

UNIDAD 4. DIVERSIDAD DE PROCESOS METABÓLICOS

6. Diversidad en los procesos metabólicos a nivel microbiano

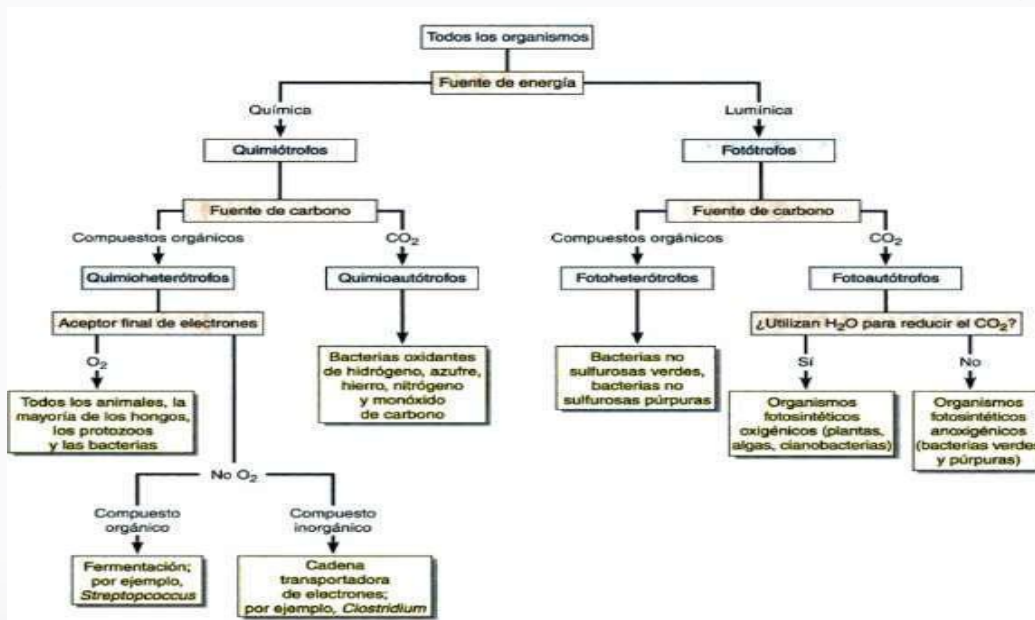
Según lo afirmado Tortora *et al.*, (2009), todos los organismos se clasifican a través de su fuente de carbono o energía (p.145), dejando al descubierto sus intereses nutricionales. La diversidad metabólica de los microorganismos es amplia, y algunos de ellos son capaces de metabolizar sustancias inorgánicas mediante rutas exclusivas que no están presentes en plantas o animales.

Estos a su vez, se clasifican según en quienes utilizan la luz como fuente principal de energía, llamados fotótrofos y los que dependen de reacciones químicas como fuente de energía mediante compuestos orgánicos e inorgánicos, llamados quimiótrofos. Además, según su fuente de carbono se clasifican en autótrofos o heterótrofos que usan CO₂ y heterótrofos o organotrofos que requieren del carbono orgánico

La figura 22 determina las combinaciones de estas fuentes de energía y carbono, clasificándolos en químicas y lumínicas:

Figura 22

Clasificación de los organismos según el tipo de nutrición



Fuente: Tortora *et al.*, 2009, p144.

6.1. Principios de fototrofia

La fototrofia es la utilización de la energía luminosa, que está muy expandida en el mundo de los microorganismos. Es necesario comprender las propiedades y formas de fijación de energía de los microorganismos fototróficos; estos utilizan el dióxido de carbono como única fuente de carbono y coexisten, asegurando su especie (Madigan, 2015; p404)

6.1.1 Fotosíntesis y clorofilas

La transformación de la luz solar a energía química, identificada como fotosíntesis, es una de las etapas más importantes de la Tierra. Los organismos que emplean este proceso pueden utilizar el CO₂ como única fuente de carbono, identificados como fotótrofos (encargados de la fotosíntesis), y autótrofos. Durante la fotoautotrofia se utiliza la energía luminosa para transformar CO₂ en compuestos orgánicos y en la fotoheterótrofia, la fuente de carbono usada por los fotótrofos son los compuestos orgánicos.

Para que ocurra la fotosíntesis se necesitan pigmentos que reaccionan a la luz, los más importantes son los encontrados en algas, *cianobacterias* y plantas, conocidas como clorofila y las que se hallan en bacterias verdes y rojas, identificadas como bacterioclorofila. Las *cianobacterias* y las bacterias rojas-verdes esta catalogadas como fototróficas. El proceso de transformación de energía fotosintética comienza con la absorción de energía luminosa por la clorofila y la bacterioclorofila, y finalmente genera energía química como modelo de ATP.

Dos procesos fundamentales operan simultáneamente en la fototrofia:

1. Generación de energía universal de las células, ATP
2. El CO₂ es reducido para formar material celular requerido

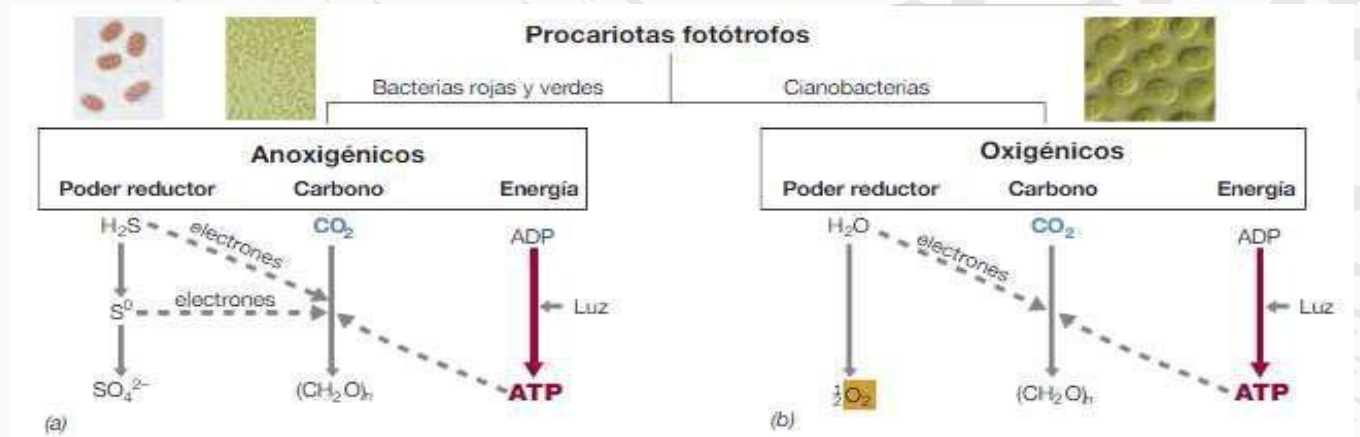
Para mantener el crecimiento autótrofo, la energía necesaria proviene del Trifosfato de adenosina, mientras que los electrones requeridos para la reducción del dióxido de carbono se obtienen del NADH o NADPH, los cuales se forman cuando el NAD (P) se reduce

mediante donadores de electrones del entorno. Los electrones son aportados como compuestos de azufre reducidos como el H_2S o H_2 en el caso de bacterias verdes y rojas; en cambio las plantas y cianobacterias, obtienen sus electrones del H_2O

Durante la fotosíntesis oxigénica de las cianobacterias, la oxidación del agua produce O_2 como subproducto, por tanto, este proceso se denomina fotosíntesis oxigénica y las bacterias que no generan oxígeno como producto importante se denominan anoxigénicas, entre ellas las bacterias rojas y verdes, como se observa en la figura 23. El oxígeno generado por las cianobacterias durante decenas de millones de años transformó el planeta anóxico, que era la tierra, en un planeta con características óxicas, esto fue preparado con el fin de generar una diversidad de microorganismos eucariotas que luego se convirtió en animales y plantas. En la figura 23 se puede visualizar que los que tienen oxígeno y son fotótrofos producen este gas (O_2), en tanto los anoxicos no producen.

Figura 23

Patrones de fotosíntesis. Producción de energía y agentes reductores en fotótrofos (a) anoxigénicos y (b) oxigénicos.



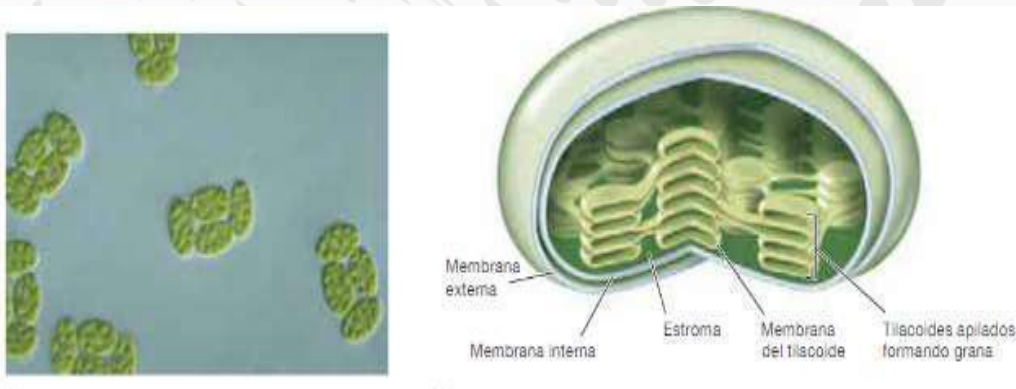
Fuente: Madigan, 2015; p405.

6.1.1.1. Captación de luz mediante pigmentos fotosintéticos

6.1.1.1.1. Relación estructural de membranas fotosintéticas, cloroplastos y cromosomas

Dentro de los sistemas de las membranas celulares se hallan los pigmentos clorofílicos y otros componentes del sistema de captación lumínica. El sitio específico de la membrana fotosintética es distinto en los procariotas y en los eucariotas, en los últimos la fotosíntesis se produce en los orgánulos que están adentro de las células, los cloroplastos; en la figura 24 se puede ver la conformación de esta mediante un sistema de laminación. Estos sistemas fotosintéticos que están adheridos a la membrana se llaman tilacoides y se implementan en forma de grana. Los tilacoides están distribuidos en forma que el espacio que contiene el cloroplasto se divide en dos partes, el estroma, que es el espacio que se encuentra alrededor de los tilacoides, y el espacio inferior, que está adentro de la formación de los tilacoides. Esta disposición ofrece la posibilidad de generar una nueva corriente de protones propulsada por luz, la cual es utilizada para la elaboración de ATP.

Figura 24
Cloroplastos



Fuente: Madigan, 2015; p407

Los microorganismos fotótrofos que no tienen cloroplastos en las bacterias rojas carecen de pigmentos que se toman en consideración dentro de sistemas de membranas que se originan por la invaginación de la capa citoplasmática.

En bacterias de rojas tienen disposiciones vesiculares denominadas cromatóforos, o bien tienen disposición de membrana que se amplifica, conformando así las lámelas que no son de origen bacteriano, estas lámelas se llaman tilacoides debido a su semejanza con los tilacoides de los cloroplastos de las algas. El más eficaz instrumento para capturar la luz de baja magnitud es el clorosoma. En las bacterias anoxicas verdes que no contienen Azufre y en las que sí lo contienen, el cloroplasma se hace notar como la más eficaz estructura para capturar luz de baja intensidad y opera como un sistema de antena amplio en el cual las moléculas de bacterioclorofila no están atadas a proteínas, en contraste con las cianobacterias y las bacterias rojas.

6.1.1.1.2. funcionalidad de los Carotenoides

Los carotenoides son los tonos complementarios más frecuentes en los fotosintetizadores, que se integra en la capa fotosintética de manera firme. En la figura 25 se puede ver la disposición de un carotenoide clásico de β -caroteno, resaltando sus vínculos de dos vías paralelas. Estos pigmentos acostumbran a ser verdes, rojo, marrón, amarillo, y toman la luz en el ámbito azul del espectro, de modo que se puede ver en la figura 26 como se muestra la esencia principal de los fotótrofos anoxigénicos, como por ejemplo en la forma en que enmascaran el color de las bacterioclorofilas, los carotenoides son los responsables de los

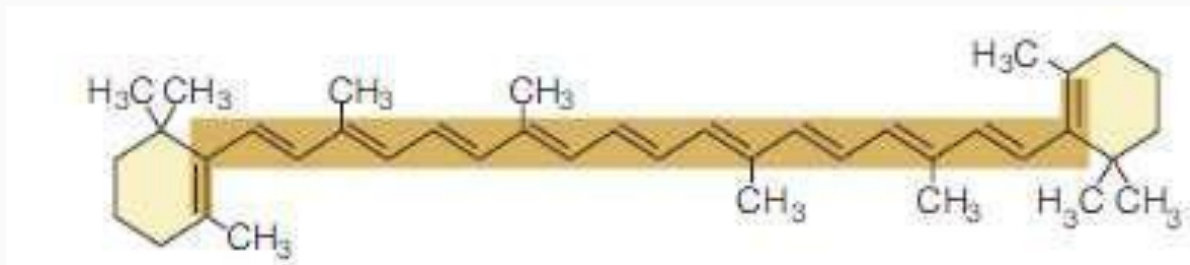
tonos resplandecientes, rojo, verde, rosa, morado, o marrón, que se pueden ver en diferentes especies de fotótrofos anoxigènes. Los carotenos están compuestos por hidrocarburo de caroteno y las xantofilas por oxígeno.

En las mezclas que tienen la capacidad de fotosintetizar, los carotenoides están atados a la clorofila o a la bacterioclorofila, y es parte de la energía que se recibe se trasmite al centro de la reacción; sin embargo,

los fotótrofos deben gestionar la luz brillante, que puede perjudicar de laguna manera a las células al inducir reacciones de fotooxidación y a su vez pueden ocasionar modelos tóxicos de oxígeno, como el singulete de oxígeno y el superóxido. Los carotenoides juegan un papel relevante en la fotoprotección al absorber en una mayoría a la luz dañina, minimizando así los riesgos de fotooxidación peligrosa.

Figura 25

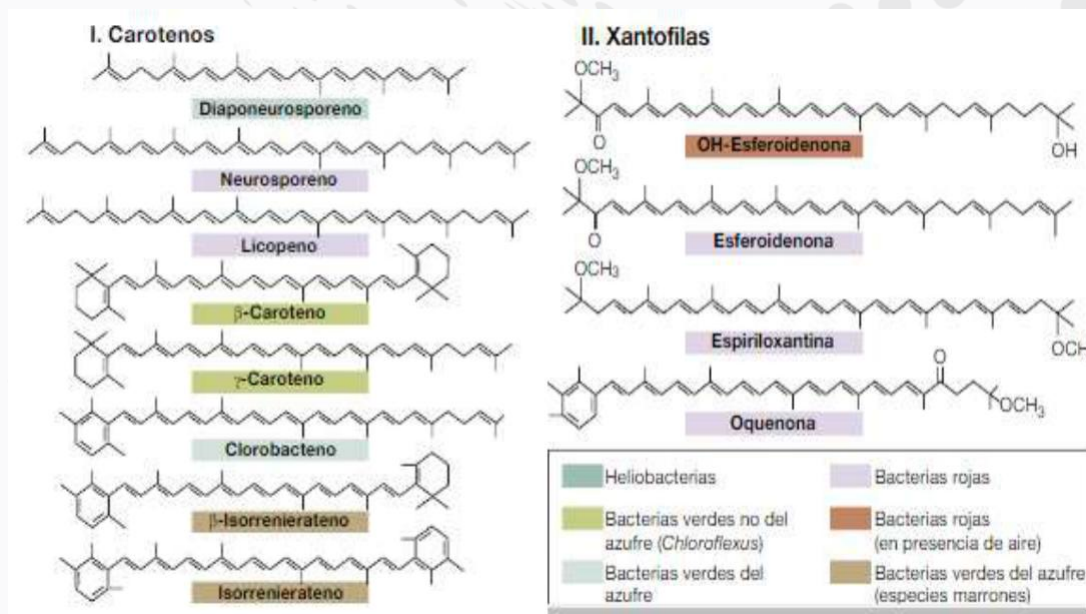
carotenoide común β -caroteno a nivel estructural



Fuente: Madigan, 2015; p408.

Figura 26

Carotenoides comunes a nivel estructural hallados en fotótrofos anoxigénicos.



Fuente: Madigan, 2015; p409.

6.1.1.1.3. Rol de las Ficobiliproteínas y ficobilisoma como captadores de luz

Los pigmentos conocidos como ficobiliproteínas, principales sistemas que permite que la luz sea captada en las cianobacterias y cloroplastos de algas rojas, están constituidos por tetrapirroles azul verdoso o rojos que se encuentran en una misma línea, conocidos como bilinas. Estas ficobilinas establecen un enlace con proteínas brindando el color que caracteriza a algunas algas y *cianobacterias*.

6.1.1.2. Procesos fotosintéticos anoxigénicos

Durante las reacciones luminosas de fotosíntesis, los electrones se desplazan a través de una cadena de transporte en la membrana fotosintética, moviéndose desde los componentes con un potencial reductor (E0) más electronegativo hacia aquellos con potencial más electropositivos. En movimiento de electrones genera un gradiente de protones, que impulsa

la síntesis de trifosfato de adenosina. Los elementos clave en esta fase son los centros de reacción y membranas fotosintética.

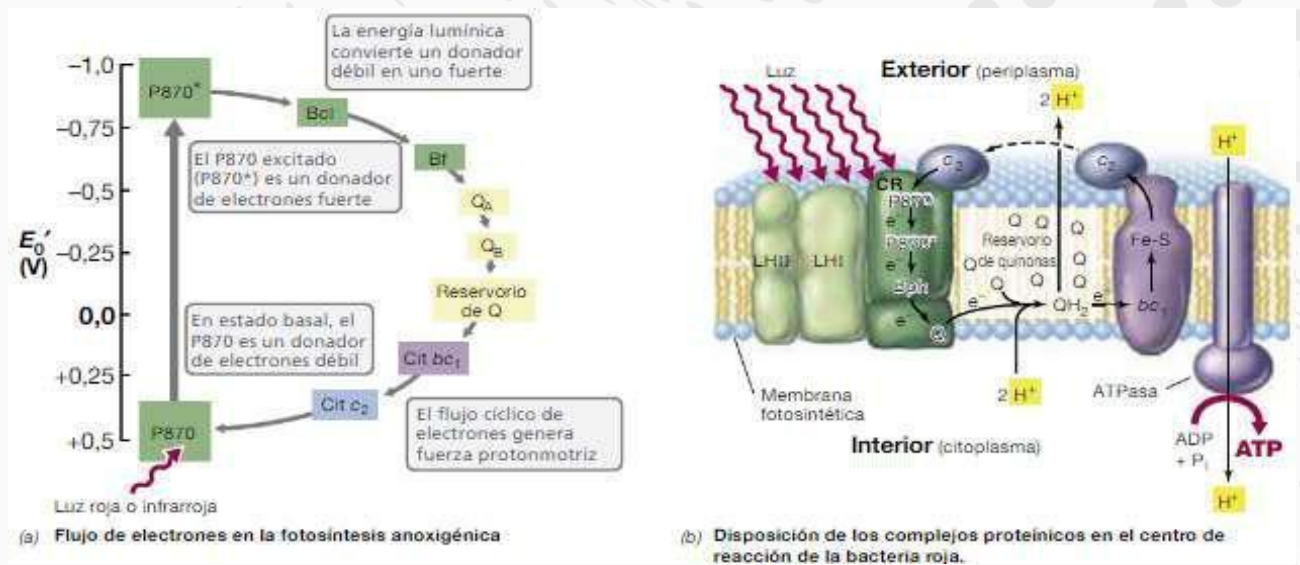
En las bacterias rojas, los centros de reacción están compuestos por tres polipéptidos denominados L, H y M. Estos polipéptidos, junto con una molécula de citocromo c, están firmemente integrados en la membrana fotosintética, atravesándola en múltiples ocasiones. Los polipéptidos L, H y M juntan dos moléculas de *a*-bacterioclorofila, que son esenciales para el flujo de electrones durante la fotosíntesis. Además, incluyen dos moléculas de bacteriofeofitina (*a*-bacterioclorofila sin el átomo de magnesio), dos moléculas de quinona y un caroteno.

Los componentes del centro de reacción se encuentran dispuestos de forma que facilitan la interacción durante las reacciones de transferencia de electrones, que ocurren con gran rapidez en las etapas iniciales de la conversión de energía fotosintética. Esta disposición permite una eficiente captura y transferencia de electrones, esencial para el proceso fotosintético.

Transporte de electrones por las bacterias rojas: Cuando la energía proveniente de la luz se absorbe por los sistemas antena y se transfiere de forma igualitaria al par de bacterioclorofila *a*, proveniente de sus moléculas, se da el inicio de las reacciones luminosas de la fotosíntesis. La luz permite la excitación del par transformándolo a un donador de electrones fuerte, con este donador los pasos restantes del flujo fotosintético se asemejan a los observados de respiración. Como se ilustra en la figura 27, se genera una fuerza protón motriz, debido a que el flujo de electrones en las bacterias rojas ocurre a través de la membrana fotosintética, moviéndose desde los portadores con un potencial de reducción bajo hacia aquellos con potencial más alto, lo que permite la conversión de energía lumínica a química

Figura 27

Flujo de electrones en la fotosíntesis anoxigénica de bacterias rojas, bacterias verdes del azufre y heliobacterias.



Fuente: Madigan, 2015, p.412).

6.1.1.3. Proceso fotosintético oxigénico

A diferencia del flujo de electrones en los fotótrofos anoxigénicos y oxigénicos, los electrones se desplazan mediante dos sistemas fotosintéticos distintos, denominados Fotosistema I (PSI) y Fotosistema II (PSII). Los fotocomplejos embebidos ubicados en las membranas, en donde se lleva a cabo las reacciones anoxigénicas fotosintéticas, se localizan según el tipo de célula; apilados en el citoplasma se encuentran las cianobacterias y los cloroplastos se sitúan en las células eucariotas.

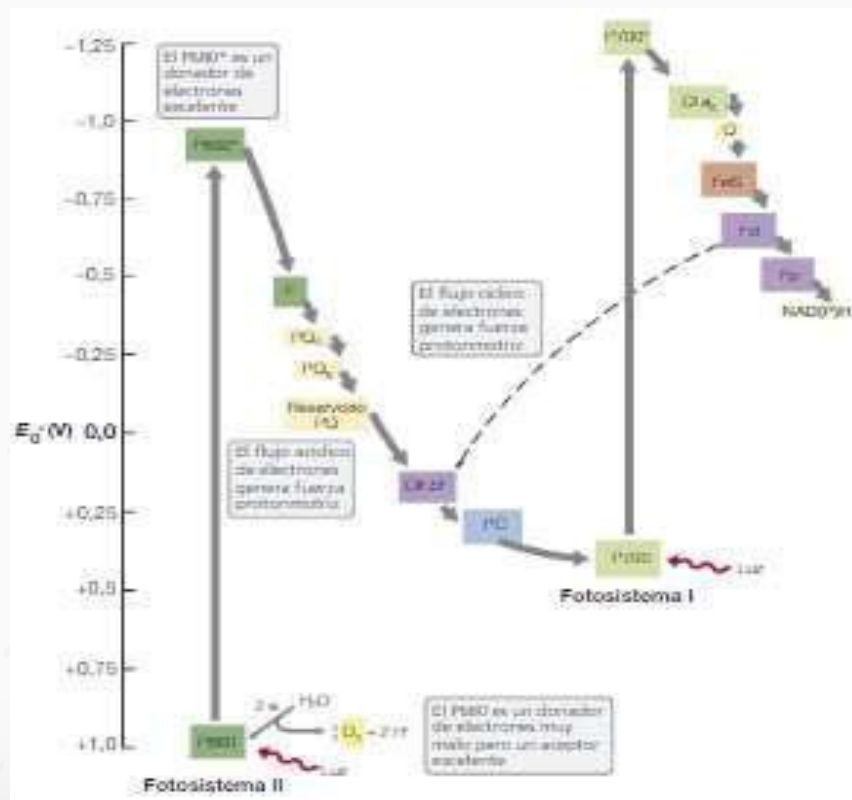
Mecanismo de flujo de electrones y producción de ATP en la fotosíntesis oxigénica: En la fotosíntesis oxigénica, los fotosistemas I y II colaboran en un proceso conocido como esquema Z, denominado así porque la trayectoria de los electrones sigue una forma similar a una Z inclinada, como se muestra en la Figura 28. En este proceso de fotosistema II tiene un potencial de reducción en sus moléculas de clorofila P680 que es superior al del par O_2/H_2O , es decir, es más electropositivo. Esta característica se requiere para iniciar la primera fase del

flujo de electrones, que implica la división del agua en oxígeno y electrones.

La energía lumínica tiene la capacidad de transformar el P680 en un reductor fuerte que permite la reducción de clorofilas *a* carentes de átomo de Mg, llamada feofitina, con un potencial de reducción que se acerca a $-0,5$ V. Seguido, el H₂O tiene la tarea de donar un electrón a la molécula que se encuentra oxidada de P680, lo que permite que su reducción basal regrese; el electrón pasa por medio de varios transportadores membranales desde la feofitina, manteniendo un potencial reducido cada vez más positivo las cuales se identifican como citocromos, quinonas y plastocianina. El electrón de reacción PSI, es donado por las plastocianinas. El electrón que con anticipación absorbió la energía lumínica y ha donado un electrón, recibe una aceptación proveniente del electrón del PSI, específicamente P700, eventualmente, contribuye a que se lleve a cabo la reducción de NADP⁺. Los electrones avanzan mediante un gran número de intermediarios de PSI y finaliza cuando se establece NADP + a NADPH.

Figura 28

Esquema Z de la fluidez de electrones llevada a cabo en un proceso fotosintético oxigénico



Fuente: Madigan, 2015; p413

6.2. Mecanismos para la fijación del dióxido de carbono

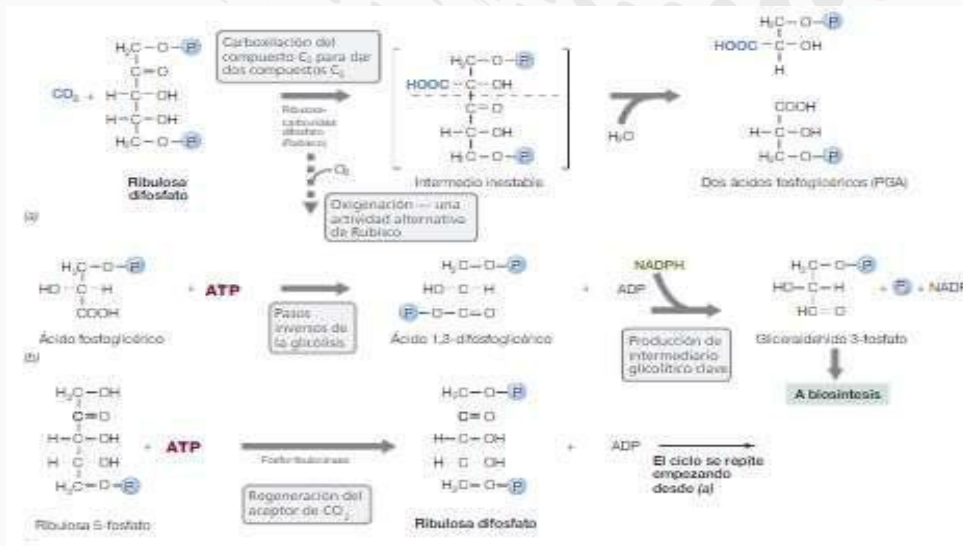
Mandigan (2015) sostiene que el proceso autotrófico consiste en la reducción y asimilación del dióxido de carbono (CO_2), una forma de carbono con baja energía y alta oxidación, para convertirlo en material celular. Este proceso es característico de muchos microorganismos, incluyendo casi todos los fotótrofos y quimiolitótrofos (p. 414).

6.2.1. Mecanismos del ciclo de Calvin en la fotosíntesis

Existen diversas rutas autótrofas, sin embargo, el ciclo de Calvin tiene mayor prevalencia en ambientes naturales. La mayoría de bacterias quimiolitótrofas, bacterias rojas, algas, entre otras, es donde en su mayoría se encuentra presente y se lleva a cabo este ciclo, el cual requiere de CO_2 y una molécula aceptora de este junto con NAD (P) H, ATP y fosforribulocinasa y la ribulosa-carboxilasa difosfato, identificada como dos enzimas necesarias para llevar a cabo estos pasos.

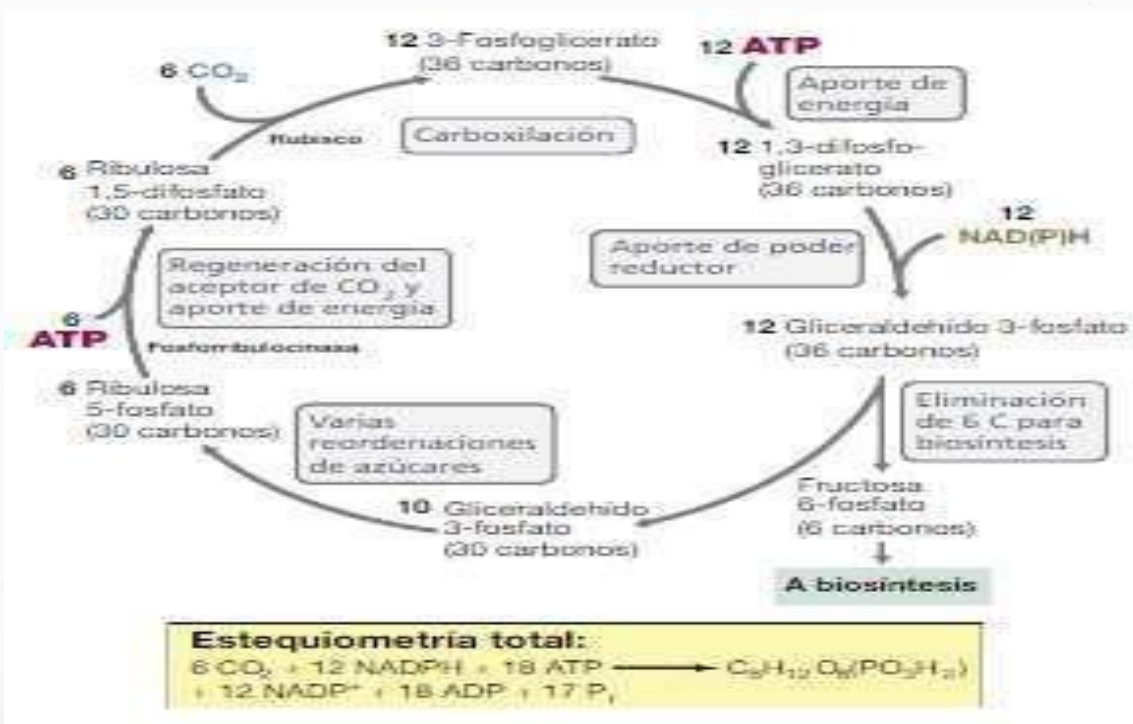
La rubisco o ribulosa-carboxilasa difosfato, cataliza el paso inicial del ciclo, esta enzima es la encargada de que se formen mediante catalización 2 moléculas de ácido 3- fosfoglicérido mediante el CO_2 y la ribulosa difosfato, ilustrada en la figura 29. El ciclo de Calvin llega a usar hasta 6 moléculas de dióxido de carbono para poder llevar a cabo la síntesis de una molécula de hexosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Se necesitan 6 moléculas de ribulosa difosfato (30 carbonos) para que sean incorporadas 6 moléculas de CO_2 , posteriormente se generan 36 átomos de carbono que corresponden a 12 moléculas de PGA mediante la carboxilación de las anteriores, como se muestra en la figura 30. En la etapa que culmina este ciclo, la enzima fosforribulocinasa es la requerida para regenerar las 6 moléculas de aceptor, ribulosa-1,5-bisfosfato, el aceptor de CO_2 . Para la síntesis de una molécula de glucosa a partir de 6 moléculas de CO_2 , se requieren 12 NADPH y 18 ATP.

Figura 29
Procesos requeridos en el ciclo de Calvin



Fuente: Madigan, 2015; p415

Figura 30
Ciclo de Calvin- elaboración de una molécula de hexosa a partir de dióxido de carbono



Fuente: Madigan, 2015; p415).

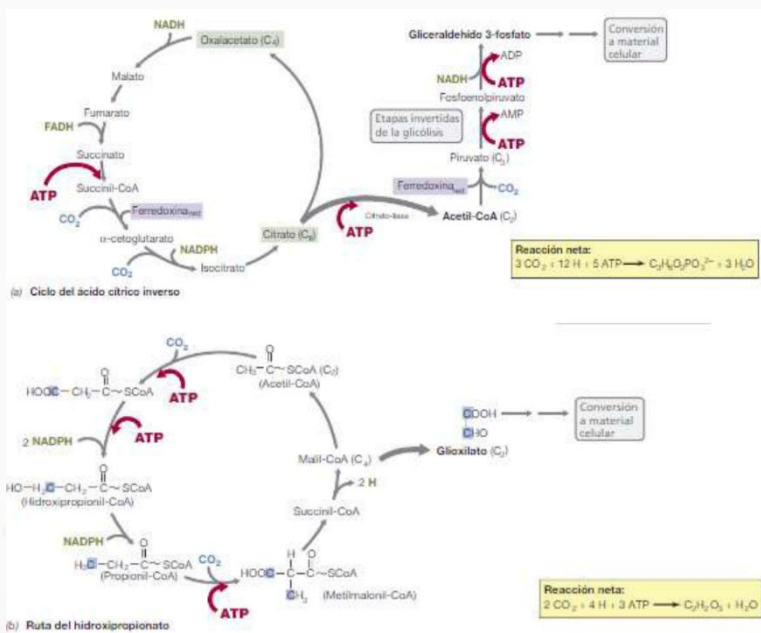
6.2.2. Bacterias verdes y su mecanismo de Autotrofia

A pesar de su naturaleza autótrofa, el ciclo de Calvin no es funcional para el caso de las bacterias verdes del azufre; en lugar de eso, estos microorganismos emplean dos rutas distintas a nivel autótrofo.

Las bacterias verdes del azufre como por ejemplo *Chlorobium* utilizan una ruta alternativa conocida como el ciclo del ácido cítrico inverso para formar dióxido de carbono; este ciclo se estipula en base a la fase del ácido cítrico inverso para fijar el dióxido de carbono, como se ilustra en la figura 31. Este proceso se lleva a cabo gracias a la actividad combinada de la ferredoxina y dos enzimas especializadas que facilitan la reducción del CO₂; la ferredoxina, que se produce durante las reacciones luminosas en estas bacterias, actúa como un donador de electrones con un potencial de reducción muy negativo. Las reacciones catalizadas por enzimas unidas a la ferredoxina incluyen la carboxilación de acetil-CoA a piruvato y la carboxilación de succinil-CoA a α-cetoglutarato. Estas enzimas funcionan en sentido opuesto al ciclo oxidativo convencional y catalizan varias reacciones del ciclo de Krebs inverso.

Figura 31

Vías autótrofas especializadas de bacterias verdes fotótrofas



Fuente: Madigan, 2015; p416).

6.3. Quimiolitótrofa

La quimiolitótrofa probablemente representó la forma más antigua de fijación de energía del planeta, dado que se encuentra ampliamente distribuida entre linajes cercanos a la base de los árboles filogenéticos incluyendo a Bacteria y Archaea. Se denominan quimiolitótrofos a los organismos que adquieren su energía a partir de la oxidación de compuestos orgánicos y la mayoría de las bacterias con esta denominación, son autótrofas; estos organismos requieren de ATP y poder reductor para desarrollarse con una única fuente de carbono, CO₂, tal como ocurre con los fotótrofos. Algunos organismos obtienen su energía a través de la oxidación de compuestos inorgánicos, pero requieren una fuente de carbono de compuestos orgánicos, estos organismos se denominan mixótrofos.

6.3.1. Proceso oxidativo de hidrogeno (H₂)

El hidrogeno (H₂) es un subproducto común del metabolismo de los microorganismos, particularmente en ciertos procesos de fermentación y las quimiolitótrofas aerobias, conocidas también como bacterias hidrogeno o hidrogenasa, cuentan con la capacidad para utilizar el hidrógeno como donante de electrones para su metabolismo energético. Del mismo modo, existen numerosas bacterias y arqueas anaeróbica que oxidan H se distinguen por utilizar diversos aceptores de electrones como CO₂, sulfatos y nitratos



6.3.1.1. Energía derivada del proceso oxidativo del hidrógeno

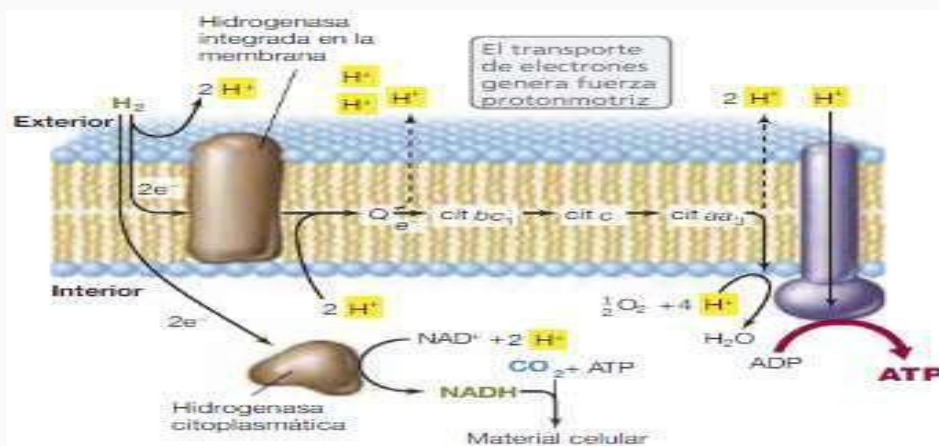
La síntesis de ATP en el periodo oxidativo del hidrógeno con oxígeno se produce a través de las reacciones de la cadena de transporte de electrones quien es el responsable de un gradiente conocido como una fuerza protón motriz que impulsa la síntesis de ATP. La enzima hidrogenasa cataliza una reacción altamente exergónica que tienen la capacidad de acoplar con la síntesis del adenosín trifosfato, en donde primeramente se transfieren a una quinona aceptora los electrones de hidrógeno. Como se ilustra en la figura 32, los electrones se

trasladan dando lugar a una fuerza protón motriz que reduce el oxígeno a agua, este proceso se da a través de una serie de citocromos.

Desde ese punto, los electrones se desplazan a través de un grupo de citocromos lo que resulta en la generación de una fuerza protón motriz hasta llegar a la reducción del oxígeno a agua, como ejemplifica en la figura 32. En algunas bacterias hidrogenadas, se sintetizan un número de dos tipos de hidrogenasas, una citoplasmática y una que se integra a nivel membranaral. La hidrogenasa de membrana está involucrada en la producción de energía, mientras que la hidrogenasa citoplasmática no cumple con el mismo rol. En lugar de utilizar el hidrógeno como donador de electrones para el metabolismo de energía, esta hidrogenasa cataliza la reducción de NAD^+ a NADH .

Figura 32

Bioenergética y funciones de las enzimas hidrogenasas de bacterias aerobias de hidrógeno



Fuente: Madigan, 2015

6.3.2. Dinámica de oxidación de compuestos del azufre reducidos

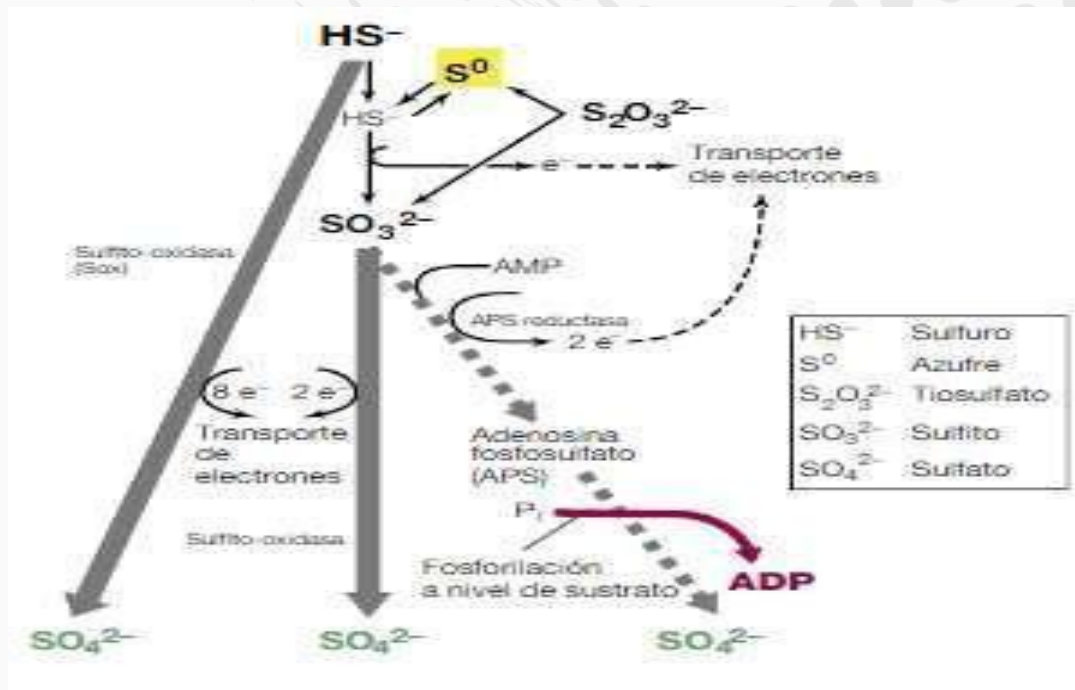
Las bacterias del azufre incoloras, llamadas de esta manera para diferenciarlas de las bacterias del azufre que son rojas, con pigmentos tienen la capacidad de utilizar variedad de compuestos del azufre reducido, como donantes de electrones. La definición de quimiolitotrofia se originó a partir de los estudios microbiológicos realizados por el ruso de apellido Winogradsky en las bacterias del azufre. La quimiolitotrofia representa un estilo vital metabólico que se requiere en un gran número de bacterias.

6.3.2.1. Energética derivada del proceso oxidativo del azufre.

Los compuestos de azufre comúnmente empleados como donadores de electrones incluyen H_2S , S_2O_3 , SO_3^{2-} y S_0 . El sulfato (SO_4^{2-}) suele ser el producto final de la oxidación del sulfuro: la oxidación del sulfuro se realiza en etapas sucesivas, comenzando con la formación de azufre elemental (S_0). Bacterias como *Beggiatoa* llevan a cabo la oxidación del sulfuro y almacenan el azufre elemental en su interior, como se muestra en la Figura 33. Este azufre elemental actúa como una reserva de energía, que puede ser utilizada más tarde cuando se agota el sulfuro, al ser oxidado a sulfato. Dado que el azufre elemental es poco soluble, las bacterias deben adherirse a las partículas de azufre para procesarlas. La oxidación de los compuestos de azufre produce protones, lo que acidifica el entorno circundante, debido a esta acidificación, muchas bacterias han desarrollado mecanismos para tolerar ambientes ácidos, y algunas son incluso acidófilas. Un ejemplo notable es *Acidithiobacillus thiooxidans*, que prospera mejor en condiciones de pH entre 2 y 3.

Figura 33

Procesos oxidativos de compuestos de azufre reducidos en quimiolitotrófos del azufre.



Fuente: Madigan, 2015.

6.3.3. Proceso oxidativo del hierro (Fe^{2+})

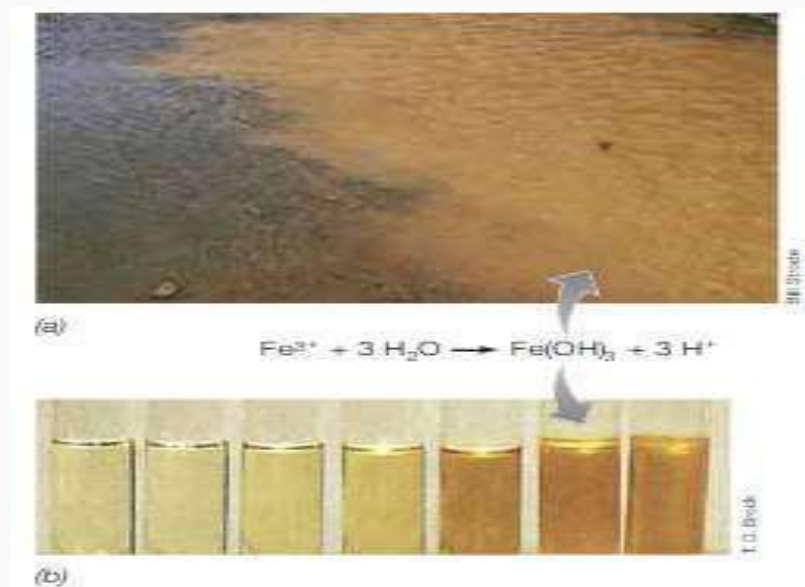
La oxidación del hierro ferroso (Fe^{2+}) a hierro férrico (Fe^{3+}) en presencia de oxígeno es un proceso requerido para las bacterias quimiolitótrofas del hierro. Sin embargo, bajo condiciones de pH ácido, este proceso genera solo una cantidad limitada de energía. Debido a esto, las bacterias deben realizar la oxidación de grandes volúmenes de hierro para poder sintetizar una cantidad mínima de biomasa. En ambientes acuáticos, el hierro férrico recién formado tiende a precipitarse como hidróxido férrico insoluble y otros compuestos, lo que a su vez contribuye a la acidificación del entorno.

6.3.3.1. Bacterias con la capacidad de oxidar hierro

Acidithiobacillus ferrooxidans y *Leptospirillum ferrooxidans*, son las bacterias de Fe mejor conocidas, con la capacidad de proliferar de forma autotrófica usando el hierro ferroso (Fe^{2+}), como se muestra en la Figura 34, actúa como donador de electrones en el proceso de oxidación; a un pH de 1, la energía generada es limitada, y el crecimiento óptimo de las bacterias quimiolitótrofas del hierro se produce en un rango de pH entre 2 y 3. Estas bacterias suelen encontrarse en ambientes ácidos, como las zonas acuáticas de las minas de carbón, donde la contaminación ácida es prevalente.

Figura 34

*Bacterias que oxidan el hierro. (a) drenaje ácido de una mina, se observa el punto de unión de un río normal y un arroyo que drena una zona minera de carbón (b) cultivos de *A. ferrooxidans**



Fuente: Madigan, 2015.

En un entorno de pH neutro, el hierro ferroso (Fe^{2+}) se oxida de manera natural a hierro férrico (Fe^{3+}), un proceso que limita las áreas donde las bacterias oxidantes de hierro pueden prosperar. Estas bacterias son principalmente activas en lugares donde el Fe^{2+} se encuentra en condiciones anóxicas, es decir, en ausencia de oxígeno. Por ejemplo, en acuíferos

anóxicos, el Fe^{2+} se libera y se encuentra en su estado reducido. Cuando estos acuíferos con Fe^{2+} se conectan a manantiales con agua rica en oxígeno, como ocurre en los manantiales ferruginosos, el Fe^{2+} entra en contacto con el oxígeno. Las bacterias oxidantes de hierro aprovechan esta exposición para transformar Fe^{2+} en Fe^{3+} antes de que ocurra la oxidación espontánea del hierro.

6.4. Modelos de Fermentación

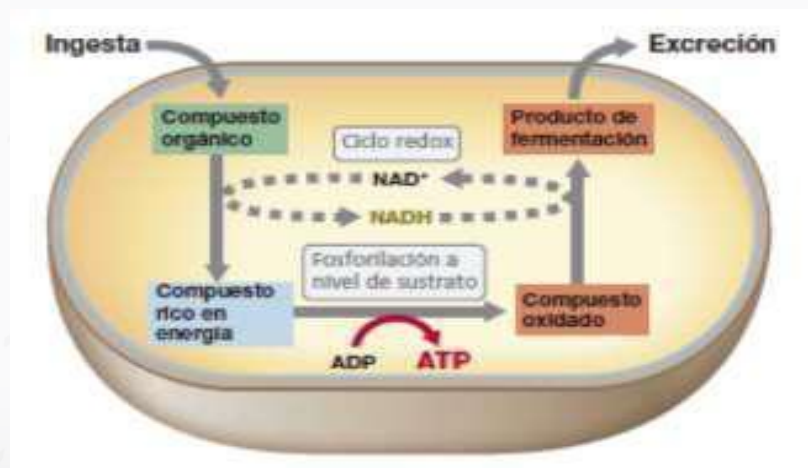
En los temas a continuación, Madigan (2015) aborda diversos tipos de fermentación, incluyendo la fermentación en general, la fermentación ácido-mixta, la fermentación ácido-láctica, la fermentación de mixta de ácidos, aminoácidos y la fermentación sin fosforilación a nivel de sustrato.

6.4.1. Aspectos energéticos y equilibrio redox

En ciertos entornos microbianos sin oxígeno, conocidos como anóxicos, la descomposición de materia orgánica ocurre de manera anaeróbica. Cuando no están presentes aceptores de electrones como sulfato, nitrato, o hierro férrico, la descomposición de compuestos orgánicos se lleva a cabo mediante fermentación, como se muestra en la Figura 35.

Figura 35

Elementos fundamentales en procesos fermentativos



Fuente: Madigan, (2015).

6.4.1.1. Fosforilación a nivel de sustrato y compuestos ricos en energía.

La energía puede ser generada a través de la fosforilación a nivel de sustrato utilizando una variedad de compuestos. Para comprender este proceso, se deben conocer los compuestos ricos en energía, estos compuestos orgánicos, que incluyen una molécula de coenzima A y también un enlace fosfato de alta energía, poseen enlaces que son energéticamente ricos debido a la alta energía liberada durante su hidrólisis, la cual es extremadamente exergónica.

6.4.2. Clasificación de las fermentaciones

Las fermentaciones se pueden clasificar en dos grandes categorías: según los productos resultantes o según los sustratos fermentados. Entre las fermentaciones más destacadas basadas en los productos obtenidos se encuentran la fermentación alcohólica, ácido láctico, propiónico, mixtos, butírico y acetogénica.

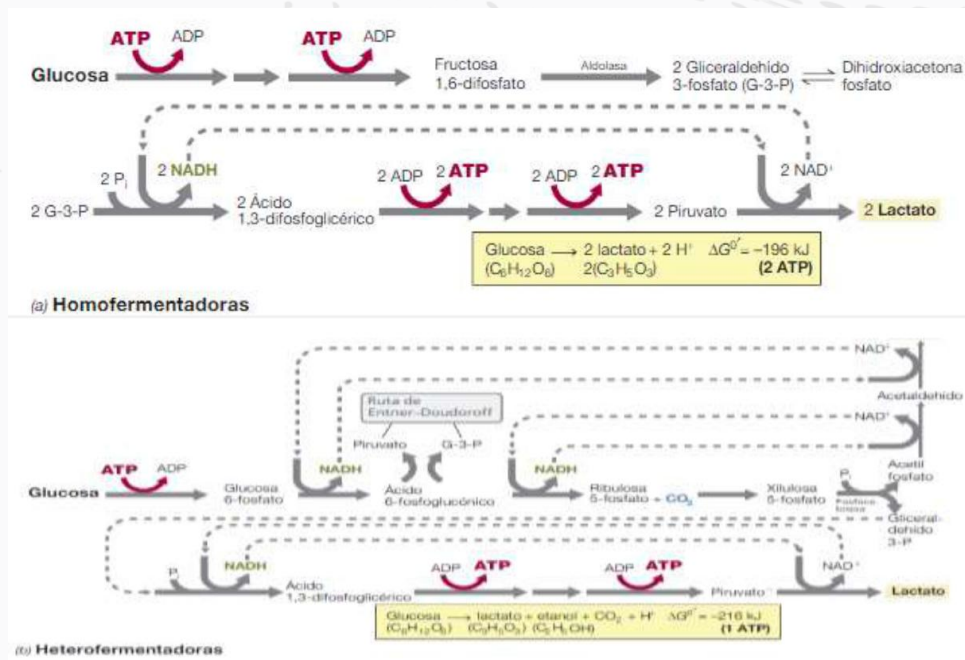
Por otro lado, algunas fermentaciones se clasifican en función del sustrato que es fermentado en lugar del producto final. Ejemplos de estas incluyen las fermentaciones de aminoácidos, pirimidinas, purinas, y succinato/oxalato. Además, ciertos microorganismos anaerobios pueden fermentar compuestos aromáticos y otros sustratos poco comunes. En algunos casos, únicamente un grupo específico de anaerobios puede llevar a cabo ciertas fermentaciones, mostrando una especialización en la capacidad para metabolizar sustratos que otros no pueden. Esto los convierte en especialistas en procesos metabólicos particulares.

6.4.2.1. Fermentación ácido-láctica

Esta fermentación se da mediante bacterias ácido-lácticas además de ser bacterias Gram positivas que no fermentan endosporas que generan ácido láctico como resultante de la fermentación de azúcares. Existen dos tipos de fermentación, una que forma lactato junto con otros productos, principalmente etanol y dióxido de carbono, conocida como hetero fermentativa, y otra que produce solo el ácido láctico llamada homo fermentativa. La Figura 36 ilustra los diferentes caminos de fermentación de glucosa en bacterias ácido-lácticas, distinguiendo entre las homofermentadoras y heterofermentadoras. Las variaciones en los

productos finales se deben a la presencia o ausencia de la enzima aldolasa, que desempeñan un trabajo en el glicólisis.

Figura 36. Rutas de fermentación de la glucosa en la bacteria ácido lácticas
(a) homofermentadoras (b) heterofermentadoras.



Fuente: Madigan, 2015.

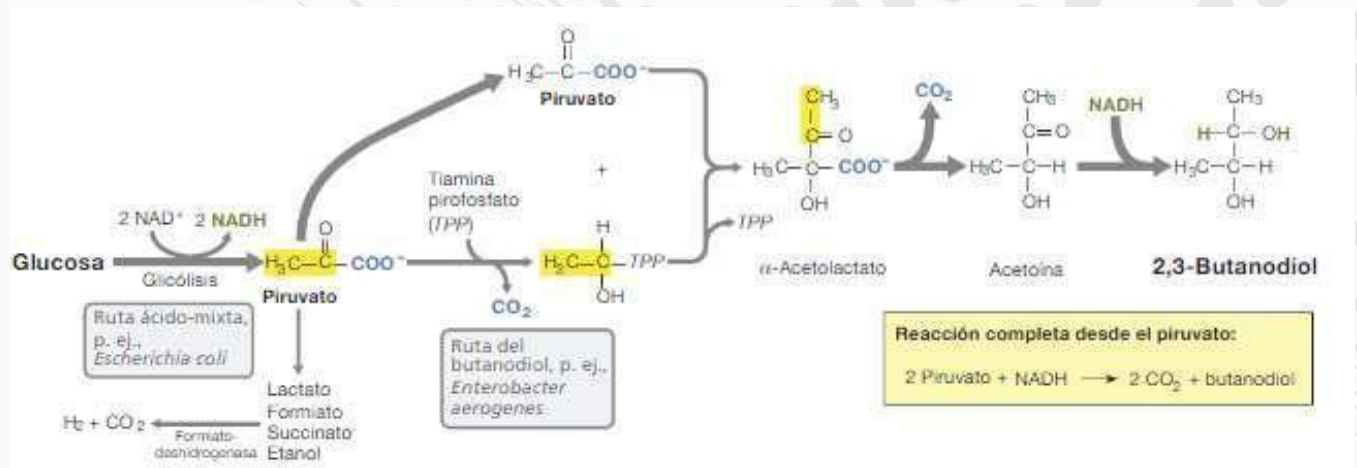
6.4.2.2. Fermentaciones ácido mixtas

En las fermentaciones ácido-mixtas típicas de las enterobacterias, mediante la fermentación de azúcares que se puedan transformar en glucosa dan la formación de ácido succínico, acético y láctico; además, con frecuencia forman hidrógeno, etanol y dióxido de carbono, *E. coli* y otras bacterias actúan como fermentador ácido mixto y estos fermentadores utilizan la glucólisis como su ruta metabólica.

En esta variante de la fermentación ácido-mixta, el butanodiol, un alcohol de 4 carbonos es un producto neutro requerido, como se indica en la figura 37, los productos principales de esta fermentación son etanol, dióxido de carbono y butanodio

Figura 37

Fermentaciones ácido- mixtas en producto de butanodiol



Fuente: Madigan, 2015; p429.

6.4.2.3. Fermentación de aminoácidos

Los clostridios proteolíticos, como ciertas especies del género *Clostridium*, realizan la fermentación de aminoácidos. Estos microorganismos degradan las proteínas a través de la descomposición de tejidos muertos, liberando productos de fermentación específicos. Algunas especies, como el patógeno *Clostridium tetani*, que causa el tétanos, son estrictamente proteolíticas, es decir, se especializan únicamente en la degradación de proteínas. En contraste, otras especies de *Clostridium* poseen tanto capacidades proteolíticas como sacarolíticas, permitiéndoles descomponer tantas proteínas como carbohidratos. En función de las especies, algunos microorganismos fermentan aminoácidos de manera individual como serina, histidina, cisteína, treonina o alanina; teniendo en cuenta que los procesos bioquímicos en este tipo de fermentaciones no son sencillos, se lleva a cabo una estrategia metabólica relativamente simple. En la mayoría de los casos los aminoácidos son utilizados para llegar finalmente a la producción de un acil-CoA proveniente de ácido graso, como butirilo, acetilo, o caproilo, generando ATP a través de la fosforilación por niveles de sustrato. Además, la fermentación de aminoácidos típicamente produce amoníaco y CO_2 como productos finales. En algunas especies sólo fermenta un par de aminoácidos, en estos casos un aminoácido actúa como donador de electrones y pasa a ser oxidado, mientras que el

en ausencia de oxígeno o en condiciones microaerófilos, pero producen otros compuestos durante este proceso, como ácido acético y láctico. Esto da lugar a un alcohol en forma de etanol, CO_2 (gas) y ATP, moléculas que emplean la familia de microorganismos fermentativos en sus metabolismos energéticos como se muestra en la figura 39. Diversos hongos, algas, bacterias, y algunos protozoos realizan la fermentación de azúcares para producir etanol y dióxido de carbono, un proceso conocido como fermentación alcohólica. En estas fermentaciones, el piruvato, derivado del ácido pirúvico, sufre una descarboxilación para formar acetaldehído. Este acetaldehído es luego reducido a etanol por la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa, utilizando NADH como donador de electrones.

Desde la perspectiva humana, la fermentación alcohólica es un proceso bioquímico cuyo objetivo principal es la producción de etanol, para ello intervienen algunos microorganismos; resaltando como protagonistas a las levaduras, quienes, mediante la ausencia de oxígeno, es decir un ambiente aeróbico permiten que los microorganismos obtienen energía para subsistir y fragmenten moléculas de azúcares para llevar a cabo la producción de subproductos como CO_2 y etanol. Los microorganismos que dan lugar a este tipo de fermentación se caracterizan por su capacidad para vivir en ambientes ausentes de oxígeno, especialmente cuando se están produciendo reacciones químicas, por esta razón se establece que la fermentación es un proceso anaeróbico en totalidad. Además, es un proceso por el cual se libera energía, es decir que es exotérmico, ya que por cada molécula de glucosa procesada se generan 2 moléculas de ATP. La entalpía libre (identificada como energía libre de Gibbs) da lugar a un tipo fermentación que tiene un valor de $\Delta G = -234.6 \text{ Kj. Mol}^{-1}$, lo que determina que es un proceso químico espontáneo.

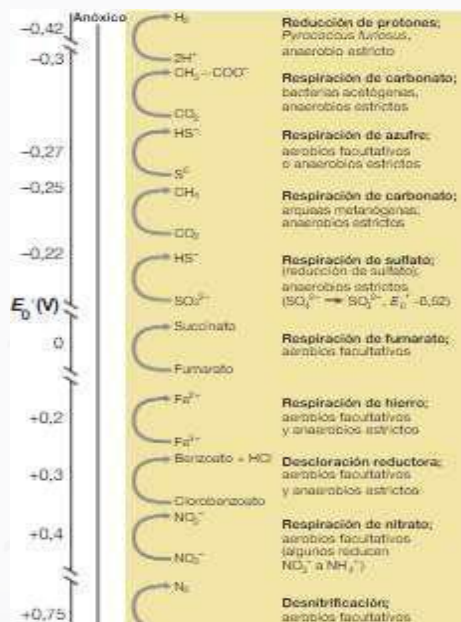
anaerobia, lo que implica que no pueden utilizar el oxígeno para respirar, siendo este gas potencialmente letal para ellos.

6.5.2. Aceptor alternativo de electrones y sistema de escala redox.

Cuando se utiliza oxígeno como aceptor de electrones en la oxidación de un donador, se desprende más energía que cuando se emplea un aceptor de electrones diferente para la misma reacción de oxidación del mismo compuesto, las distinciones en energía quedan claras al examinar los potenciales de reducción de cada aceptor, como se ilustra en la figura 40. Dado que el par O_2/H_2O exhibe la electropositividad más alta, la utilización de O_2 como aceptor terminal de electrones da como resultado una mayor liberación de energía en comparación con cualquier otro aceptor. Normalmente, los organismos que dependen de estos aceptores no son aerobios facultativos, lo que significa que están comprometidos con esta forma de existencia anaeróbica.

Figura 40

Mecanismos más usados por la respiración anaeróbica.



Fuente: Madigan, 2015; p437.

6.5.3. Reducciones asimiladoras y desasimiladoras.

Varios organismos utilizan compuestos inorgánicos como lo son los nitratos, CO₂ y sulfatos reducidos como muchos microorganismos para obtener nitrógeno, carbono celular y azufre; en estos mecanismos de producción, los resultados finales consisten en grupos amino de aminoácidos y compuestos nitrogenados, grupos sulfhídricos de diversas sustancias celulares de azufre y el carbono orgánico presente en todos los contribuyentes de las células. Cuando el nitrato, el sulfato o el CO₂ se reducen para este propósito, se los denomina asimilados, y la fase de reducción se denomina reducción asimilatoria. Para diferenciar entre estas dos formas de reducción, la utilización de estos compuestos como aceptores energéticos de electrones se identifica como reducción desasimilativa.

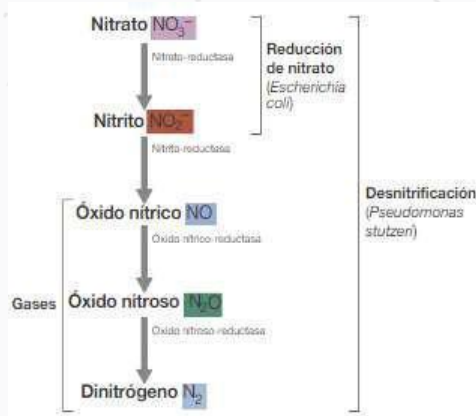
Existen diferencias significativas en los metabolismos asimilatorios y desasimilatorios, el primer metabolismo reduce solo la cantidad suficiente de compuestos (dióxido de carbono, nitratos, sulfatos) para cumplir con los requisitos de la biosíntesis, los productos finales se transforman finalmente en componentes celulares como macromoléculas u otras moléculas biológicas. Por el contrario, en el metabolismo desasimilativo, una cantidad significativa del aceptor de electrones se reduce, lo que da como resultado moléculas excretadas más pequeñas, como nitrógeno, azufre de hidrógeno o metano. Si bien la mayoría de los organismos participan en diferentes formas de metabolismo asimilatorio, sólo un número limitado llevan a cabo un metabolismo desasimilar.

6.5.3.1. Fase Reductora de nitrato y desnitrificación.

Entre los aceptores de electrones más utilizados en la respiración anaeróbica, como se describe en la Tabla 1, se encuentran los compuestos de nitrógeno inorgánicos, muestran los estados de oxidación del nitrógeno inorgánico con sus formas más importantes. El nitrato (NO₃) sirve como uno de los aceptores alternativos más utilizados para la desasimilación, capaz de reducirse a nitrito (NO₂) al ganar dos electrones, o transformarse aún más en óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N₂O) y moléculas nitrógeno (N₂). El NO, el

N₂O, y el N₂, al estar catalogados como gases tiene la capacidad de expandirse a nivel ambiental, y sus productos biológicos se denominan desnitrificación, como se ilustra en la figura 41. Un numero de organismos solo se materializa en la etapa de inicio y en condiciones en donde carece el oxígeno las enzimas se desinhiben tras hacerse presentes

Figura 41 Fases de reducción desasimilatoria de nitrato



Fuente: Madigan, 2015; p438.

Tabla 1. Aceptores de electrones comunes en la respiración anaeróbica

Compuesto	Estado de oxidación del átomo de N
N orgánico (—NH ₂)	-3
Amoniaco (NH ₃)	-3
Gas nitrógeno (N ₂)	0
Óxido nitroso (N ₂ O)	+1 (promedio por N)
Óxido nítrico (NO)	+2
Nitrito (NO ₂ ⁻)	+3
Dióxido de nitrógeno (NO ₂)	+4
Nitrato (NO ₃ ⁻)	+5

Fuente: Madigan (2015).

6.5.3.1.1. Bioquímica de la reducción desasimilatoria de nitrato

En la figura 42 se ilustra dinámicamente la comparación de las vías de transporte de electrones llevada a cabo en la respiración aeróbica, de nitratos y desnitrificación. En la

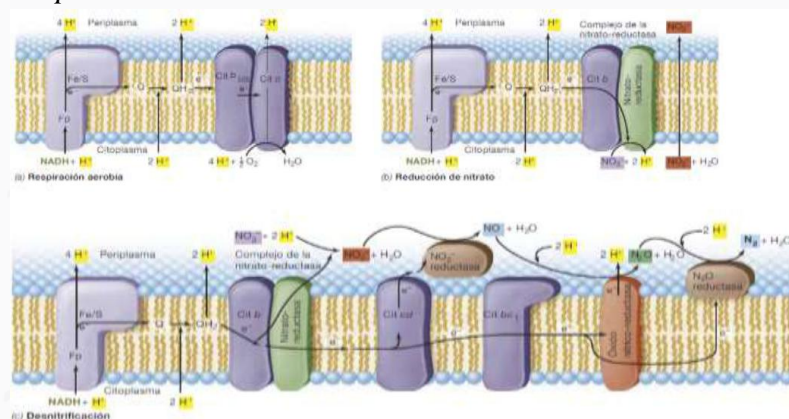
reducción desasimilatoria de nitrato, la primera fase es catalizada por la enzima nitrato-reductasa, una enzima de membrana que contiene molibdeno y su proceso de síntesis se ve intervenido e inhibido por el oxígeno. El nitrito (NO_2), es el primer producto de la reducción del nitrato, seguido de la reducción del nitrito a óxido nítrico (NO) por la nitroreductasa; algunos organismos pueden llevar a cabo una reducción adicional del nitrito a amonio (NH_3) en un proceso desasimilador, pero la desnitrificación es aspecto más destacado de este proceso desasimilador, porque un número de productos, en particular el óxido nítrico y nítrico, ocasionan un impacto en el medio ambiente.

Se ha estudiado a detalle la bioquímica en base a la reducción desasimiladora de nitrato en *E. coli*, donde el nitrato pasa un proceso de reducción limitado hasta óxido nítrico y en *Paracoccus denitrificans*, se completa el proceso de desnitrificación. En *E. coli*, la nitrato-reductasa utiliza electrones de

en lo que se producen desnitrificación. Como se ilustra en la figura 42, la nitrato-reductasa de *E. coli* emplea electrones originarios de un citocromo b, que compara la cadena de transporte de electrones entre células que llevan a cabo la respiración nitrativa y las células de *E. coli* aeróbicas.

Figura 42

Respiración anaeróbica basada en el nitrato.



Es necesario distinguir entre el metabolismo de los sulfatos considerado como un agente anabólico o un agente desasimilatorio, como es el caso de los nitratos. Varios organismos, hongos, plantas, algas, y un número de procariontes contienen sulfato para satisfacer sus necesidades de azufre biosintético; esta es una forma de metabolismo anabólico. Por otro lado, la capacidad de generar energía utilizando sulfato como aceptor de electrones involucra la reducción a un alto nivel y está restringida a las bacterias reductoras de sulfato. Estos organismos generan H₂S en cantidades elevadas y es excretado por la célula, dejándolo libre para ser oxidado a nivel aéreo, utilizado por otros organismos o unirse con metales para llevar a la formación de sulfuros metálicos.

Tabla 2

Proceso reductor del azufre

Tabla 13.8 Compuestos de azufre y donadores de electrones para la reducción del sulfato	
Compuesto	Estado de oxidación del átomo de S
<i>Estados de oxidación de compuestos de azufre fundamentales</i>	
S orgánico (R-SH)	-2
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	-2
Azufre elemental (S ⁰)	0
Tiosulfato (-S-SO ₃ ²⁻)	-2/+6
Dióxido de azufre (SO ₂)	+4
Sulfito (SO ₃ ²⁻)	+4
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	+6
<i>Algunos donadores de electrones utilizados para la reducción del sulfato</i>	
Hidrógeno molecular	Acetato
Lactato	Propionato
Piruvato	Butirato
Etanol y otros alcoholes	Ácidos grasos de cadena larga
Fumarato	Benzoato
Malato	Indol
Colina	Varios hidrocarburos

Fuente: Madigan, 2015.

6.5.3.2 Mecanismos Bioquímicos y energéticos de sulfato reducción.

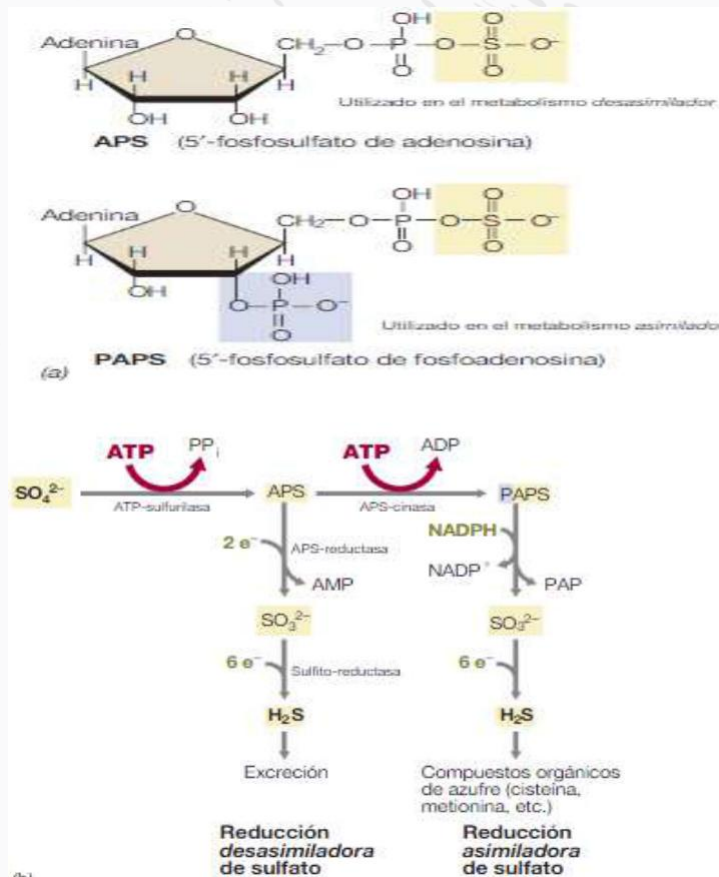
A pesar de que el sulfato es un aceptor de electrones que presenta menor favorabilidad en comparación con el oxígeno o nitrato, la reducción del sulfato proporciona energía libre suficiente para sintetizar ATP, dando como producto NADH o FADH debido a la oxidación de un donador de electrones; Casi el número total de especies microbianas necesitan de hidrógeno (H_2), y restringen la utilización de otros donadores.

Un ejemplo claro es el piruvato y lactato que son solicitados por especies que viven en hábitat anóxicas de agua de ríos o dulces, mientras que las bacterias reductoras de sulfato marinas, requieren en su mayoría a acetato y cadenas extensas de ácidos grasos.

La fase en la cual se pasa de reducción de sulfato a sulfuro de hidrógeno es compleja, implica la transferencia de 8 electrones y avanza a través de múltiples etapas intermedias. Antes de que pueda ocurrir la reducción de sulfato, se requiere ATP para activar el compuesto en una reacción. La enzima responsable de catalizar la combinación de sulfato con un ATP fosfato, dando como resultado la formación de adenosina fosfosulfato, se conoce como ATP-sulfurilasa (figura 43). Este paso de activación aumenta significativamente el potencial reductor del par SO_4/SO_3 , lo que hace posible que el sulfato se reduzca utilizando donadores de electrones como NAPH. En la reducción disasimilativa del sulfato, la APS reductasa media en la liberación de AMP, se lleva a la reducción específica del sulfato de APS a SO_3^{2-} . En la reducción por asimilación, la formación de fosfoadenosina fosfosulfato requiere la adición de un fosfato APS antes de que se pueda reducir el sulfato. Independientemente de la vía de reducción, el resultado final de la reducción del sulfato es siempre SO_3^{2-} .

Figura 43

Reducción de sulfato a nivel bioquímico



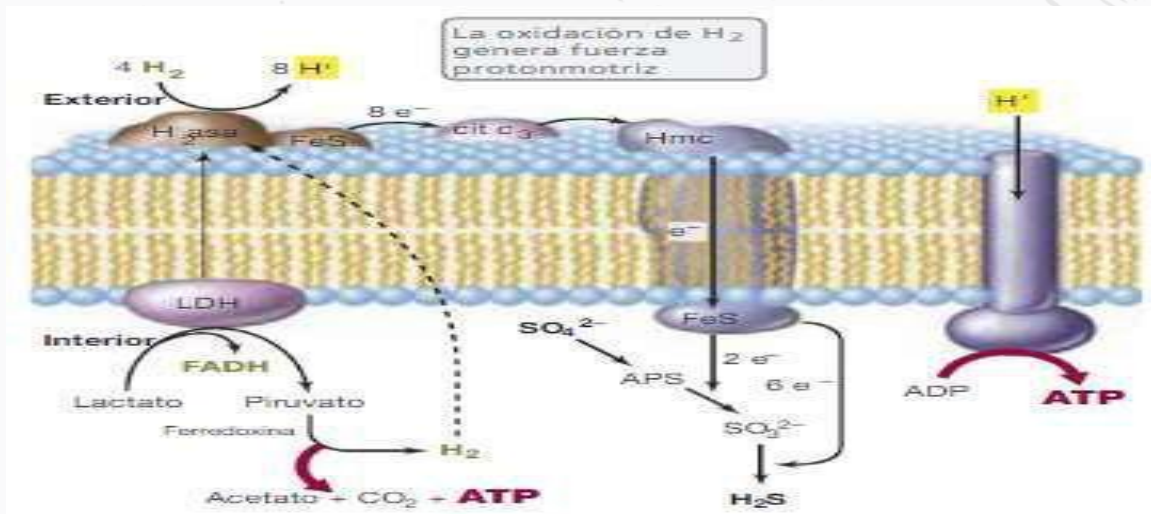
Fuente: Madigan, 2015; p440).

En la etapa responsable de la reducción desasimiladora de sulfato, las reacciones que se generan en el transporte de electrones emplean una fuerza denominada fuerza protomotriz, la cual de incitar la síntesis de adenosín trifosfato (ATP) influenciada por la actividad que ejerce la ATPasa. El transportador crítico de los electrones es denominado *c3* en esta fase, y también recibe el nombre de citocromo, estos se pueden expresar en c. periplasmático de bajo potencial (figura 44). Los electrones de hidrogenasa periplasmática es aceptada por el citocromo *c3* y se traslada al complejo membranal con gran número de proteínas a su alrededor. Esta fase o complejo es llamada *Hmc*, y tiene el trabajo de transportar a los

electrones y los trasladar a las enzimas APS/reductasa y sulfito reductasa, posteriormente se encargan de la producción de sulfito y sulfuro, este proceso se lleva a cabo mediante la membrana citoplasmática.

Figura 44

Fijación Energética y transporte de electrones en bacterias sulfato reductoras



Fuente: Madigan, 2015; p440.