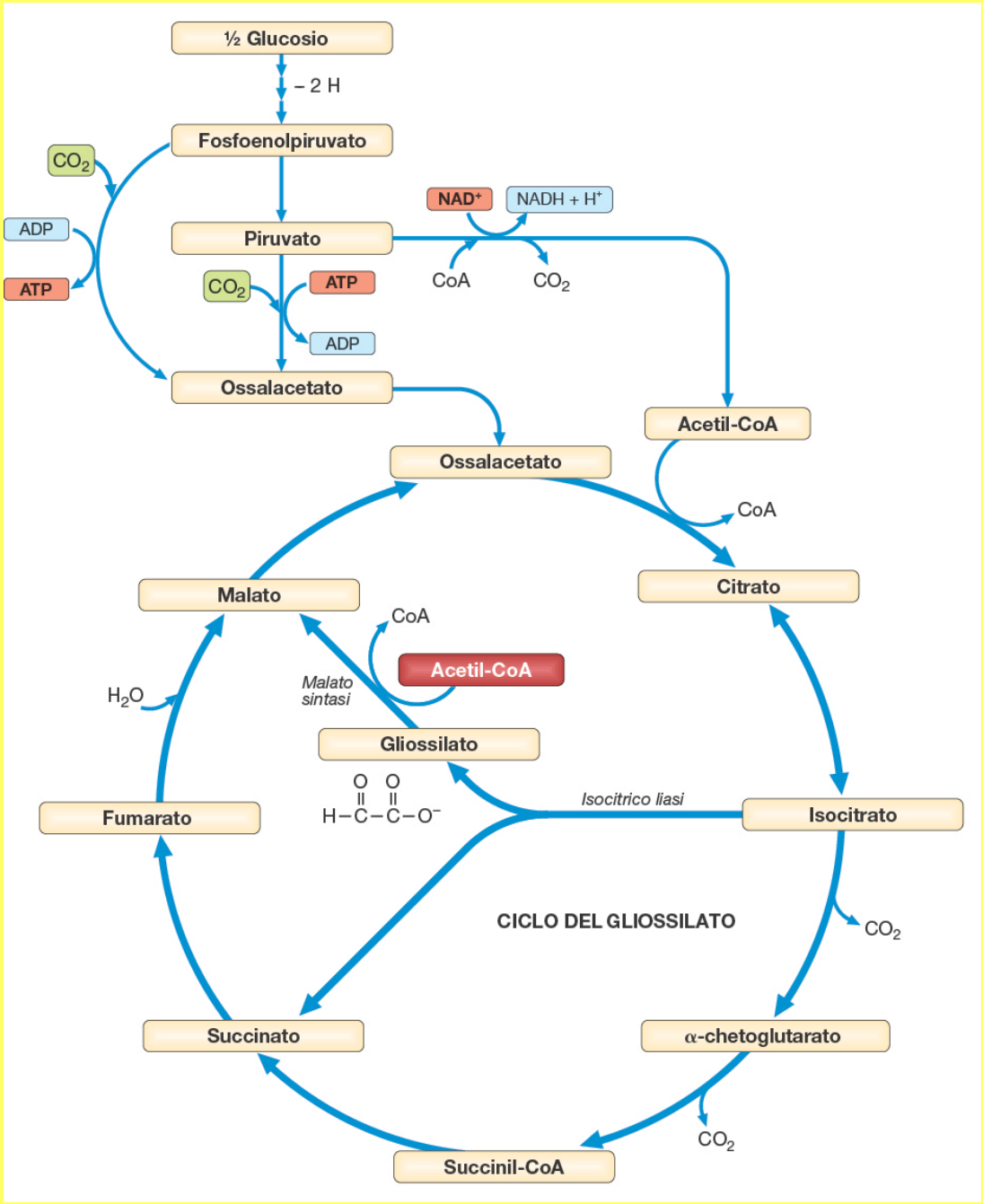
(batteri anaerobi: enterobatteriaceae; batteri fototrofi)

Ciclo degli acidi tricarbossilici

TCA o di Krebs



Vie anaplerotiche e ciclo del gliossilato

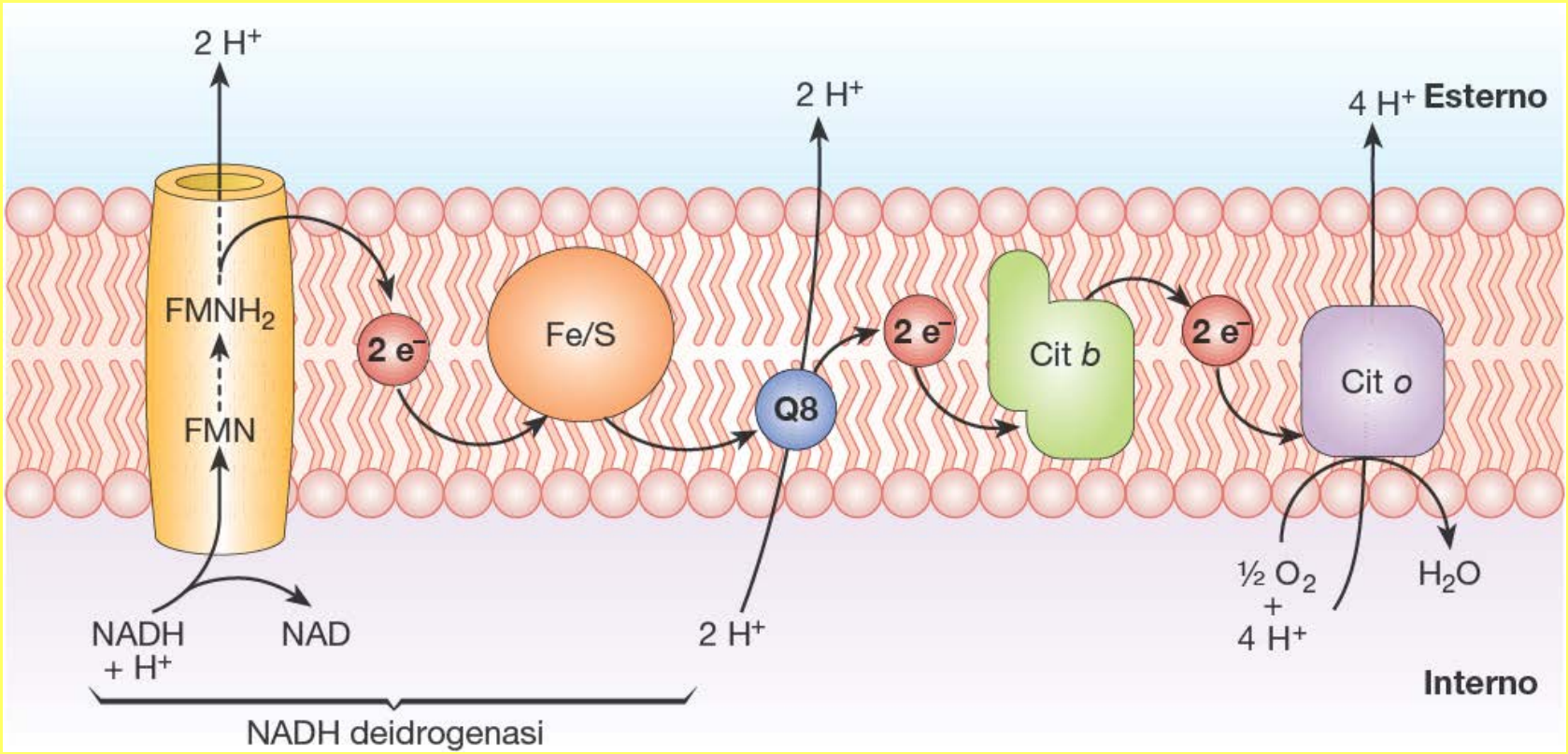


Bilancio energetico della ossidazione completa del glucosio

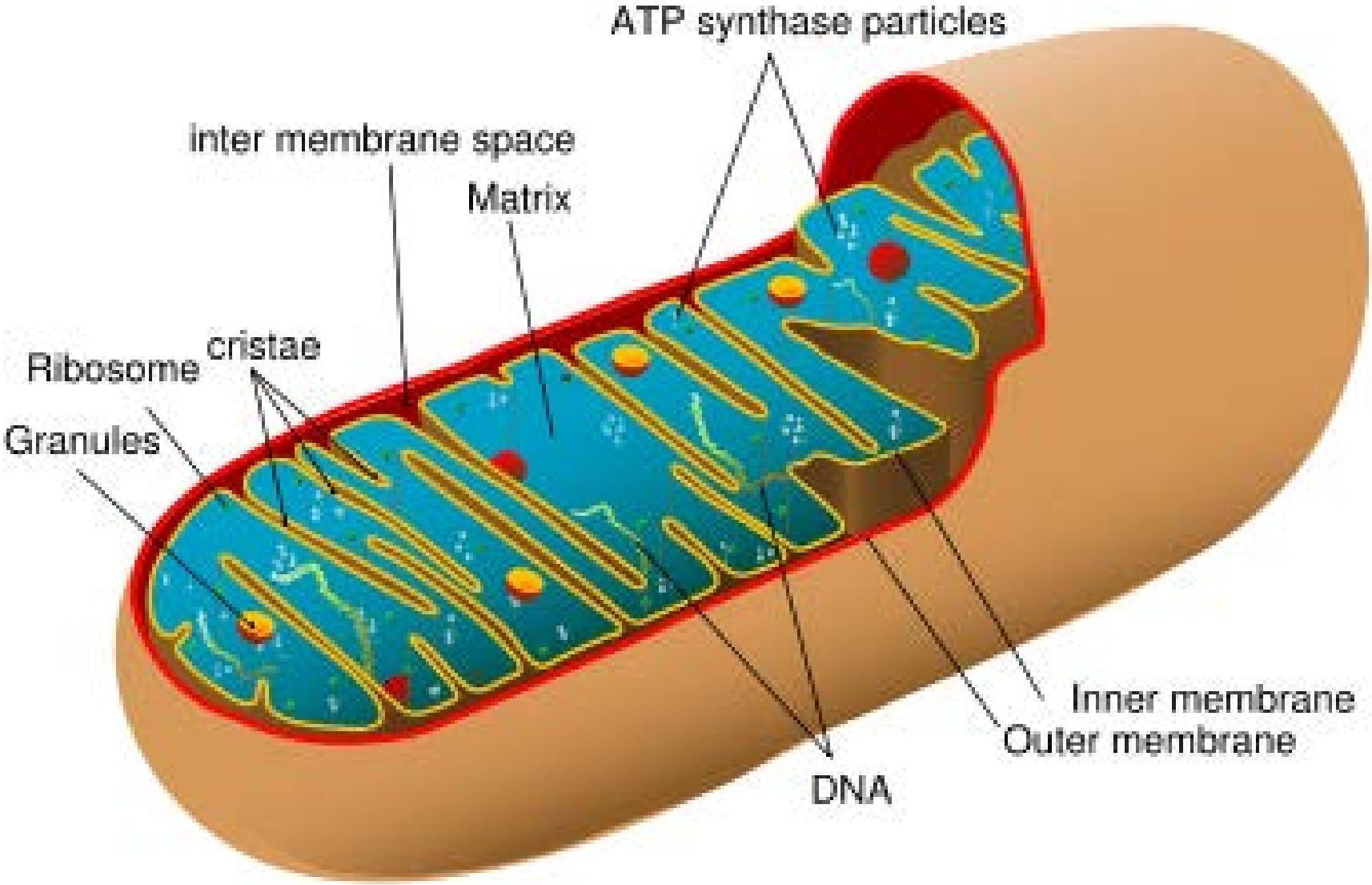
	$NADH_2$	$FADH_2$	ATP
Glicolisi			2
	1 x 2		
Ossidazione del piruvato	1 x 2		
Acidi tricarbossilici	3 x 2		
		1 x 2	
			1 x 2

Trasporto elettronico

Procarioti – membrana citoplasmatica

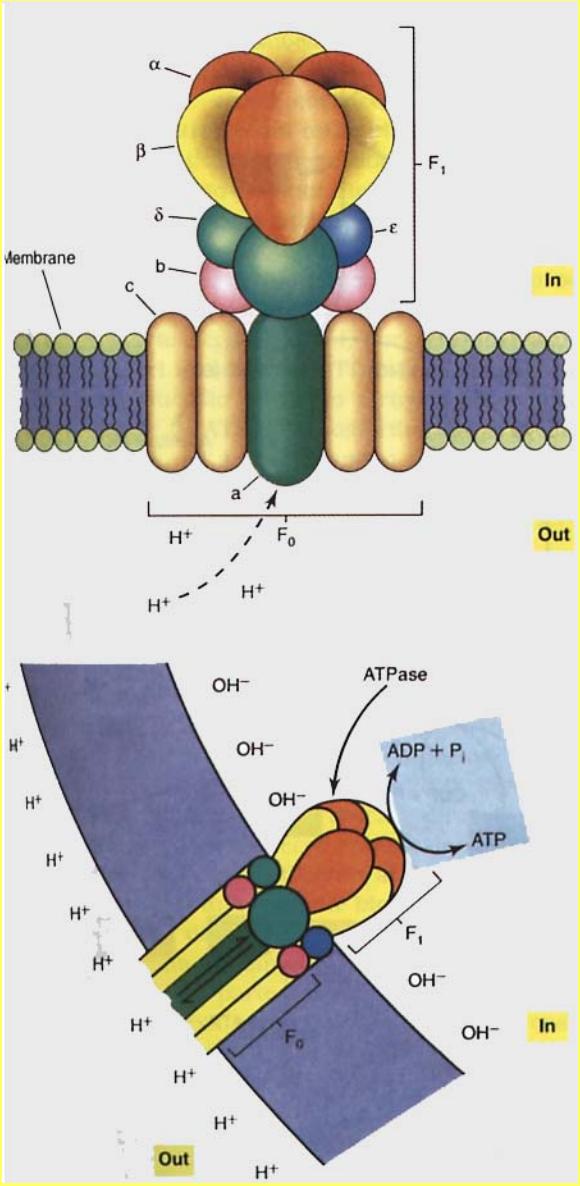


Flavin mononucleotide
Proteina Fe/S
Ubichinone
Citocromo *b*
Citrocromo ossidasi


ATP synthase particles
inter membrane space
Matrix
Ribosome
cristae
Granules
Inner membrane
Outer membrane
DNA

https://www.youtube.com/watch?v=PjdPTY1wHdQ

Struttura e funzione dell'ATPasi di membrana



Bilancio energetico della ossidazione completa del glucosio

	$NADH_2$	$FADH_2$	ATP	Totale ATP*
Glicolisi			2	2
	1 x 2			6
Deidrogenazione del piruvato	1 x 2			6
Acidi tricarbossilici	3 x 2			18
		1 x 2		4
			2	2
			Totale generale	**38**

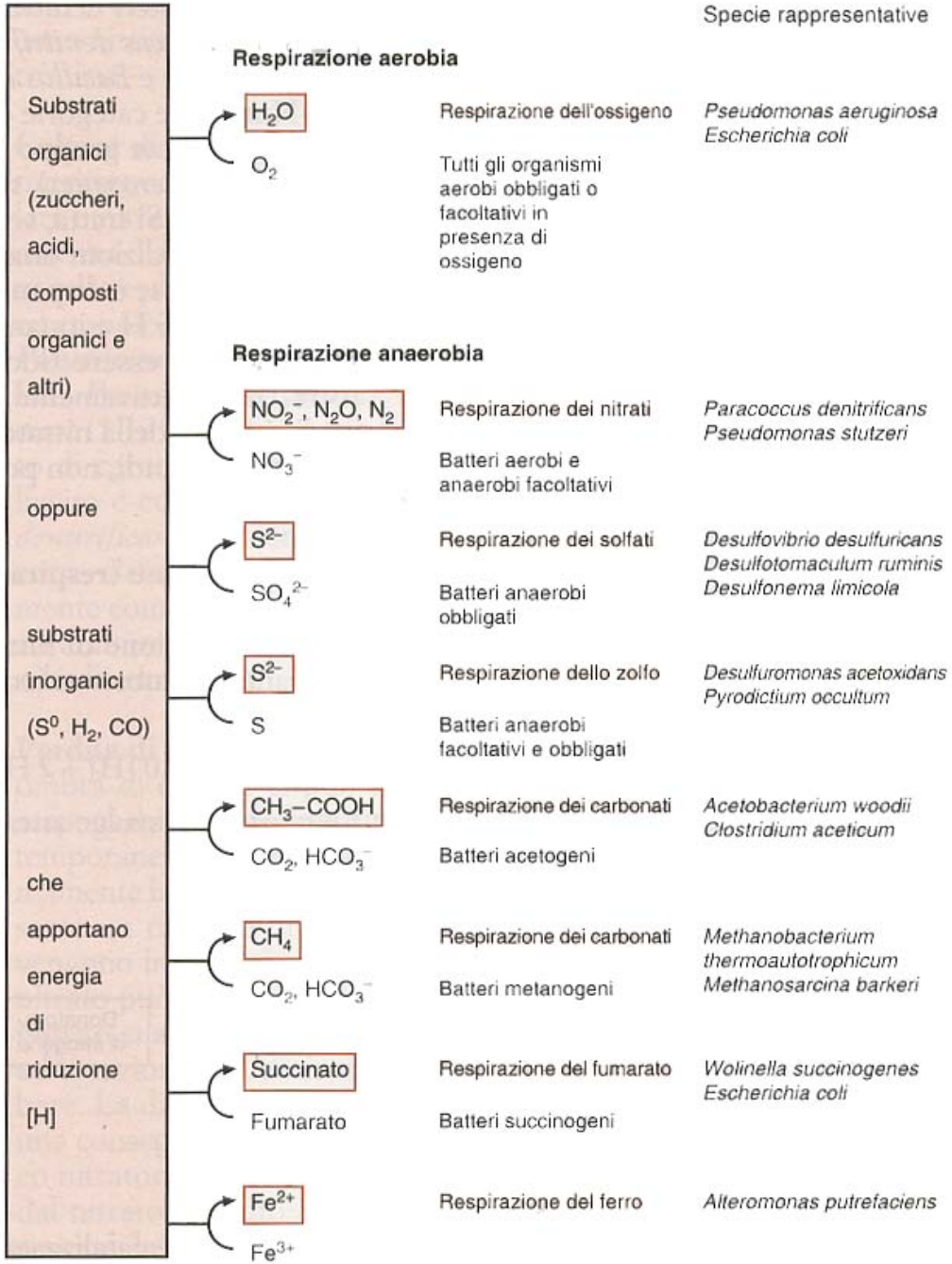
* Ogni $NADH_2$ 3 ATP; Ogni $FADH_2$ 2 ATP

Respirazione anaerobia

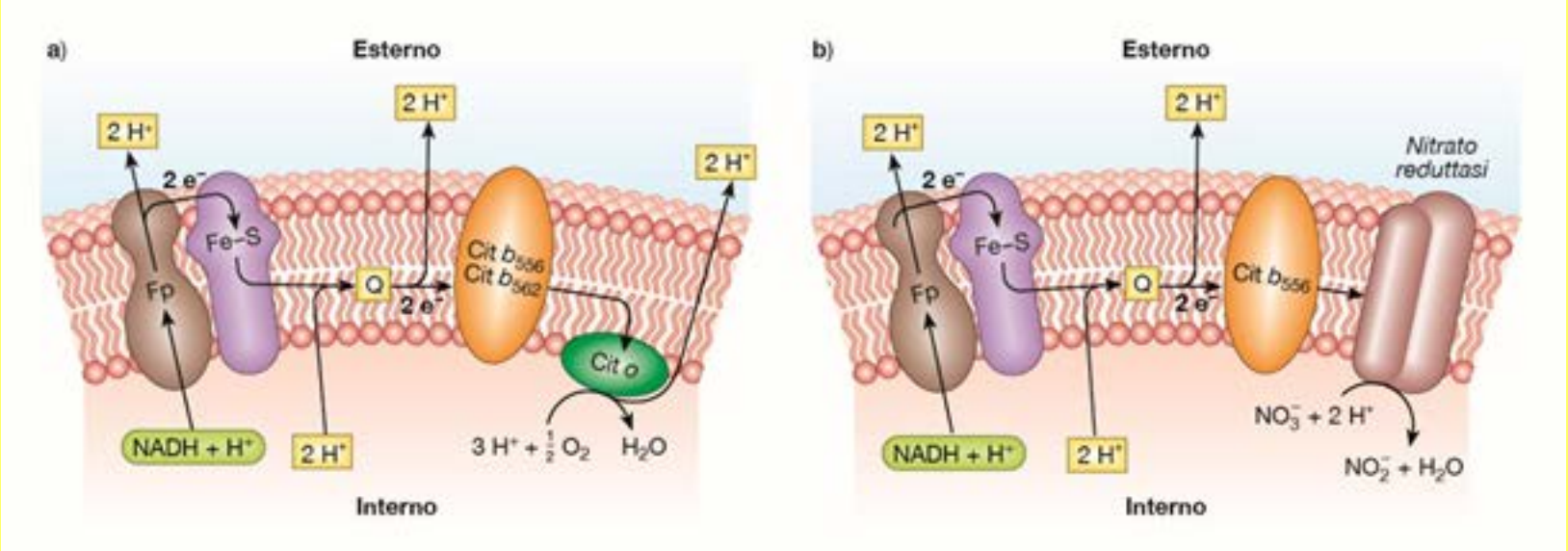
- Accettore terminale di elettroni diverso dall'ossigeno

es. respirazione de nitrati, dei solfati, batteri metanogeni, ecc.

Molti batteri sono in grado di respirare in presenza ed in assenza di ossigeno utilizzando accettori differenti di elettroni


Specie rappresentative
Respirazione aerobia
Substrati organici (zuccheri, acidi, composti organici e altri)
oppure
substrati inorganici (S^0, H_2, CO)
che apportano energia di riduzione [H]
H_2O
O_2
Respirazione dell'ossigeno
Tutti gli organismi aerobi obbligati o facoltativi in presenza di ossigeno
Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Respirazione anaerobia
NO_2^-, N_2O, N_2
NO_3^-
Respirazione dei nitrati
Batteri aerobi e anaerobi facoltativi
Paracoccus denitrificans
Pseudomonas stutzeri
S^{2-}
SO_4^{2-}
Respirazione dei solfati
Batteri anaerobi obbligati
Desulfovibrio desulfuricans
Desulfotomaculum ruminis
Desulfonema limicola
S^{2-}
S
Respirazione dello zolfo
Batteri anaerobi facoltativi e obbligati
Desulfuromonas acetoxidans
Pyrodictium occultum
CH_3–COOH
CO_2, HCO_3^-
Respirazione dei carbonati
Batteri acetogeni
Acetobacterium woodii
Clostridium aceticum
CH_4
CO_2, HCO_3^-
Respirazione dei carbonati
Batteri metanogeni
Methanobacterium thermoautotrophicum
Methanosarcina barkeri
Succinato
Fumarato
Respirazione del fumarato
Batteri succinogeni
Wolinella succinogenes
Escherichia coli
Fe^{2+}
Fe^{3+}
Respirazione del ferro
Alteromonas putrefaciens

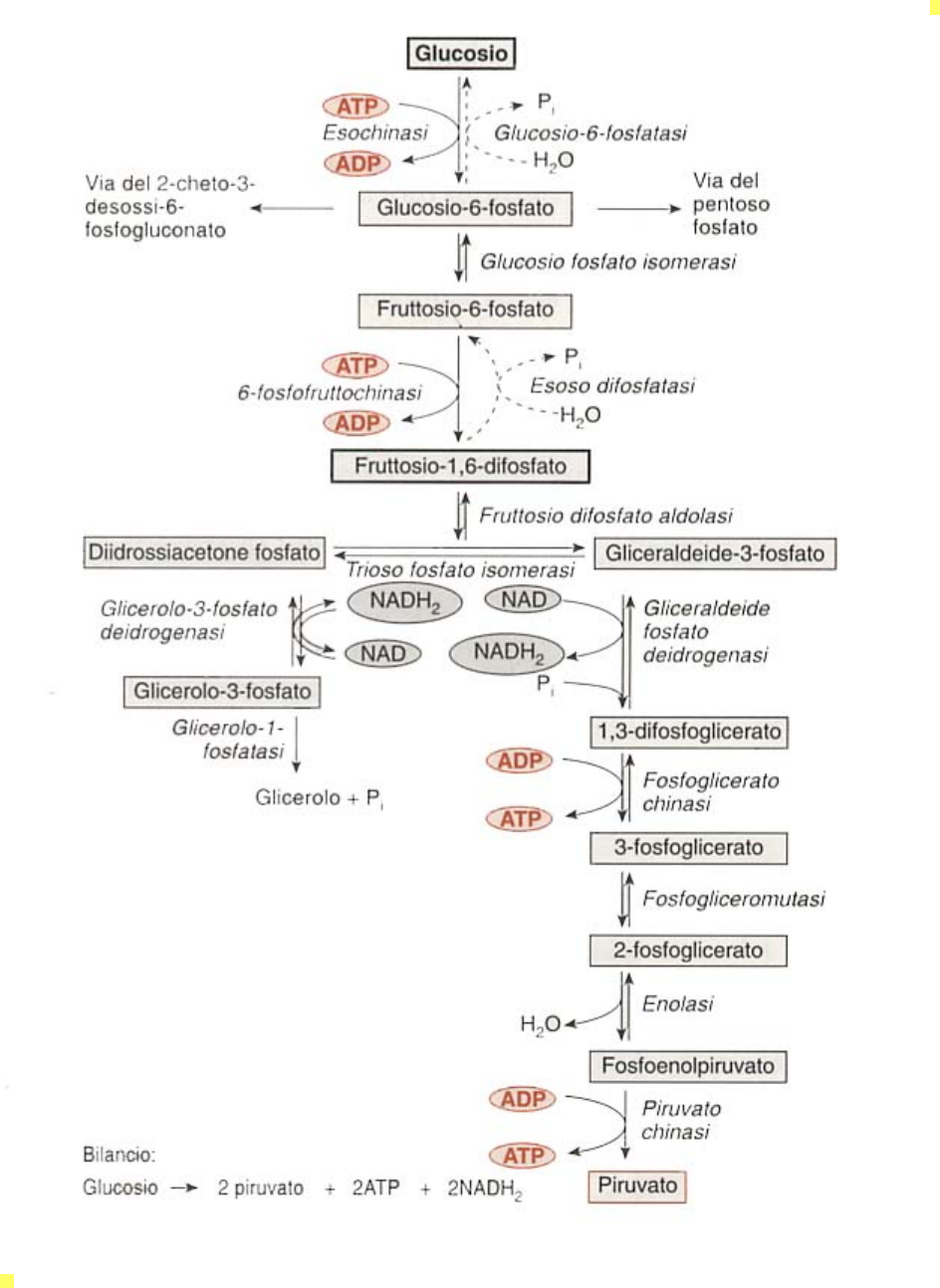
Catena di trasporto nella respirazione aerobica (a) e anaerobica (b)



Fermentazione

Via del fruttosio 1,6 difosfato, o via di Emden-Meyerhof-Parnas

Glicolisi



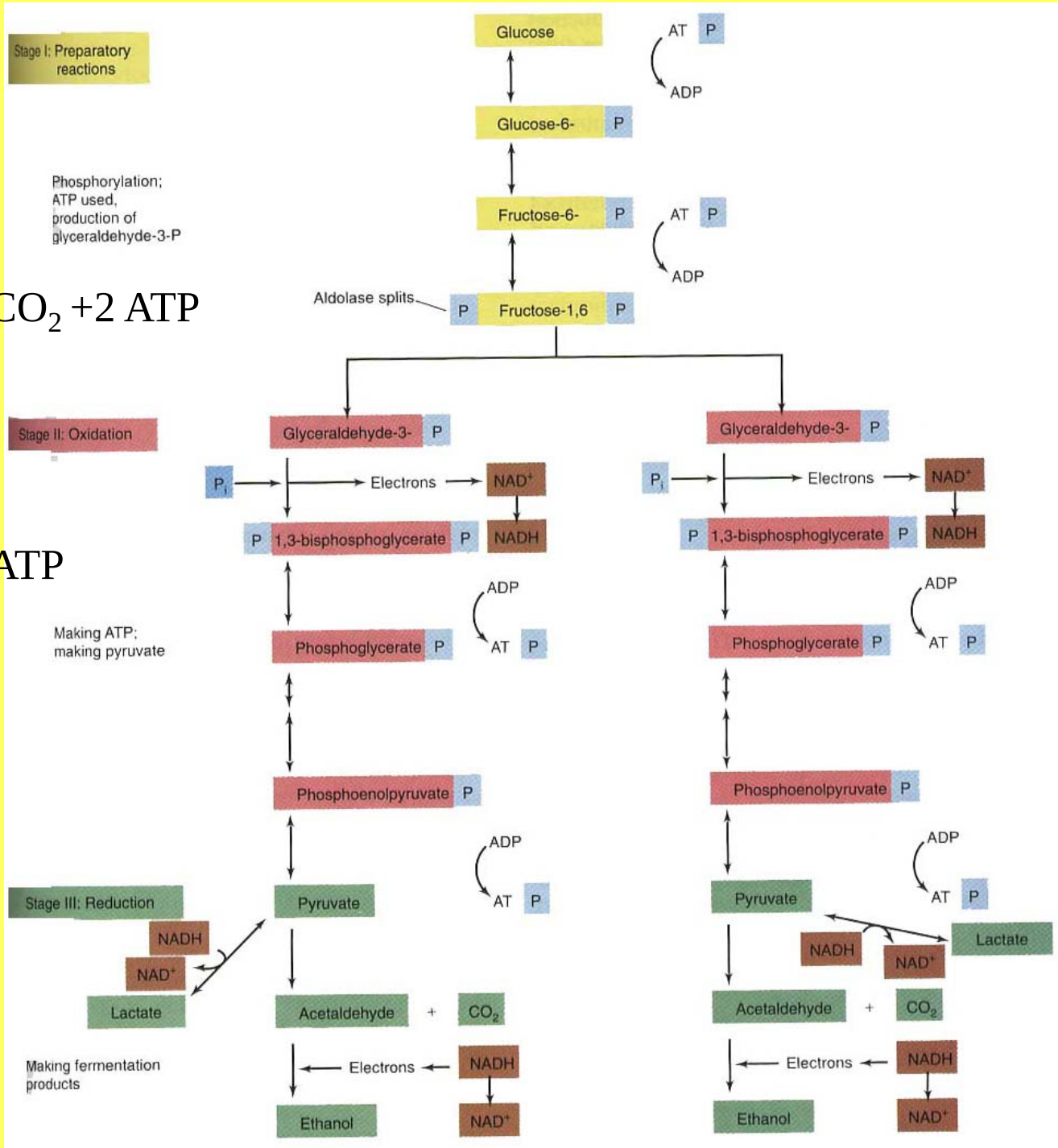
Fermentazione

Bilancio

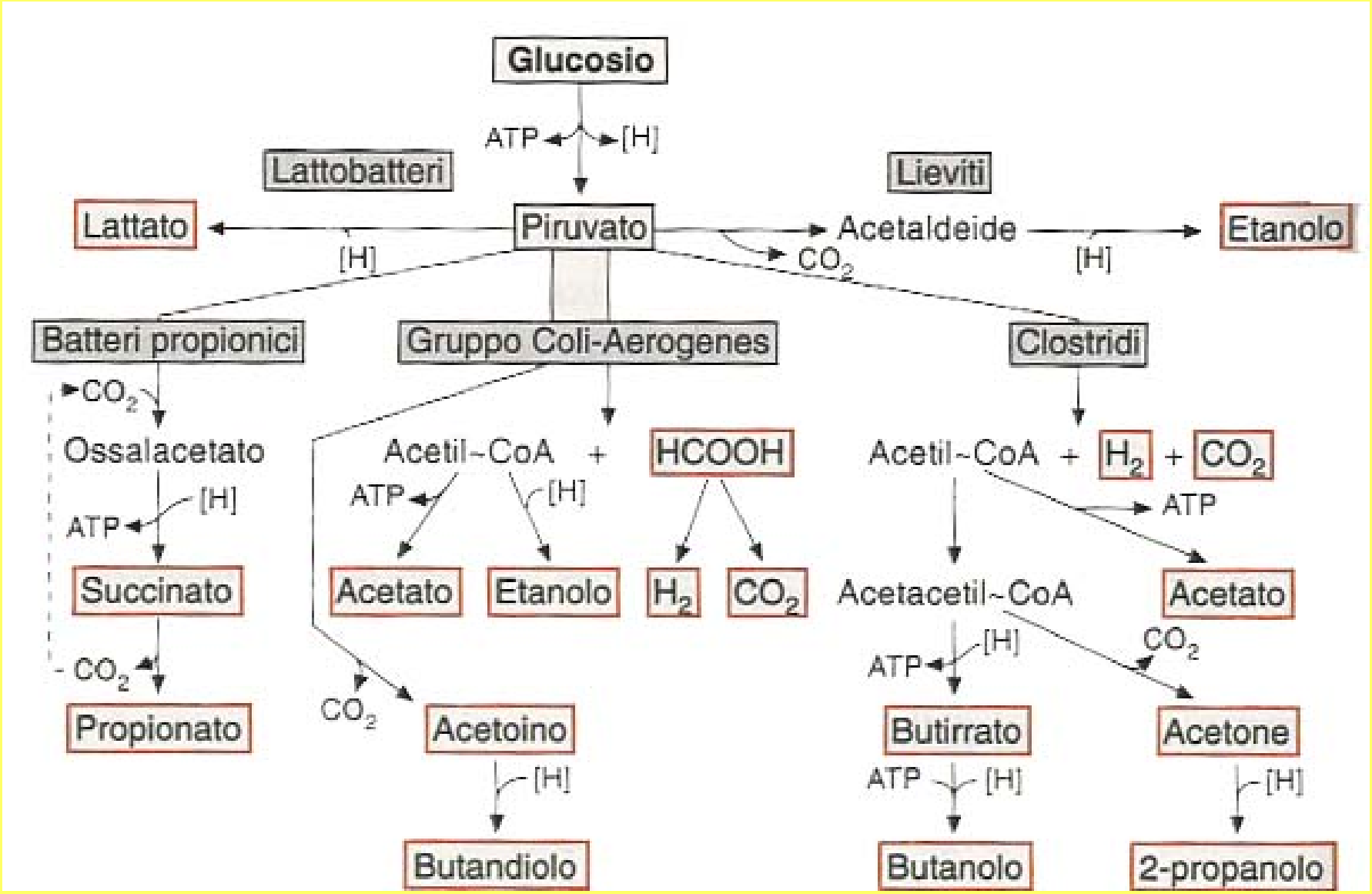
Glucosio --> etanolo + CO_2 +2 ATP

Bilancio

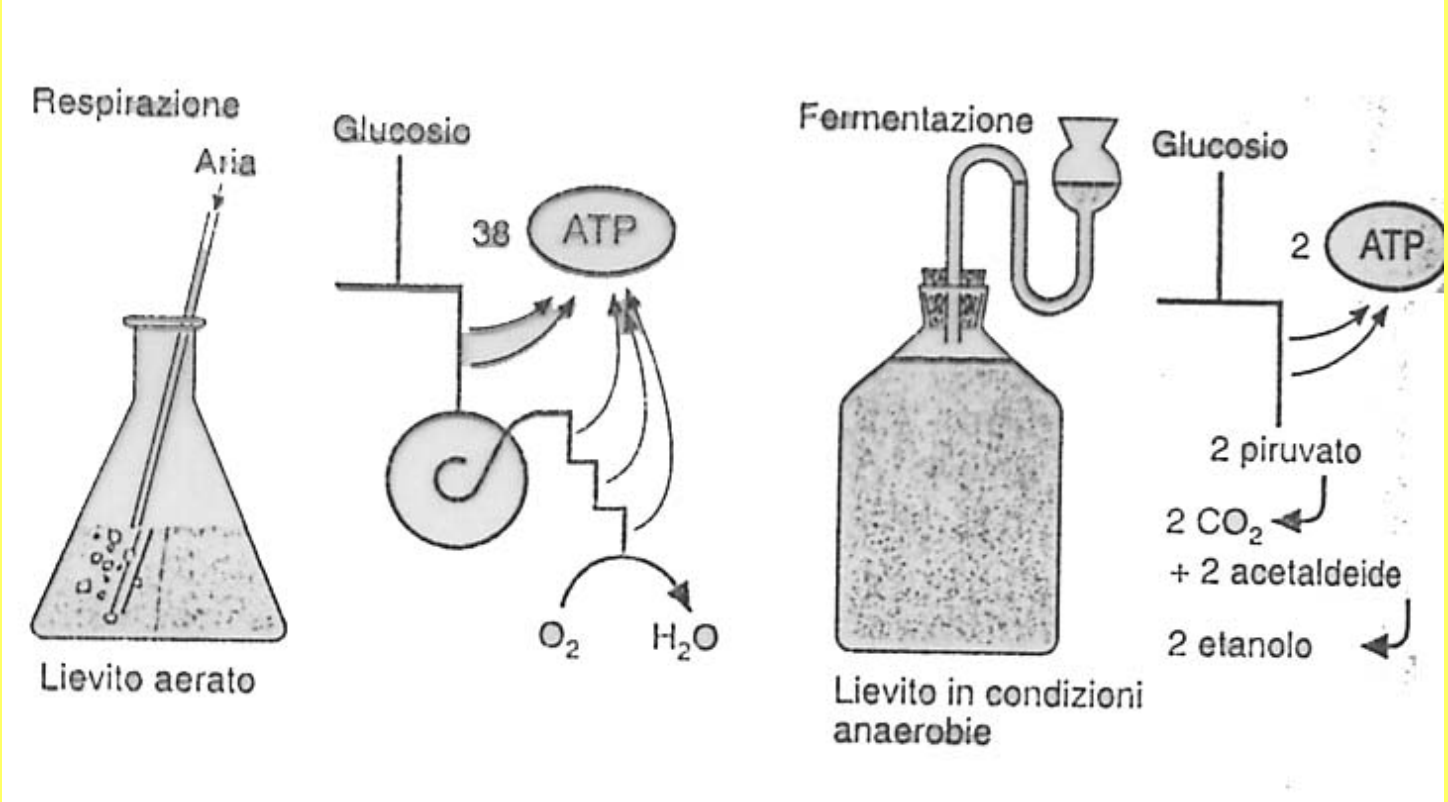
Glucosio -->lattato + 2 ATP



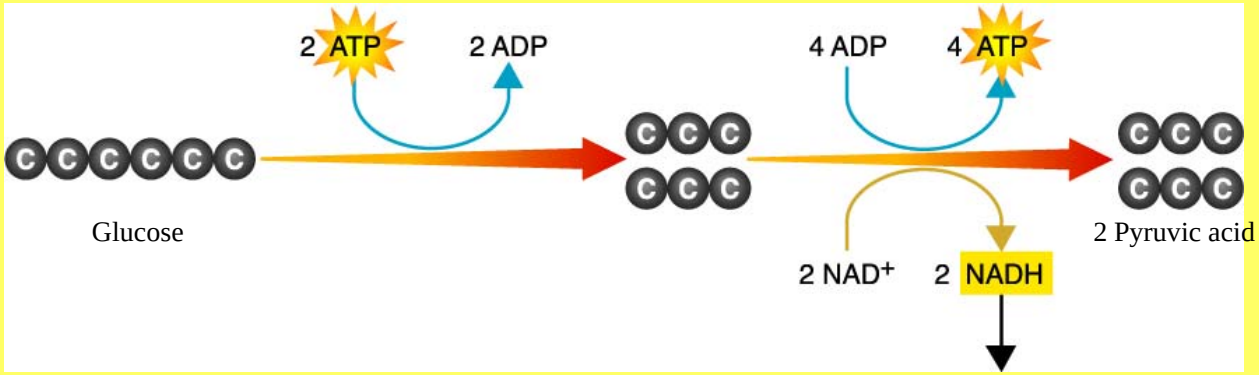
Fermentazioni più importanti

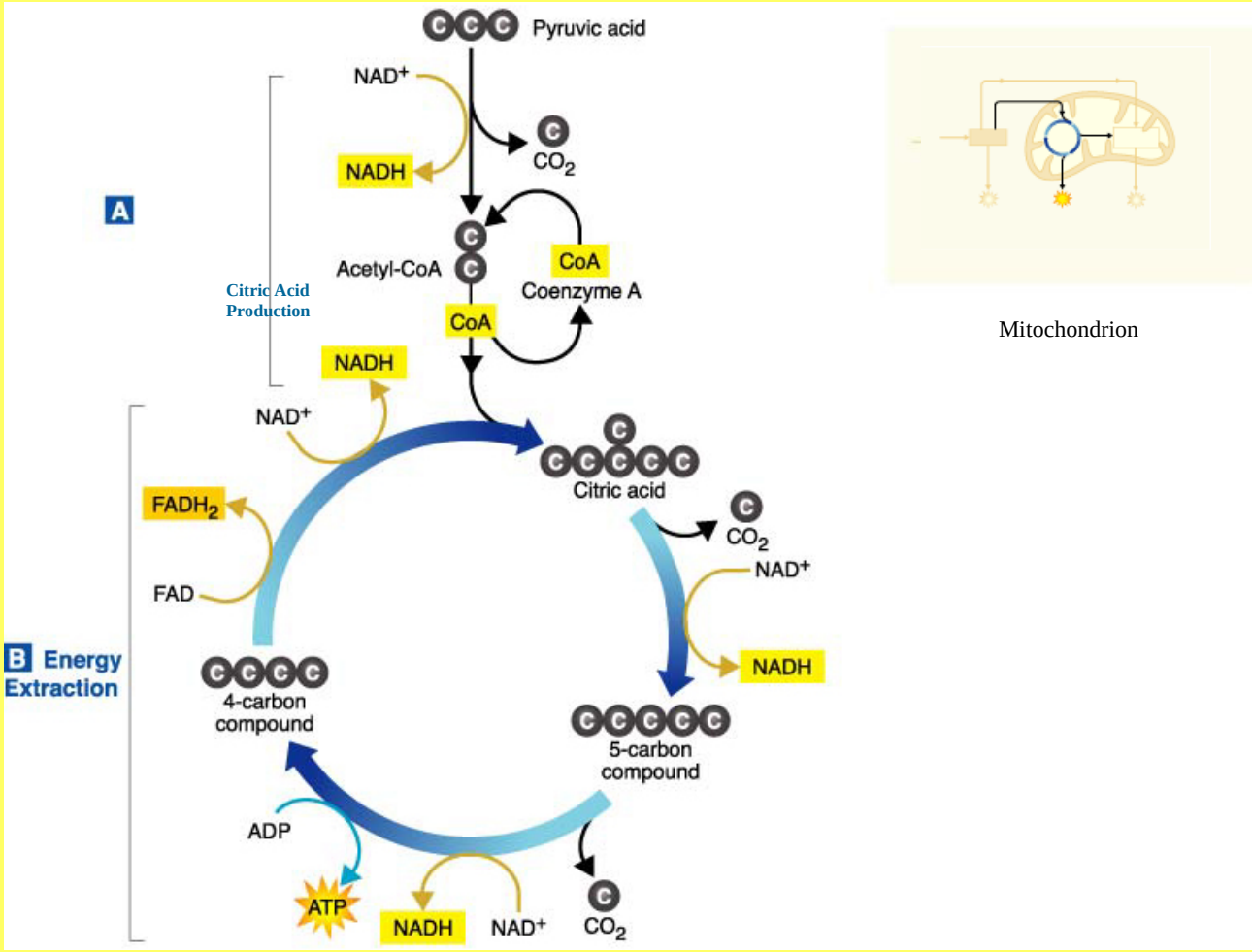


Bilancio energetico della respirazione e della fermentazione



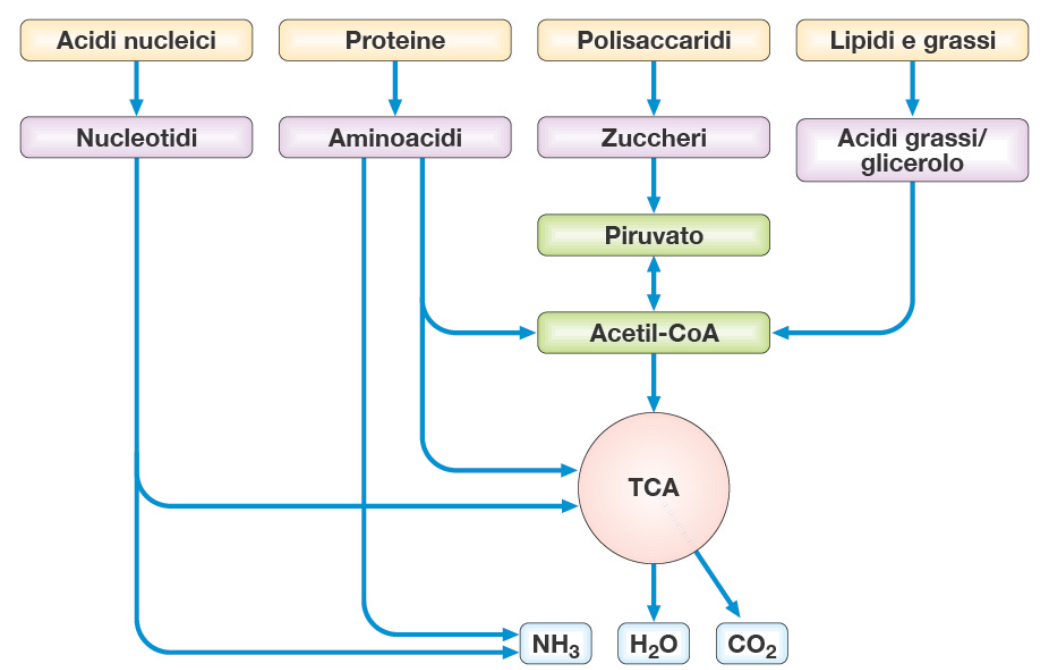
Suggerimento – segui gli atomi di carbonio



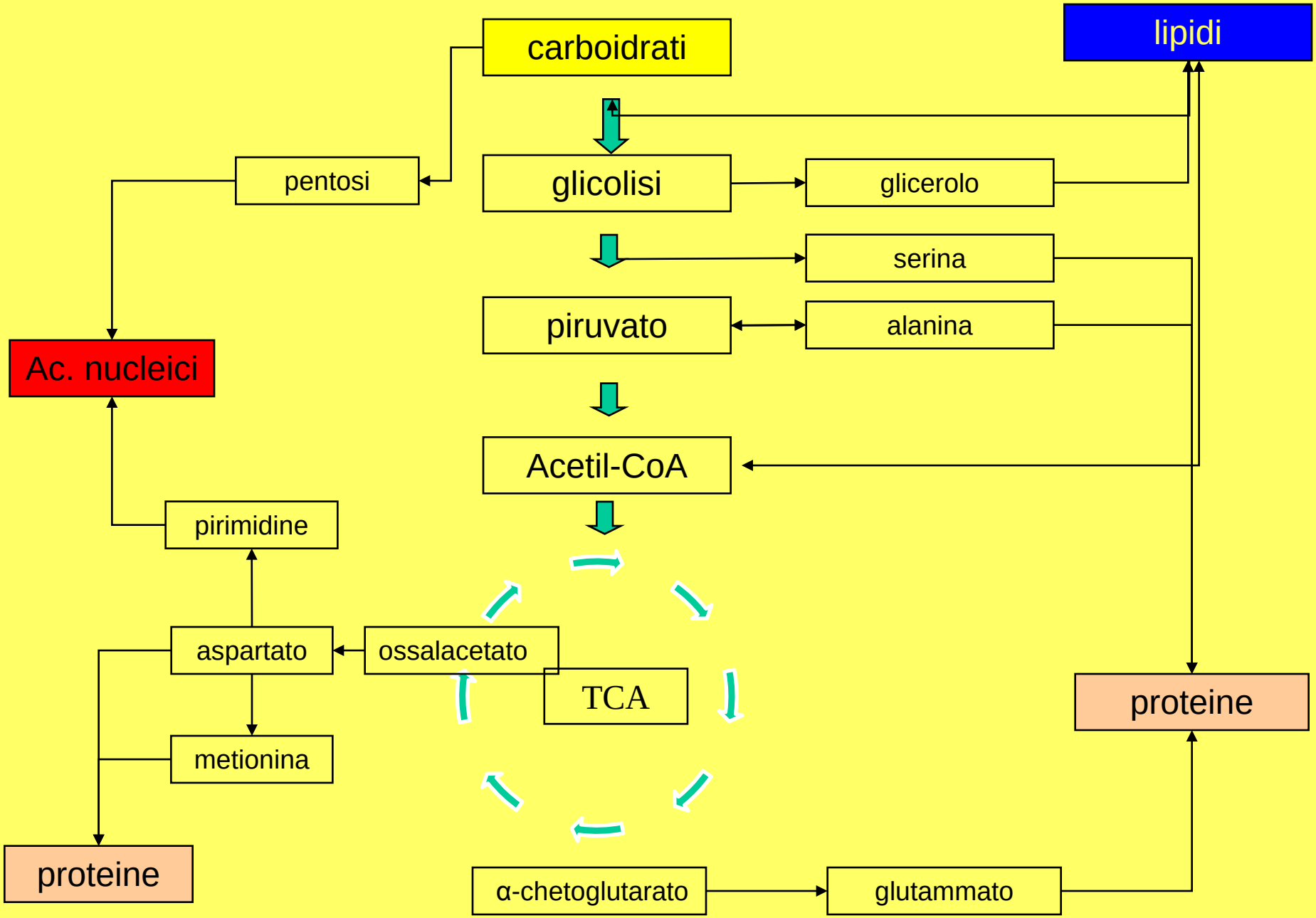


Mitochondrion

Diversità delle fonti organiche di energia

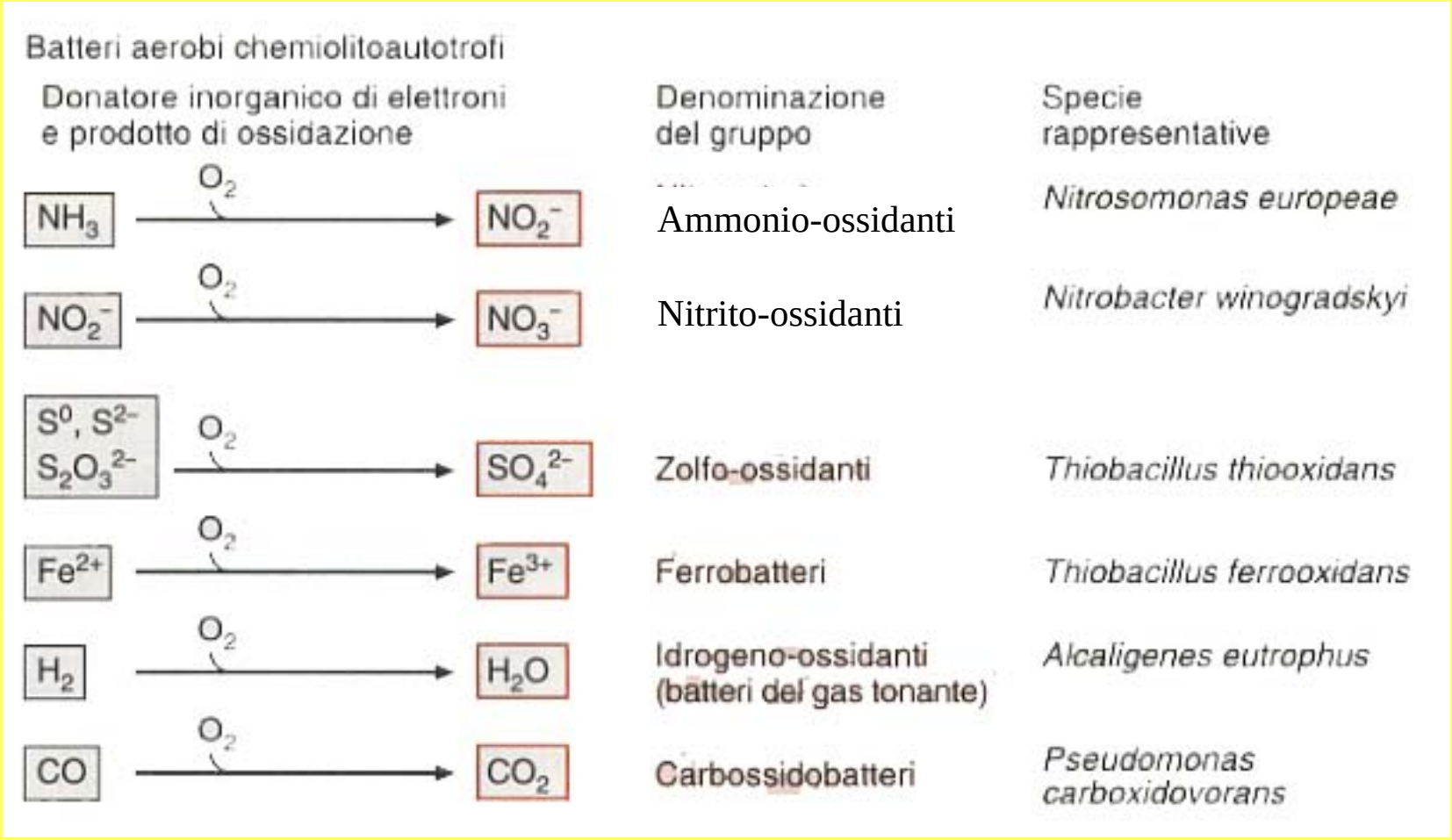


Principali relazioni tra glicolisi e TCA con i processi biosintetici

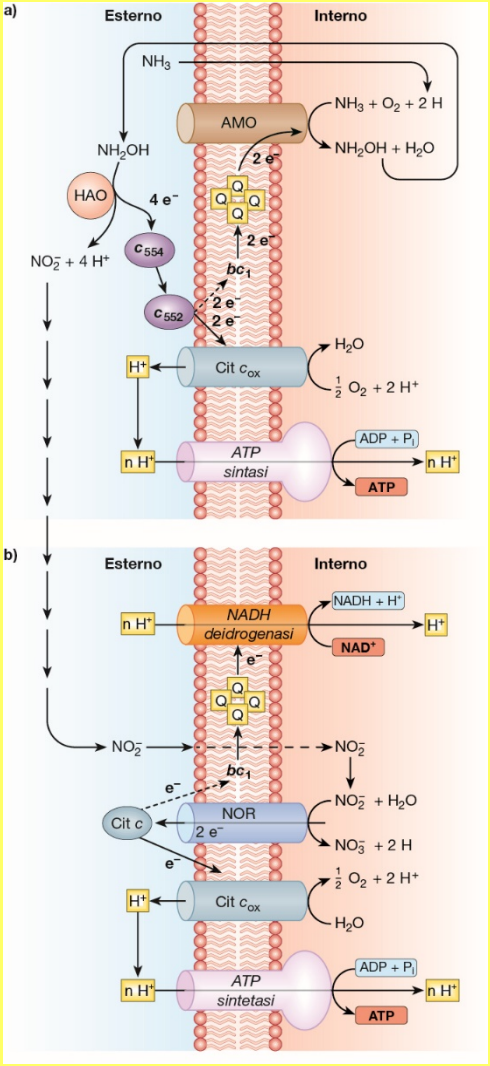


Batteri chemiolitotrofi

Batteri chemiolitotrofi



La nitrificazione

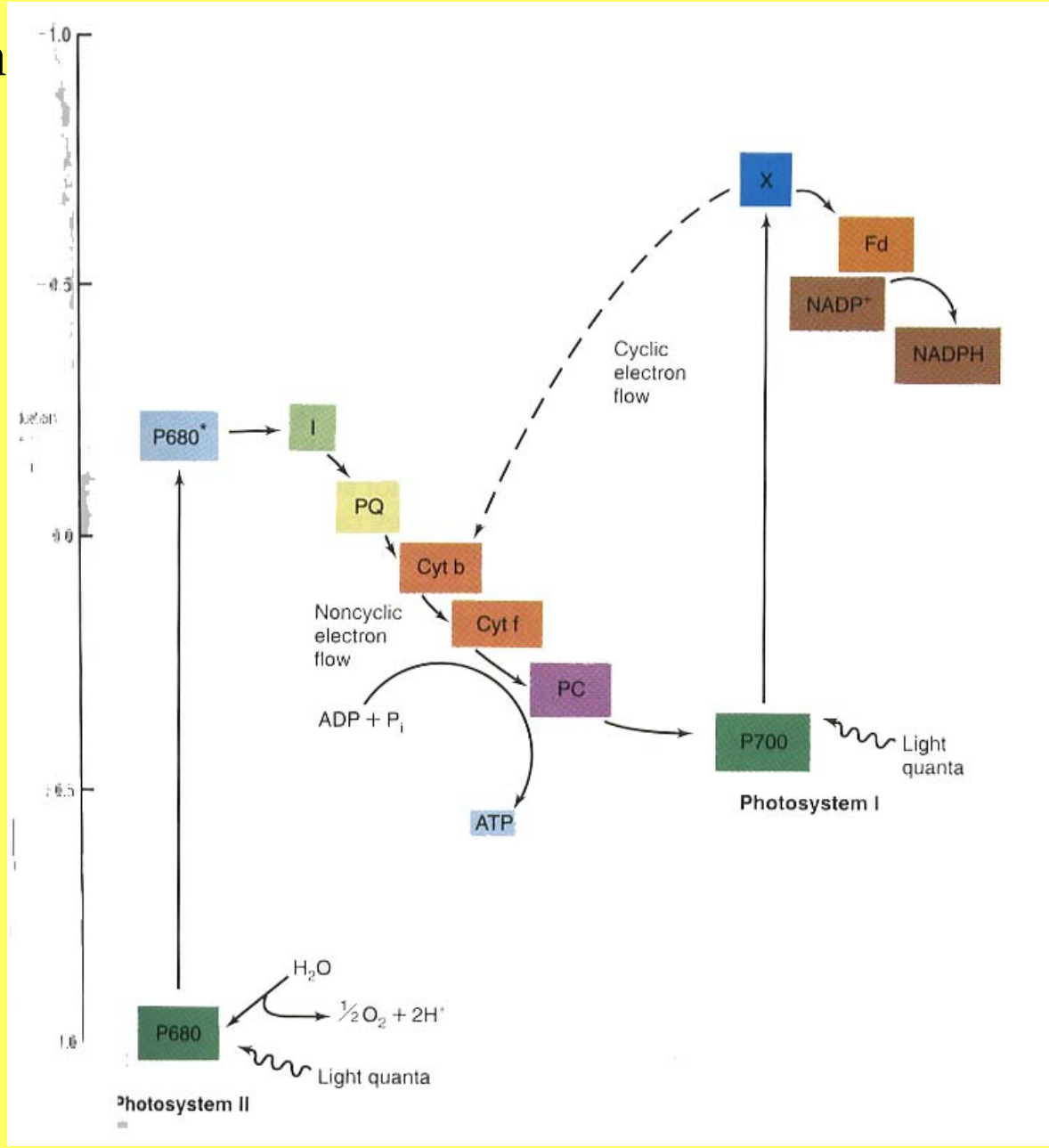


Batteri ammonioossidanti

Batteri nitritoossidanti

Fotosintesi

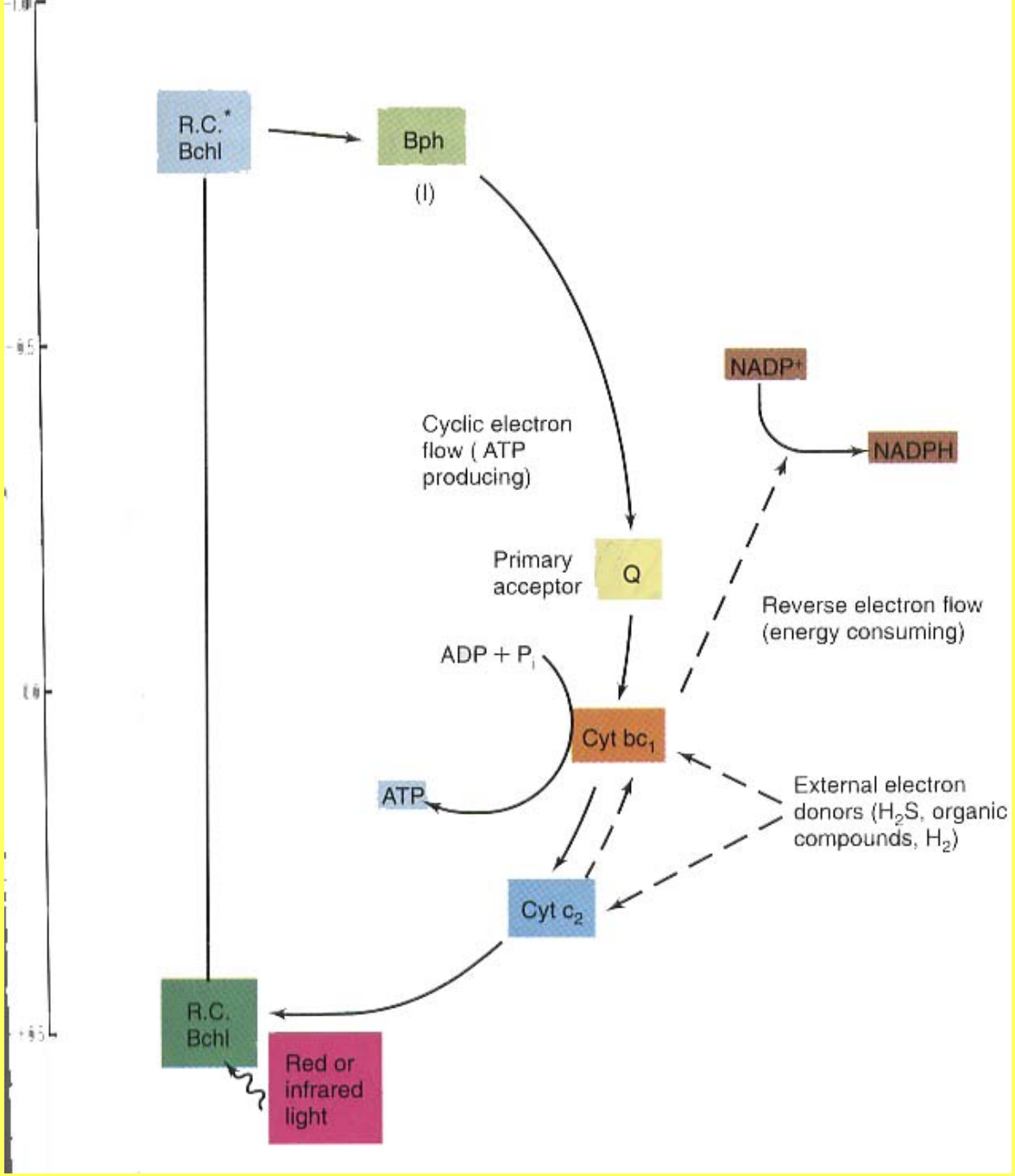
Fotosintesi ossigenica



Spirulina subsalsa

Spirulina maxima

Fotosintesi anossigenica



Terreni di coltura

- Chimicamente definiti
- Chimicamente indefiniti (complessi)

Base minerale	Ingredienti da aggiungere alla base minerale in funzione delle esigenze nutrizionali di:			
	Cianobatteri [1]	*Azotobacter* [2]	*E. coli* prototrofo [3]	*E. coli* auxotrofo per istidina [4]
Acqua, sali di P, S, K, Na, Mg, Ca e Fe, microelementi in tracce	Nessuno	Glucosio, molibdato di sodio	Glucosio, solfato di ammonio	Glucosio, solfato di ammonio, istidina

[1] I cianobatteri come *Oscillatoria* possono crescere in terreno minerale, purché esposto alla luce (fonte energetica) e all'aria, che sopperisce al fabbisogno di carbonio e di azoto in forma di CO_2 e N_2 atmosferici.

[2] Gli *Azotobacter* hanno necessità di una fonte organica di carbonio ed energia (glucosio ma anche mannitolo o una miscela dei due) e di molibdato di sodio, cofattore della nitrogenasi. Non richiedono composti dell'azoto giacché utilizzano quello atmosferico.

[3] Ha necessità di una fonte organica di carbonio ed energia e di una fonte azotata. Essendo prototrofo, non richiede alcun fattore di crescita.

[4] Ha le stesse esigenze del precedente ma è auxotrofo per l'istidina, che quindi deve essere aggiunta al terreno colturale.

 Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

TRYPTONE SOYA BROTH

TERRENO DI USO GENERALE ALTAMENTE NUTRITIVO PER LA CRESCITA DI BATTERI E FUNGHI

COMPOSIZIONE

Digerito pancreatico di caseina	17.0 g/L
Digerito papainico di farina di soia	3.0 g/L
Sodio cloruro	5.0 g/L
Potassio fosfato monoacido	2.5 g/L
Destrosio	2.5 g/L

pH finale 7.3 ± 0.2

ISTRUZIONI

Sospendere 30 g di polvere in 1 litro di acqua distillata. Mescolare bene e distribuire nei contenitori definitivi. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

DESCRIZIONE

E' un terreno altamente nutritivo, di impiego vario, consigliato per uso generale di laboratorio.
Poiché il terreno contiene sia triptone che peptone di soia, esso permette una crescita rigogliosa di molti microrganismi esigenti, anche senza aggiunta di siero.

TECNICA

Coltura aerobica

Il Tryptone Soya Broth è utile per la coltura di aerobi e di anaerobi facoltativi, compresi alcuni funghi. Le colture vanno esaminate ad intervalli frequenti perché il massimo della crescita si raggiunge in anticipo rispetto a quella con terreni ad inferiore potere nutritivo e la fase successiva di declino comincia più precocemente.

Per fare un mezzo solido + Agar 15 g/L