Thermodynamische Betrachtung mikrobieller Stoffwechselleistungen

Verfasser: Daniel Widmer
Michael Walser
Philipp Schönenberger

Betreuer: Kurt Hanselmann

Einleitung

Mikroorganismen nützen eine Vielzahl von Reaktionen zur Energiegewinnung. Eine Reaktion liefert allerdings nur dann Energie und läuft freiwillig ab, wenn sie exergonisch ist, d.h. wenn ihre freie Enthalpie negativ ist. Thermodynamische Analysen von Stoffwechselreaktionen erlauben es somit, zu beurteilen, unter welchen Bedingungen eine bestimmte Reaktion von Mikroorganismen zur Energiegewinnung genutzt werden könnte. Die Thermodynamik lässt aber keine Schlüsse auf die Geschwindigkeit der betreffenden Reaktion zu und kann auch nicht sagen, ob eine bestimmte Reaktion tatsächlich von Mikroorganismen genutzt wird.

Vorgehensweise

Die freie Enthalpie ΔGr einer Reaktion unter bestimmten Bedingungen kann nach der Beziehung $\Delta Gr = \Delta Gr^o + R\ T \cdot \ln Q$ aus der freien Standardreaktionsenthalpie berechnet werden, wobei Q der Reaktionsquotient ist. Aus der Formel für die freie Reaktionsenthalpie ist ersichtlich, dass eine Reaktion, die unter Standardbedingungen endergonisch ist, unter bestimmten Bedingungen exergonisch sein kann, nämlich dann, wenn die Edukte in grossem Überschuss vorhanden sind oder, wenn eine sehr geringe Konzentration der Produkte die Reaktion nach rechts „zieht".
Mit Hilfe des Excel Spreadsheets Thermodyn® wurden verschiedene Stoffwechselreaktionen, die von Mikroorganismen im Pansen von Kühen genutzt werde, untersucht.

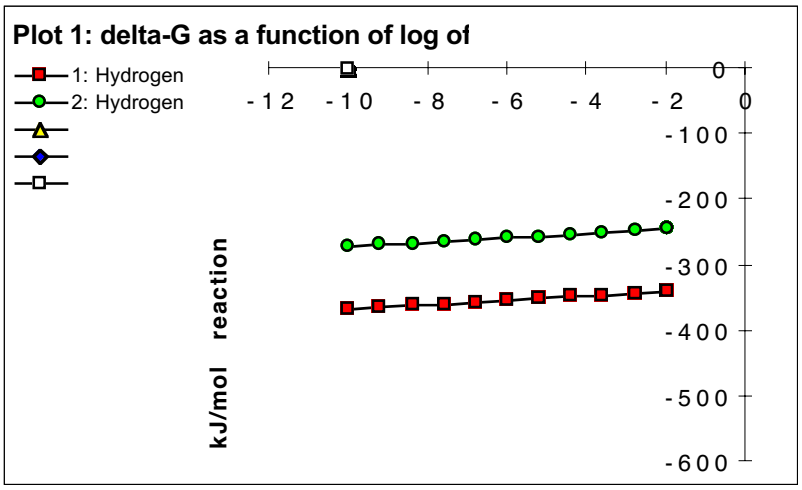
Ergebnisse

Als Erstes wurde die Fermentation von Glucose zu Acetat, Formiat und Succinat, wie sie von *Ruminococcus flavefaciens* durchgeführt wird, untersucht. Die vollständige Reaktionsgleichung lautet

$$100\ C_6H_{12}O_6 + 48\ HCO_3^- \longrightarrow 107\ CH_3COO^- + 62\ HCOO^- + 93\ {}^-OOC(CH_2)_2COO^- + 59\ H_2 + 307H^+ + 34H_2O$$

Reaktand	Anfangskonzentration [mol/l]	Endkonzentration [mol/l]
Glucose	0.020	0.0002
Bicarbonat	0.030	0.020
Acetat	10^{-7}	0.020
Formiat	10^{-7}	0.060
Succinat	$0.5 \cdot 10^{-6}$	0.020
pH	6.9	6.3
H_2 (gelöst)	variabel, 10^{-10} bis 10^{-2}	Variabel, 10^{-10} bis 10^{-2}

Tabelle 1: Anfangs- und Endkonzentrationen der Reaktanden bei der Fermentation von Glucose durch *R.. flavefaciens* in einer Batch-Kultur



Graphik 1: Halblogarithmische Auftragung der freien Reaktionsenthalpie gegen die Konzentration von gelöstem Wasserstoff bei 25°C. Rot: Am Anfang der Batch–Kultur, grün: am Ende der Batch-Kultur für die auf 1 Glukose normierte Fermentationsgleichung
1 $C_6H_{12}O_6$ + 0.48 HCO_3^- → 1.07 CH_3COO^- + 0.62 $HCOO^-$ + 0.93 $^-OOC(CH_2)_2COO^-$ + 0.59 H_2 + 3.07 H^+ + 0.34 H_2O

Wie auf Graphik 1 dargestellt, ist die Fermentation von Glukose sowohl unter den Anfangs- wie auch unter den Endbedingungen in der Batch-Kultur stark exergonisch. Die theoretische Verfügbarkeit von Energie kann also nicht der limitierende Faktor für das Wachstum von *R.. flavefaciens* in der Kultur sein.

Als nächstes wurde die Fermentation von Glucose durch *R. flavefaciens* mit der Produktion von Methan aus Formiat, also einem Abfallprodukt des Stoffwechsels von *R.. flavefaciens*, durch *Methanobrevibacter ruminantium* verglichen. Um den Vergleich zu ermöglichen, wurden die stöchiometrischen Faktoren ans Formiat angepasst.

Glukosefermentation durch *R.. flavefaciens:*
161 $C_6H_{12}O_6$ + 77 HCO_3^- ⟶ 100 $HCOO^-$ + 173 CH_3COO^- + 150 $^-OOC(CH_2)_2COO^-$ + 95 H_2 + 495 H^+ + 55 H_2O

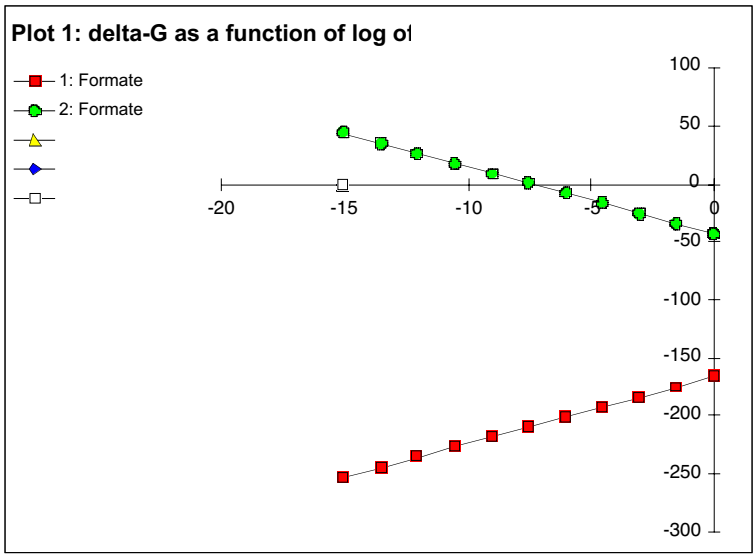
Methanogenese durch *M. ruminantium:*
100 $HCOO^-$ + 25 H_2O + 25 H^+ ⟶ 25 CH_4 + 75 HCO_3^-

Substanz	**Anfangskonzentration [mol/l]**
Glucose (Substrat)	$2 \cdot 10^{-4}$
Bicarbonat (Substrat)	$2 \cdot 10^{-2}$
Acetat	$2 \cdot 10^{-2}$
Formiat	variabel, 10^{-15} bis 1
Succinat	$2 \cdot 10^{-2}$
H2 (gelöst)	10^{-7}
pH	6.3

Tabelle 2: Anfangskonzentrationen der Edukte und Produkte bei der Glukosefermentation

Substanz	**Anfangskonzentration [mol/l]**
Formiat (Substrat)	variabel, 10^{-15} bis 1
pH (H^+ ist Substrat)	6.3
Methan	10^{-4}
Bicarbonat	$2 \cdot 10^{-2}$

Tabelle 3: Anfangskonzentrationen der Edukte und Produkte bei der Methanogenese



Graphik 2: Halblogarithmische Auftragung der Freien Reaktionsenthalpien bei 25°C.
Glukosefermentation, rot:
1.61 $C_6H_{12}O_6$ + 0.77 HCO_3^- → 1 $HCOO^-$ + 1.73 CH3COO- + 1.5 $^-OOC(CH_2)_2COO^-$ + 0.95 H_2 + 4.95 H^+ + 0.55 H_2O

Methanogenese von Formiat, grün:
1 $HCOO^-$ + 0.25 H_2O + 0.25 H^+ → 0.25 CH_4 + 0.75 HCO_3^-

Graphik 2 zeigt, dass die Fermentation von Glukose über den ganzen Bereich der gewählten Anfangsbedingungen exergonisch ist, mit steigender Konzentration des Produkts Formiat jedoch weniger stark. Die Produktion von Methan wird erst ab einer Substratkonzentration von ca. $3.2 \cdot 10^{-8}$ mol/l exergonisch. Damit gibt es einen Bereich, in welchem die Konzentration von Formiat so hoch ist, dass es von *M. ruminantium* als Substrat verwendet werden kann. Dadurch steigt die Formiatkonzentration nicht mehr weiter an und *R.. flavefaciens* kann weiterhin viel Energie aus der Fermentation von Glukose gewinnen.
Dieses Beispiel zeigt, wie verschiedene Mikroorganismen in einem bestimmten Habitat, in diesem Fall dem Pansen, von den Stoffwechselleistungen anderer Mikroorganismen profitieren können.