

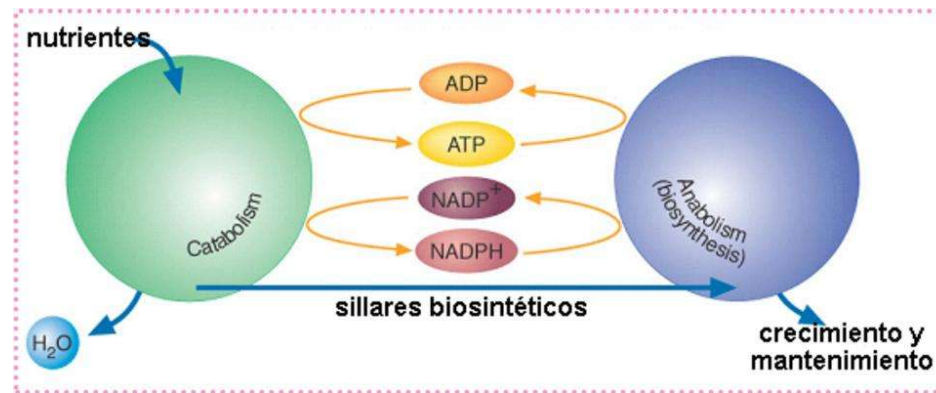
Metabolismo bacteriano

Bibliografía

- 1) Brock. Biology of Microorganisms. Madigan, Martinko, Stahl, Clark. 2011. 13ª edición en adelante.
- 2) The physiology and biochemistry of prokaryotes (2a. ed., 2000), de D. White, Oxford University Press.

Metabolismo

Conjunto de reacciones químicas que se dan en un organismo, catalizadas por un sistema enzimático cuya finalidad es el intercambio de materia y energía entre la célula y el entorno. Son todas las reacciones que ocurren en la célula



Finalidades

- ✓ **obtener energía química del entorno, almacenarla, para utilizar luego en diferentes funciones celulares,**
- ✓ **convertir los nutrientes exógenos en unidades precursoras de los componentes macromoleculares de la célula bacteriana - Vías Metabólicas Centrales**
- ✓ **formar y degradar moléculas necesarias** para funciones celulares específicas, como por ejemplo, movilidad y captación de nutrientes.

Clasificación del Metabolismo bacteriano

Por el tipo de **fFuente de Energía**:

- **Quimioorganótrofos**: compuestos orgánicos.
- **Quimiolitótrofos**: compuestos inorgánicos (H, H₂S, Fe)
- **Fotótrofos**: luz

Por el tipo de **fFuente de C**:

- **Autótrofos**: fijan CO₂ (Ciclo de Calvin o Inversión del Ciclo del ácido Cítrico u otras). Se necesita:

- ATP

- poder reductor (NADH o NADPH).

Ejemplo: mayoría fotótrofos y muchos quimiolitótrofos.

- **Heterótrofos**: compuestos orgánicos.

Ejemplos: todos los quimioorganotrofos.

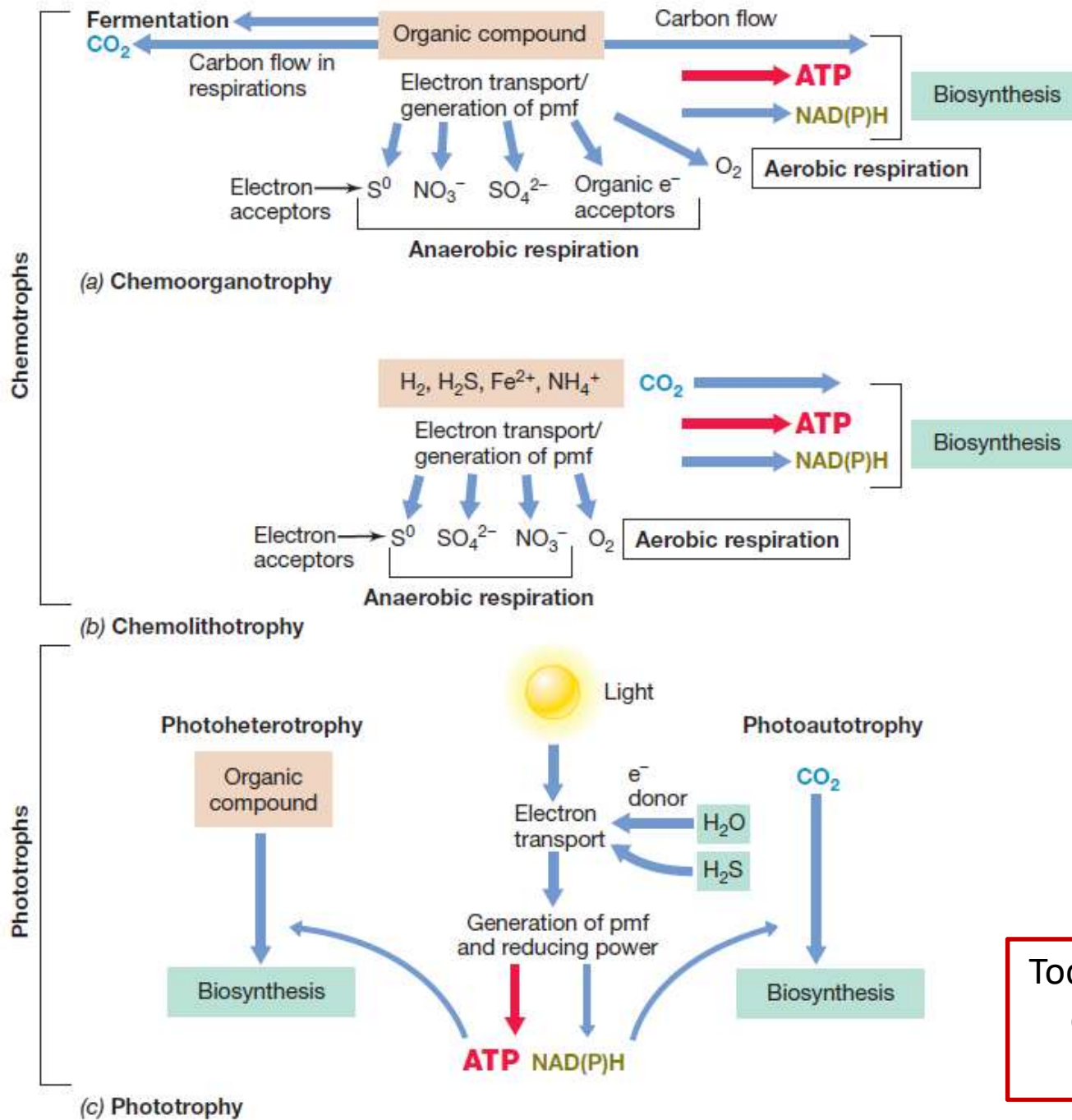


Figure 4.22 Catabolic diversity. (a) Chemoorganotrophs. (b) Chemolithotrophs. (c) Phototrophs. Chemoorganotrophs differ from chemolithotrophs in two important ways: (1) The nature of the electron donor (organic versus inorganic compounds, respectively) and (2) The nature of the source of cellular carbon (organic compounds versus CO_2 , respectively). However, note the important electron transport driving proton motive force formation in all forms of respiration and in photosynthesis.

Todos sintetizan ATP con energía liberada de reacciones redox

Fuente de Energía

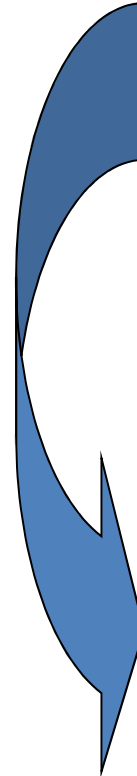
Energía



Compuestos
ceden e-

El dador de electrones es tan importante como el acepto. Sin uno de ellos, la reacción REDOX no puede ocurrir

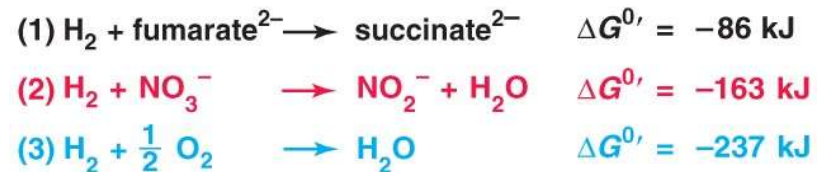
Potenciales de reducción



Redox couple

E_0' (V)

$\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-$ (-0.52) 2 e^-	-0.60
$\text{CO}_2/\text{glucose}$ (-0.43) 24 e^-	-0.50
$2\text{H}^+/\text{H}_2$ (-0.42) 2 e^-	-0.40
$\text{CO}_2/\text{methanol}$ (-0.38) 6 e^-	-0.30
NAD^+/NADH (-0.32) 2 e^-	-0.20
$\text{CO}_2/\text{acetate}$ (-0.28) 8 e^-	-0.10
$\text{S}^0/\text{H}_2\text{S}$ (-0.28) 2 e^-	0.0
FAD/FADH (-0.22) 2 e^-	+0.10
$\text{Pyruvate}/\text{lactate}$ (-0.19) 2 e^-	+0.20
$\text{SO}_3^{2-}/\text{H}_2\text{S}$ (-0.17) 6 e^-	+0.30
$\text{S}_4\text{O}_6^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ (+0.024) 2 e^-	+0.40
$\text{Fumarate}/\text{succinate}$ (+0.03) 2 e^-	+0.50
$\text{Cytochrome } b_{\text{ox/red}}$ (+0.035) 1 e^-	+0.60
$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (+0.2) 1 e^- , (pH 7)	+0.70
$\text{Ubiquinone}_{\text{ox/red}}$ (+0.11) 2 e^-	+0.80
$\text{Cytochrome } c_{\text{ox/red}}$ (+0.25) 1 e^-	+0.90
$\text{Cytochrome } a_{\text{ox/red}}$ (+0.39) 1 e^-	
$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ (+0.42) 2 e^-	
$\text{NO}_3^-/\frac{1}{2} \text{N}_2$ (+0.74) 5 e^-	
$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (+0.76) 1 e^- , (pH 2)	
$\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (+0.82) 2 e^-	



- El donador de e- es la **fente de E**, ya que en la reacción de donación de e- se libera energía.
- Cuanta mayor diferencia en E_0 , mayor E liberada.

Pasos secuenciales que deben seguir los nutrientes exógenos (la materia prima)

1-Transporte hacia el interior celular

2-Catabolismo. Vías metabólicas centrales

I-Formación de los precursores

II- La fuerza motora

-producción de ATP

-poder reductor almacenado en forma de NADH y NADPH

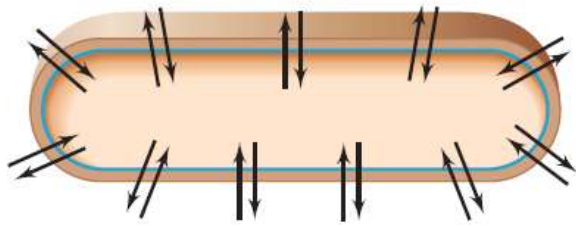
3-Reacciones anabólicas

a-Biosíntesis

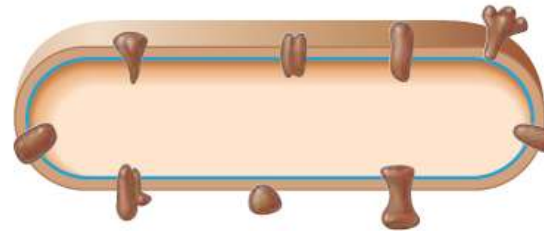
b-Polimerización

c-Ensamblado

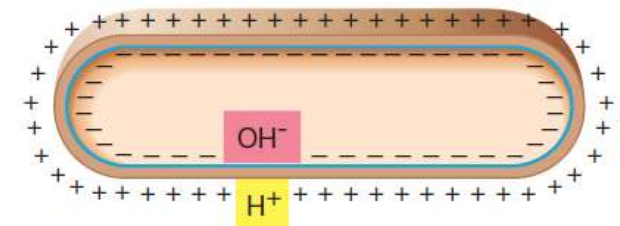
Transporte de Nutrientes



(a) **Permeability barrier:**
Prevents leakage and functions as a gateway for transport of nutrients into, and wastes out of, the cell



(b) **Protein anchor:**
Site of many proteins that participate in transport, bioenergetics, and chemotaxis



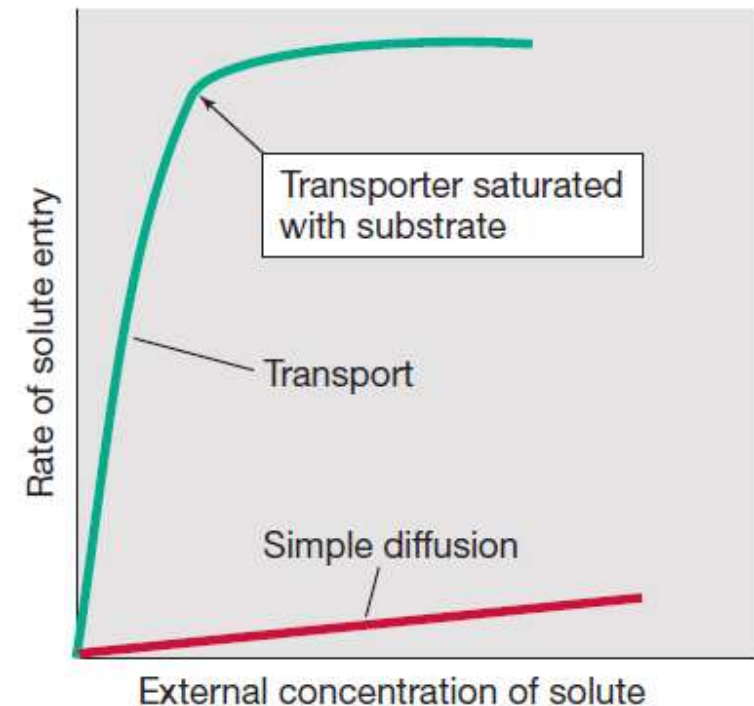
(c) **Energy conservation:**
Site of generation and use of the proton motive force

Table 3.2 Comparative permeability of membranes to various molecules

Substance	Rate of permeability ^a	Potential for diffusion into a cell
Water	100	Excellent
Glycerol	0.1	Good
Tryptophan	0.001	Fair/Poor
Glucose	0.001	Fair/Poor
Chloride ion (Cl ⁻)	0.000001	Very poor
Potassium ion (K ⁺)	0.0000001	Extremely poor
Sodium ion (Na ⁺)	0.00000001	Extremely poor

^aRelative scale—permeability with respect to permeability to water given as 100. Permeability of the membrane to water may be affected by aquaporins (see text).

La mayoría de las sustancias no penetran de modo pasivo en la célula, deben ser transportadas



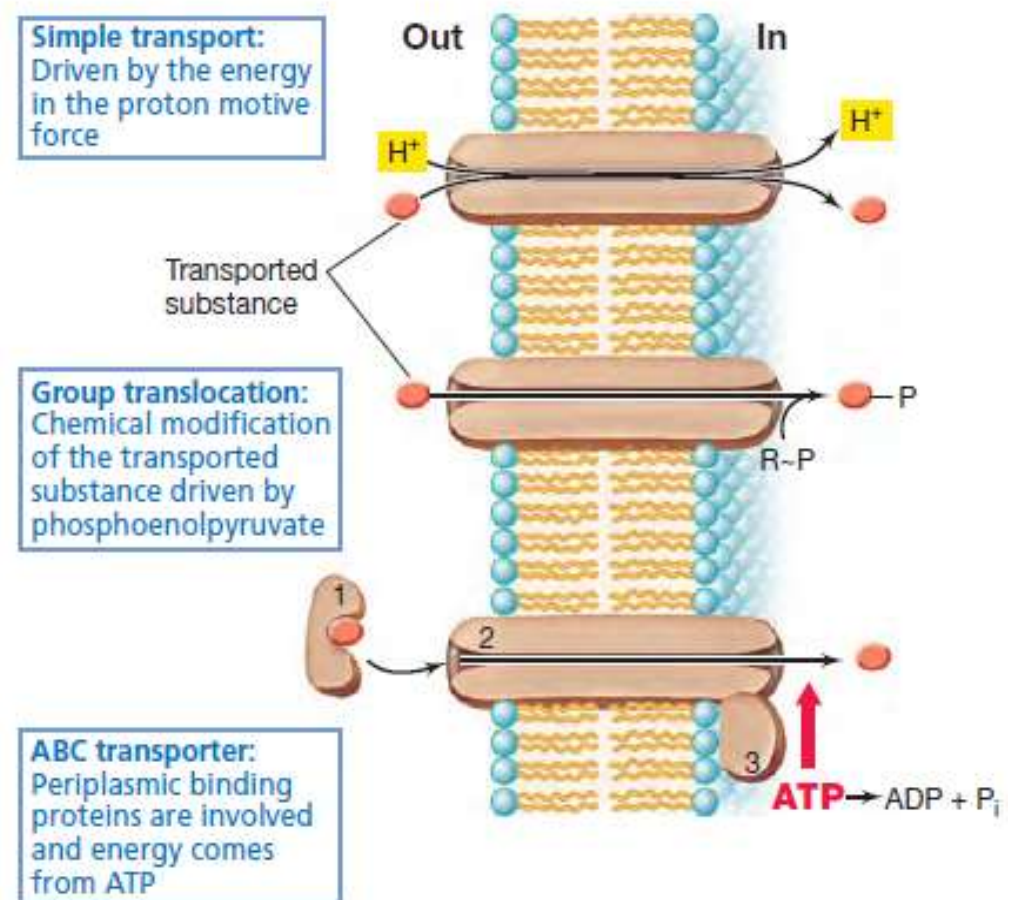
Sistemas de transporte bacterianos dependientes de energía

El proceso de transporte conlleva un cambio de conformación de la proteína transportadora tras su unión con el soluto y este cambio lleva al soluto al interior

La energía deriva de la fuerza protomotriz, de la hidrólisis del ATP o de otro compuesto orgánico de alta energía.

Según la fuente de energía se clasifica en:

- Primario
- Secundario
- Traslocación de grupo



Sistemas de transporte bacterianos dependientes de energía

Transporte primario

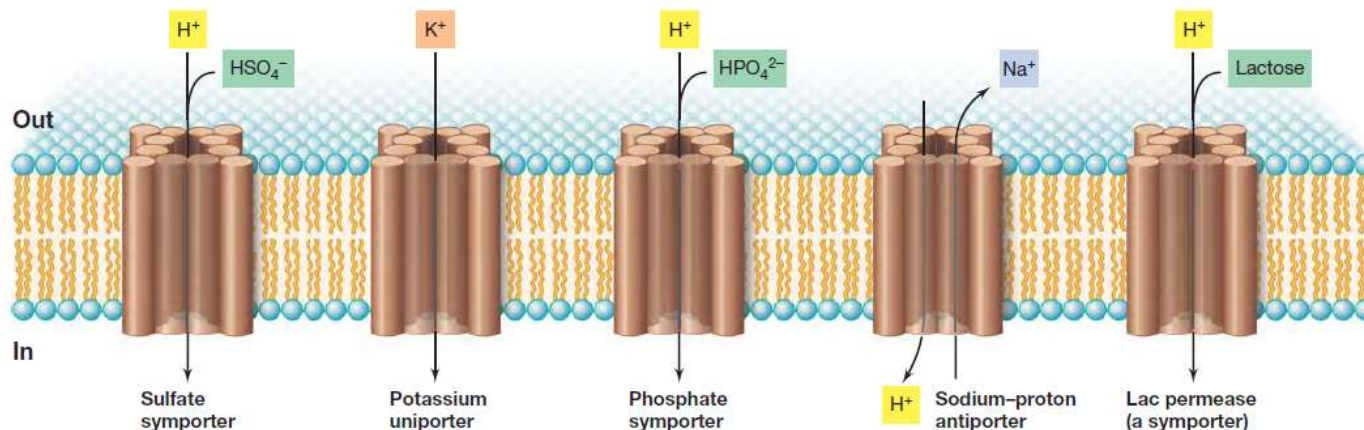
Conducidos por un evento metabólico productor de energía (exergónico)

- Traslocación de protones generada durante transporte de electrones o fotosíntesis
- Traslocación de protones generado por hidrólisis de ATP
- Transporte de Cl^- dirigido por luz (haloarqueas)
- Exporte de Na^+ acoplado a reacciones de decarboxilación de aminoácidos
- Transporte de solutos orgánicos o inorgánicos dirigidos por hidrólisis de ATP

Transporte secundario

La energía es aportada por un gradiente electroquímico generado por transporte primario

- Simporte: el soluto es transportado en la misma dirección que el H^+/Na^+
- Antiporte: el soluto es transportado en dirección opuesta al H^+/Na^+
- Uniporte: el ión es transportado a través del gradiente electroquímico sin involucrar cotransporte H^+/Na^+



Traslocación de grupo

Transporte acoplado a modificación química del soluto (ej: ingreso de azúcares dirigido por la transferencia de fosforilo desde el fosfoenolpiruvato, ingresa el azúcar fosforilado)

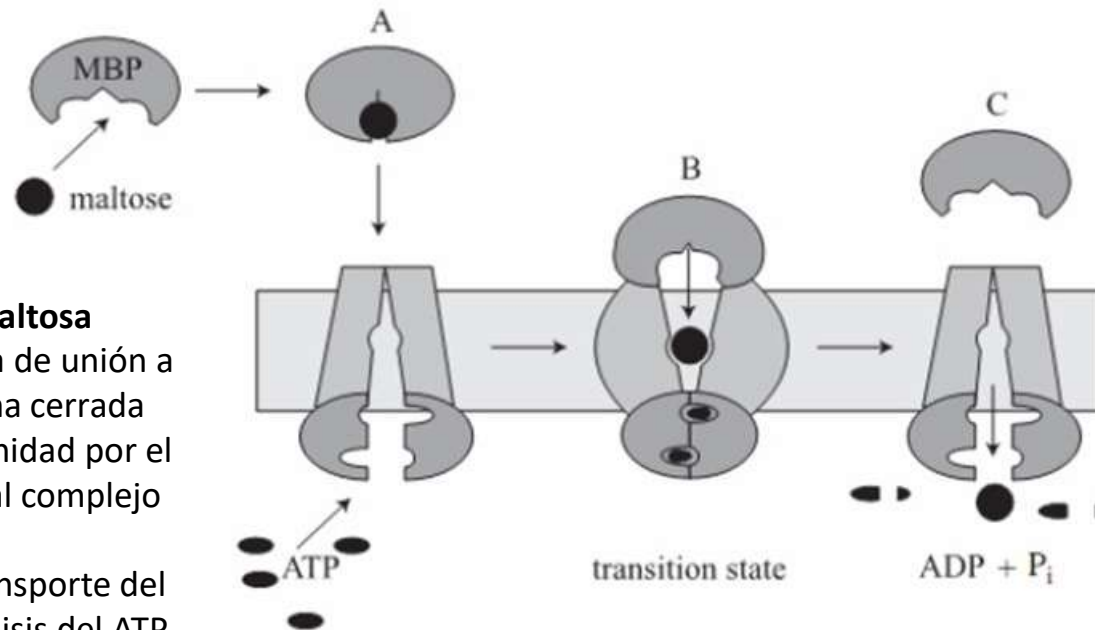
Transporte primario: transportadores ABC

Las bacteria Gram- poseen **proteínas de unión a solutos** en periplasma, que son liberadas por shock osmótico. Es un **sistema de transporte sensible a shock osmótico**.

Los solutos pasan la membrana externa a través de **porinas** y se unen a proteínas específicas en periplasma antes de ser transportados por un complejo unido a membrana. Este complejo une e hidroliza ATP para proveer energía al transporte (ATP-binding-cassette, ABC)

Este tipo de sistema es usado para el transporte de azúcares, aminoácidos, nucleótidos, iones, y para exportar proteínas y compuestos tóxicos.

Existen homólogos a las proteínas tipo ABC en todos los organismos



Transporte de maltosa

A. MBP (proteína de unión a maltosa), la forma cerrada presenta alta afinidad por el azúcar y se une al complejo de membrana.

B. Se inicia el transporte del azúcar y la hidrólisis del ATP.

C. La maltosa es trasladada y se libera MBP

Las bacterias Gram+ podrán tener este tipo de transportadores?

Las bacterias utilizan transportadores ABC y bombas dependientes de H⁺ para exportar solutos

Sistemas de transporte que confieren resistencia a drogas (Multidrug Resistance, MDR)

Transportadores ABC:

Ej: bomba exportadora de arsénico (*E. coli*); transportadores de drogas (*Lactococcus lactis*); transporte de doxorubicina y daunorubicina (*Streptomyces peucetius*, productor de estos ATB), eflujo de bacitracina (*B. subtilis* y *S. aureus*), resistencia a péptidos antimicrobianos (*Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile*), etc.

Transportadores secundarios:

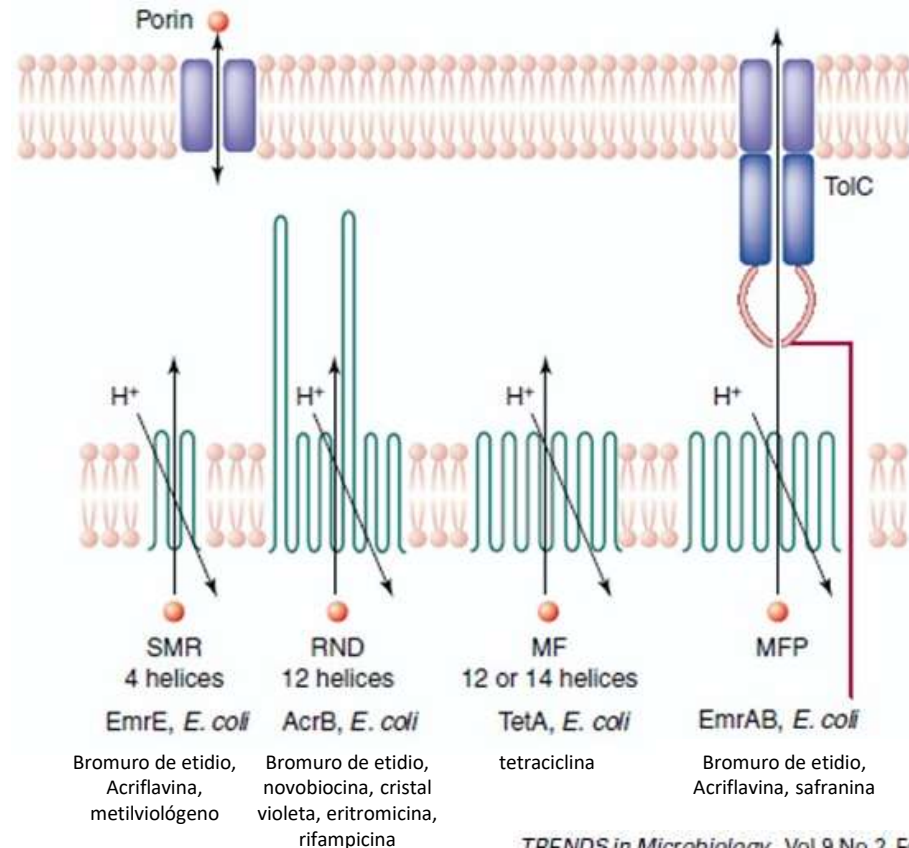
Utilizan energía del gradiente de protones o Na⁺. Presentes en Gram- y +

SMR: small multidrug transporters

RND: resistance-nodulation-cell division transporters

MF: major facilitator transporters

Los transportadores MF y RND pueden actuar en conjunto con una proteína de fusión de membrana (MFP) y una de membrana externa (OMP, outer membrane protein) como TolC, para trasladar drogas a través de ambas membranas en bacterias Gram-



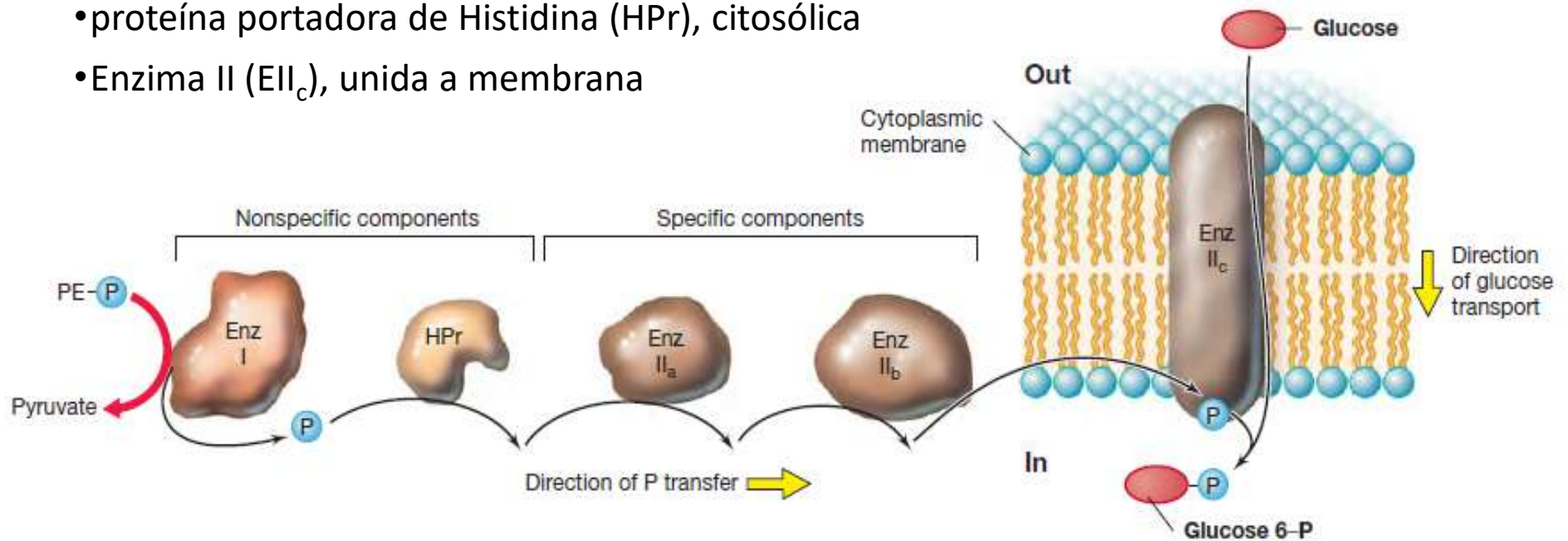
Traslocación de grupo: sistema fosfotransferasa (PTS)

Sistema compuesto por varias proteínas que transfieren un grupo fosfato (phosphorelay) y acoplan el transporte del soluto a través de la membrana citoplasmática con su fosforilación simultánea. Usado para transportar carbohidratos.

Es un sistema único de bacterias, no hay homólogos en arqueas ni en eucariotas

Está compuesto por al menos tres proteínas:

- Enzima I (EI), citosólica
- proteína portadora de Histidina (HPr), citosólica
- Enzima II (EII_c), unida a membrana

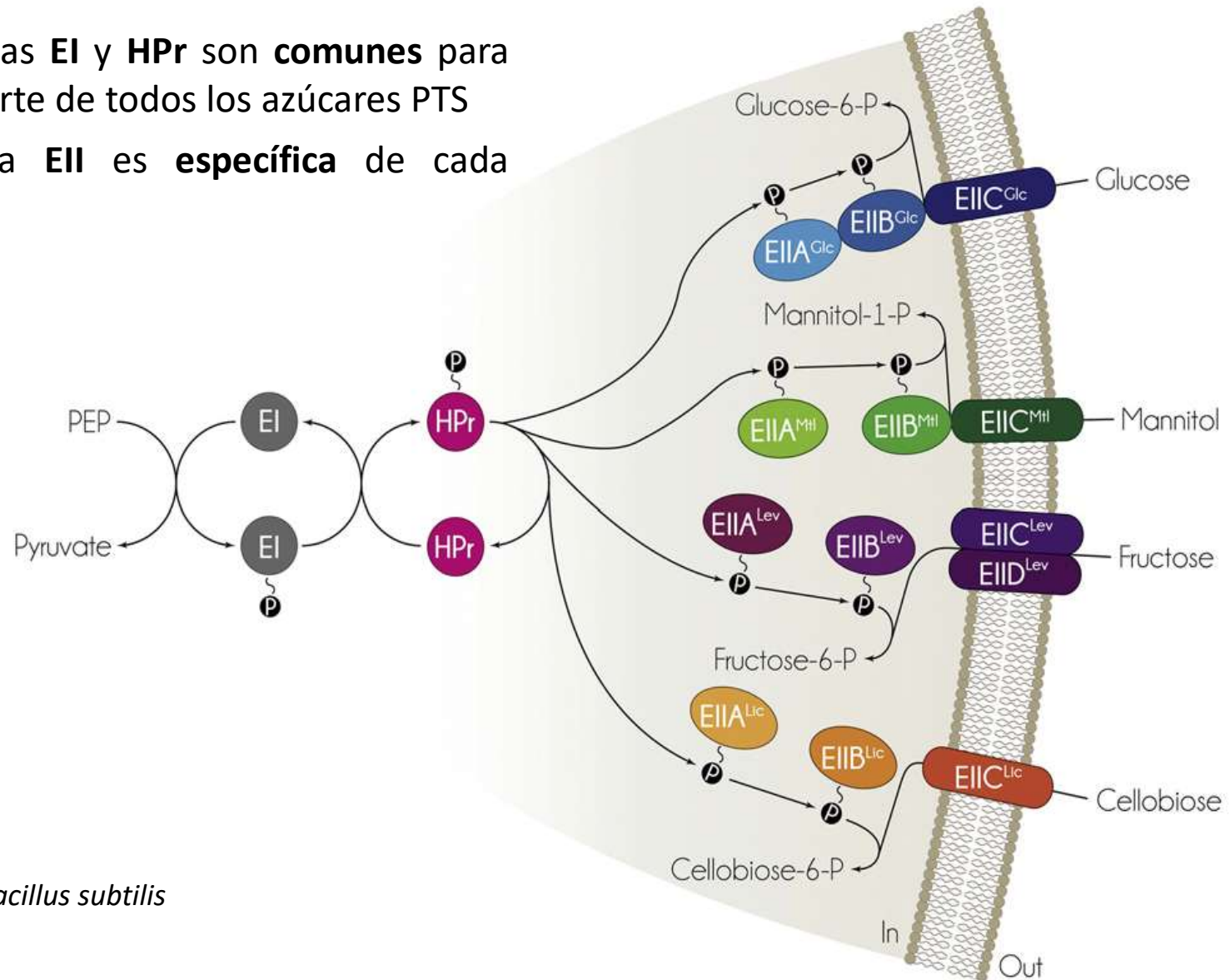


De dónde proviene el fosfoenolpiruvato?

Traslocación de grupo: sistema fosfotransferasa (PTS)

Las enzimas **EI** y **HPr** son **comunes** para el transporte de todos los azúcares PTS

La enzima **EII** es **específica** de cada sustrato



Bacillus subtilis

Traslocación de grupo: sistema fosfotransferasa (PTS)

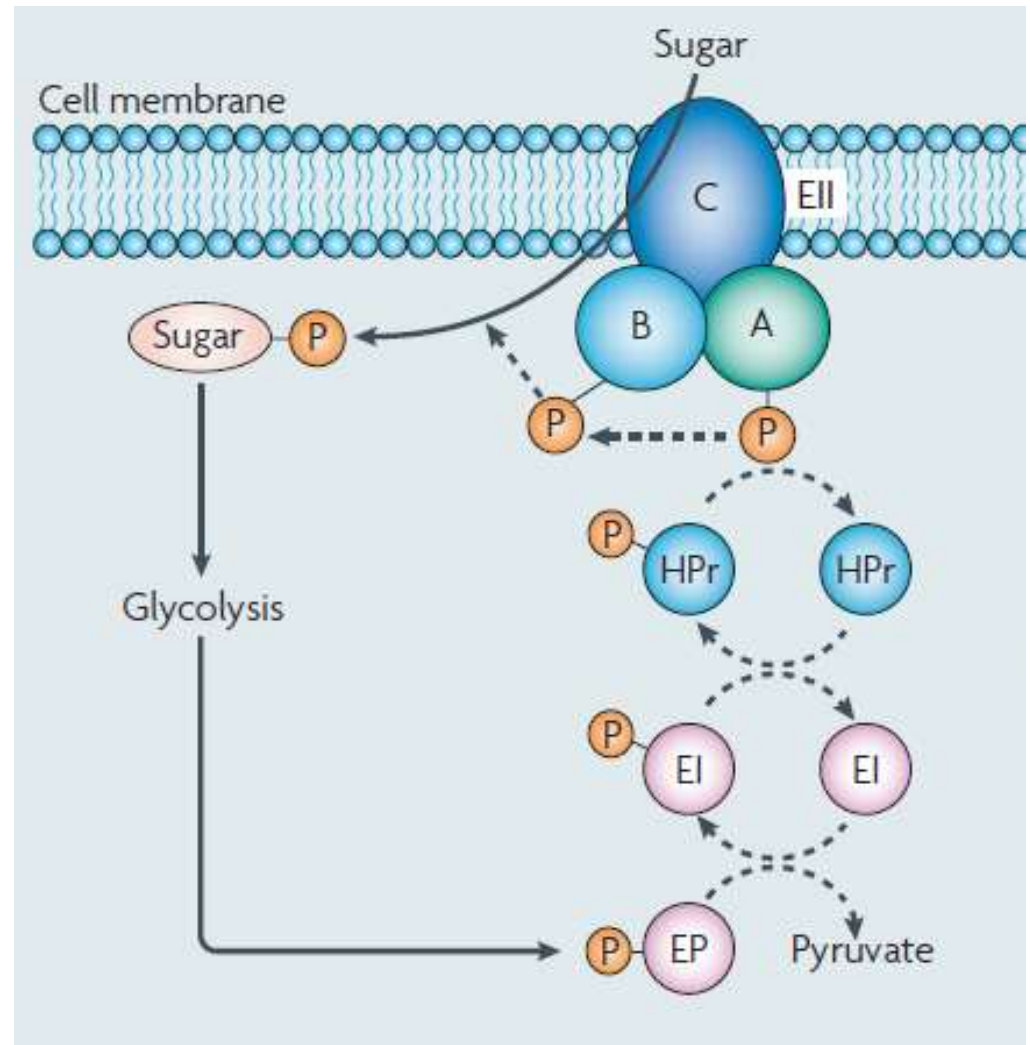
Las transferencias de fosfatos entre las proteínas del PTS son **reversibles**

El estado de fosforilación de las proteínas depende de:

- Actividad del transportador PTS
- Relación piruvato/fosfoenolpiruvato (flujo glicolítico)

➡ modulado por **condiciones nutricionales**

➡ Sirve como sistema de **señalización** y **regulación** metabólica



Sistemas de transporte de solutos en procarionotas: resumen

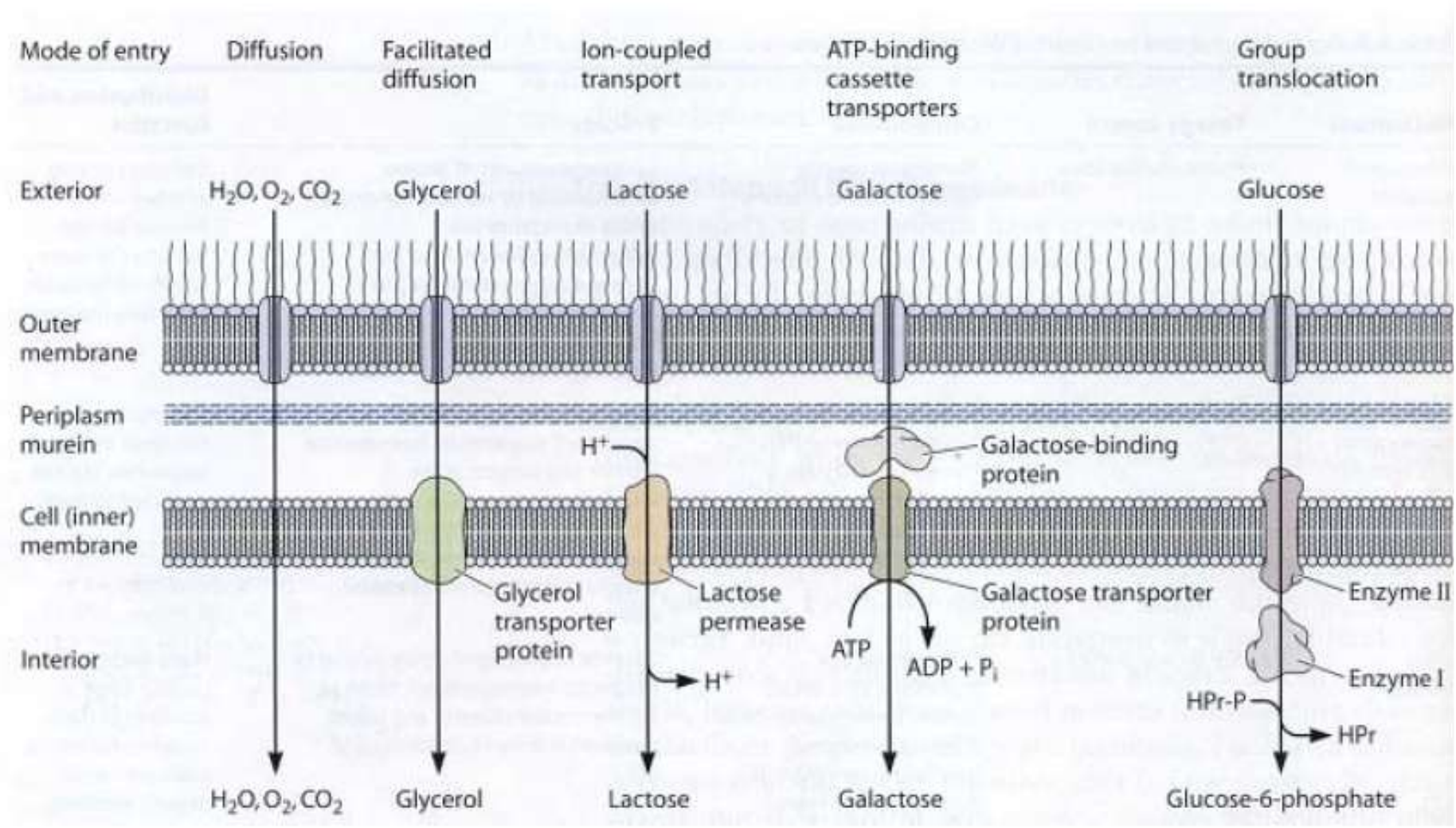
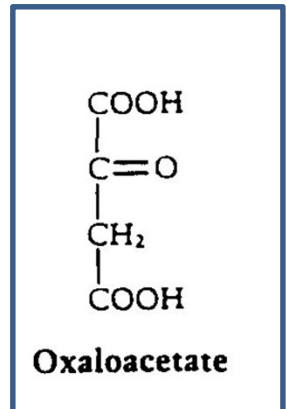
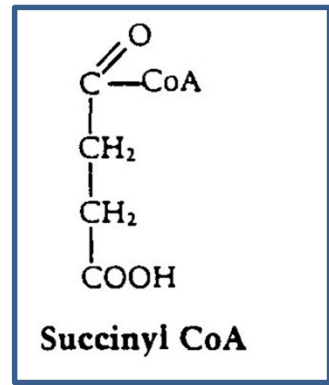
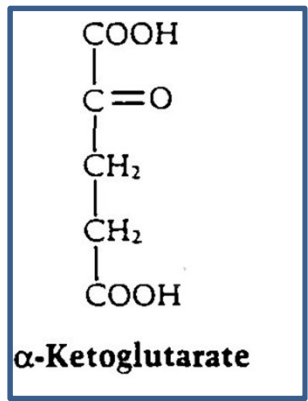
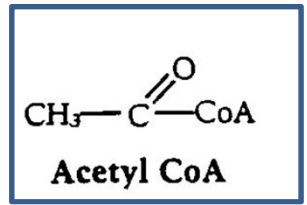
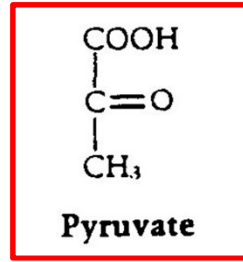
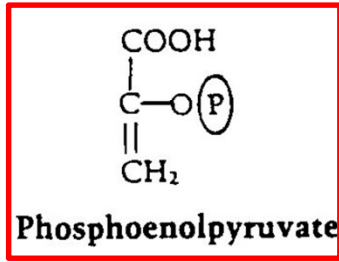
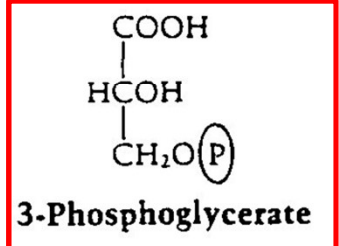
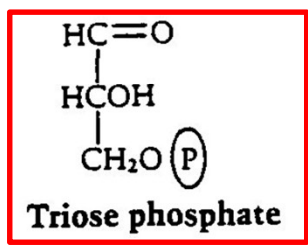
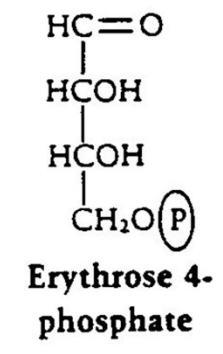
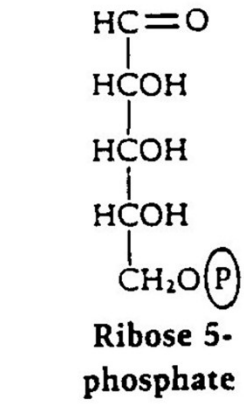
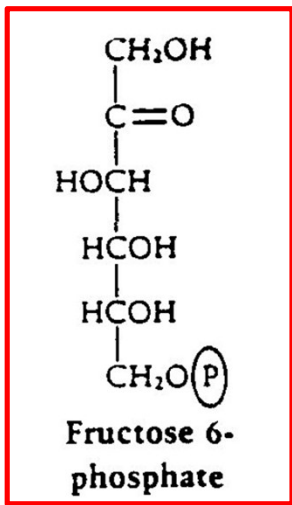
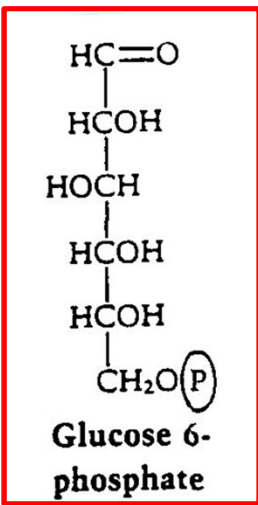


Table 6.8 Examples of active transport of solutes in prokaryotes

Mechanism	Energy source	Components	Process	Distribution and function
Ion-coupled transport	Proton motive force	Membrane: specific transmembrane proteins	Symport: transport of proton accompanied by transport of neutral solute or negative ion Antiport: two like-charged ions transported simultaneously in opposite directions Uniport: single molecule transported driven by electrochemical gradient	Common among aerobes Responsible for transport of some sugars, amino acids, and many inorganic ions
Group translocation (PTS system)	Phosphoenolpyruvate (PEP)	Cytoplasm: enzyme I and histidine protein (HPr) Membrane: enzymes II (specific proteins for different substrates), which have multiple subunits	The phosphoryl group of PEP is transferred sequentially from enzyme I to HPr to a subunit of the appropriate enzyme II, which phosphorylates the incoming solute, usually a sugar; another subunit of enzyme II forms the translocation channel.	Common for sugar transport in anaerobes, but not restricted to them
ABC transport	ATP (or acetyl- PO_4)	Periplasm (G^-) or membrane (G^+): set of specific binding proteins for different substrates Membrane: two channel proteins, two ATPases	Cassette consisting of solute bound to its specific binding protein docks at the membrane channel, and solute transport is driven by hydrolysis of ATP.	Many bacteria contain large numbers of these cassettes for amino acids and other organic nutrients.
Iron siderophore transport	ATP	Envelope: group of eight or more proteins that span all layers of the envelope Secreted siderophore (a chelator of Fe^{3+})	The siderophore (enterochelin is one of <i>Escherichia coli</i> 's) is made and secreted; after binding Fe^{3+} , it is transported across all layers of the envelope by the eight-protein envelope complex.	Common among many pathogens and others living in Fe-poor environments

Vías Metabólicas Centrales

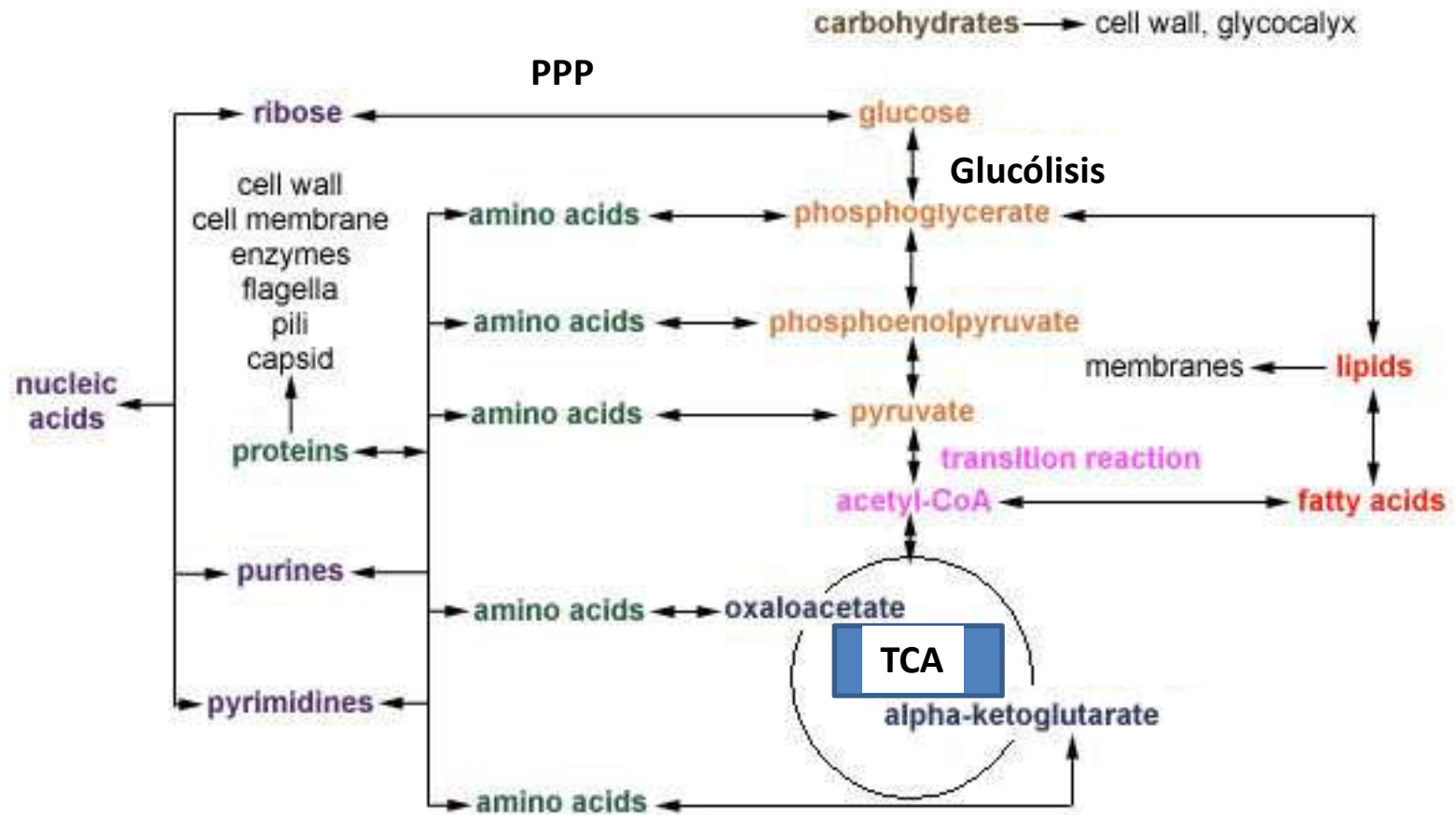
Formación de precursores



E. coli puede sintetizar todos sus componentes a partir de estos 12 metabolitos precursores

Qué vías metabólicas los producen?

Procesos metabólicos desde la glucosa a la síntesis



La célula requiere un mínimo de tres vías para producir los precursores
 La glucólisis produce seis, el TCA cuatro y la vía de las PPP produce otros dos

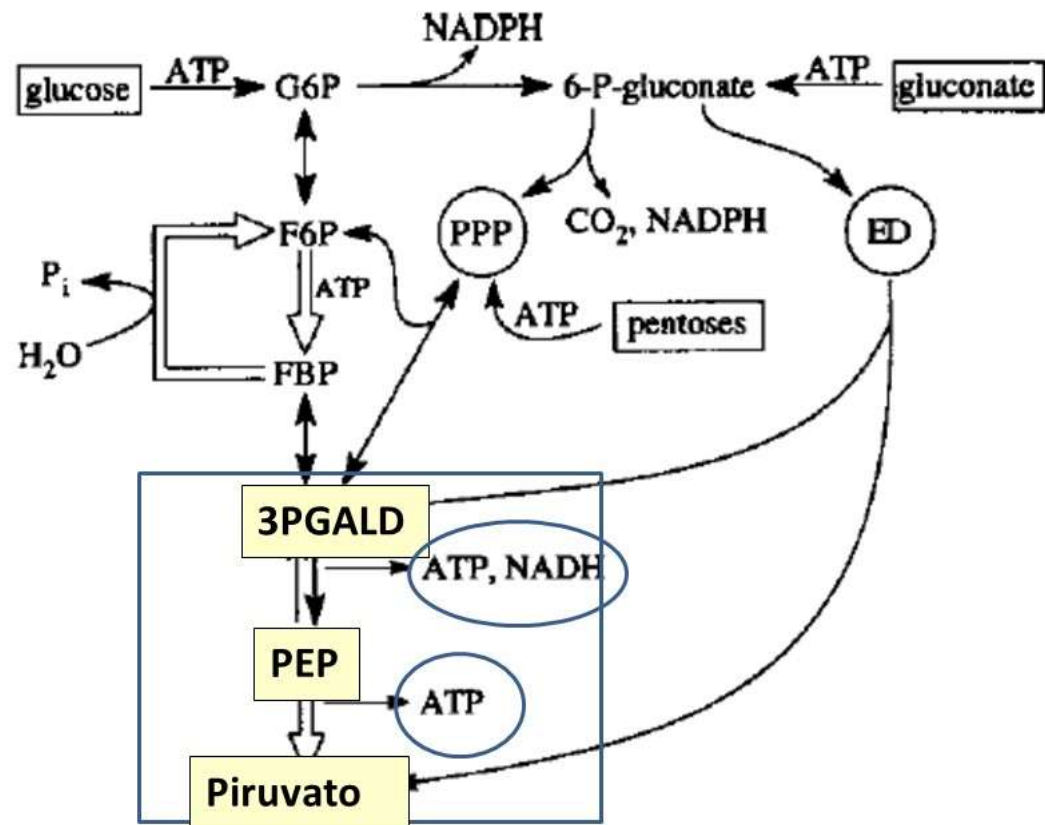
Vías metabólicas centrales:

Proveen los precursores para todas las otras vías metabólicas

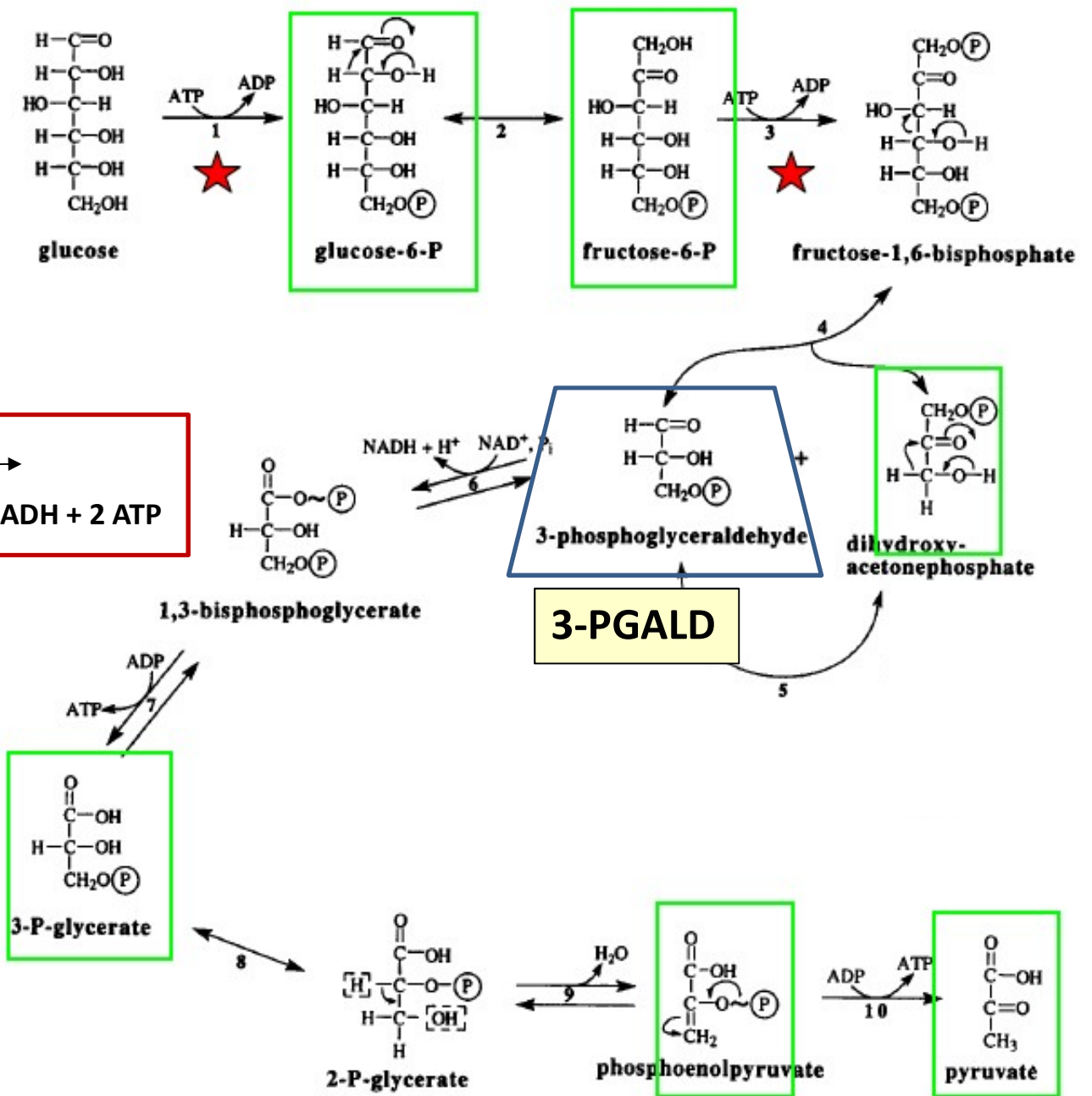
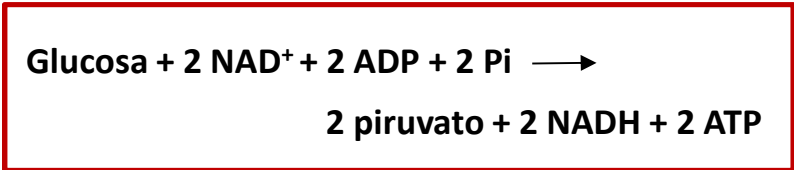
Rutas glucolíticas

- Embden – Meyerhof - Parnas (EMP)
- Pentosas fosfato (PPP)
- Entner Doudoroff (ED)

- Las tres vías convierten glucosa en gliceraldehído-3P, aunque por rutas diferentes
- El gliceraldehído-3P se oxida a piruvato por las mismas reacciones en las tres vías



Vía Embden - Meyerhof - Parnas (EMP) Glicólisis



Glucolisis como vía anabólica

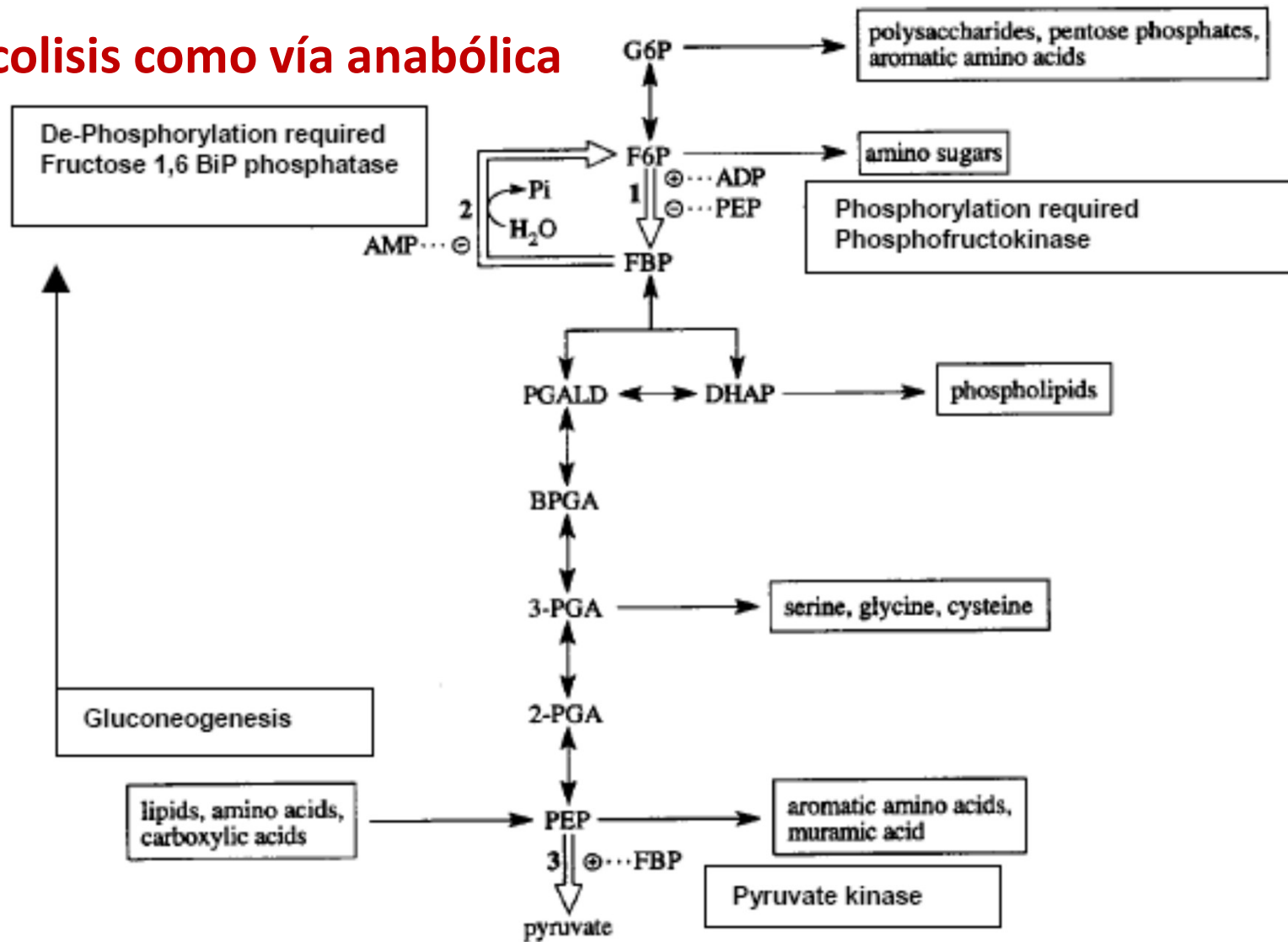
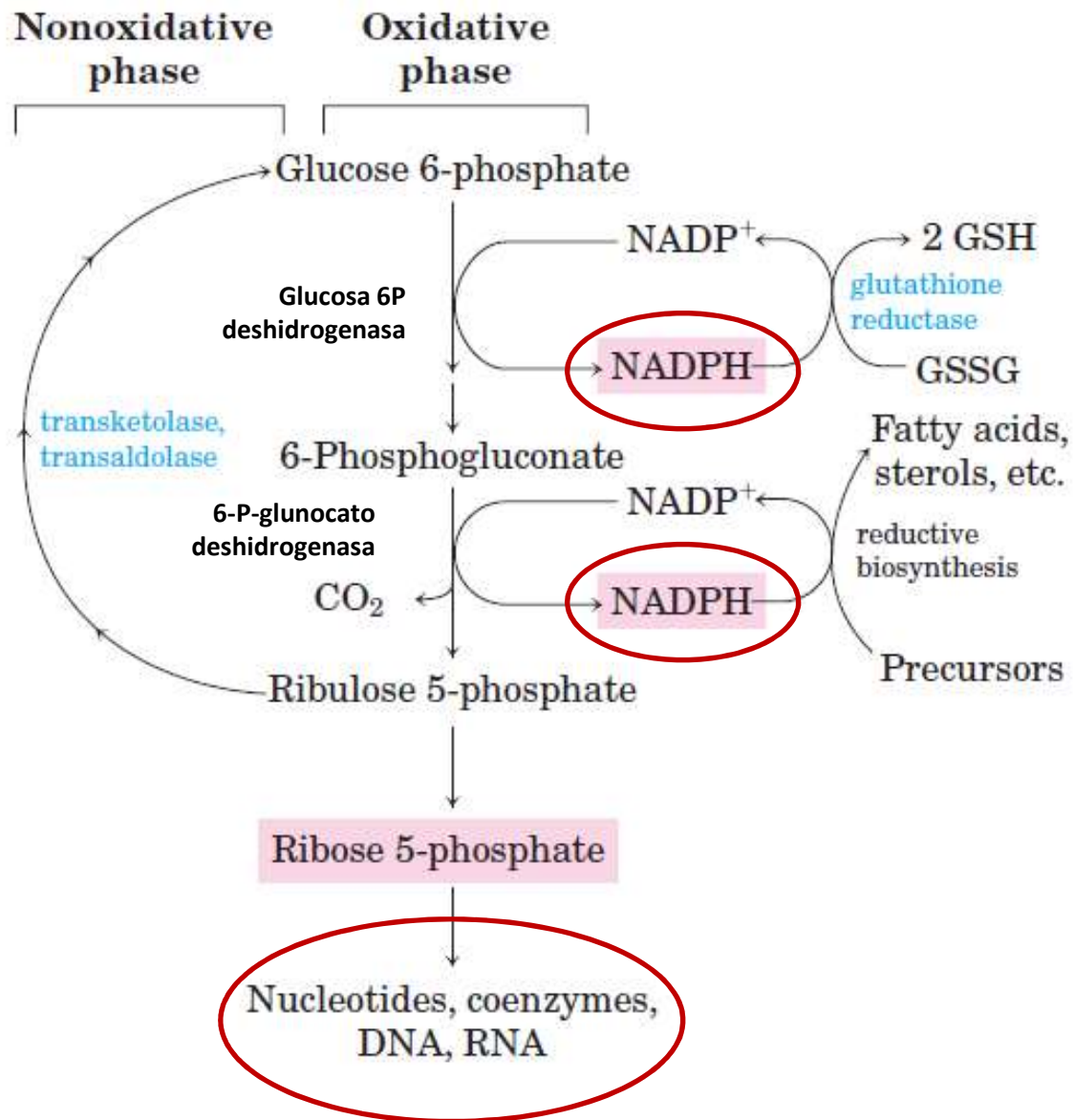
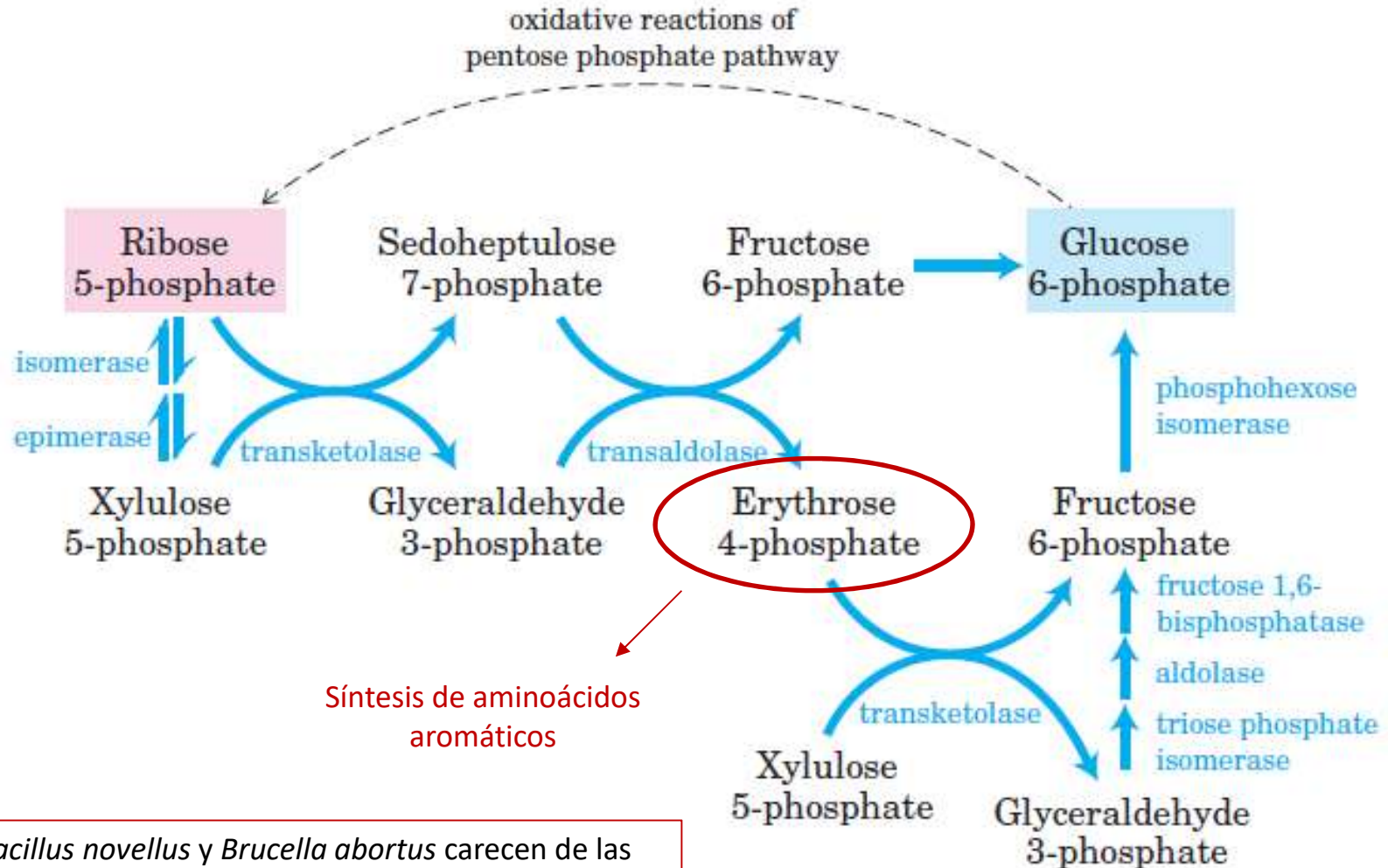


Fig. 8.3 Glycolysis as an anabolic pathway and its regulation in *E. coli*. The rationale for the pattern of regulation is that when the ADP and AMP levels are high, the ATP levels are low and therefore glycolysis is stimulated. Steady-state levels of intermediates are maintained by positive and negative feedback inhibition.

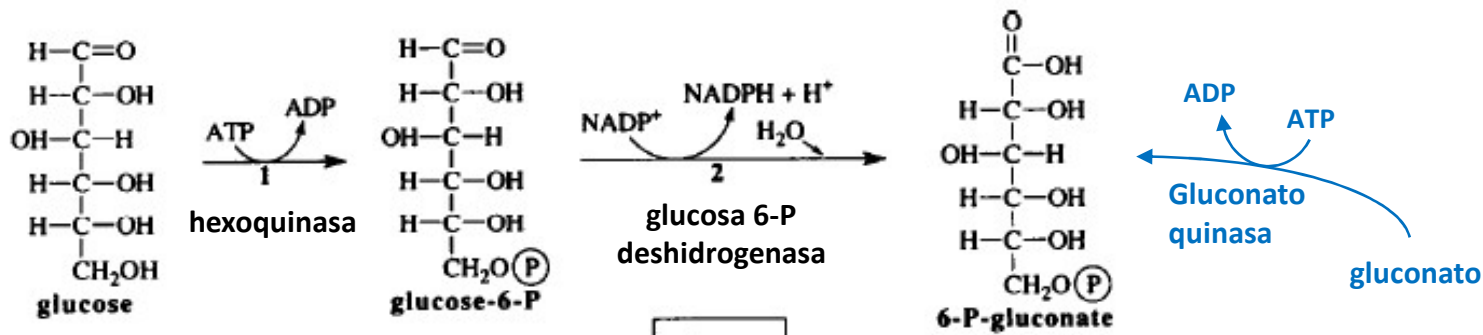
Vía de las pentosas fosfato (PPP)



Vía de las pentosas fosfato (PPP)

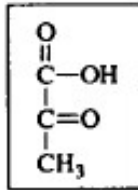


Thiobacillus novellus y *Brucella abortus* carecen de las enzimas necesarias para la primera etapa de la glicólisis y la vía ED, obtienen energía a partir de glucosa sólo por su oxidación usando la vía de las pentosas fosfato



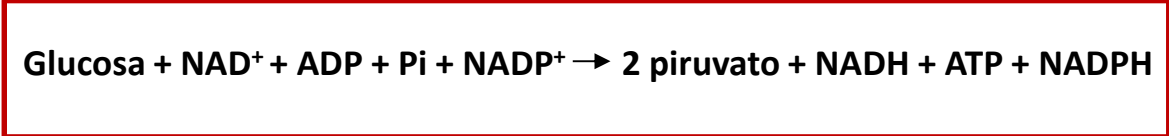
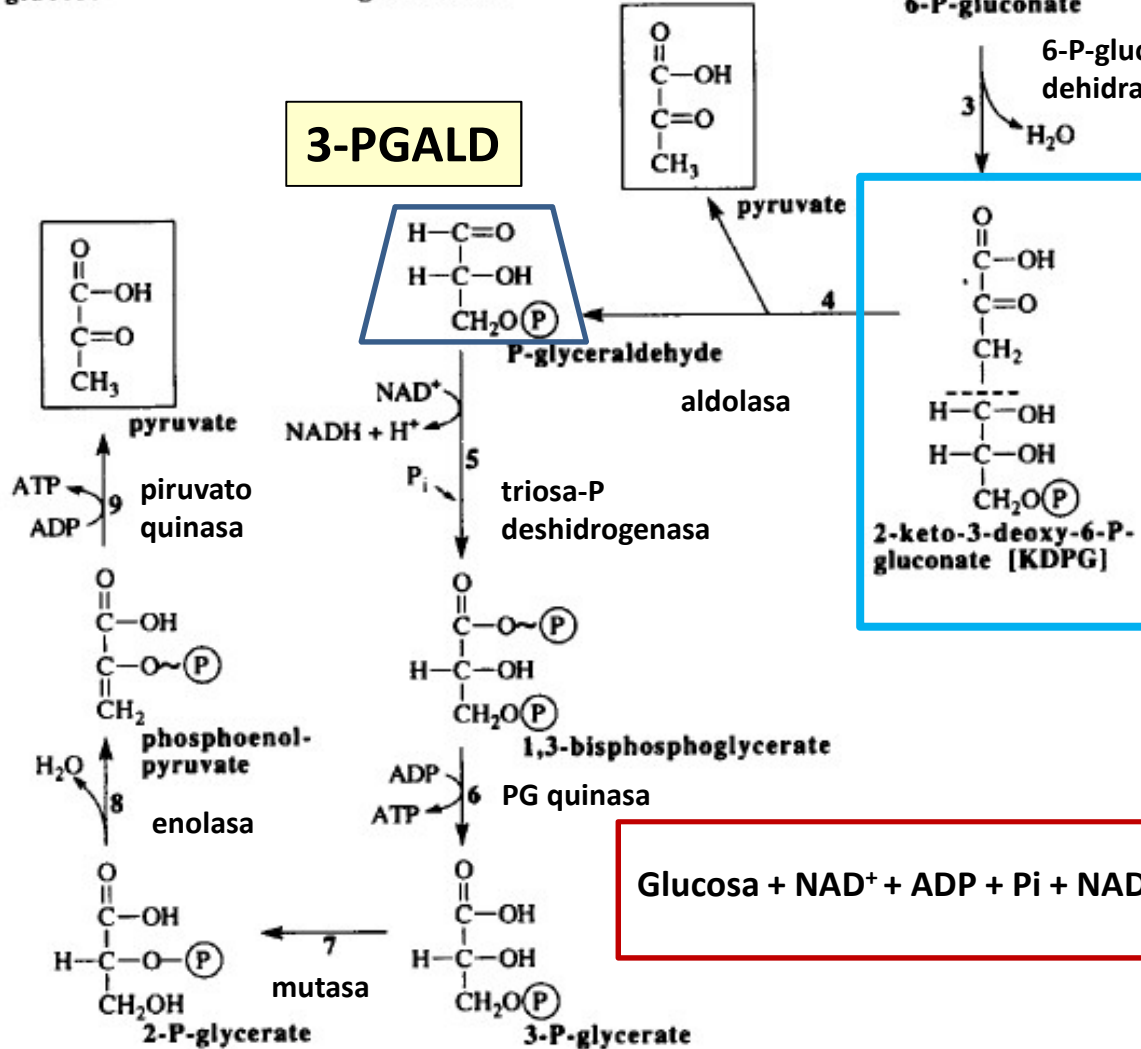
6-P-gluconato deshidratasa

3-PGALD



Via Entner- Doudoroff (ED)

- Ausente en eucariotas. Común en bacterias aeróbicas Gram-
- Bacterias que carecen de fosfofructoquinasa o fructosa bisfosfato aldolasa
- Crecimiento en ácidos aldónicos
- No suele encontrarse en bacterias aneróbicas
- Rendimiento energético menor que la EMP

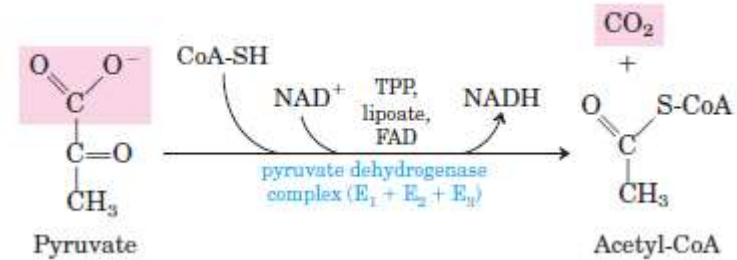


Destinos del piruvato

1. Oxidación del piruvato a Acetil-CoA

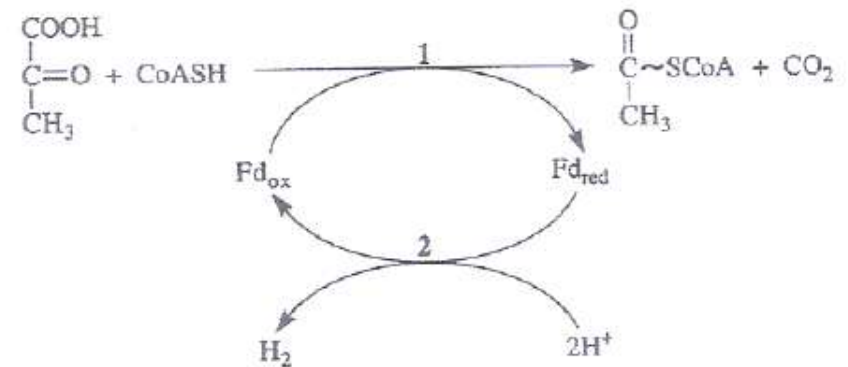
Aerobiosis

- Piruvato Deshidrogenasa

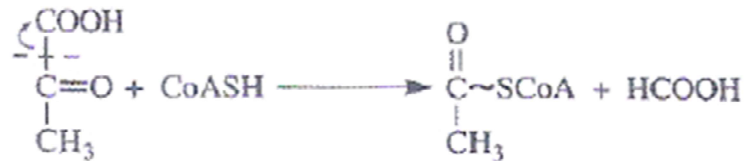


Anaerobiosis

- Piruvato Ferredoxina oxido-reductasa



- Piruvato formato liasa



2. Formación de alcoholes o ácidos orgánicos

Ciclo de Krebs

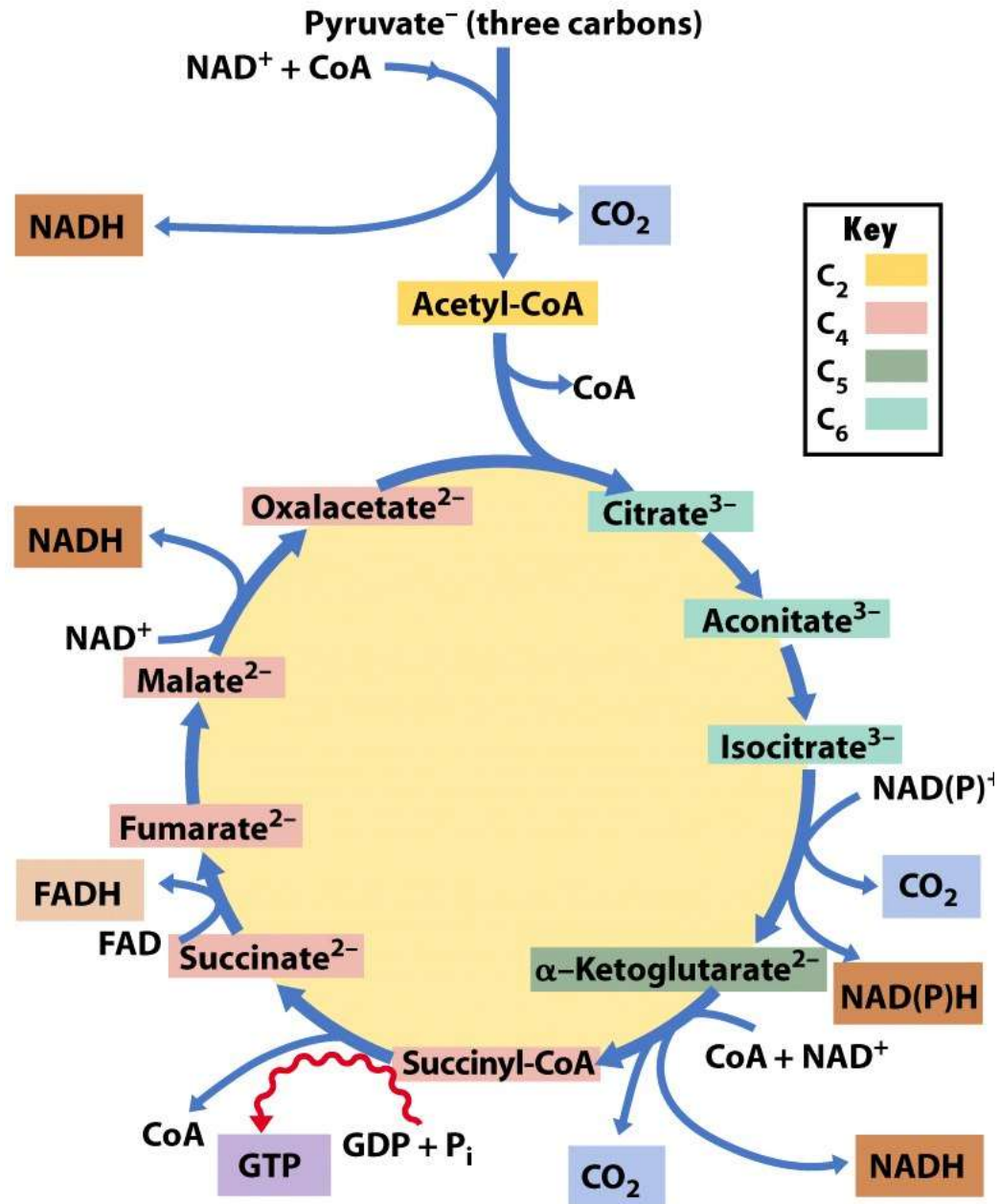
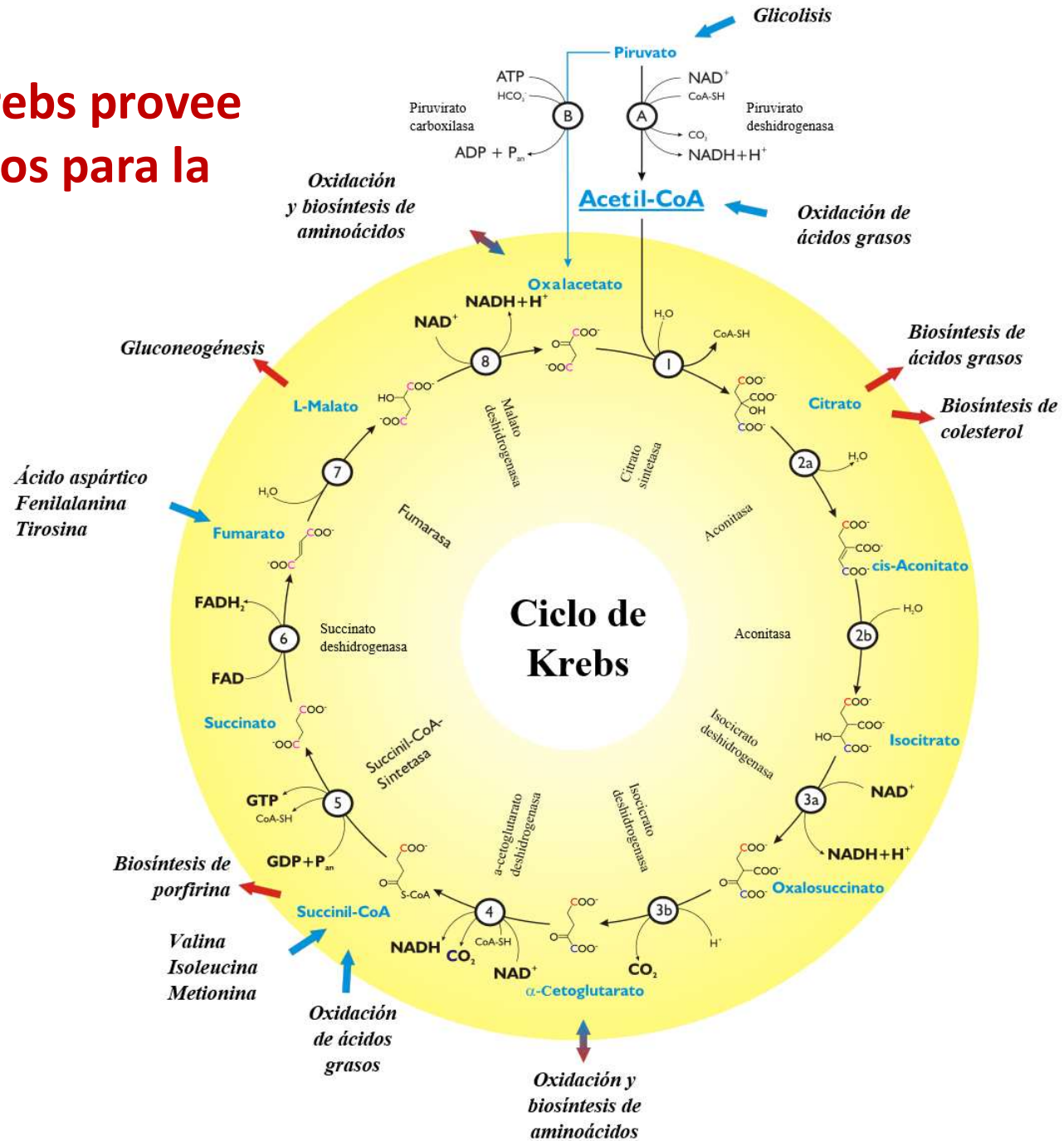


Figure 5-22a Brock Biology of Microorganisms 11/e
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

El ciclo de Krebs provee intermediarios para la biosíntesis



Ciclo de Krebs reductivo

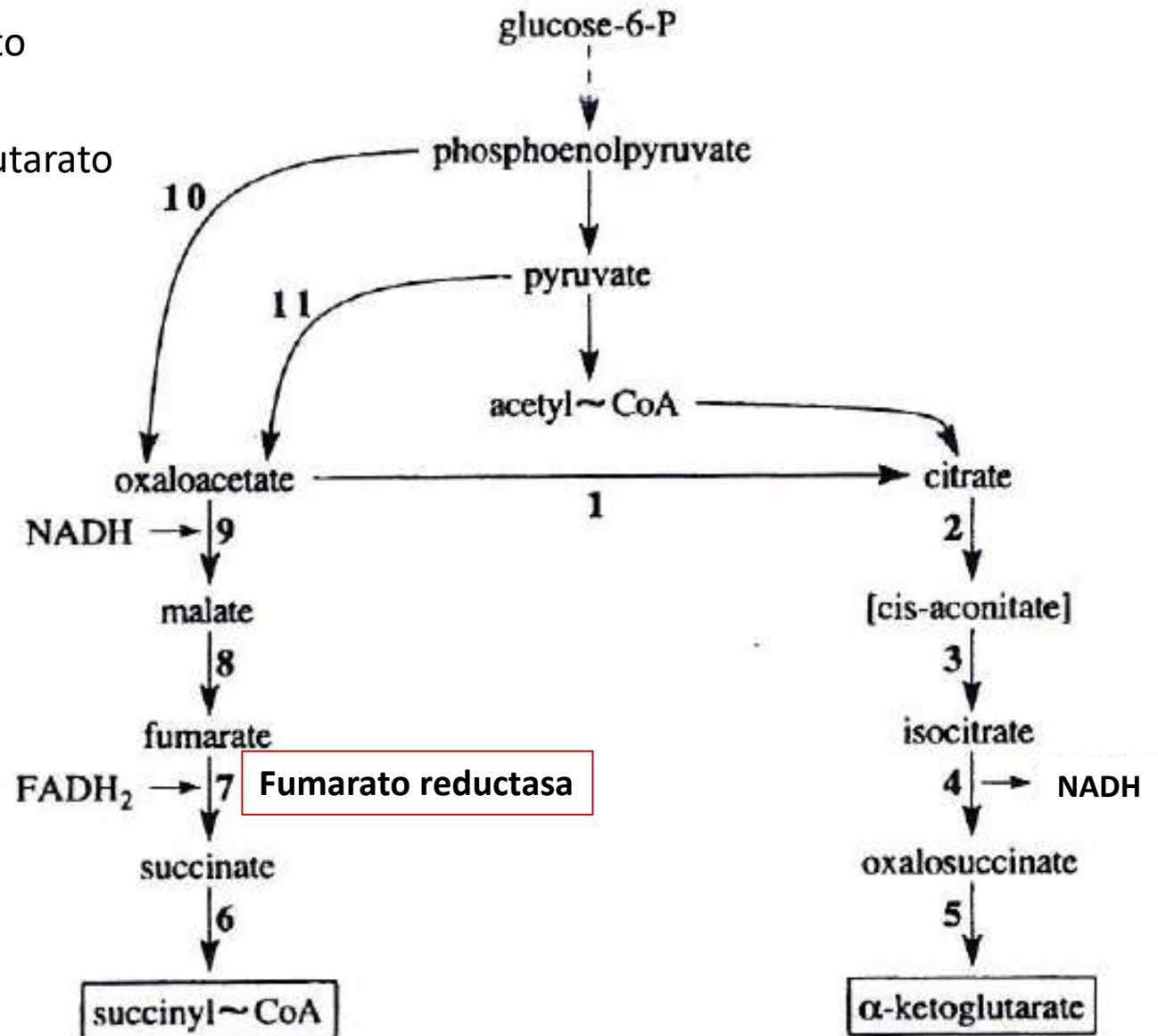
Ocurre durante crecimiento fermentativo

No hay actividad α -cetoglutarato deshidrogenasa

La enzima **fumarato reductasa** reemplaza a la succinato deshidrogenasa

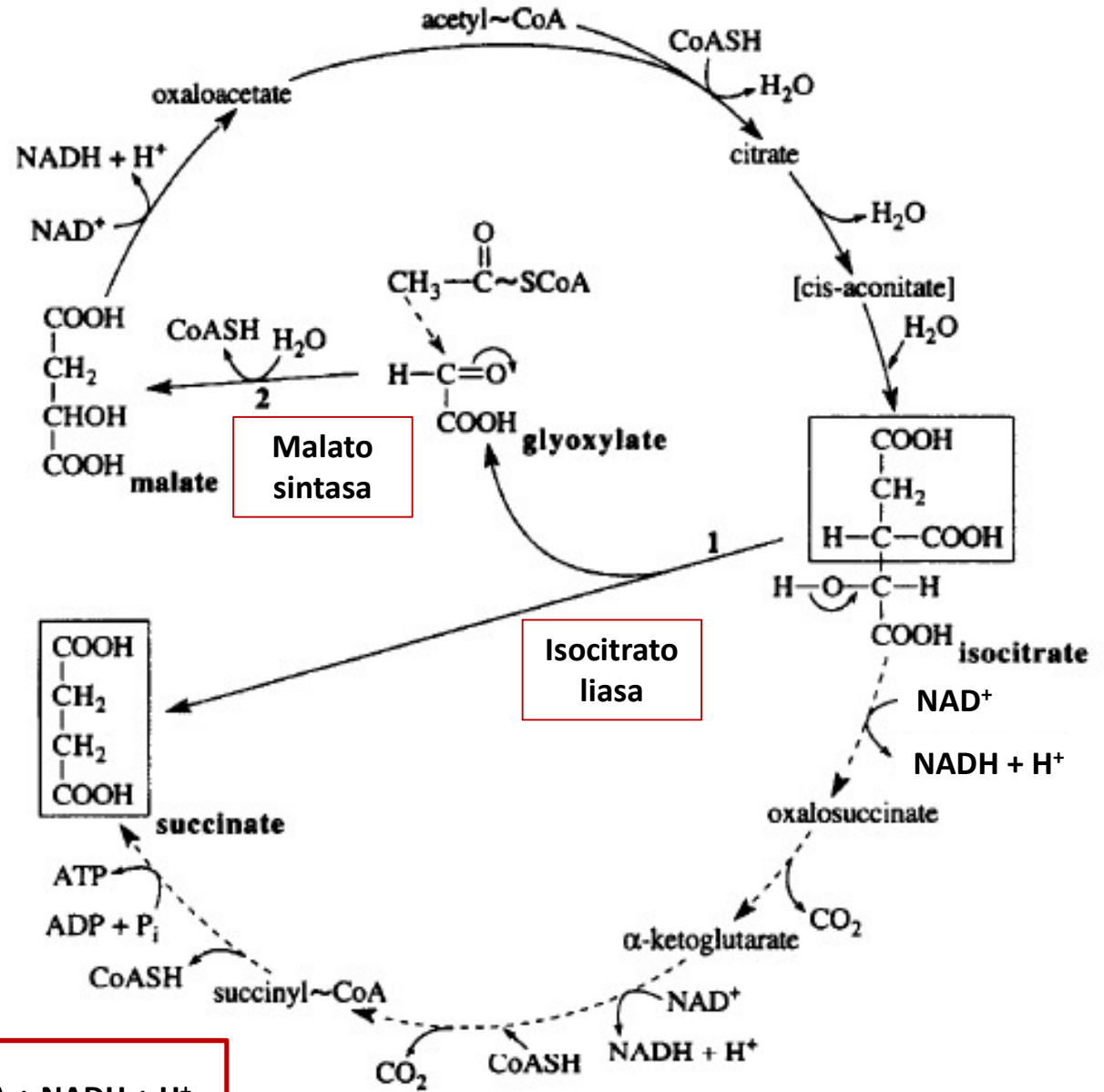
Disminuye la producción de NADH y $FADH_2$

Sigue produciéndose oxalacetato, succinil-CoA y α -cetoglutarato, necesarios para la biosíntesis de aminoácidos y tetrapirroles

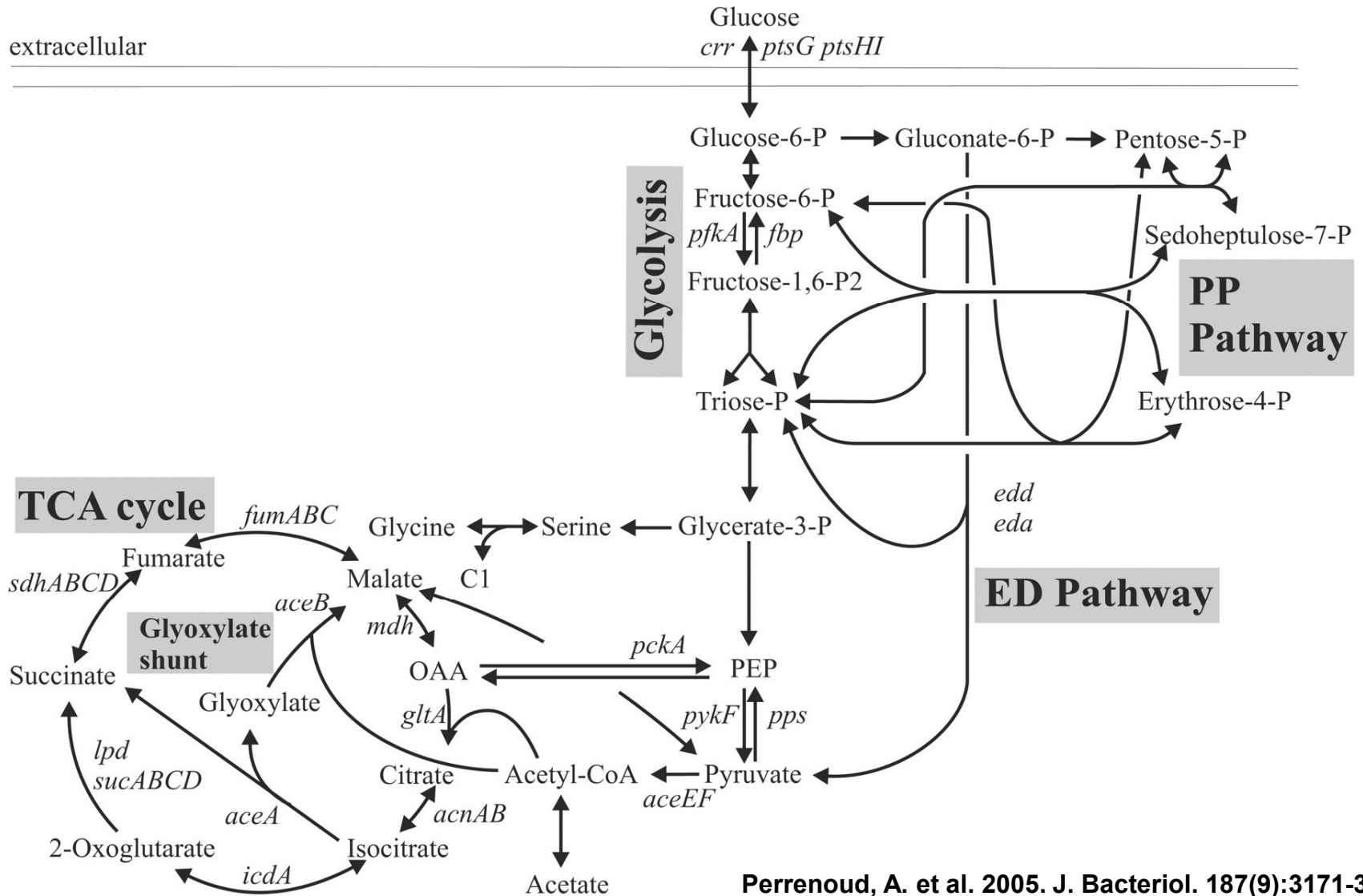


Ciclo del glioxilato

Permite el crecimiento de bacterias aeróbicas usando como nutrientes ácidos grasos y acetato



Red de reacciones bioquímicas del metabolismo central de carbono en *E. coli*



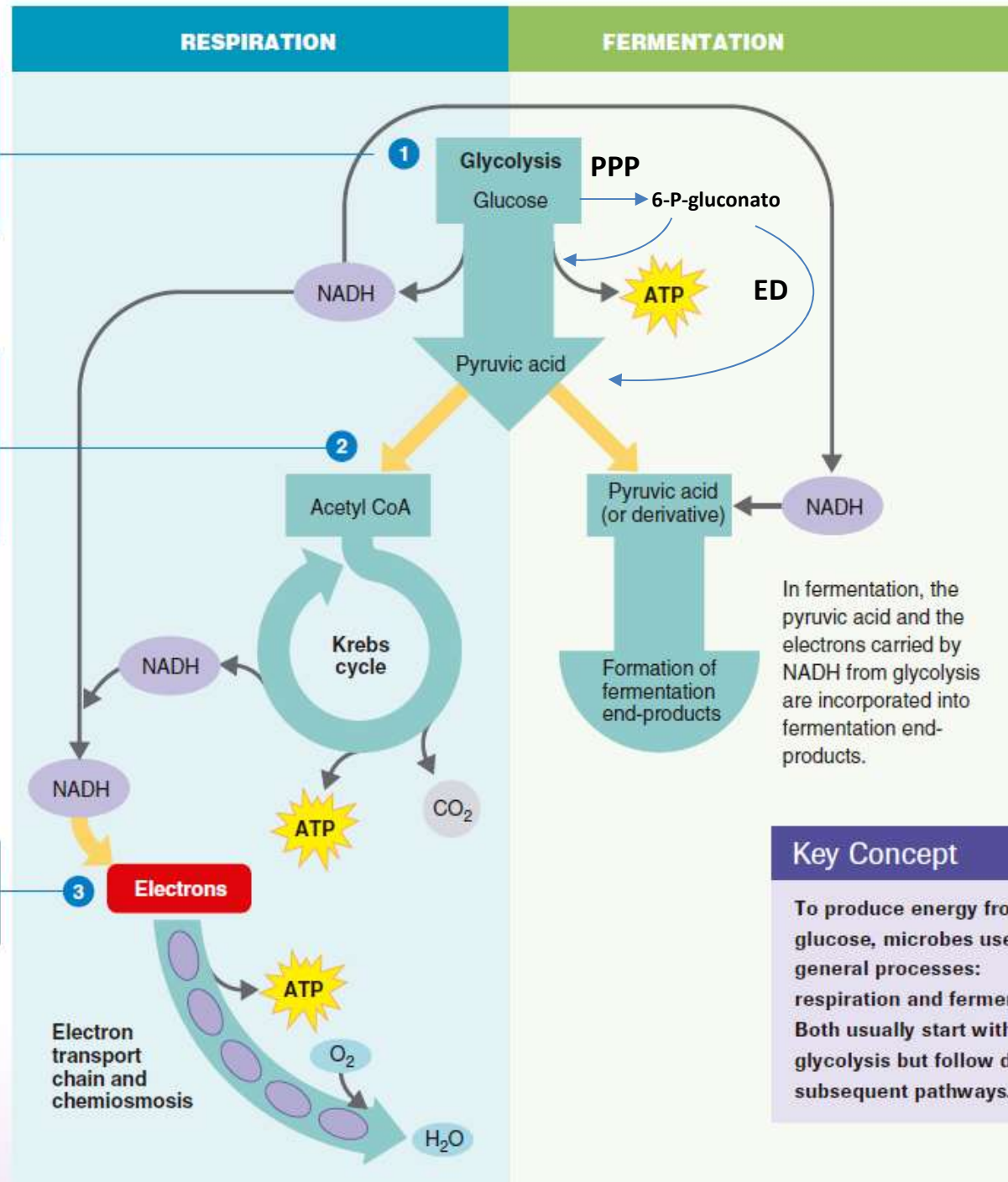
Perrenoud, A. et al. 2005. *J. Bacteriol.* 187(9):3171-3179

Vías Metabólicas en Quimioorganótrofos

1 Glycolysis produces ATP and reduces NAD^+ to NADH while oxidizing glucose to pyruvic acid. In respiration, the pyruvic acid is converted to the first reactant in the Krebs cycle.

2 The Krebs cycle produces ATP and reduces NAD^+ (and another electron carrier called FADH_2) while giving off CO_2 . The NADH and FADH_2 from both processes carry electrons to the electron transport chain.

3 In the electron transport chain, the energy of the electrons is used to produce a great deal of ATP.



Quimioorganótrofos

✓ *Respiración aeróbica:*

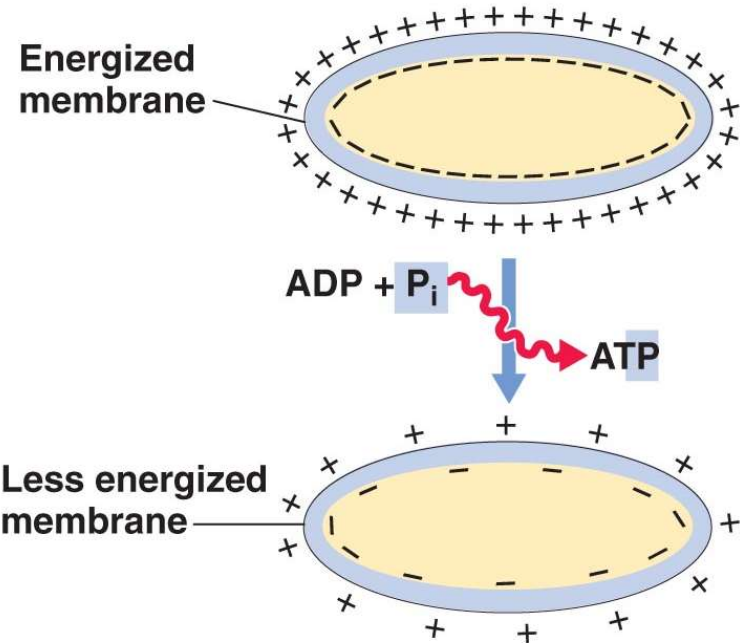
- O_2 aceptor final de electrones y se libera CO_2 .
- La bomba de protones produce ATP por fosforilación oxidativa.

✓ *Respiración anaeróbica:*

- nitratos (NO_3^-), hierro férrico (Fe^{3+}), sulfatos ($SO_4^{=}$), carbonatos (CO_3^-) y compuestos orgánicos
- aceptan e^- y se libera CO_2 .
- La bomba de protones produce ATP por fosforilación oxidativa.

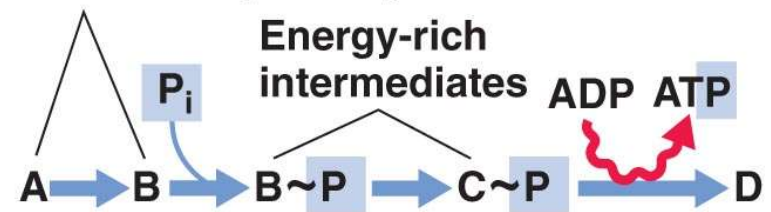
✓ *Fermentación:*

- Síntesis de ATP (menos) mediante fosforilación a nivel sustrato, en lugar de bomba de H^+ .
- Ocurre en ausencia de oxígeno y de aceptores de e^- apropiados.
- ATP se forma durante los pasos de catabolismo de un compuesto orgánico.



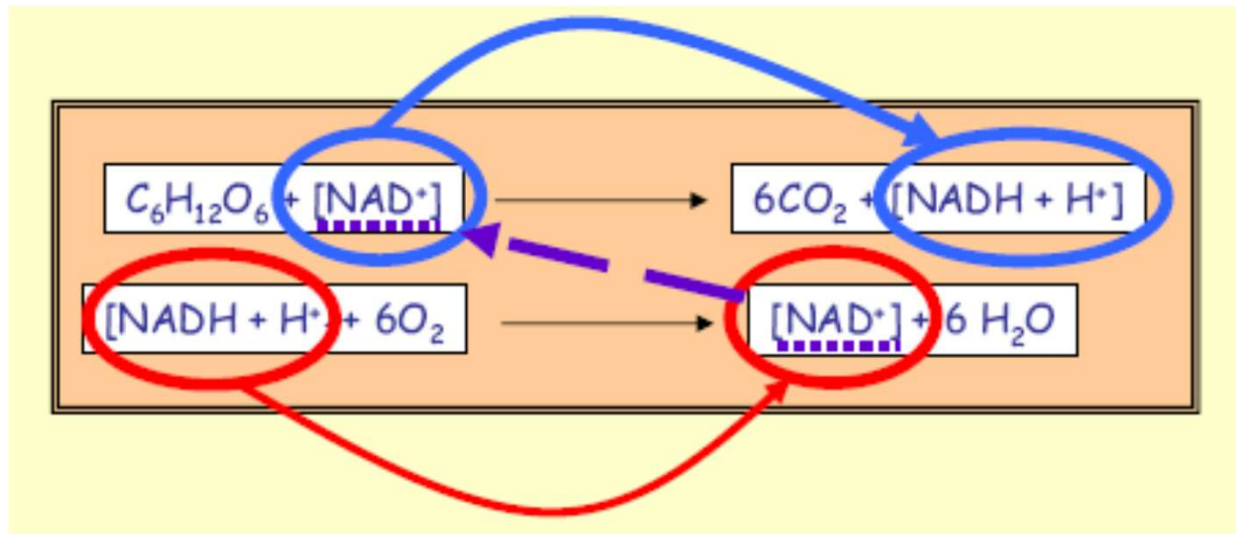
(b) Oxidative phosphorylation

Intermediates in the biochemical pathway



(a) Substrate-level phosphorylation

Conceptos de respiración /fermentación



En la **RESPIRACIÓN**, el NADH se oxida usando un aceptor de electrones **EXTERNO**

En la **FERMENTACIÓN**, el NADH se oxida usando un aceptor de electrones **INTERNO**

Organización del sistema respiratorio

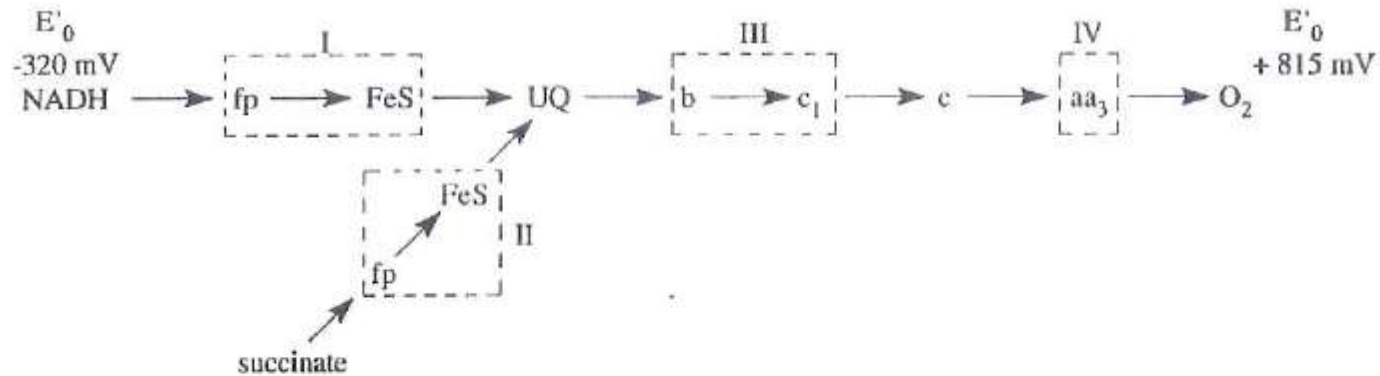
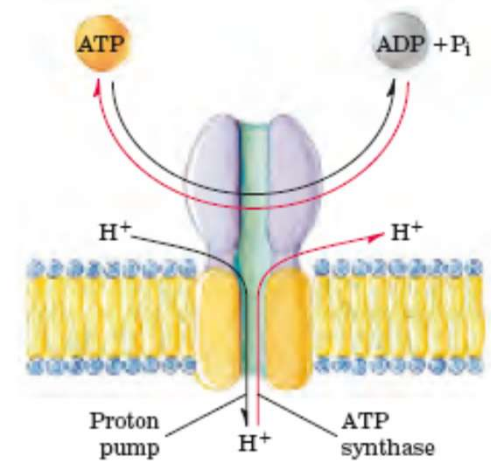
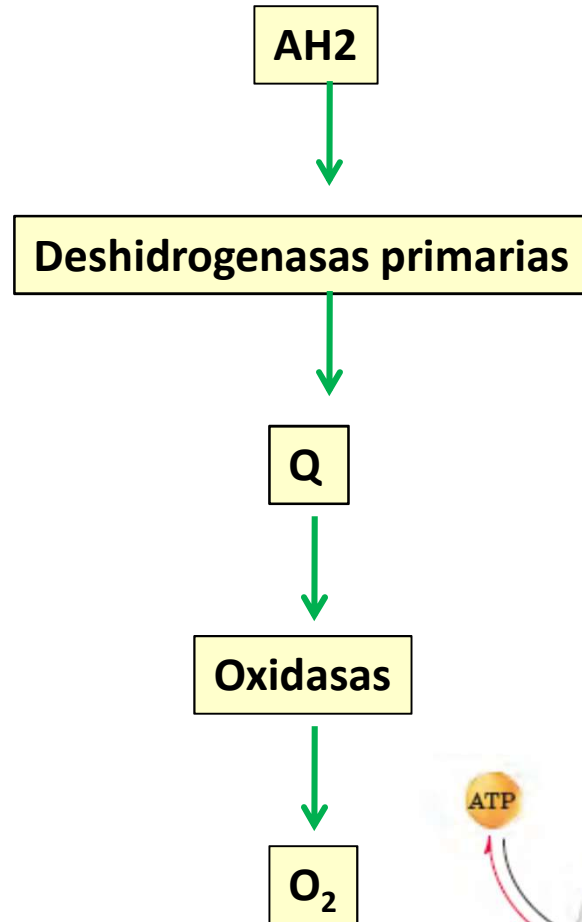
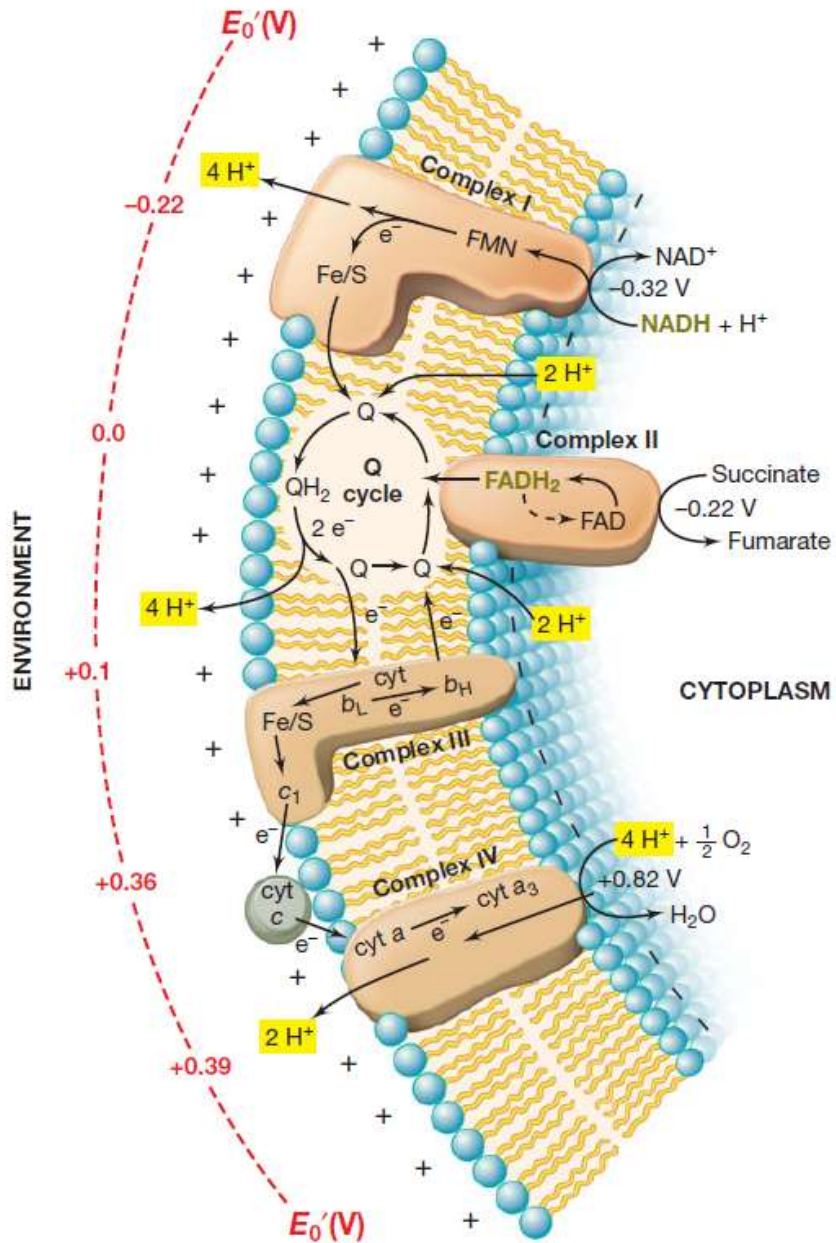
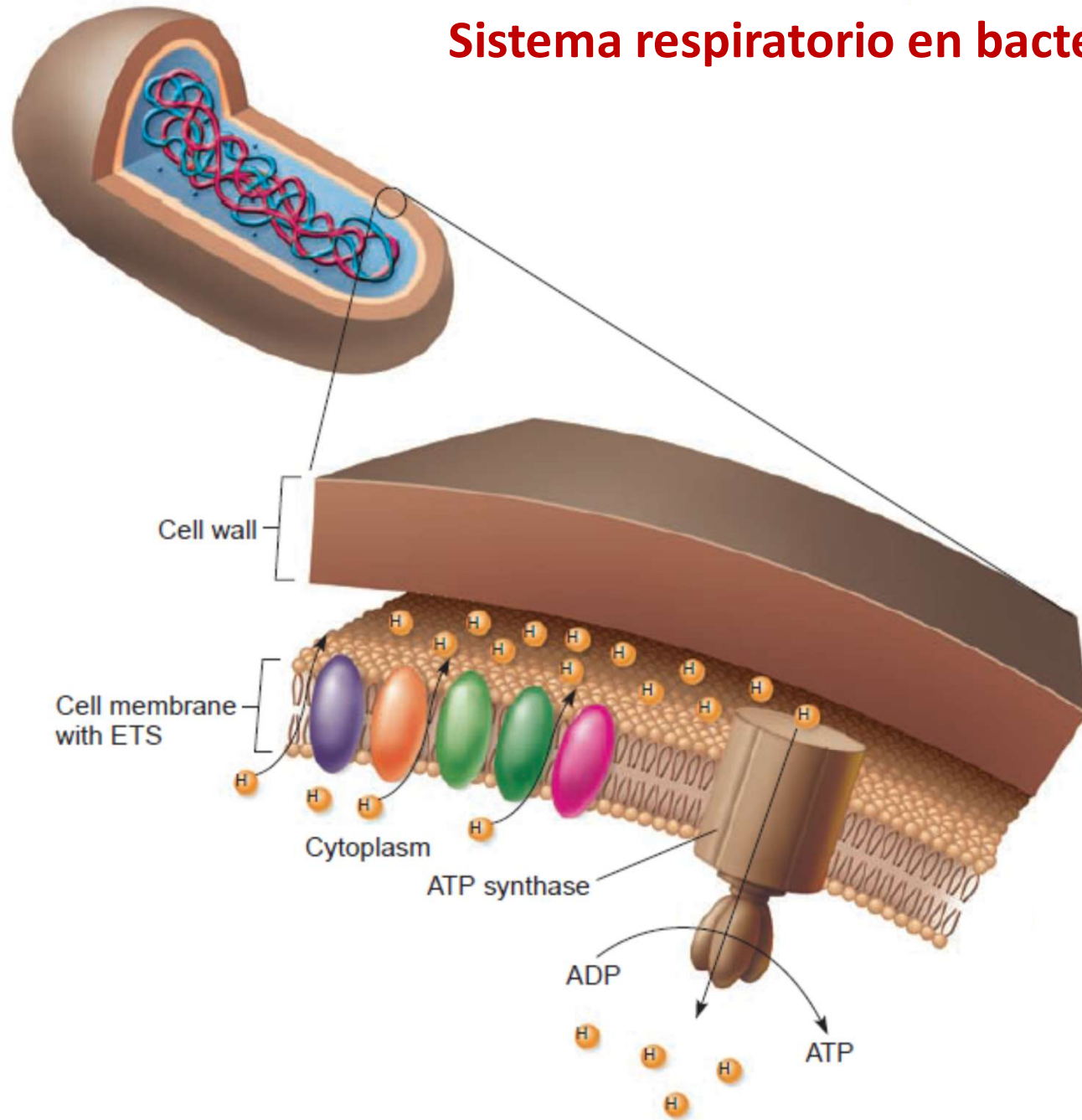


Fig. 4.7 Electron transport scheme in **mitochondria**. Electrons travel in the electron transport chain from a low to a high electrode potential. Complexes I–IV are bracketed by dotted lines. Complex I is NADH dehydrogenase, also called NADH–ubiquinone oxidoreductase. Complex II is succinate dehydrogenase, also called succinate–ubiquinone oxidoreductase. Complex III is the bc_1 complex, also called ubiquinol–cytochrome c oxidoreductase. Complex IV is the cytochrome aa_3 oxidase, also called cytochrome c oxidase. There are several FeS clusters in complexes I and II, and an FeS protein in complex III. Complex II also has a cytochrome b. Symbols: fp, flavoprotein; FeS, iron–sulfur protein; UQ, ubiquinone; b, cytochrome b; c_1 , cytochrome c_1 ; c, cytochrome c; aa_3 , cytochrome aa_3 .

Organización del sistema respiratorio



Sistema respiratorio en bacterias



Sitios de acoplamiento

Lugares dentro de la cadena transportadora de electrones en los cuales las reacciones redox están acopladas a la **extrusión de protones**, creando un gradiente protomotriz (Δp) . Directamente ligado a la síntesis de ATP, ya que los protones extruídos reingresan por la ATP sintasa y se produce la síntesis de ATP.

- **Bombas de protones:** traslocación vectorial de H^+
- **Loop Q:** traslocación escalar de H^+

Los electrones retornan a la superficie de la membrana interna donde la quinona es reducida, tomando dos protones del citoplasma. La quinona reducida difunde hacia la superficie externa de la membrana, donde es oxidada, liberando dos protones hacia el exterior

Traslocación de protones: Q loop y bombas

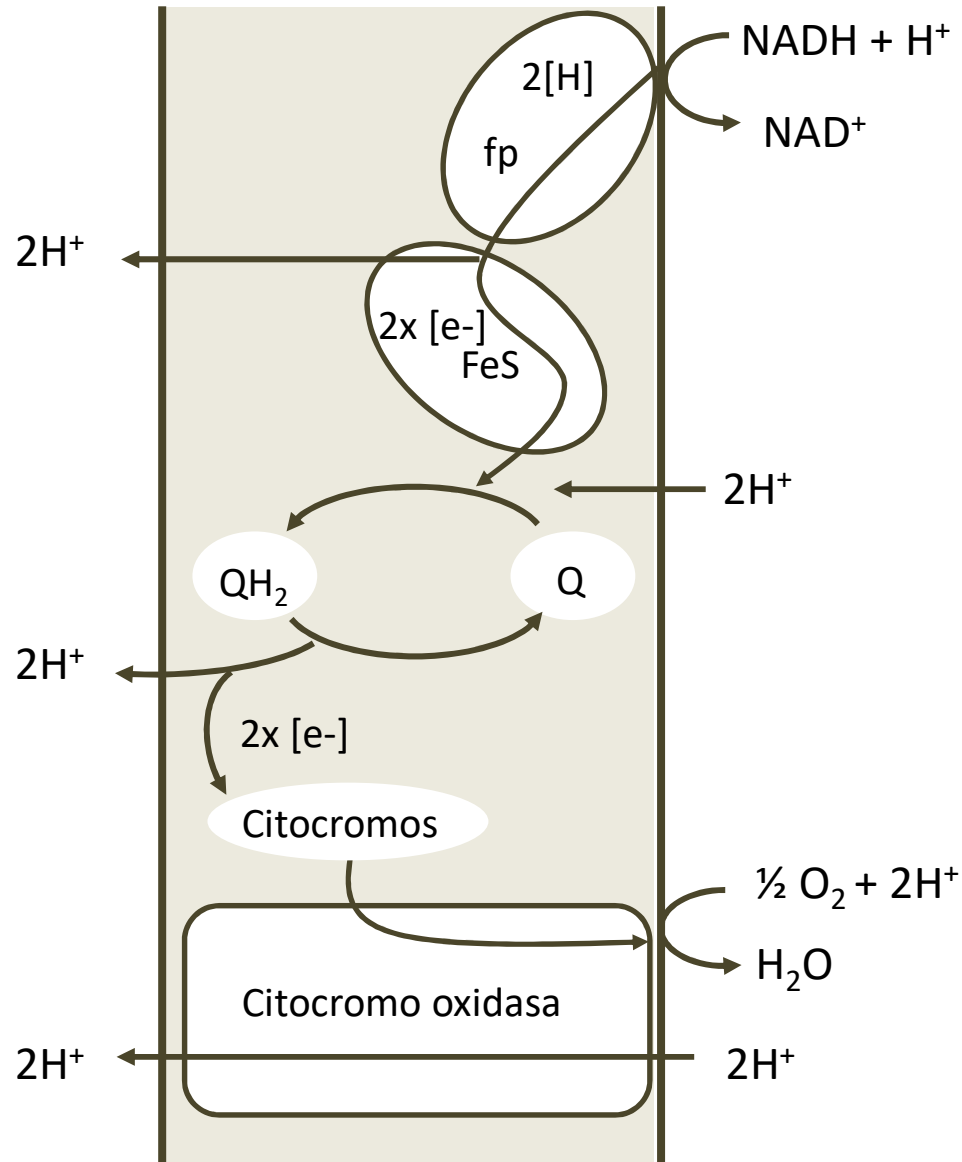
Exterior

Citoplasma

Sitio 1
bomba de
protones

Sitio 2
Q loop

Sitio 3
bomba de
protones



Adaptado de White, 2007
The physiology and
biochemistry of prokaryotes

Las bacterias tienen cadenas transportadoras de electrones ramificadas

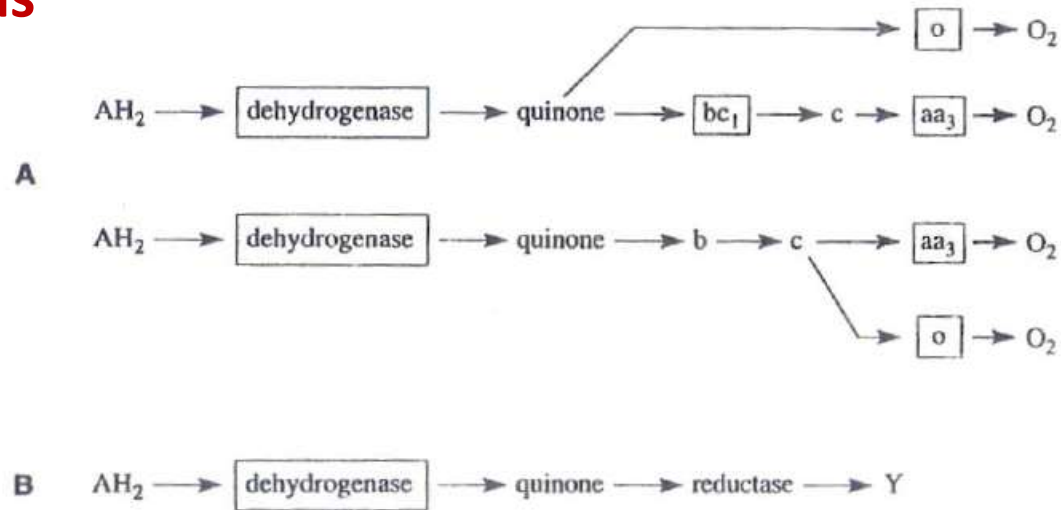
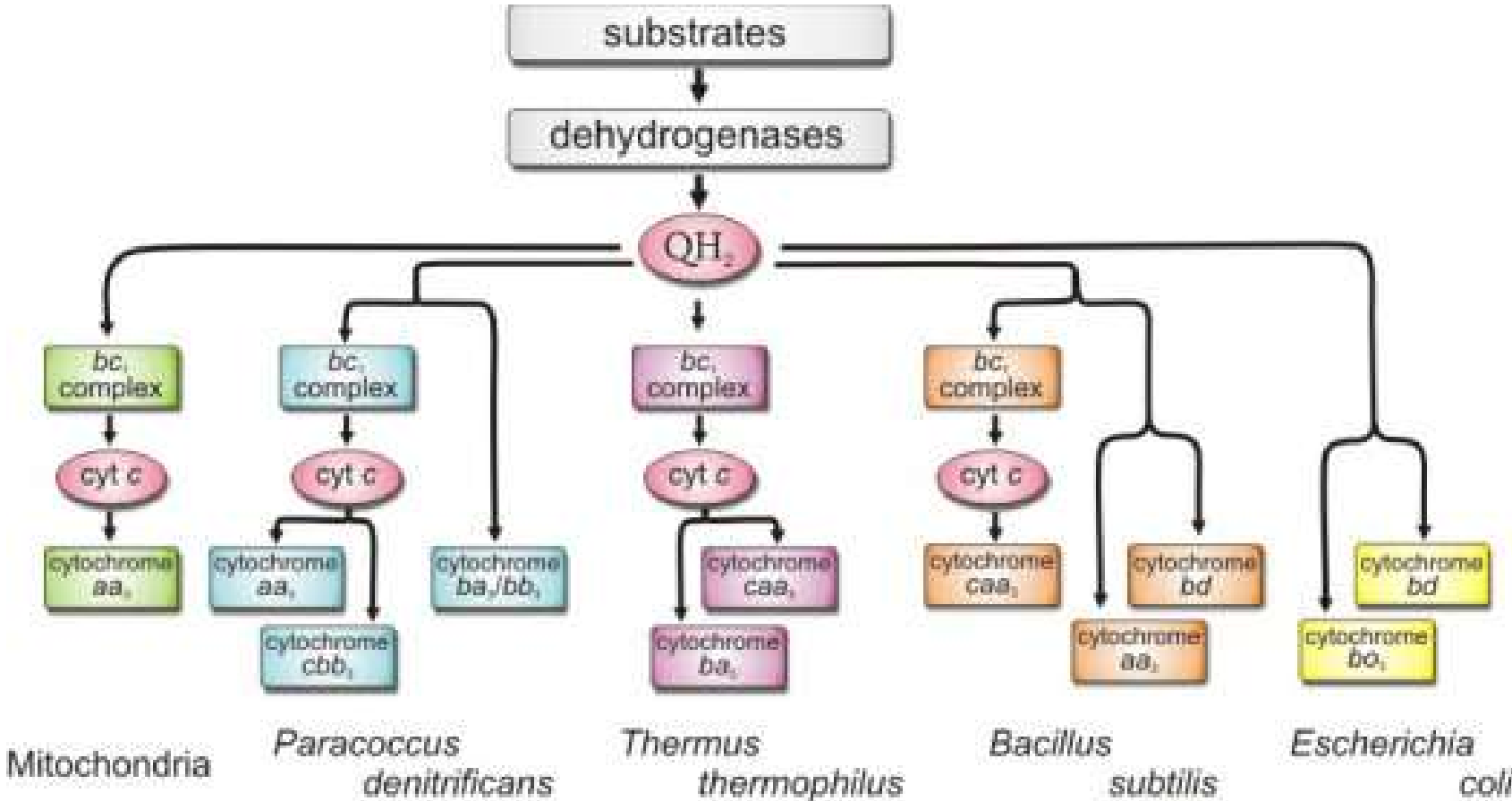


Fig. 4.8 Generalized electron transport pathways found in bacteria. The details will vary depending upon the bacterium and the growth conditions. (A) Aerobic respiration: A dehydrogenase complex removes electrons from an electron donor and transfers these to a quinone. The electrons are transferred to an oxidase complex via a branched pathway. Depending upon the bacterium, the pathway may branch at the quinone or at the cytochrome. Many bacteria have bc₁, cytochrome c, and cytochrome aa₃ in one of the branches and in this way resemble mitochondria. Other bacteria do not have a bc₁ complex, and may or may not have cytochrome aa₃. (B) Anaerobic respiration: Under anaerobic conditions the electrons are transferred to reductase complexes, which are synthesized anaerobically. Several reductases exist, each one specific for the electron acceptor. Y represents either an inorganic electron acceptor other than oxygen, e.g., nitrate, or an organic electron acceptor, e.g., fumarate. More than one reductase can simultaneously exist in a bacterium.

Qué significa que las cadenas sean ramificadas?

Cuál es la diferencia entre oxidasas y reductasas terminales?

Oxidasas terminales: quinol oxidasas y citocromo c oxidasas



Cadena transportadora de electrones en aerobiosis en *E. coli*

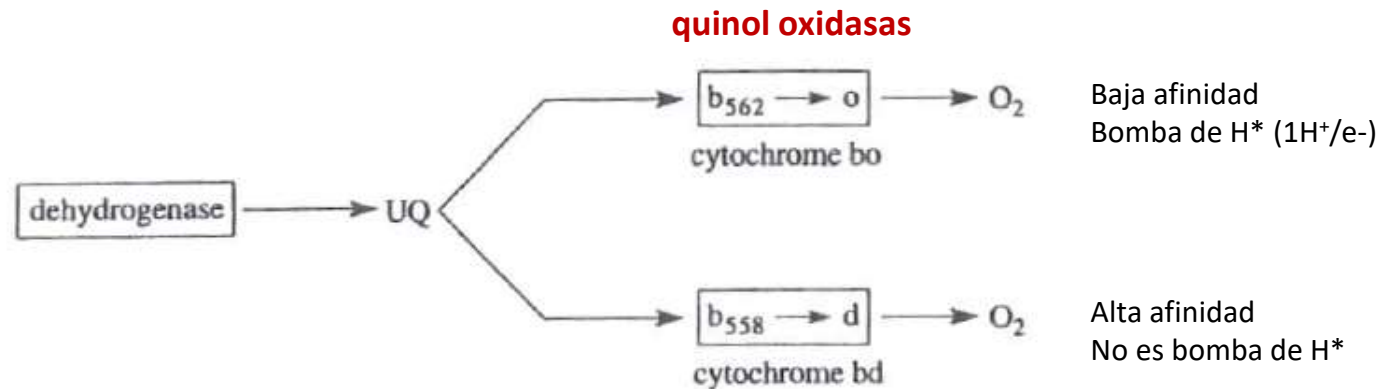


Fig. 4.14 Aerobic respiratory chain in *E. coli*. The chain branches at the level of ubiquinone (UQ) to two alternate quinol oxidases, cytochrome bo and bd. Cytochrome bd complex has a higher affinity for oxygen and is synthesized under low oxygen tensions, where it becomes the major route to oxygen. Coupling sites, i.e., sites where protons are translocated to the outer surface, are indicated by the H⁺/e⁻ ratio. Proton translocation occurs during NADH oxidation, catalyzed by NADH:ubiquinone oxidoreductase, also called NDH-1, and quinol oxidation, catalyzed by cytochrome bo complex or cytochrome bd complex. Additionally, cytochrome bo is a proton pump. *E. coli* has a second NADH dehydrogenase, called NDH-2, which does not translocate protons. Therefore, the number of protons translocated per NADH oxidized can vary from two (NDH-2 and bd complex) to 8 (NDH-1 and bo complex).

NDH-1 bomba de protones (2H⁺/e⁻)
NDH-2 no es bomba de protones

E. coli puede regular
Δp generado durante
la respiración

En qué condiciones *E. coli* trasloca 2 H⁺ por cada NADH oxidado? Y 8 H⁺?

Cadena transportadora de electrones en anaerobiosis en *E. coli*

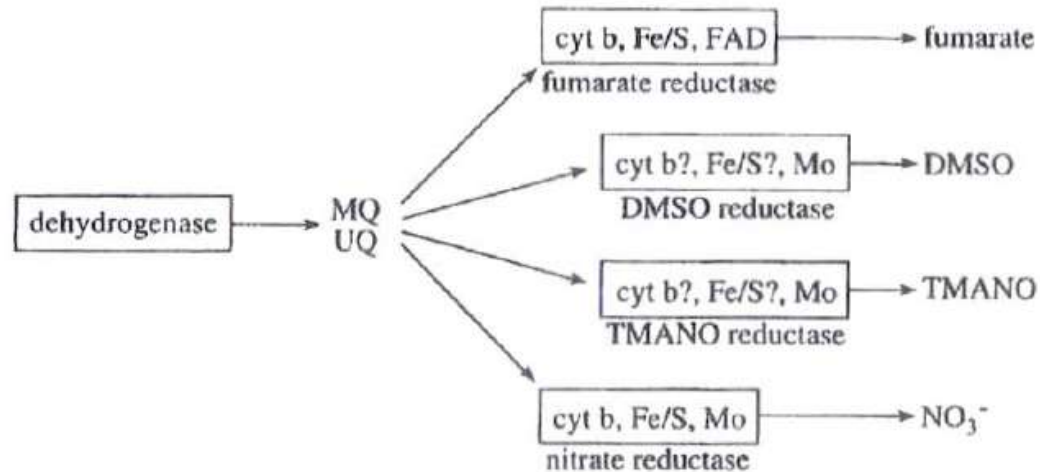


Fig. 4.15 Anaerobic respiratory chains in *E. coli*. When oxygen is absent, *E. coli* synthesizes any one of several membrane-bound reductase complexes depending upon the presence of the electron acceptors. Nitrate induces the synthesis of nitrate reductase and represses the synthesis of the other reductases. Menaquinone ($E'_0 = -74$ mV) (or demethylmenaquinone, $E'_0 = -40$ mV) must be used to reduce some of the reductases, e.g., fumarate reductase, because it has a sufficiently low midpoint potential. Ubiquinol ($E'_0 = +100$ mV) or menaquinone can reduce nitrate reductase because nitrate has a E'_0 of 421 mV. Each reductase may be a complex of several proteins and prosthetic groups through which the electrons travel to the terminal electron acceptor. The transfer of electrons from the dehydrogenases to the reductases results in the establishment of a proton potential. If the dehydrogenase has site 1 activity, there can theoretically be two coupling sites, one at the dehydrogenase step and one linked to quinol oxidation at the reductase step. Abbreviations: cyt b, cytochrome b; Fe/S, nonheme iron-sulfur protein; FAD, flavoprotein with flavin adenine dinucleotide as the prosthetic group; Mo, molybdenum; TMANO, trimethylamine N-oxide; DMSO, dimethylsulfoxide; MQ, menaquinone; UQ, ubiquinone.

**En *E. coli*, fumarato reductasa y nitrato reductasa no son bombas de protones
Al oxidarse, MQH₂ libera protones en la cara citoplasmática de la membrana**

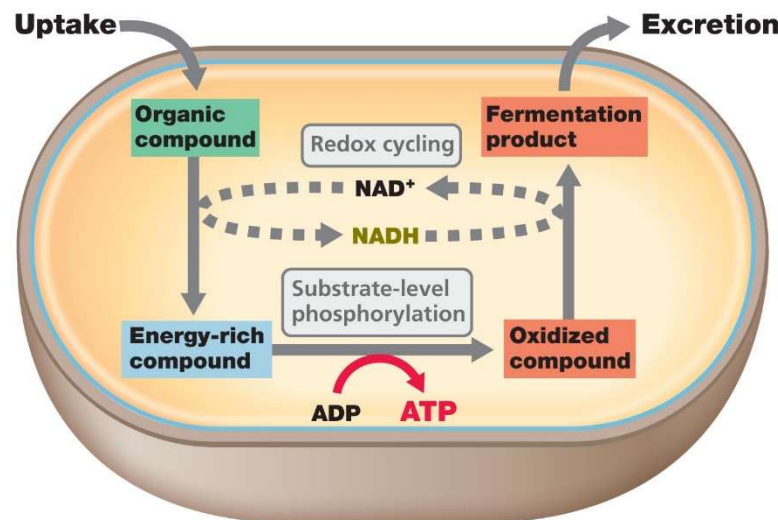
Fermentación

Via en la cual el **NADH** (o algún otro aceptor reducido de electrones) generado en reacciones de oxidación de la misma, es reoxidado por **metabolitos producidos en esa ruta**.

Compuestos orgánicos sirven como dadores y aceptores de electrones. Los productos de fermentación contienen energía (no son oxidados completamente)

La síntesis de ATP ocurre mediante **fosforilación a nivel sustrato**, en lugar de bomba de H⁺. Sucede en ausencia de oxígeno y de aceptores de electrones apropiados.

- El O₂ no es muy soluble y los ambientes se hacen **anóxicos** fácilmente. Entonces, la descomposición de materia orgánica ocurre anaeróbicamente.
- Si no existen suficientes aceptores de e⁻ (O₂, SO₄⁼, NO₃⁻, Fe⁺⁺⁺), los compuestos orgánicos serán metabolizados por fermentación.



Compuestos de alta energía involucrados en fosforilación a nivel de sustrato

Free energy of hydrolysis, $\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)^b

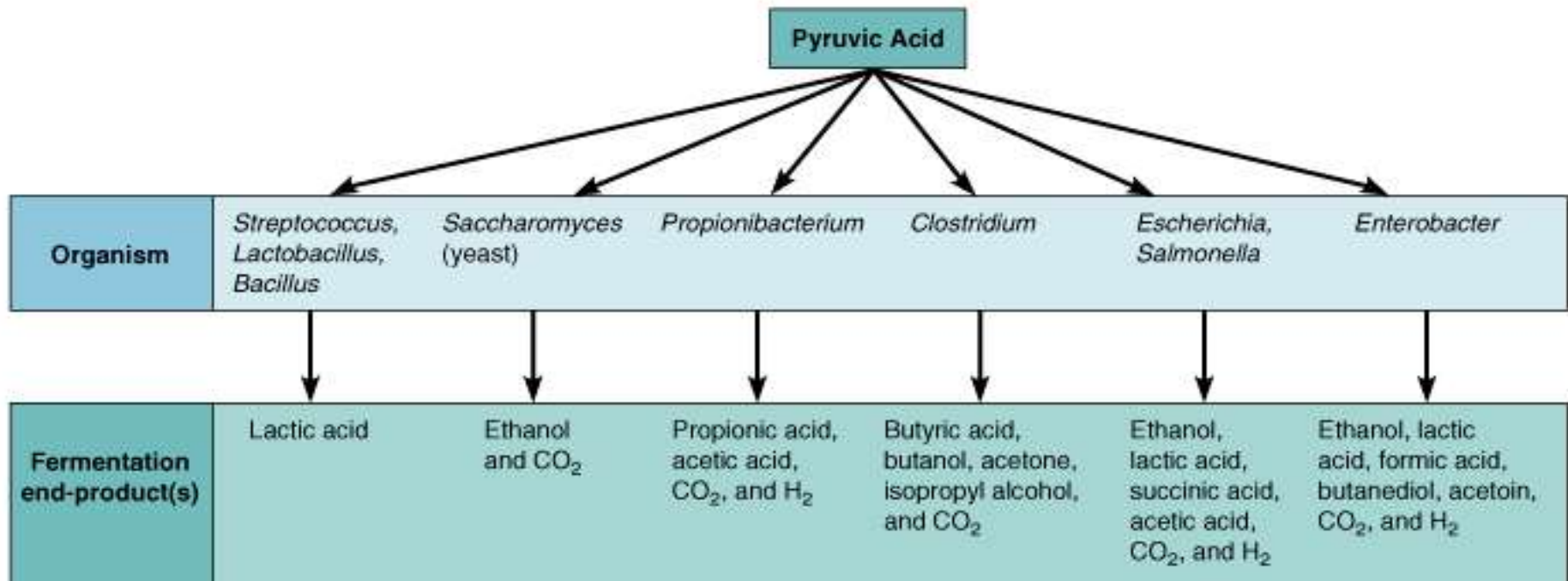
Acetyl-CoA	-35.7
Propionyl-CoA	-35.6
Butyryl-CoA	-35.6
Succinyl-CoA	-35.1
Acetylphosphate	-44.8
Butyrylphosphate	-44.8
1,3-Bisphosphoglycerate	-51.9
Carbamyl phosphate	-39.3
Phosphoenolpyruvate	-51.6
Adenosine-phosphosulfate (APS)	-88
N ¹⁰ -formyltetrahydrofolate	-23.4
Energy of hydrolysis of ATP (ATP → ADP + P _i)	-31.8

^a Data from Thauer, R. K., K. Jungermann, and K. Decker. 1977. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41: 100-180.

^b The $\Delta G^{0'}$ values shown here are for "standard conditions," which are not necessarily those of cells. Including heat loss, the energy costs of making an ATP are more like 60 kJ than 32 kJ, and the energy of hydrolysis of the energy-rich compounds shown here is thus likely higher. But for simplicity and comparative purposes, the values in this table will be taken as the actual energy released per reaction.

Fermentación

Los productos de fermentación difieren dependiendo del organismo.



(b)

Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

- Fermentación de ácido láctico:
 - ocurre en músculo animal cuando se necesita más E y hay poco O₂.
 - ocurre en bacterias (en yogur) y hongos
- Fermentación de etanol:
 - Importante en producción de pan, cerveza y vino.
 - Normalmente solo un producto es deseable: en pan el alcohol se descarta, en el vino el CO₂ se elimina.



Fermentaciones bacterianas

Los productos de fermentación se consideran productos de desecho en la regeneración de NAD^+ en ausencia de aceptores finales de electrones

Fermentación láctica

Homoláctica: lactato, H^+

Heteroláctica: lactato, etanol, CO_2 , H^+

Fermentación ácido-mixta: etanol, succinato, lactato, acetato, formiato, H_2 , CO_2

Fermentación butanodiólica: butanodiol, etanol, H_2 , CO_2 , lactato

Fermentación propiónica: propionato, acetato, CO_2

Fermentación homoacética: acetato, H^+

etc...

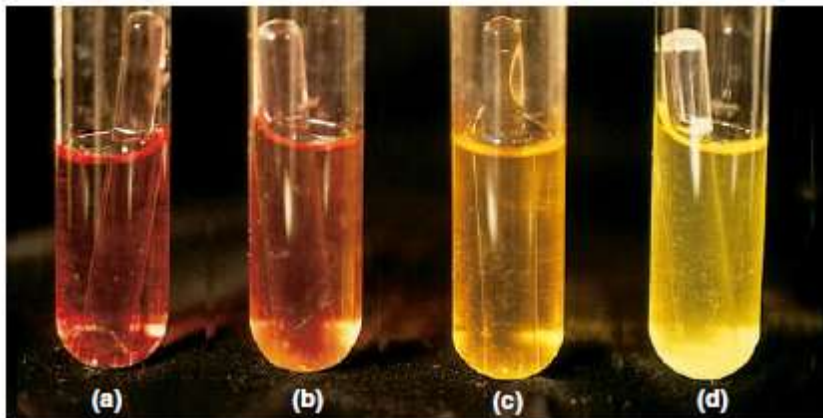
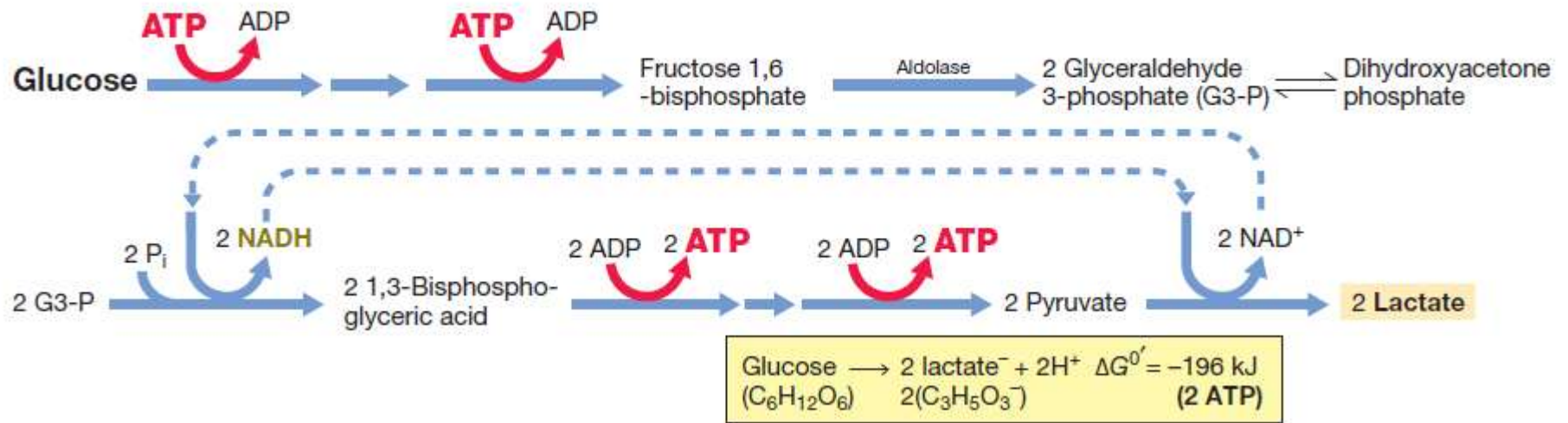
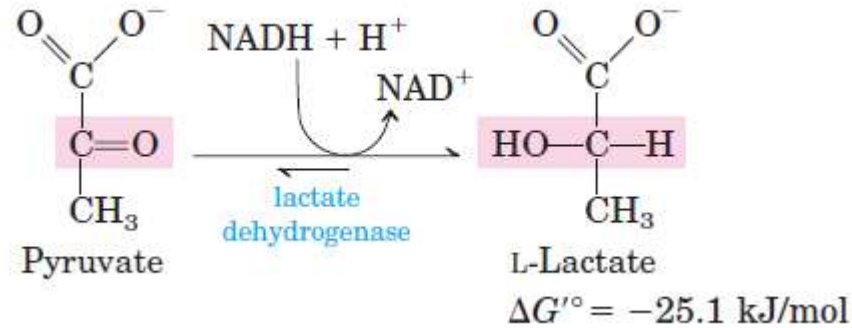


Figure 5.23 A fermentation test. (a) An uninoculated fermentation tube containing the carbohydrate mannitol. (b) *Staphylococcus epidermidis* grew on the protein but did not use the carbohydrate. This organism is described as mannitol $-$. (c) *Staphylococcus aureus* produced acid but not gas. This species is mannitol $+$. (d) *Escherichia coli* is also mannitol $+$ and produced acid and gas from mannitol. The gas is trapped in the inverted Durham tube.

Fermentación homoláctica

Llevada a cabo por **bacterias lácticas**, anaerobias aerotolerantes



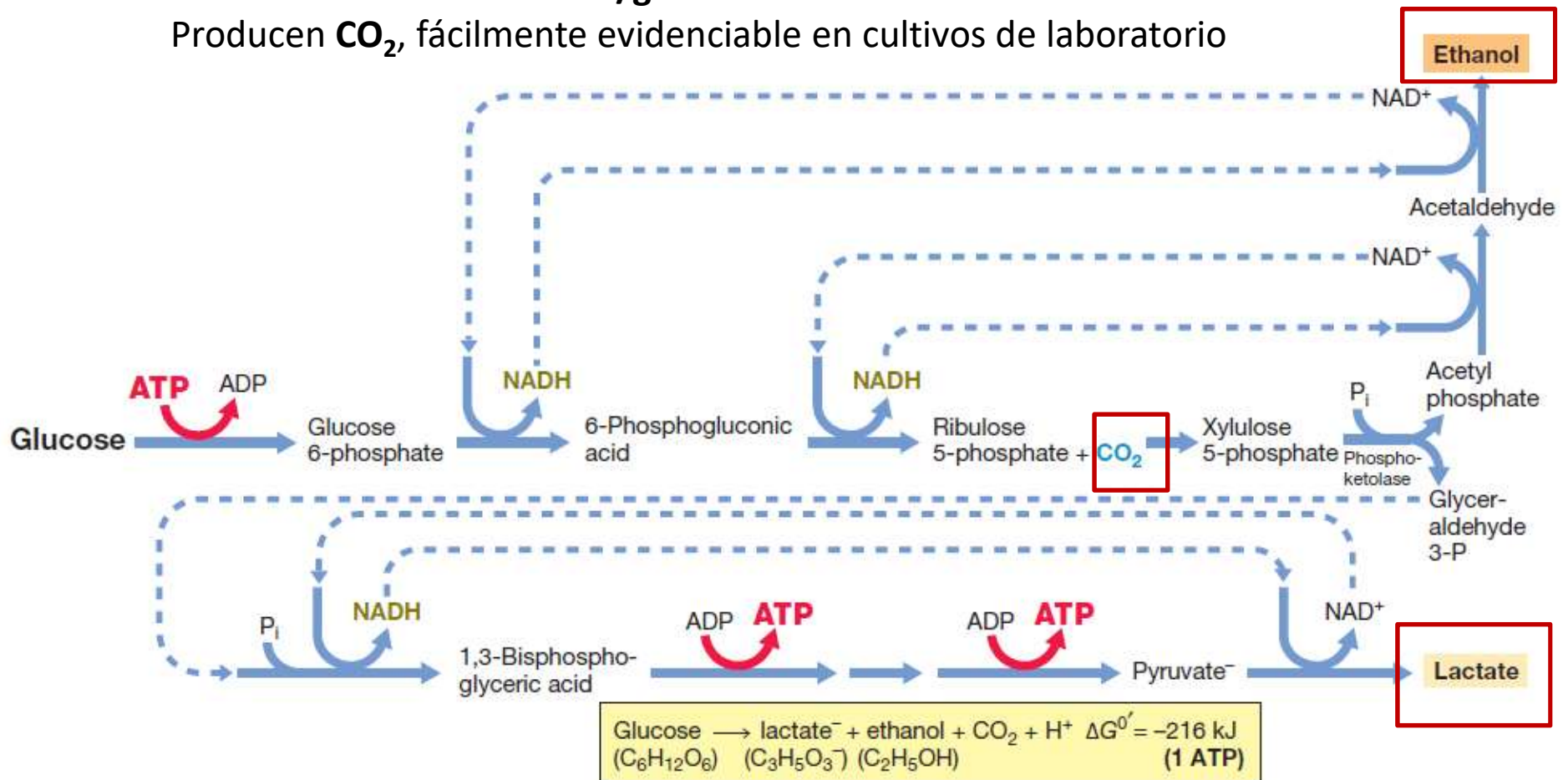
Fermentación heteroláctica

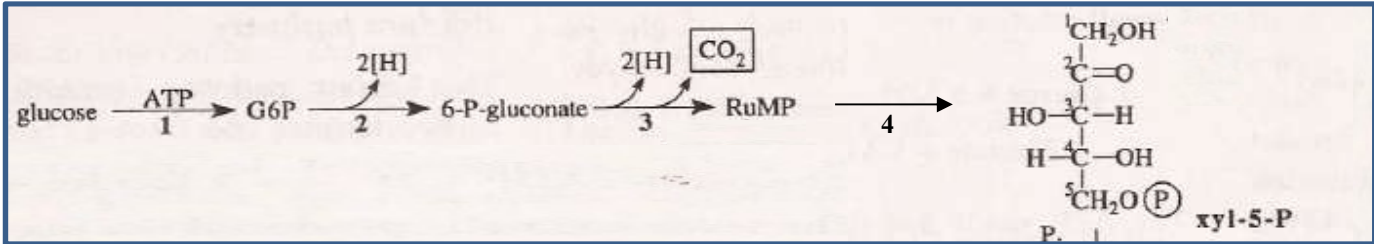
Llevada a cabo por **bacterias lácticas**, anaerobias aerotolerantes

Carecen de la enzima **aldolasa**

Producen sólo **1 mol de ATP/glucosa**

Producen **CO₂**, fácilmente evidenciable en cultivos de laboratorio

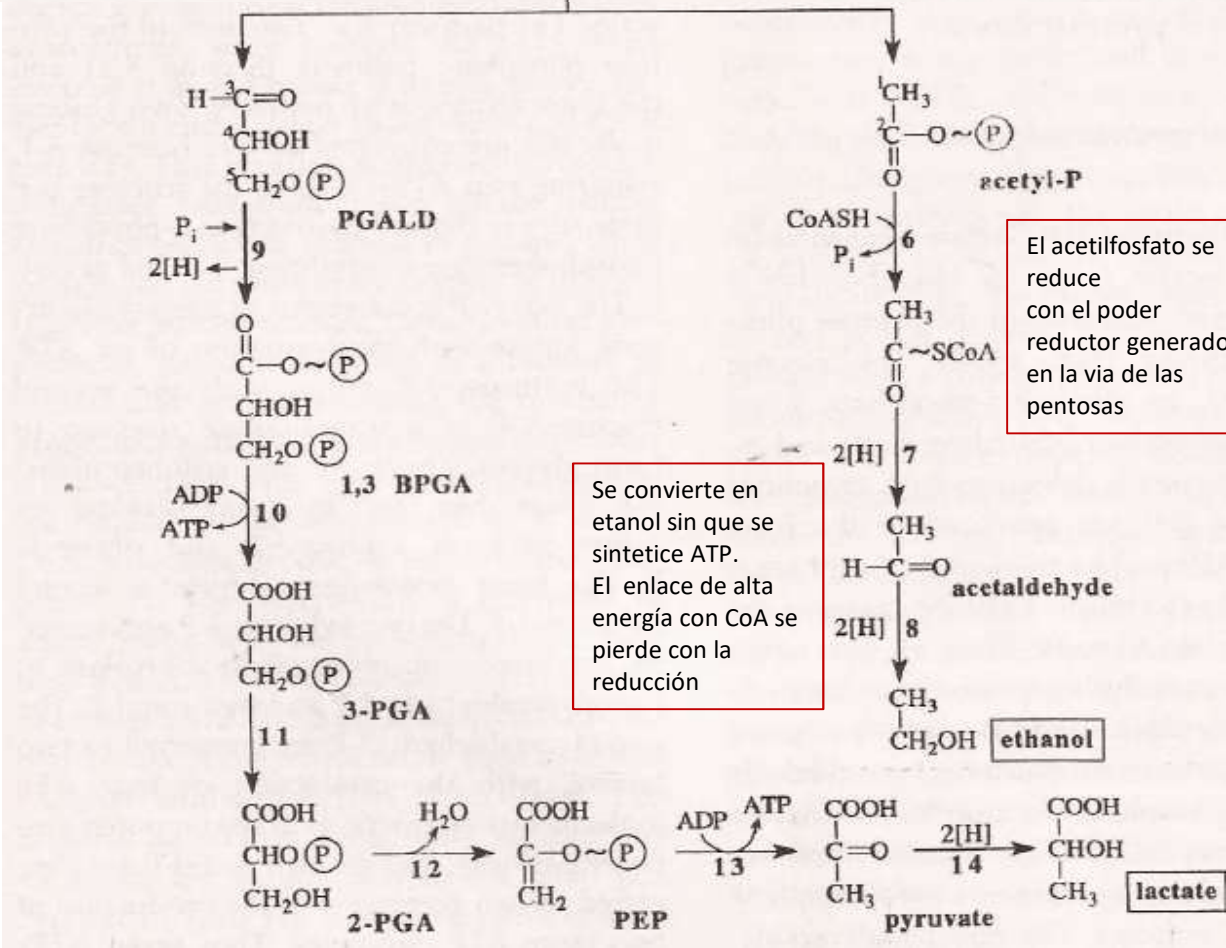




Vía de las pentosas

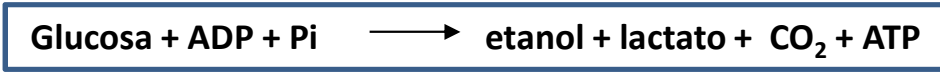
Fermentación heteroláctica

- 1- hexoquinasa
- 2- glucosa-6-P deshidrogenasa
- 3- 6-P-gluconato deshidrogenasa
- 4- ribulosa 5-P epimerasa
- 5- fosfocetolasa
- 6- fosfotransacetilasa
- 7- acetaldehido deshidrogenasa
- 8- alcohol deshidrogenasa
- 9- PGALD deshidrogenasa
- 10- PGA quinasa
- 11- fosfoglicerato quinasa
- 12- enolasa
- 13- piruvato quinasa
- 14- lactato deshidrogenasa



El acetilfosfato se reduce con el poder reductor generado en la via de las pentosas

Se convierte en etanol sin que se sintetice ATP. El enlace de alta energía con CoA se pierde con la reducción



Fermentación ácido-mixta

Llevada a cabo por **bacterias entéricas**, facultativas (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, patógenos, causan infecciones intestinales como disentería, fiebre tifoidea o intoxicación alimentaria)

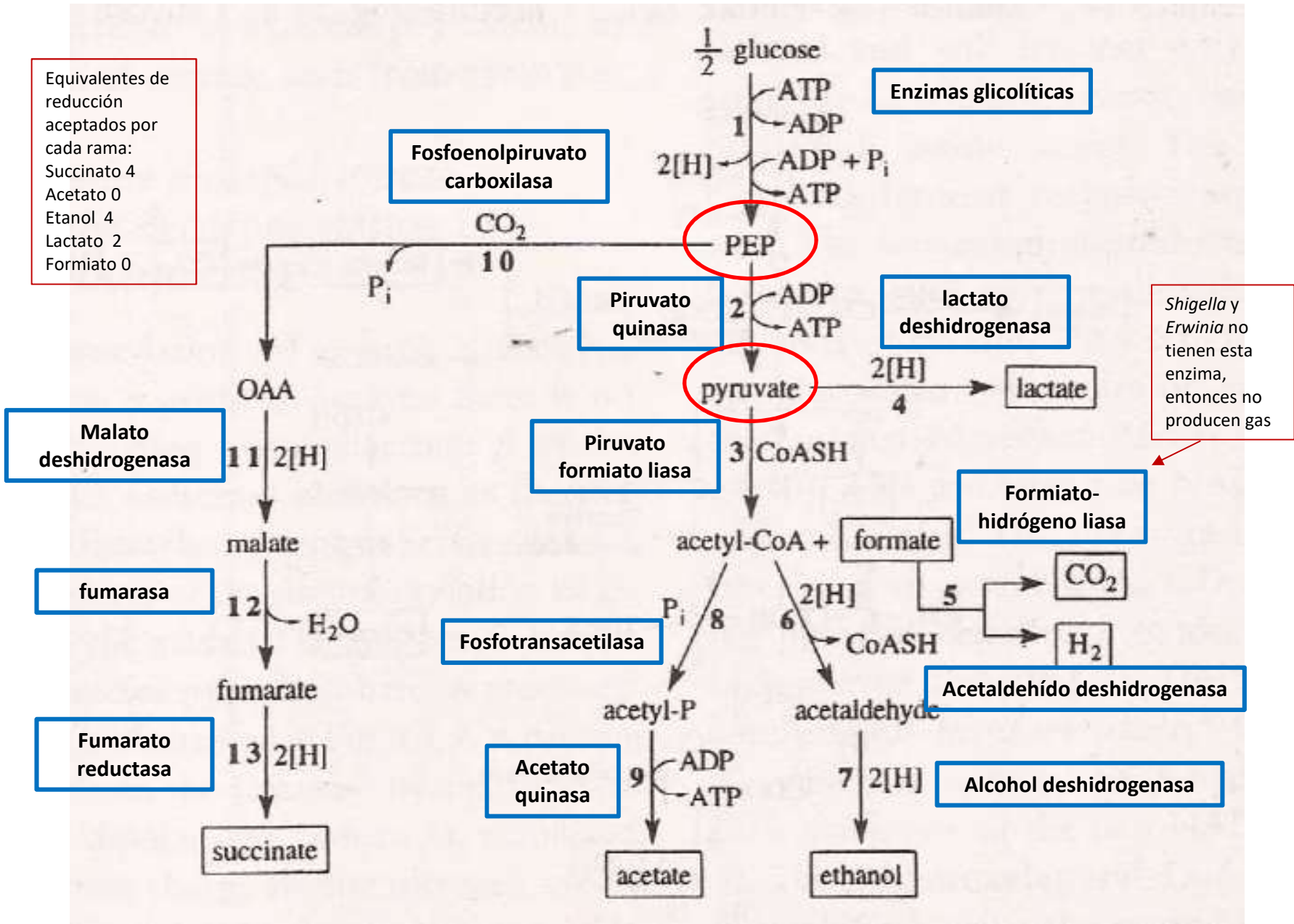
Produce una mezcla de compuestos: **succinato, lactato, acetato, etanol, formiato, CO₂ e H₂**.

El **ciclo de Krebs** funciona en el modo **reductivo** porque el organismo está en anaerobiosis. No hay actividad α -cetoglutarato deshidrogenasa ni succinato deshidrogenasa, esta última es reemplazada por la fumarato reductasa.

Se utiliza la piruvato-formiato liasa para obtener acetil-CoA en lugar de la piruvato deshidrogenasa.

Fermentación ácido-mixta

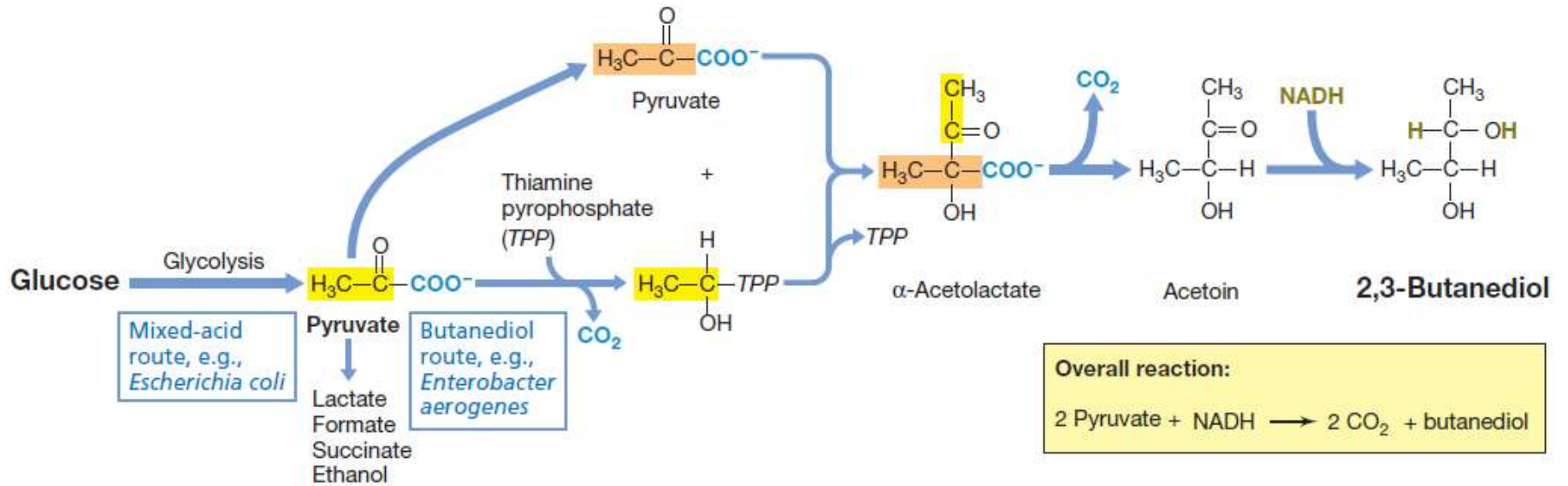
Equivalentes de reducción aceptados por cada rama:
 Succinato 4
 Acetato 0
 Etanol 4
 Lactato 2
 Formiato 0



Fermentación butanodiólica

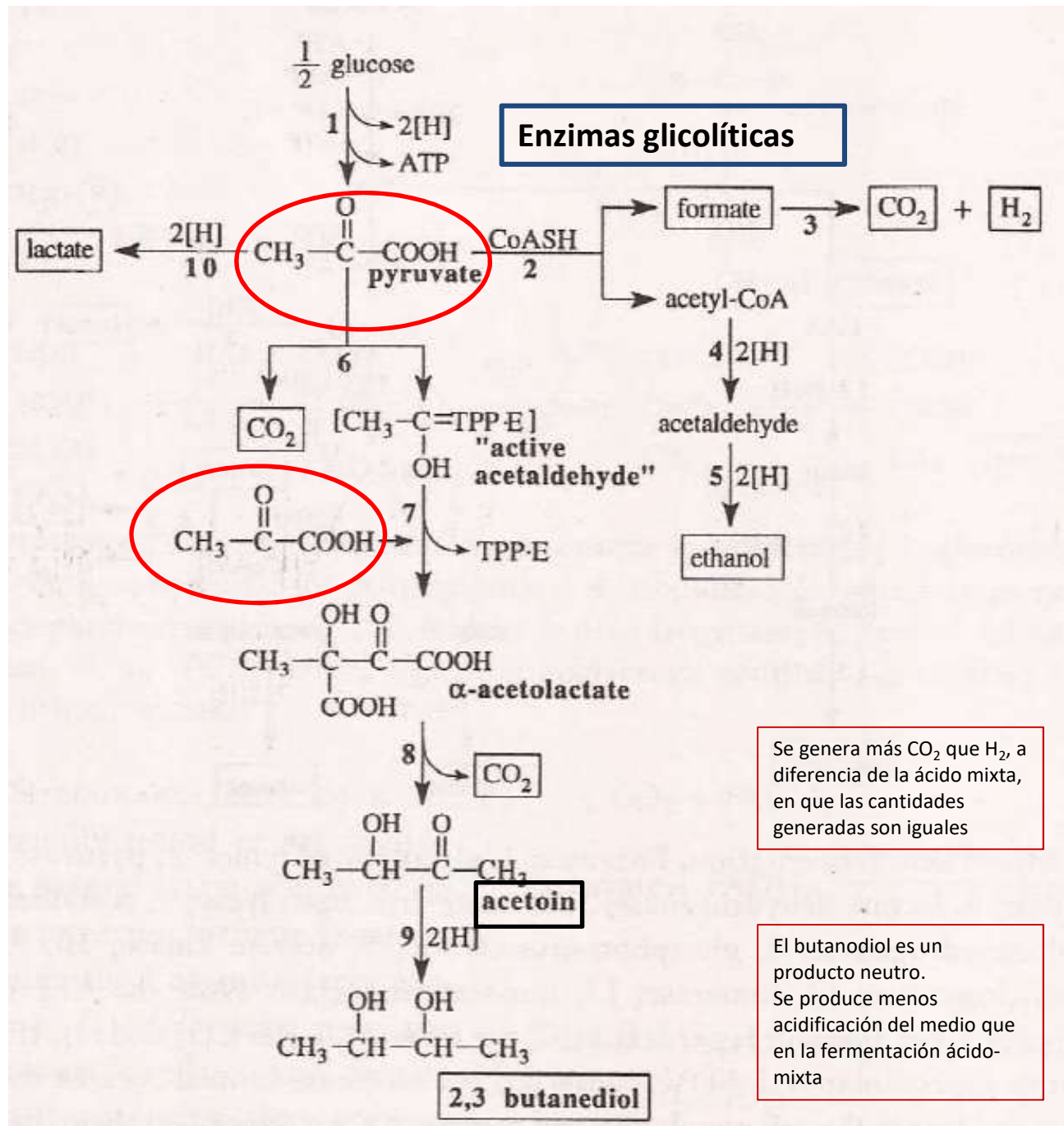
Es una **alternativa** a la fermentación ácido-mixta

Llevada a cabo por algunas **bacterias entéricas**, anaerobias facultativas (*Serratia*, *Erwinia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*)



Fermentación butanodiólica

2. Piruvato-formato liasa
3. Formato-hidrógeno liasa
4. Acetaldehído deshidrogenasa
5. Alcohol deshidrogenasa
- 6-7. α -acetolactato sintasa
8. α -acetolactato decarboxilasa
9. 2,3-butanodiol deshidrogenasa
10. Lactato deshidrogenasa

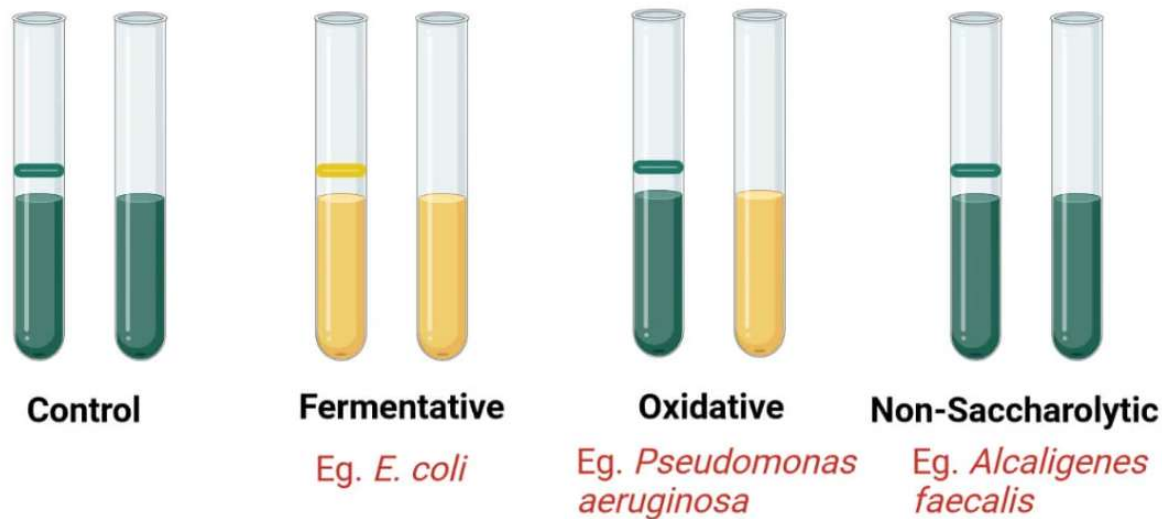


Se genera más CO_2 que H_2 , a diferencia de la ácido mixta, en que las cantidades generadas son iguales

El butanodiol es un producto neutro. Se produce menos acidificación del medio que en la fermentación ácido-mixta

Prueba O-F, Oxido fermentativa o de Hugh-Leifson

- Medio semisólido diferencial, permite determinar si las bacterias pueden catabolizar el azúcar y **producir ácido** en condiciones aeróbicas o en ambas condiciones o no pueden usar azúcar (no son sacarolíticas)
- Indicador **Azul de Bromotimol** (vira de verde al amarillo al disminuir el pH)
- Contiene menor proporción de peptona que de azúcar

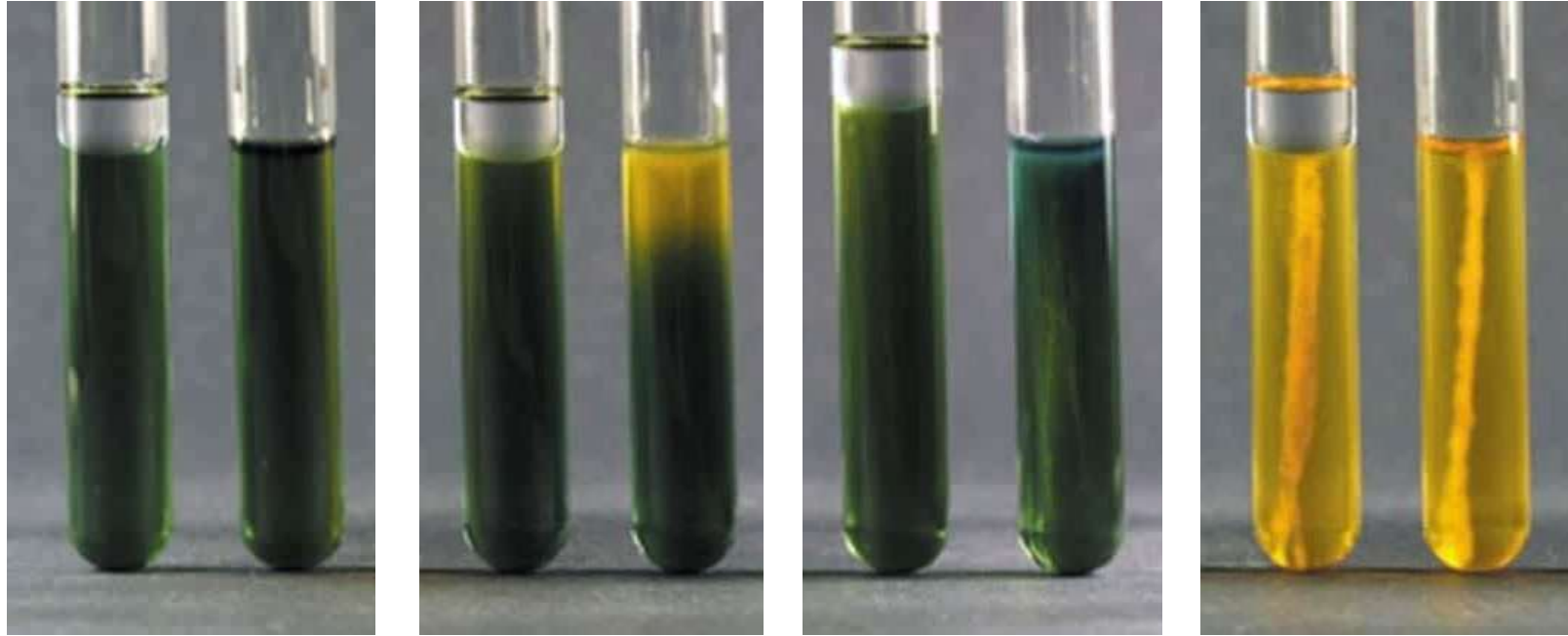


Positivo: desarrollo de un color amarillo en el medio

Oxidativo: coloración amarilla únicamente en el tubo abierto

Fermentativo: coloración amarilla tanto en tubos abiertos como cerrados

Negativo: ausencia de un color amarillo (el medio permanece verde o se vuelve azul)



Control

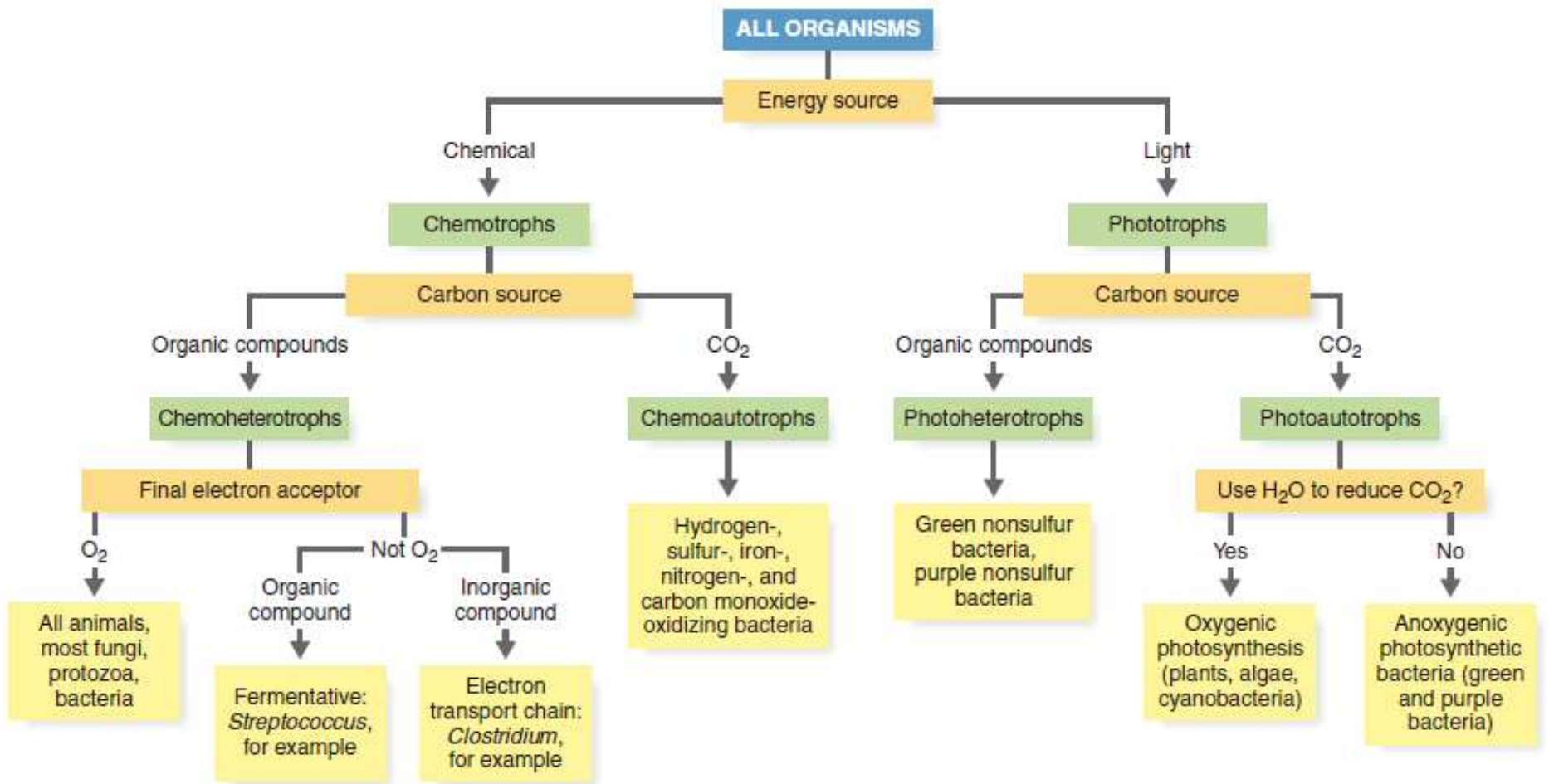


Figure 5.28 A nutritional classification of organisms.