

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

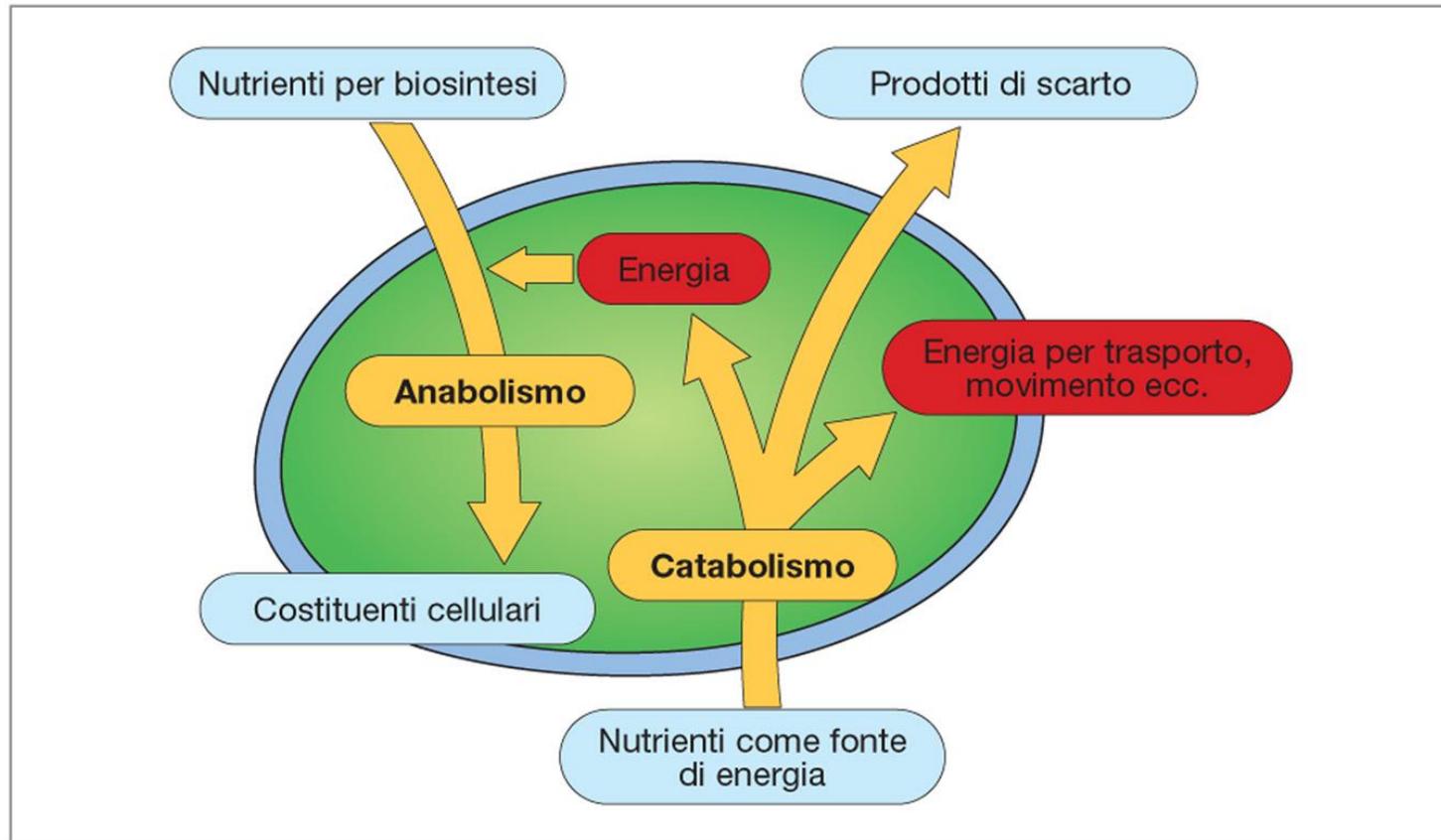
Lezione 2 – 14 dicembre 2017 – ore 15.00-18.00

Il metabolismo dei carboidrati: respirazione aerobica e anaerobica, fermentazione

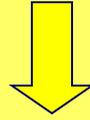
Prof. Carlo Viti



Metabolismo

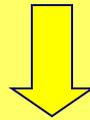


La nutrizione microbica



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

<u>•Molecole</u>	<u>% peso umido</u>
•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	<u>1</u>
•TOTALE	100%

ANALISI degli ELEMENTI in una CELLULA BATTERICA

Peso secco di 1 cellula ca. $3 \times 10^{-13} \text{g}$

<u>Elemento</u>	<u>% peso secco</u>
•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	<u>0,3</u>
•	100 %

Nutrizione Microbica

Fonte di energia

Fonte di carbonio

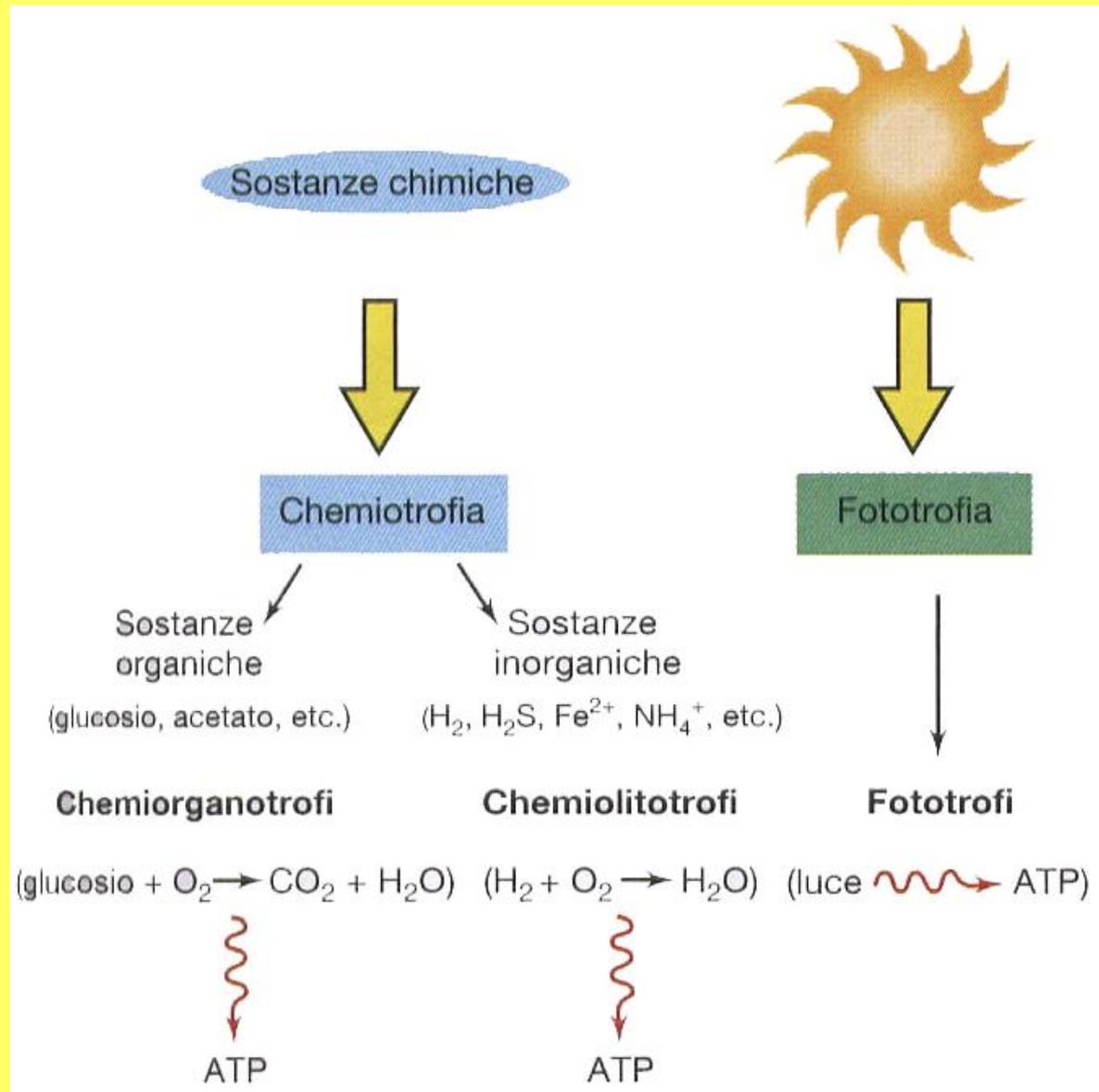
Fonte di azoto

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.....)

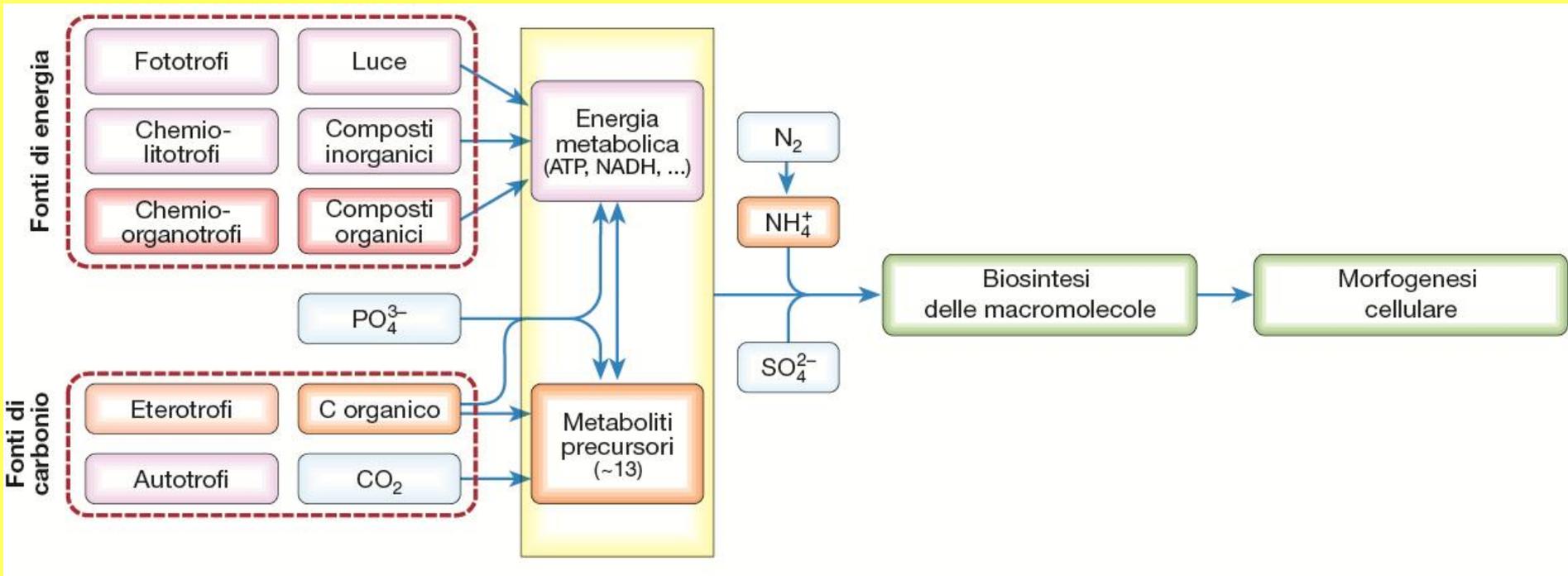
Fonti di energia



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	CO ₂	Fotoautotrofi	Cianobatteri
	Luce	Composto organico	Fotoeterotrofi	Batteri rossi non-sulfurei
CHEMIOTROFI	Composto inorganico	CO ₂	Chemioautotrofi	Batteri nitrificanti
	Composto organico	Composto organico	Chemioeterotrofi	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

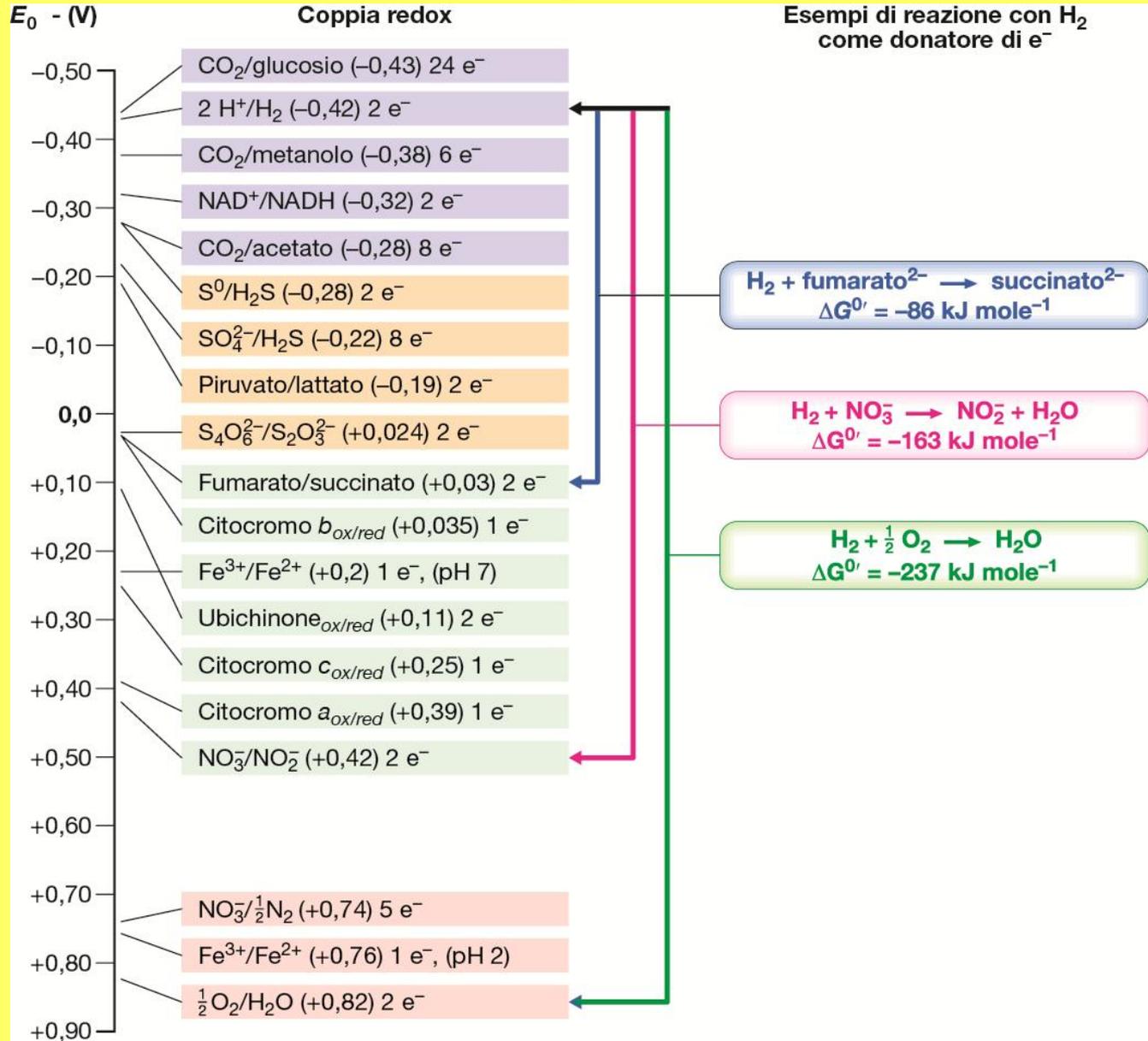
- Mantenere la propria organizzazione molecolare e sopramolecolare (omeostasi)
- Compiere operazioni ordinate (movimento, differenziamento, etc.)
- Accrescersi, riprodursi trasformando selettivamente la materia circostante in strutture cellulari

Ossido-riduzione

- $\text{H}_2 \rightarrow 2 \text{e}^- + 2 \text{H}^+$ (semireazione della donazione degli elettroni - ossidazione)
- $\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ (semireazione dell'accettazione degli elettroni-riduzione)
- $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

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 (flavoproteine, coenzima Q, citocromi ecc.)

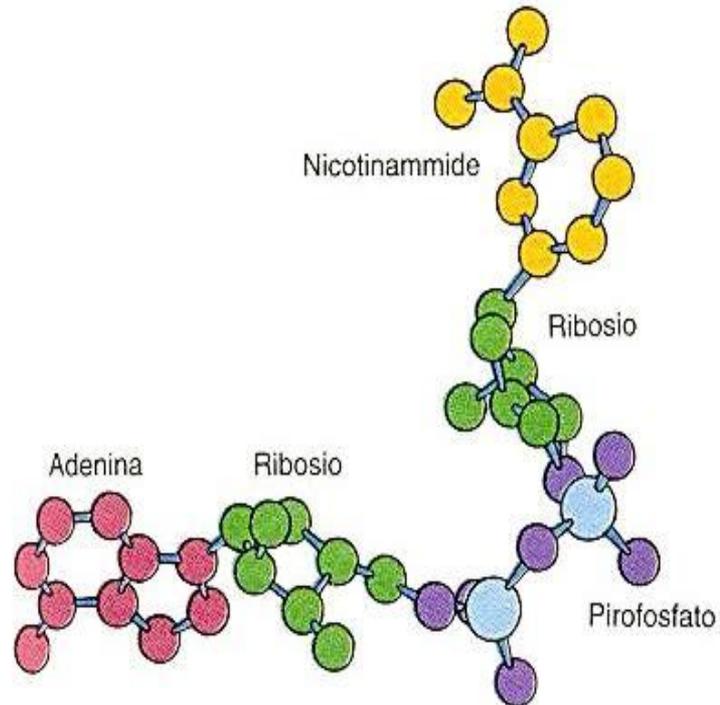
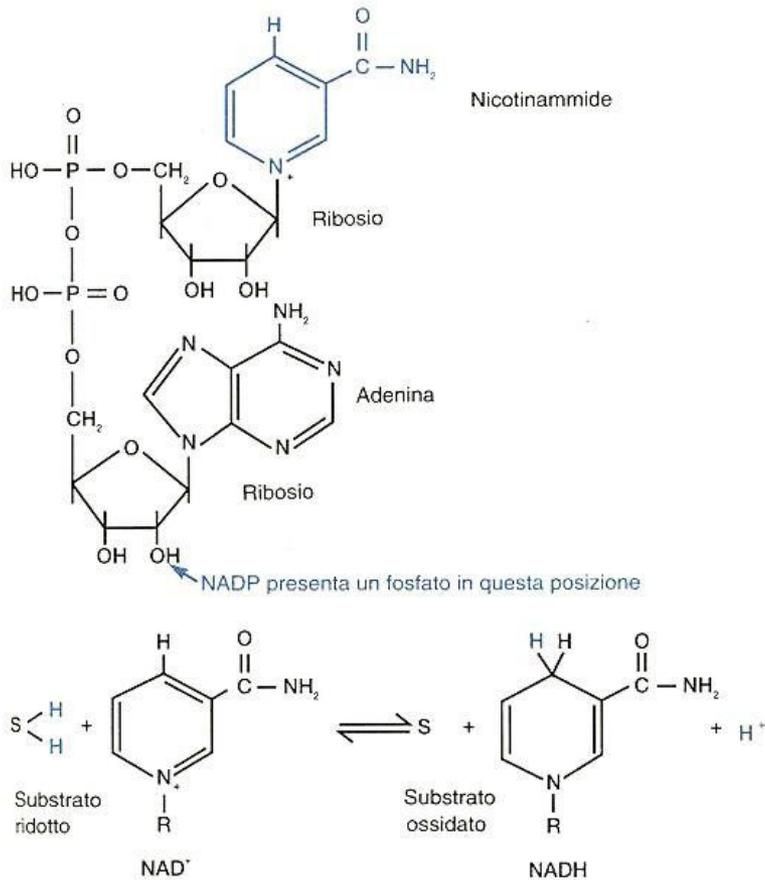
Donatore primario di e-

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)



(c)

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

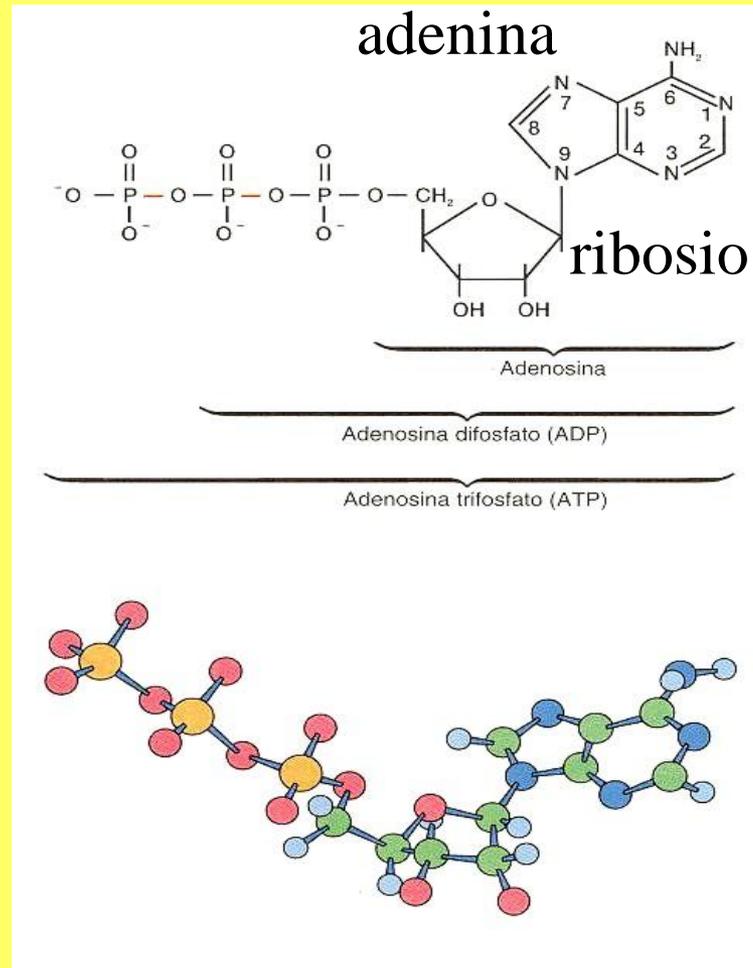
L'energia rilasciata nelle reazioni di ossidoriduzione non è persa ma è conservata tramite la formazione di composti che contengono legami fosfato ad alta energia, il più importante dei quali è l'ATP

- 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 ΔG° (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

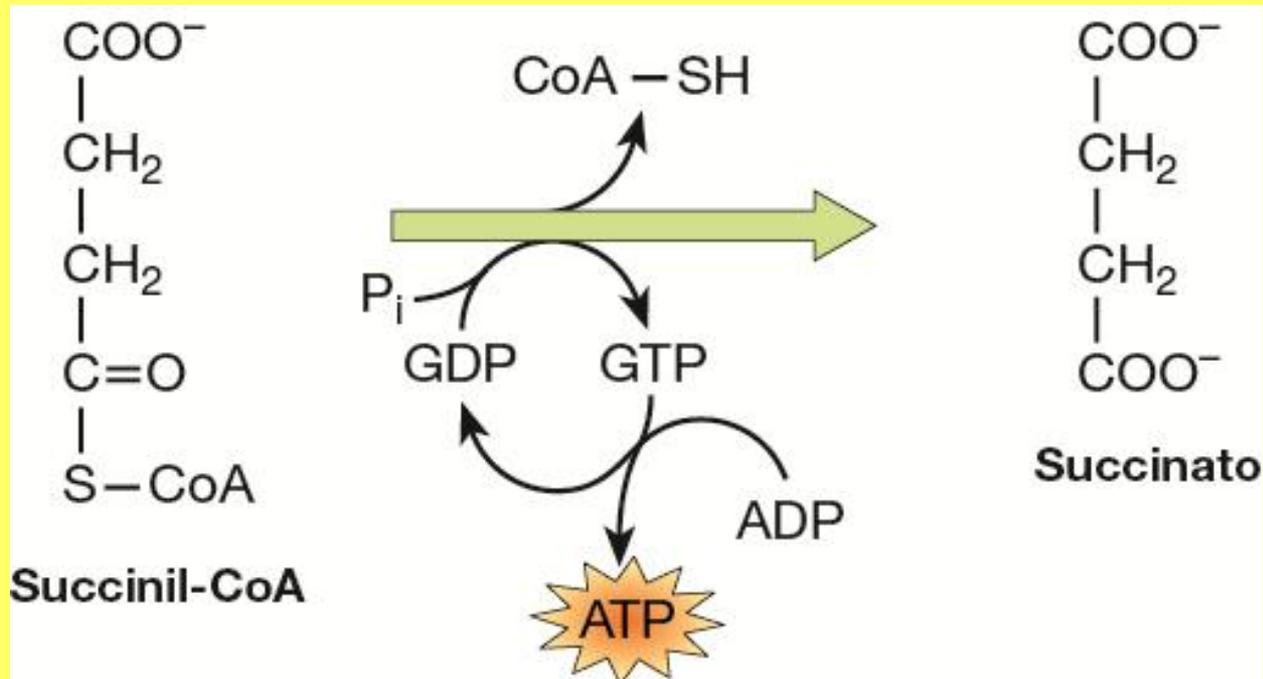
Struttura chimica dell'adenosina-5'-trifosfato.



Composti ad alta energia.

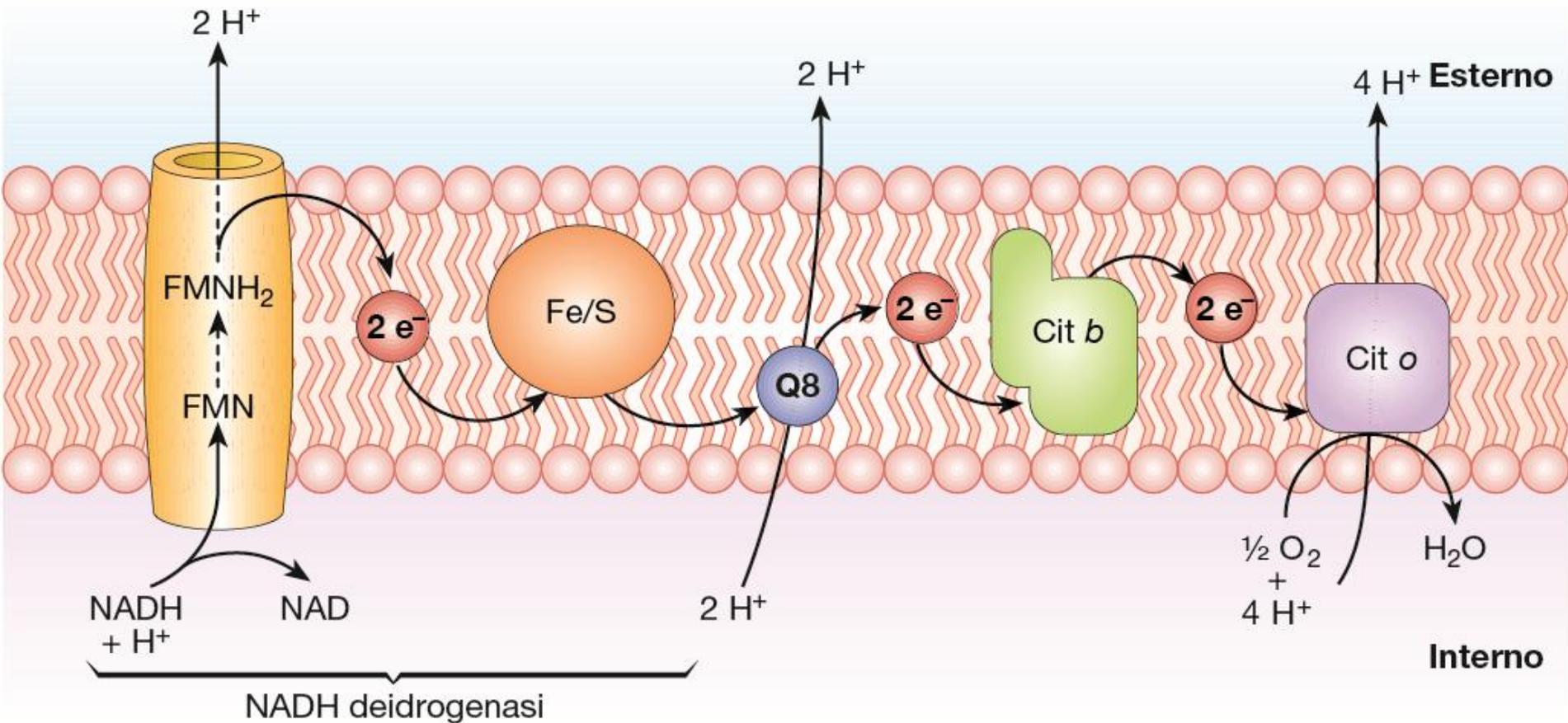
Composto	Simbolo	ΔG° (Kcal/mol)	Struttura
Fosfoenolpiruvato	PEP	- 14,8	<chem>C=C(C(=O)[O-])OP(=O)([O-])[O-]</chem>
Carbamoilfosfato	-	- 12,3	<chem>NC(=O)OP(=O)([O-])[O-]</chem>
Acetilfosfato	-	- 10,3	<chem>CC(=O)OP(=O)([O-])[O-]</chem>
Creatinfosfato	-	- 8,0	<chem>CN1CNC(=O)N(CCN1C)COP(=O)([O-])[O-]</chem>
Adenosintrifosfato	ATP	- 7,3	<chem>C1=NC2=C(N1)N=CN=C2[C@@H]3O[C@H](COP(=O)([O-])OP(=O)([O-])OP(=O)([O-])[O-])[C@@H](O)[C@H]3O</chem>

Fosforilazione a livello di substrato



Esempio nel ciclo di Krebs (intervento di guantrifisfato)

Fosforilazione ossidativa (catena di trasporto)



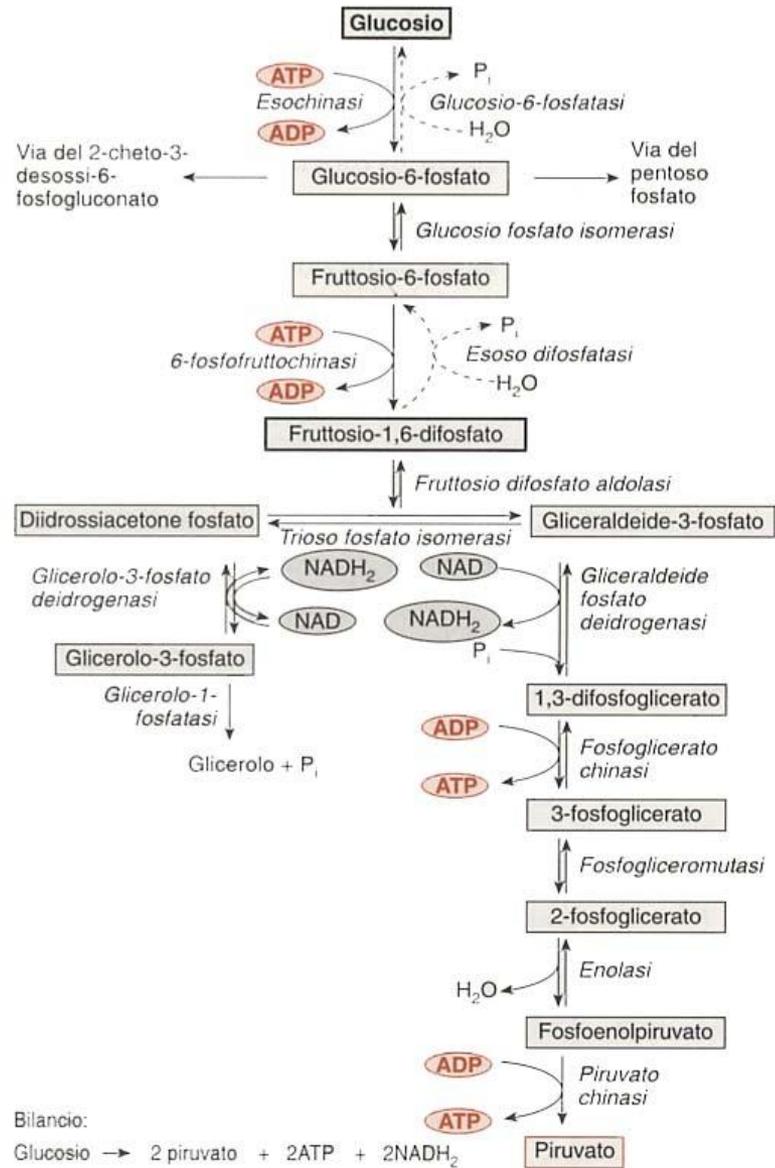
Processi che portano alla formazione di ATP

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

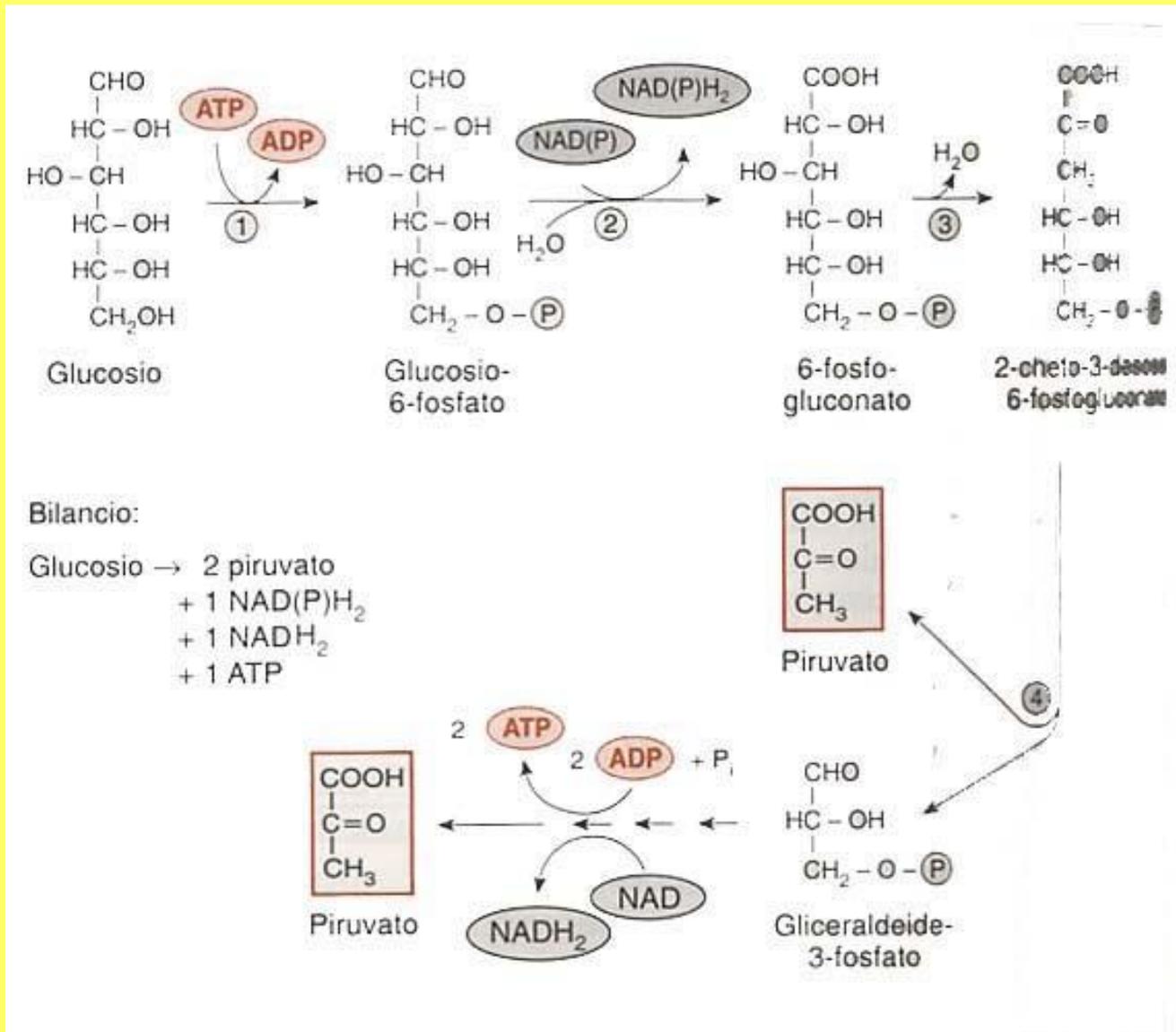
Respirazione

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

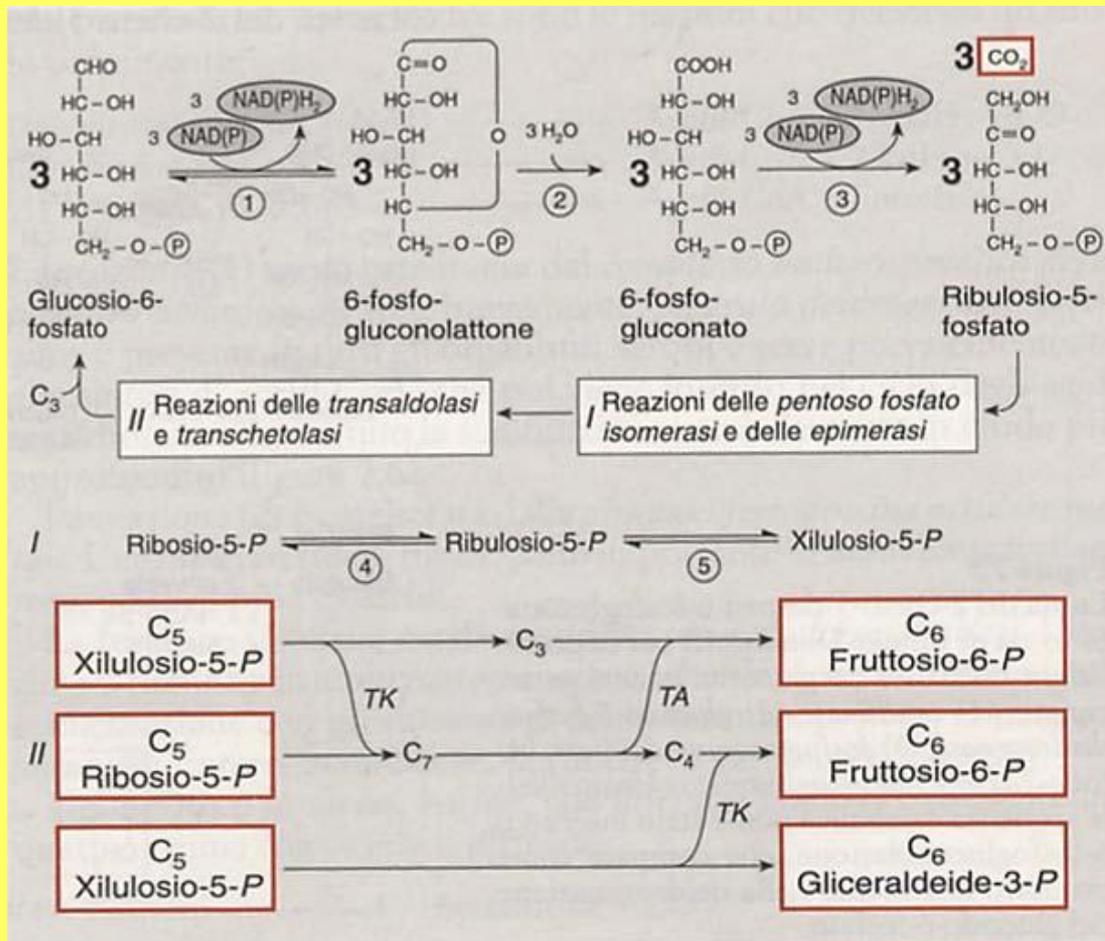
Glicolisi



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



Via del pentoso fosfato



Ossidazione del piruvato



Piruvato deidrogenasi

(Prevalente in tutti gli organismi aerobi)



Piruvato: ferrodossina ossireduttasi

(batteri anaerobi es. clostridi)

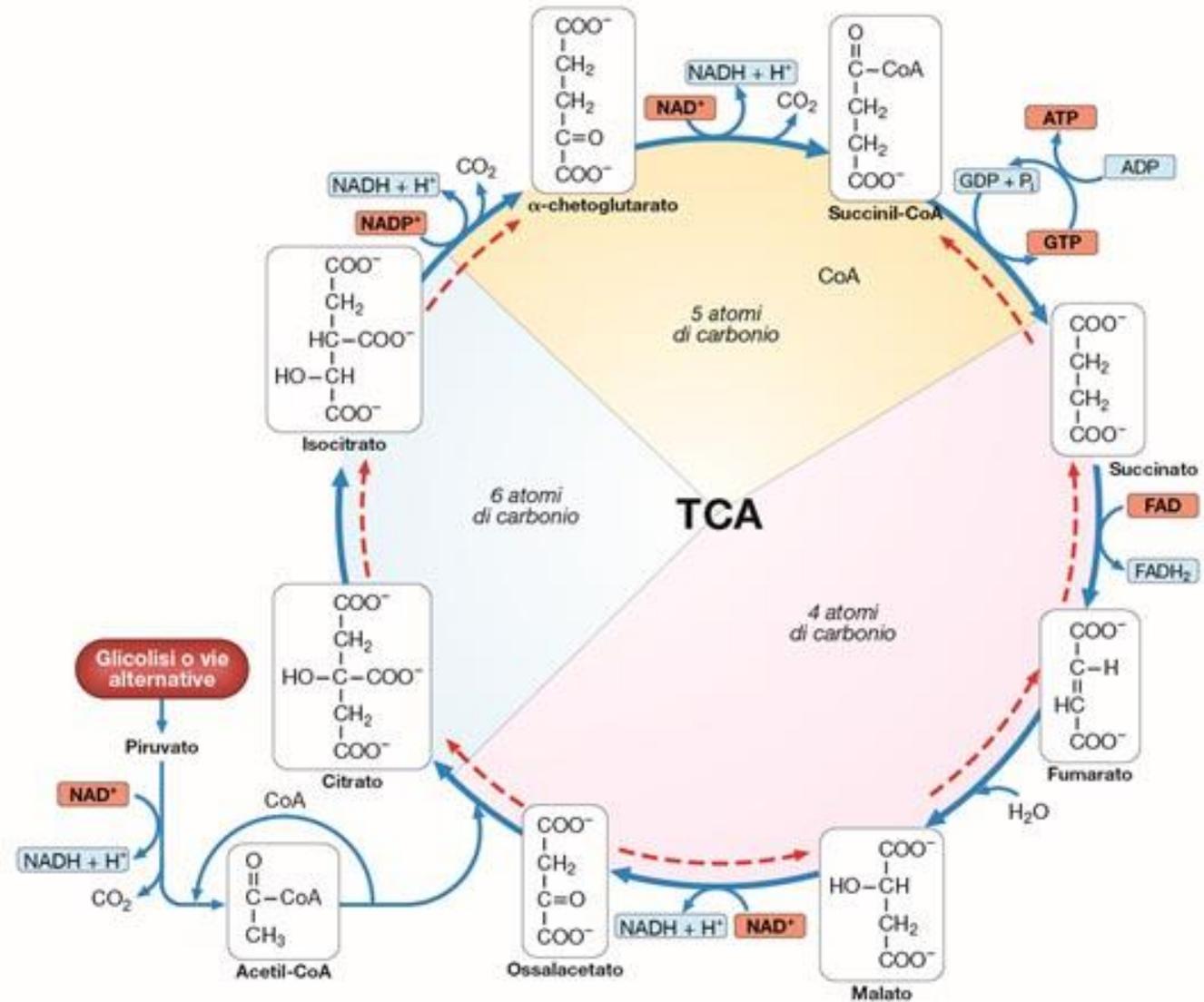


Piruvato: formiato liasi

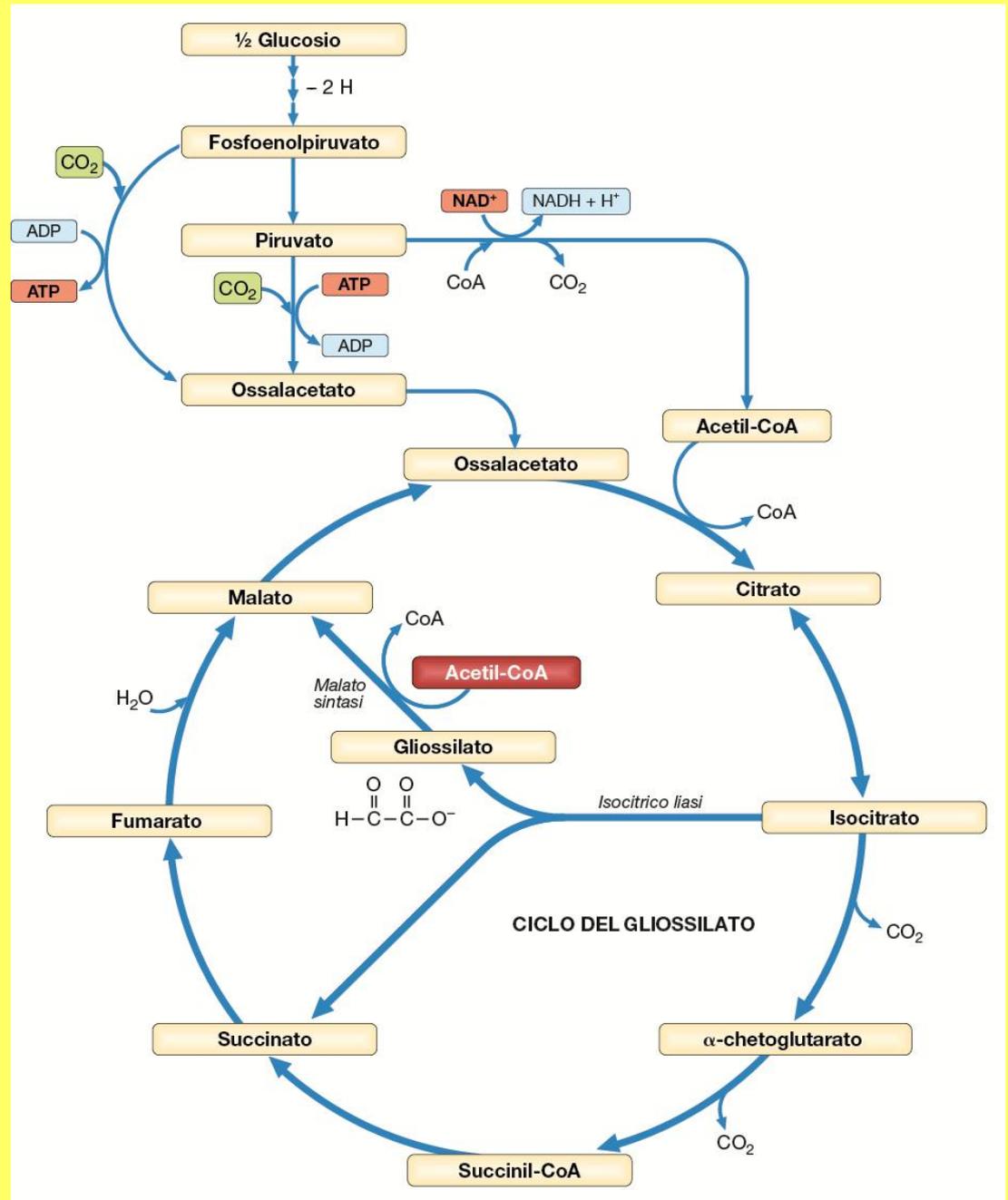
(batteri anaerobi: enterobatteriaceae; batteri fototrofi)

Ciclo degli acidi tricarbossilici

TCA o di Krebs



Vie anaplerotiche e ciclo del glicosilato

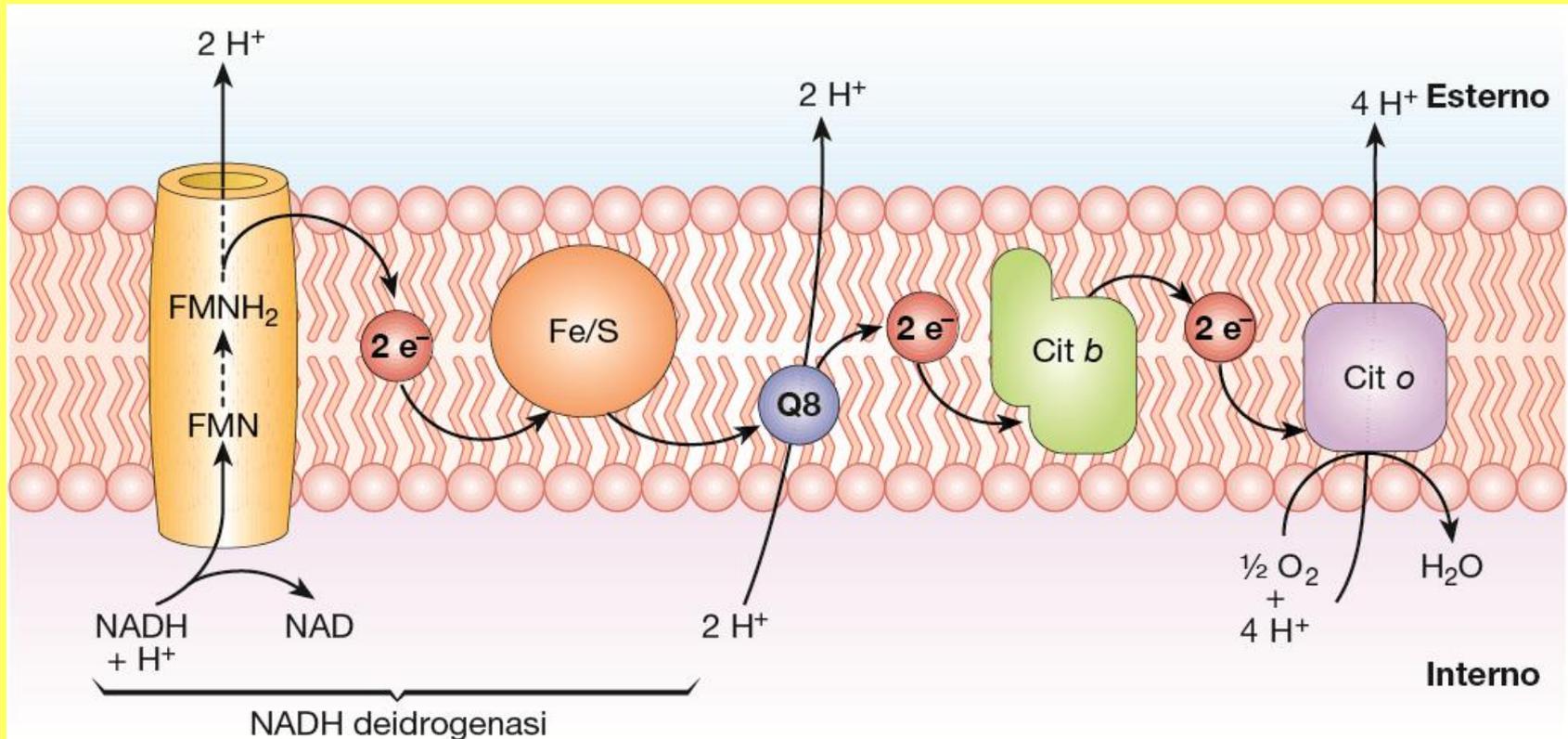


Bilancio energetico della ossidazione completa del glucosio

	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



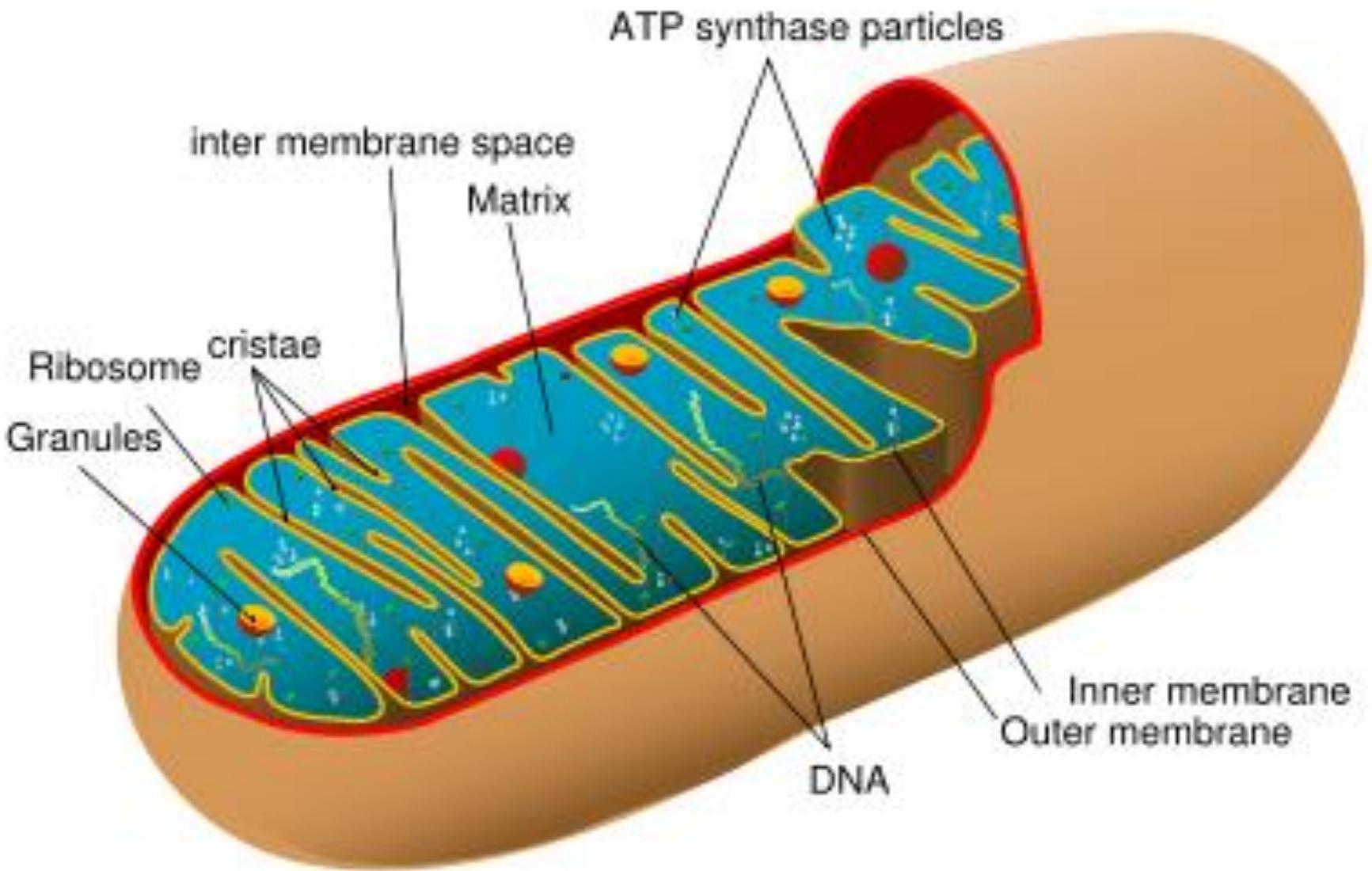
Flavin mononucleotide

Proteina Fe/S

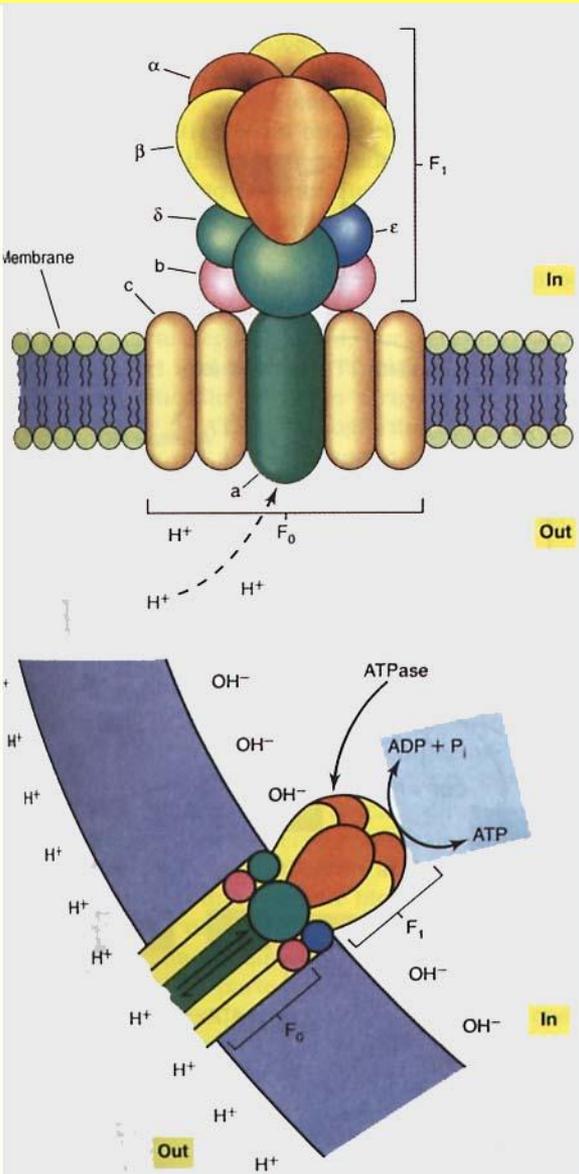
Ubichinone

Citocromo *b*

Citocromo ossidasi



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

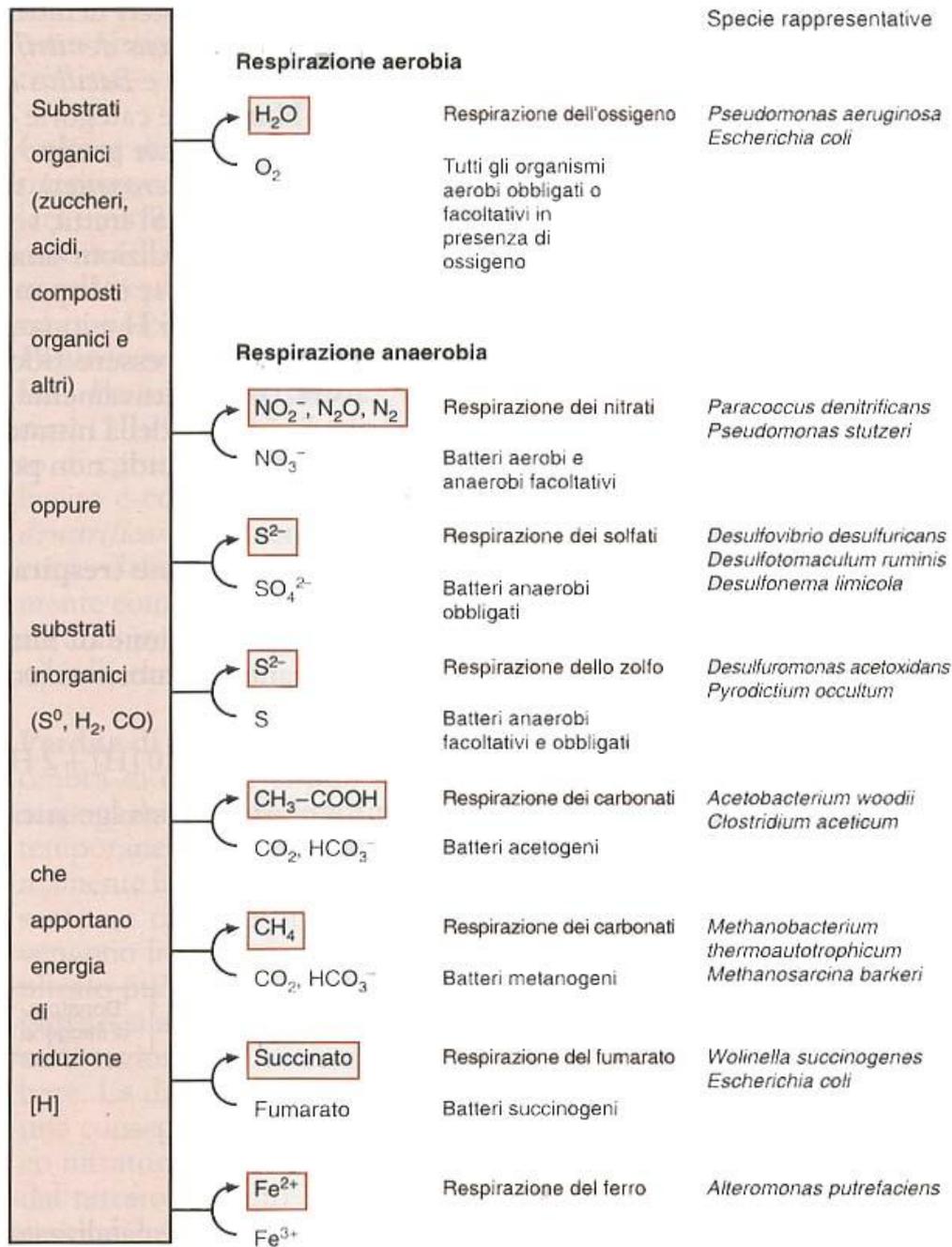
* Ogni NADH₂ 3 ATP; Ogni FADH₂ 2 ATP

Respirazione anaerobia

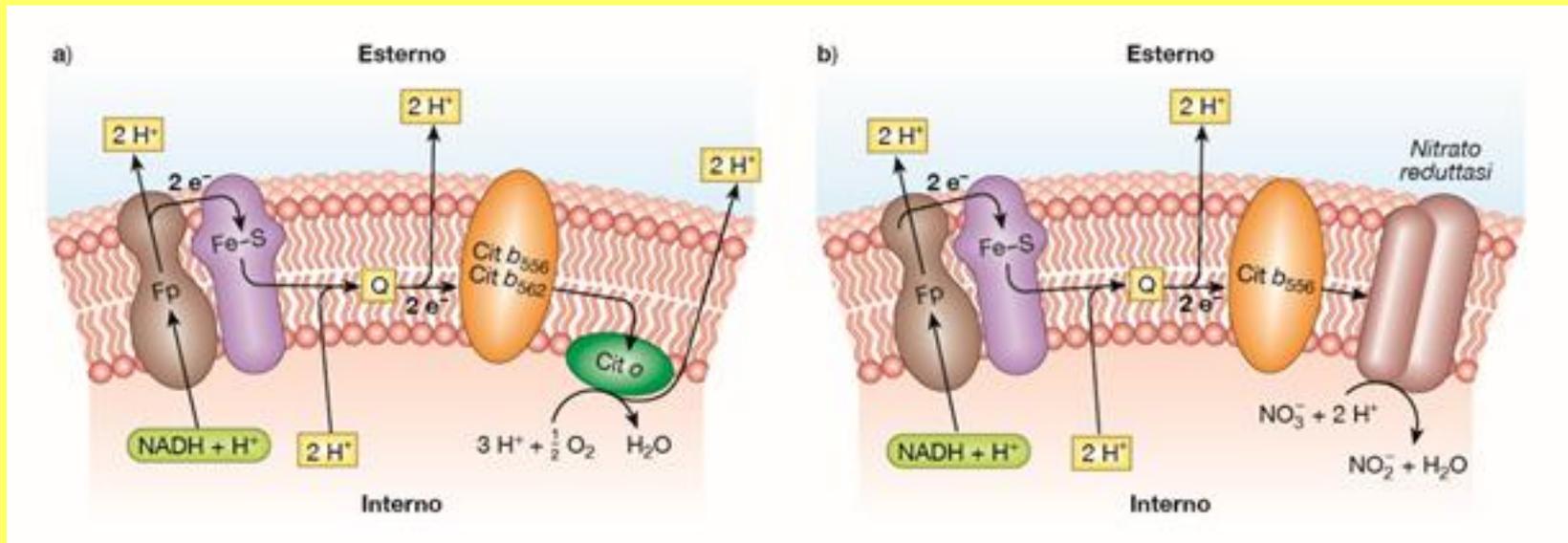
- Accettore terminale di elettroni diverso dall'ossigeno

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



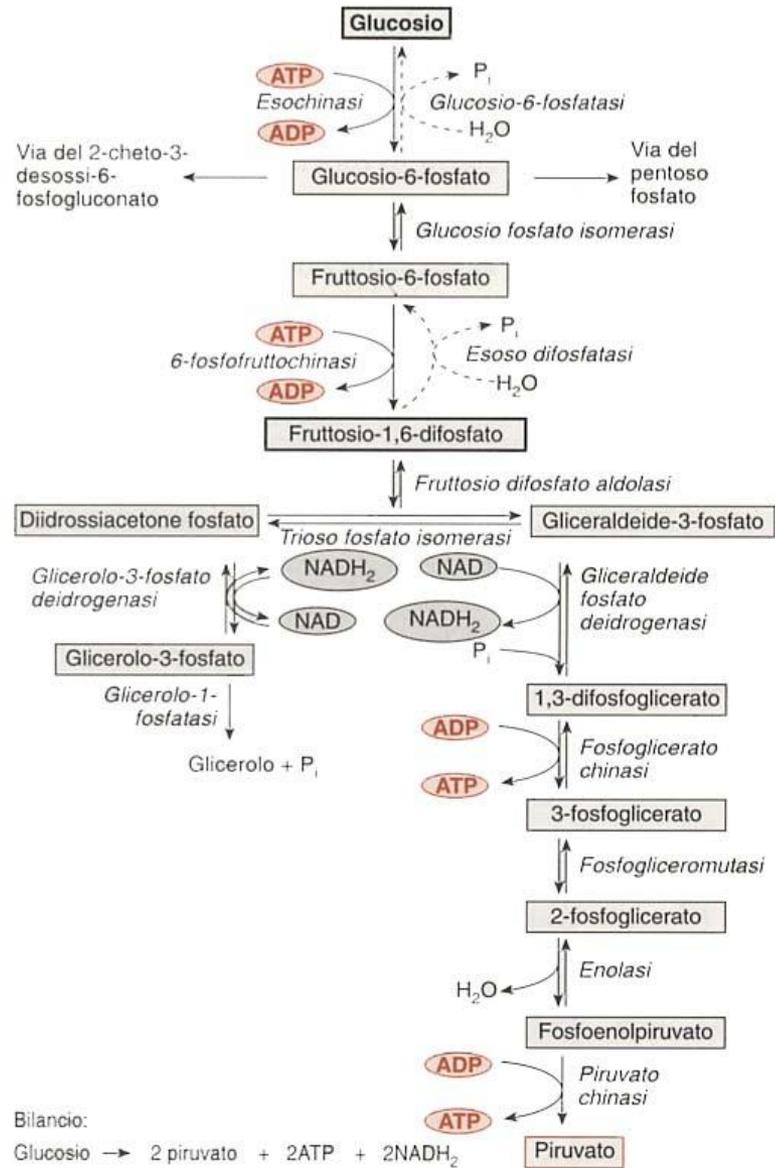
Catena di trasporto nella respirazione aerobica (a) e anaerobica (b)



Fermentazione

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

Glicolisi



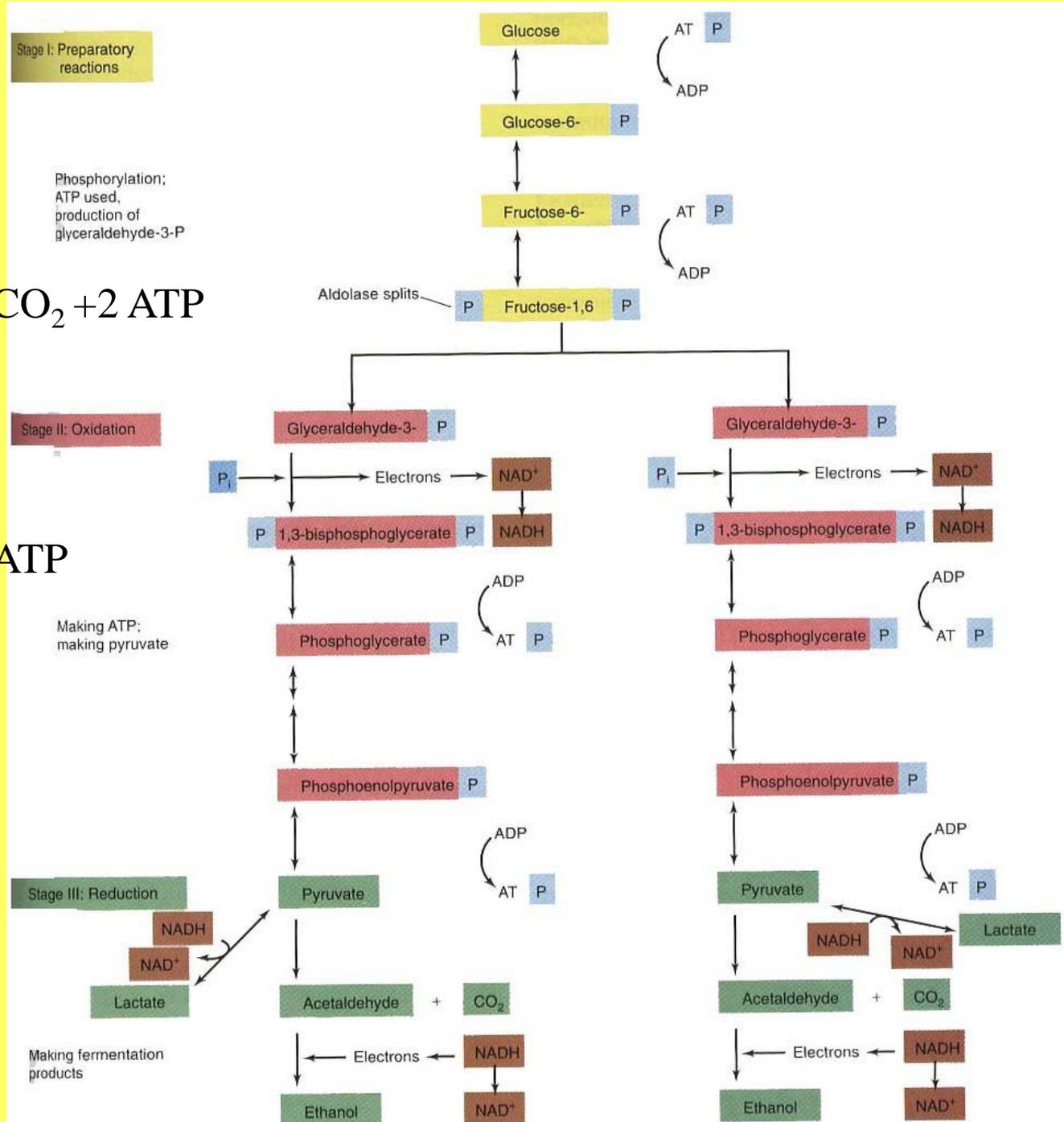
Fermentazione

Bilancio

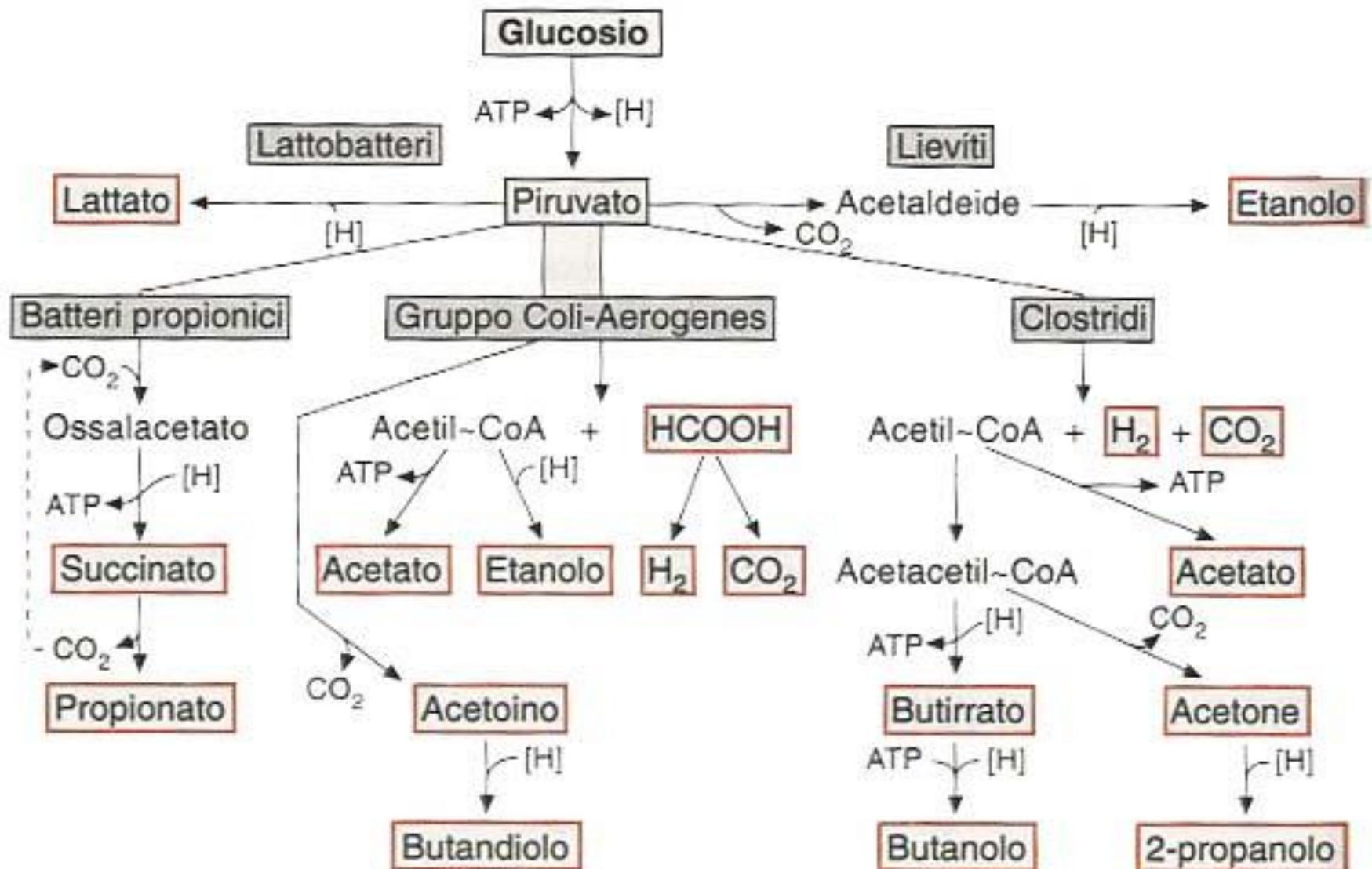
Glucosio \rightarrow etanolo + CO_2 + 2 ATP

Bilancio

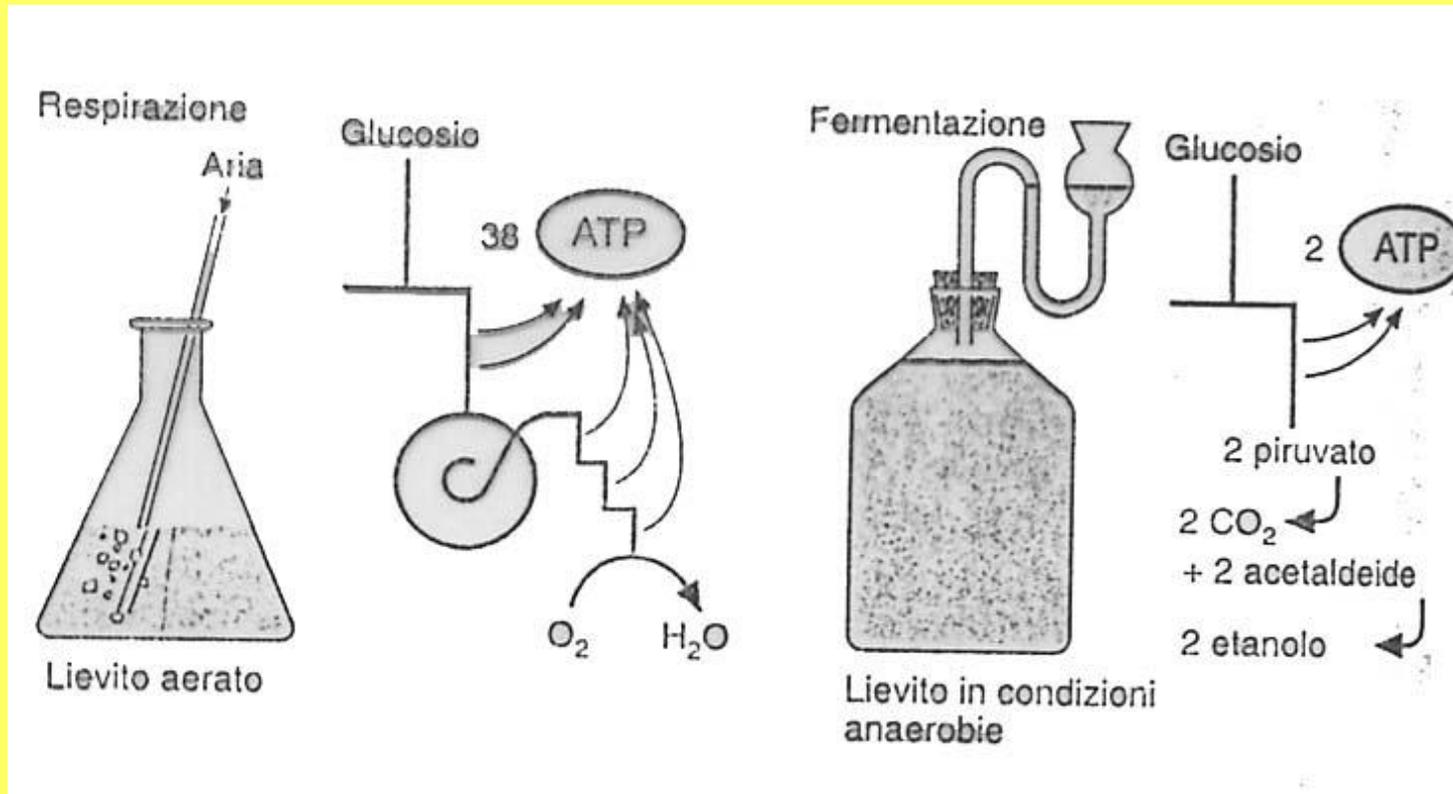
Glucosio \rightarrow lattato + 2 ATP



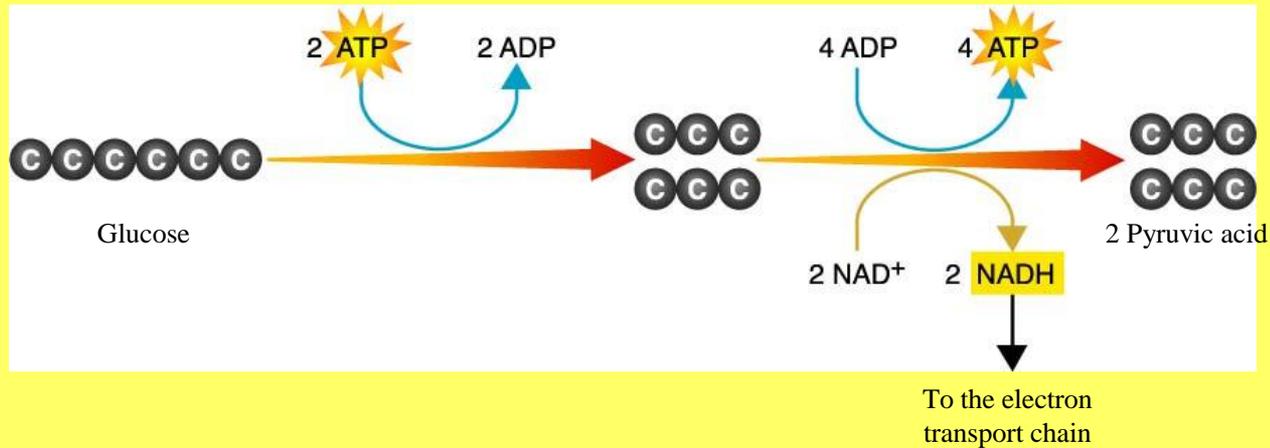
Fermentazioni più importanti

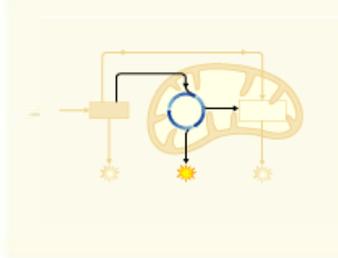
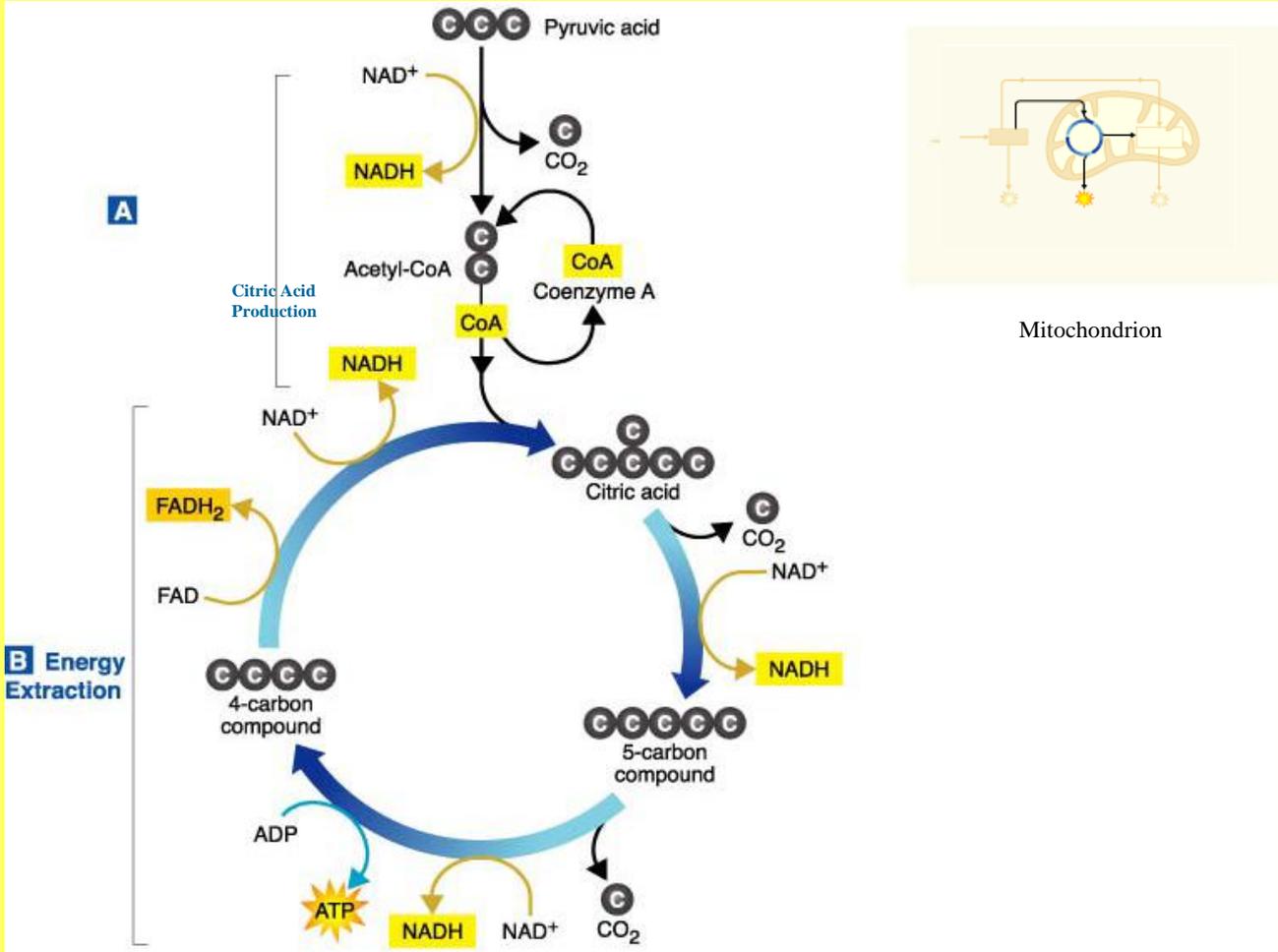


Bilancio energetico della respirazione e della fermentazione



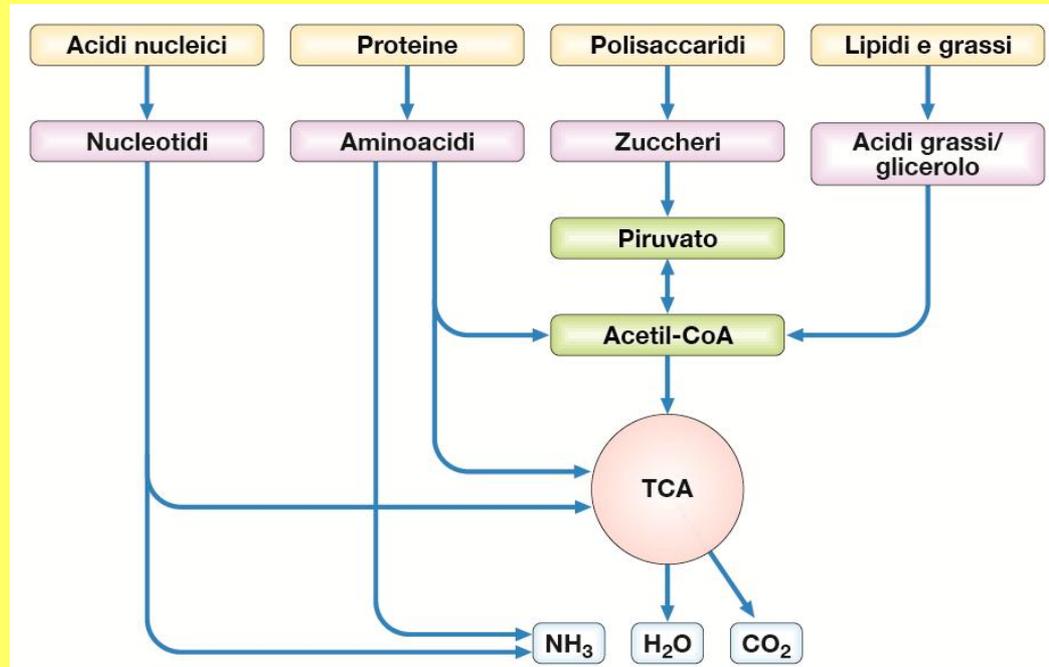
Suggerimento – segui gli atomi di carbonio



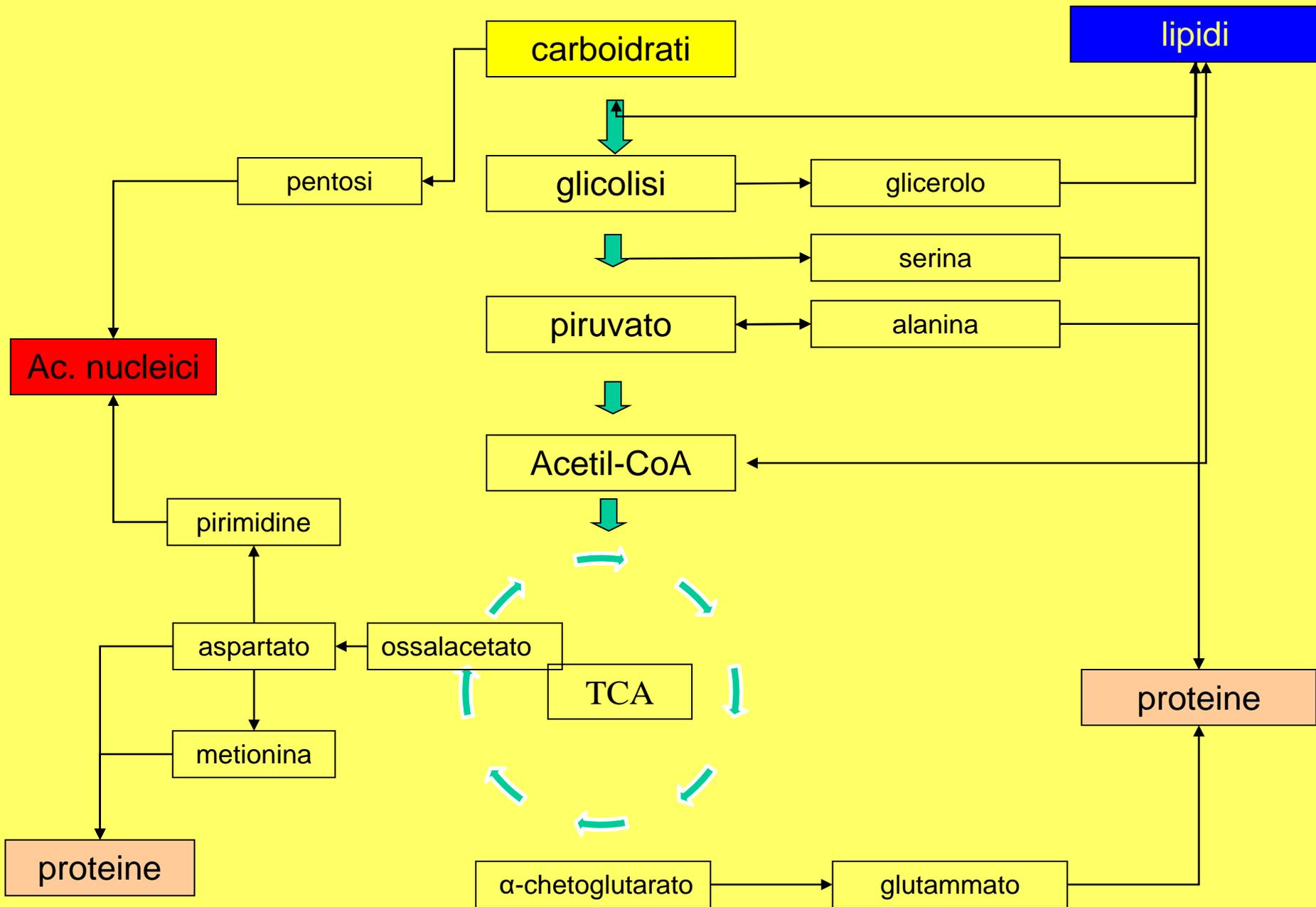


Mitochondrion

Diversità delle fonti organiche di energia



Principali relazioni tra glicolisi e TCA con i processi biosintetici



Batteri chemiolitotrofi

Batteri chemiolitotrofi

Batteri aerobi chemiolitoautotrofi

Donatore inorganico di elettroni
e prodotto di ossidazione



Denominazione
del gruppo

Ammonio-ossidanti

Specie
rappresentative

Nitrosomonas europaea



Nitrito-ossidanti

Nitrobacter winogradskyi



Zolfo-ossidanti

Thiobacillus thiooxidans



Ferrobatteri

Thiobacillus ferrooxidans



Idrogeno-ossidanti
(batteri del gas tonante)

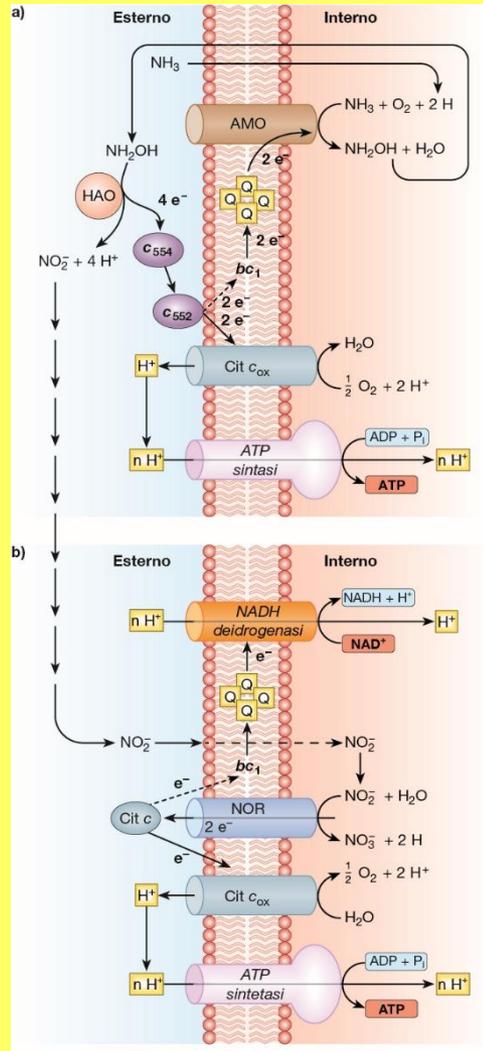
Alcaligenes eutrophus



Carbossidobatteri

*Pseudomonas
carboxidovorans*

La nitrificazione

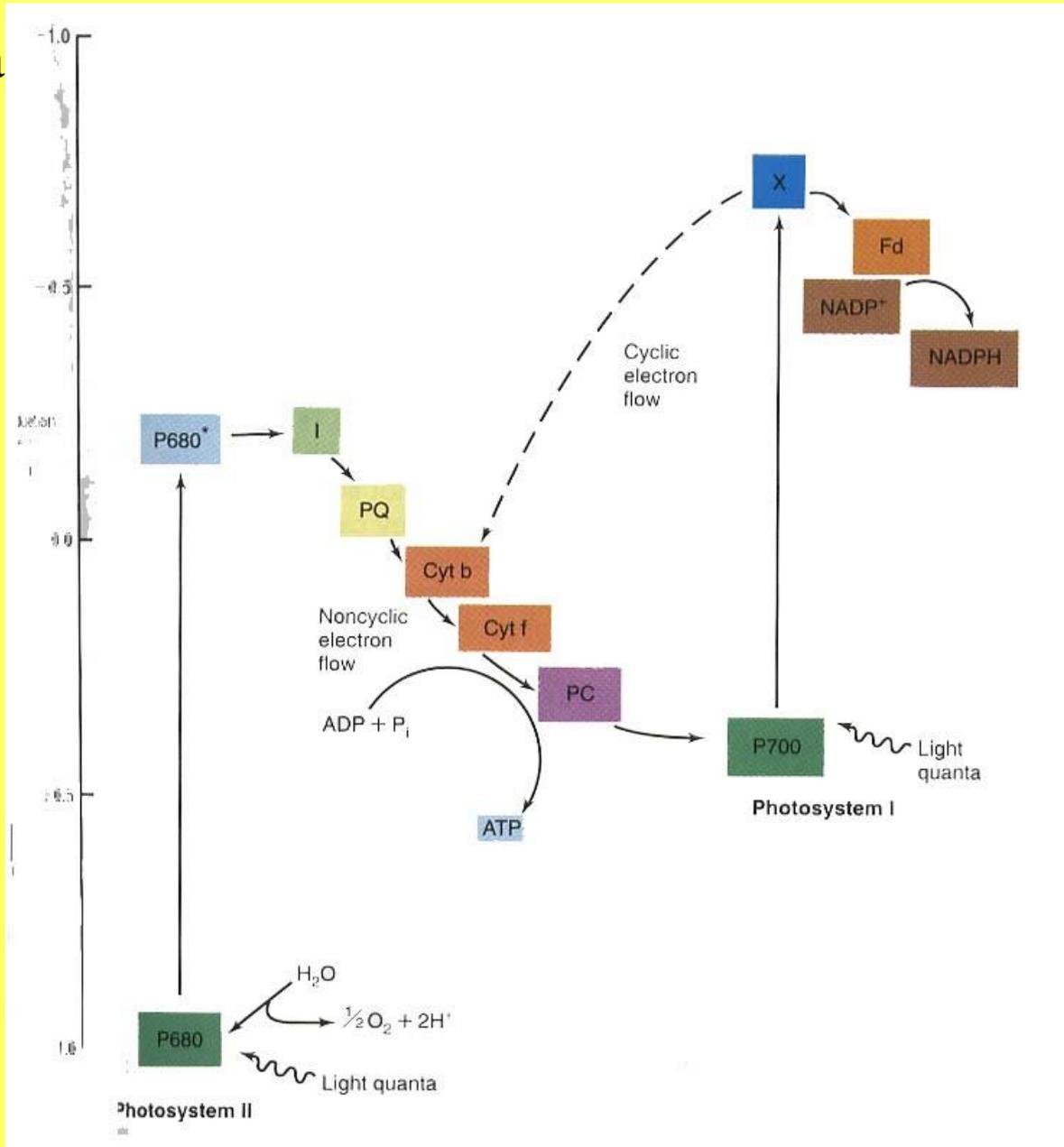


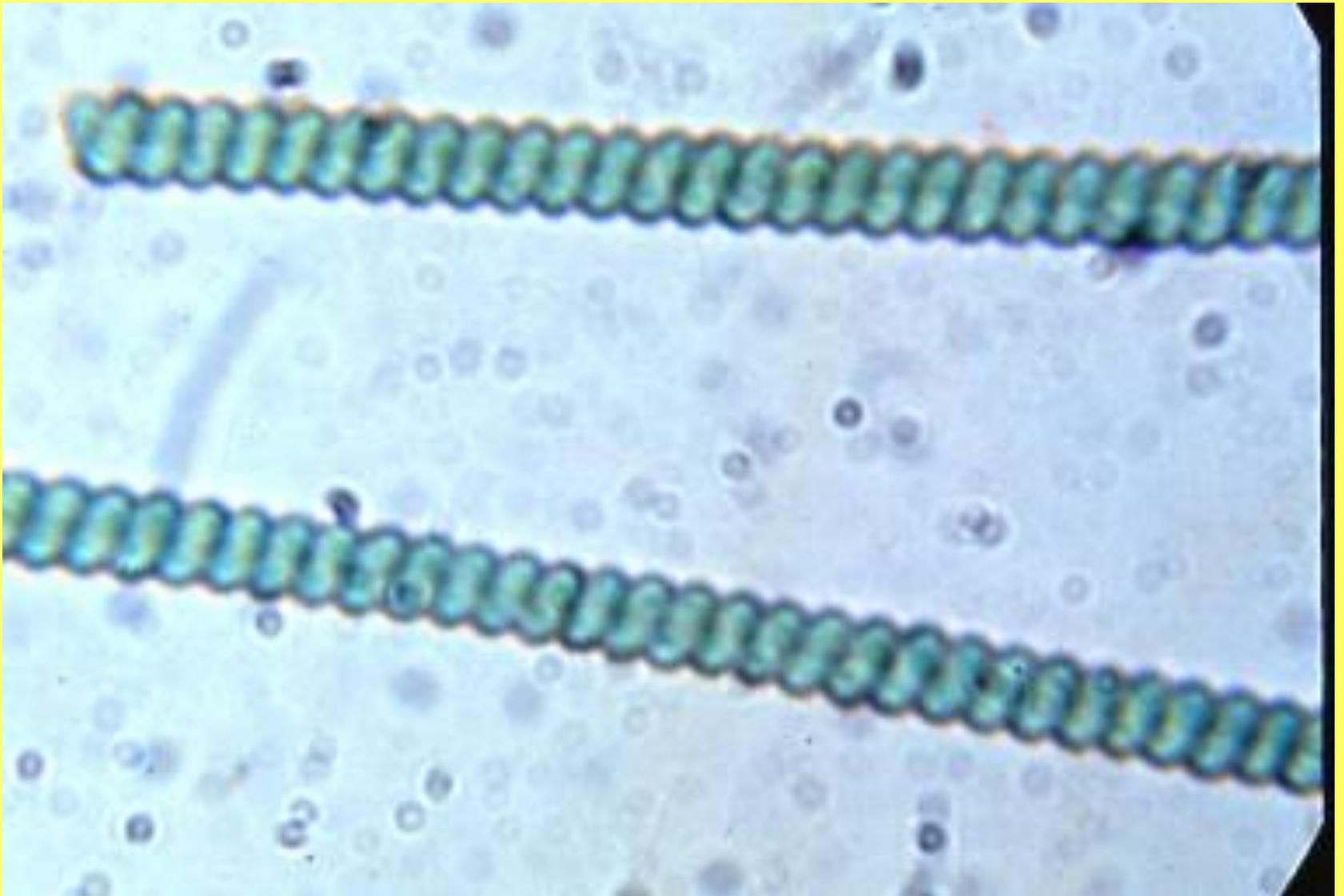
Batteri ammonioossidanti

Batteri nitritoossidanti

Fotosintesi

Fotosintesi ossigenica



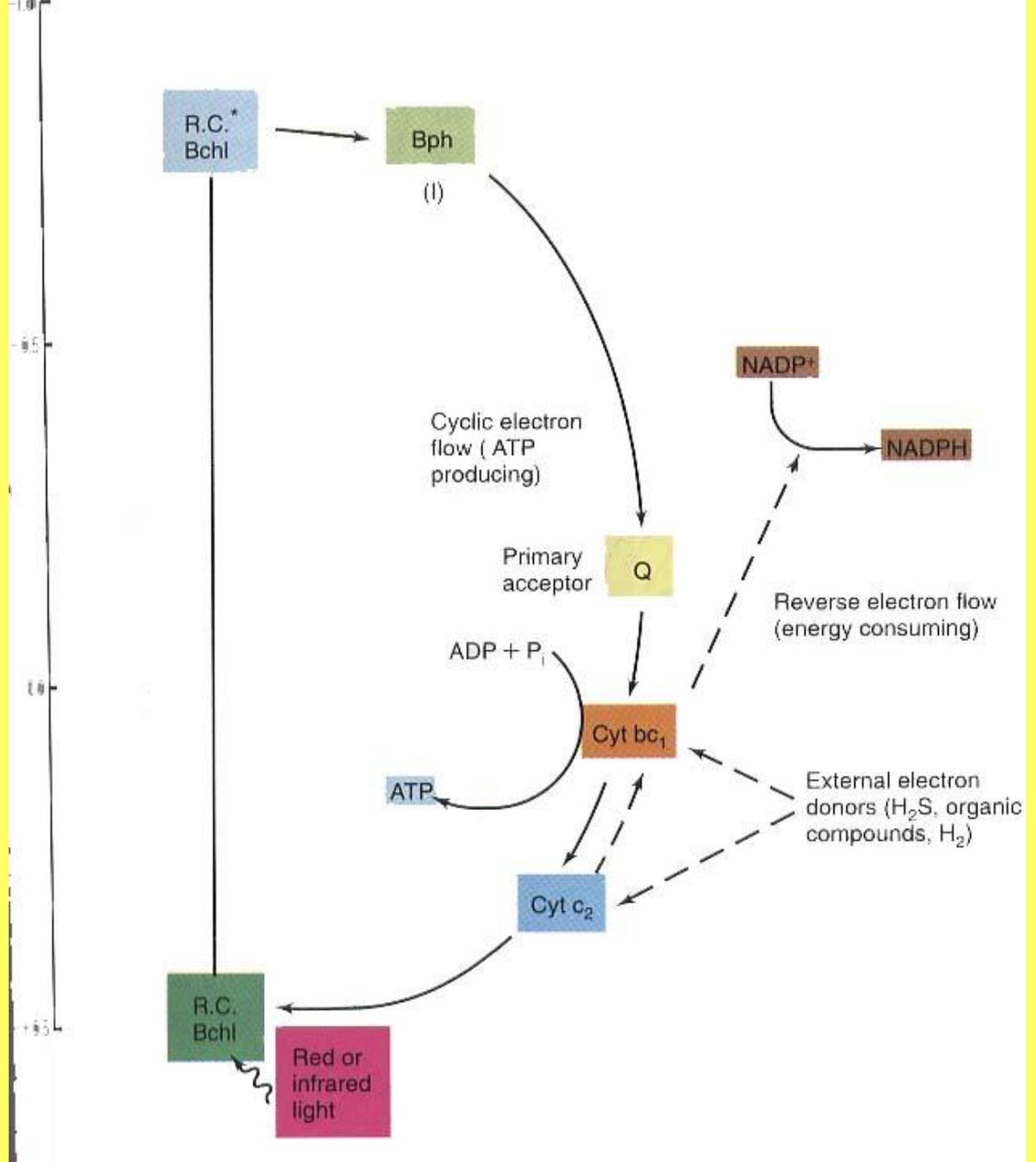


Spirulina subsalsa



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⁾	<i>Azotobacter</i> ⁽²⁾	<i>E. coli</i> prototrofo ⁽³⁾	<i>E. coli</i> 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 CO₂ e N₂ 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 culturale.

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