

P XX/1 Wachstumsausbeute

Problemstellung

Rhodobacter sphaeroides, ein **anoxigenes, phototrophes Nicht-Schwefelbakterium** (PNSB), erreicht in kürzerer Zeit eine höhere molare **Wachstumsausbeute** (Y), wenn dem bikarbonatgepufferten Medium für phototrophes Wachstum Malat zugesetzt wird, verglichen mit dem phototrophen Wachstum in Medium, das HCO_3^- und H_2 enthält. Wie ist diese Aussage zu verstehen ?

Durch die Aufgabe zu erwerbende Kenntnisse

- Wie leben PNSB ?
- Wie unterscheiden sich Assimilation und Dissimilation ?
- Wie lassen sich Assimilation und Dissimilation durch stöchiometrische Gleichungen beschreiben ?
- Wie ist Wachstumsausbeute definiert ?
- Nach welchen „Regeln“ werden Organismen bestimmten Stoffwechselklassen zugeordnet ?
- Wie bestimmt man formale Oxidationszahlen in organischen Molekülen ?
- Woher und wie erhalten photoorganoheterotroph wachsende PNSB die nötigen Elektronen ?
- Wie funktionieren anaplerotische Reaktionen ?
- Welche Enzyme sind am dissimilativen Stoffwechsel von Malat beteiligt ?
- Welchen Stoffwechsel betreiben PNSB im Dunkeln ?
- Wie reagieren PNSB beim Wechsel der Umweltbedingungen ?

Erklärungen

Wachstumsausbeute

Die molare Wachstumsausbeute ist das Verhältnis von gebildeter Biomasse zur Menge Substrat in Mol oder Gramm, die während des Wachstums **assimiliert** und **dissimiliert** worden ist.

$$Y_S = \text{molare Wachstumsausbeute} = \frac{\text{Biomassebildung}}{\text{Substratverbrauch (assimiliert + dissimiliert)}} = \left[\frac{\text{Mol oder Gramm Biomasse}}{\text{Mol Substrat}} \right]$$

Zu Vergleichszwecken berechnet man oft die Wachstumsausbeute bezogen auf die Anzahl übertragener Elektronen, z.B.:

$$Y_e = \text{Wachstumsausbeute pro Elektron} = \frac{\text{Biomassebildung}}{\text{Elektronentransfer (assimiliert + dissimiliert)}} = \left[\frac{\text{Mol oder Gramm Biomasse}}{\text{Molequivalente Elektronen}} \right]$$

Metaboliten

Malat: $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5^{2-}$ (= MAL)

Oxalacetat: $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_5^{2-}$ (= OAA)

Phosphoenolpyruvat: $\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_3\sim\text{PO}_4^{3-}$ (= PEP)

Pyruvat: $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3^-$ (= PYR)

Acetyl-CoA: $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}\sim\text{SCoA}$ (= AcCoA)

Die **Zwischenprodukte** des vollständigen **Tricarbonsäurezyklus** in oxidativer Richtungsreihenfolge sind:

Citrat: $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ (= CIT)

[cis-Aconitat: $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_6^{3-}$ (=ACO)] an Enzym gebundenes, nicht freies Zwischenprodukt

Isocitrat: $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ (= ISO)

Oxalosuccinat: $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7^{3-}$ (= OXS)

alpha-Ketoglutarat: $\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_5^{3-}$ (= KET)

Succinyl-CoA: $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_3\sim\text{SCoA}$ (= SCA)

Succinat: $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$ (SUC)

Fumarat: $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4^{2-}$ (= FUM)

Malat: $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5^{2-}$ (= MAL)

Oxalacetat: $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_5^{2-}$ (= OAA)

Die **Enzyme** des TCA sind:

Citrat-Synthase

Aconitase

Isocitrat-Dehydrogenase

alpha-Ketoglutarat-Dehydrogenase

Succinat-Thiokinase

Succinat-Dehydrogenase
Fumarase
Malat-Dehydrogenase

Die Enzyme der **anaplerotischen Reaktionen** sind:
Phosphoenolpyruvat-Carboxylase
Pyruvat-Kinase
Pyruvat-Dehydrogenase

Wie Malat in den TCA gelangt

Malat wird zu **Oxalacetat oxidiert**, welches teilweise via **Phosphoenolpyruvat** und via **Pyruvat** zu **Acetyl-CoA decarboxyliert** werden muss, damit Reaktionen des **oxidativen Tricarbonsäurezyklus** (TCA, Krebszyklus, Zitronensäurezyklus) funktionieren können (anaplerotische Reaktionen = Auffüllreaktionen).

Formale Stöchiometrie der Biomassebildung

Aus Molekülbausteinen, die aus dem TCA hervorgehen, werden die Makromoleküle für den Aufbau der Biomasse gebildet. Biomasse wird für dieses Beispiel vereinfacht mit $\langle C_4H_7O_3 \rangle_n$ dargestellt. Die formale Biosynthesestöchiometrie soll mit Malat als **Kohlenstoffquelle** formuliert werden.

Oxidationszustände der Elemente in der Biomasse

Unter der Annahme, dass O die Oxidationsstufe $-II$ und H die Oxidationsstufe $+I$ hat, lässt sich für C in der „Biomasseformel“ eine durchschnittliche formale Oxidationsstufe von -0.25 berechnen.

Elektronendonator

Malat ist auch die **Elektronenquelle**. Formal kann ein von extern zugeführtes C4-Molekül Malat im TCA-gekoppelten Stoffwechsel durch *Rhodobacter sphaeroides* vollständig zu 4 Molekülen CO_2 oxidiert werden. Dabei können maximal 12 Elektronen (hier geschrieben als an Wasserstoff gebundene Reduktionsequivalente [H]) freigesetzt werden, wie aus der folgenden stöchiometrischen Summengleichung hervorgeht:



Bikarbonatsystem

Ob in einer stöchiometrischen Gleichung CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- oder CO_3^{2-} geschrieben wird, hängt vom pH und den für die Säuren-Basen-Gleichgewichtsreaktionen massgebenden pK-Werte ab. Fürs Bikarbonatsystem gelten $pK_1 = 6.4$, $pK_2 = 10.3$, für $T = 25^\circ C$.

Konvention zur Formulierung von stöchiometrischen Gleichungen: Stoffwechsellgleichungen sollen mit CO_2 als Reaktanden geschrieben werden; wenn man aber die durch CO_2 -Verbrauch oder $-$ Bildung bedingten chemischen Veränderungen in der Umwelt darstellen will, so sollen die dem pH im Oekosystem entsprechenden Karbonatspezies in der Gleichung zum Ausdruck kommen.

Aufgaben

Überlegen Sie sich Lösungen zu den folgenden Fragen:

1a Wachstumsausbeute

Wievielfach ist die **molare** Wachstumsausbeute mit Malat höher als diejenige mit Wasserstoff?

Erklären Sie die verschiedenen molaren Wachstumsausbeuten anhand der **stöchiometrischen Gleichungen** für die photosynthetische **Biomassebildung** mit Malat bzw. mit H_2 als Elektronendonatoren. Normalisieren Sie die Wachstumsausbeute auch auf die Anzahl transferierter Elektronen.

1b Wachstum mit H_2

Welcher "Stoffwechselklasse" wird das anaerobe Wachstum von *Rhodobacter sphaeroides* mit H_2 im bikarbonatgepufferten Medium im Licht zugeteilt?

1c Wachstum mit Malat

Welcher "Stoffwechselklasse" entspricht das anaerobe Wachstum von *Rhodobacter sphaeroides* mit Malat im Licht?

1d Dekarboxylierungen

Bei welchen katabolischen Stoffwechselschritten wird die C4-Verbindung Malat dekarboxyliert?

Bezeichnen Sie im wahrscheinlichsten Stoffwechselweg die Enzyme, die C-Atome als CO_2 freisetzen.

1e Elektronenfreisetzung

Auf welcher Stufe und durch welche Enzyme werden Elektronen aus Malat freigesetzt?

Bezeichnen Sie im wahrscheinlichsten dissimilatorischen Stoffwechselweg die Schritte, bei denen Reduktionsequivalente gebildet werden.

1f Malat als Elektronenquelle für die Photosynthese

Wie können die im TCA freigesetzten Elektronen in den photosynthetischen Elektronenfluss eingeschleust werden?

Überlegen Sie sich die Voraussetzungen für den Fluss von Elektronen aus Malat ins Photosystem von *Rhodobacter sphaeroides*.

1g H_2 als Elektronenquelle für die Photosynthese

Wie können die aus H_2 freigesetzten Elektronen in den photosynthetischen Elektronenfluss eingeschleust werden?

Überlegen Sie sich die Voraussetzungen für den Fluss von Elektronen aus H_2 ins Photosystem von *Rhodobacter sphaeroides*.

1h Enzyme

Wie sind die folgenden 5 Enzyme am Malatstoffwechsel von *Rhodobacter sphaeroides* beteiligt?

1. Malat-Dehydrogenase
2. PEP-Carboxylase
3. PYR-Kinase
4. PYR-Dehydrogenase
5. Citrat-Synthase

Zeichnen Sie in einem Stoffwechselschema, das die Lösungen zu den Überlegungen 1d und 1e enthält, die Wirkorte der Enzyme 1-5 ein.

1i Wachstum im Dunkeln

Rhodobacter sphaeroides kann mit Malat auch im Dunkeln wachsen. Unter welchen Habitatsbedingungen ist dies möglich und welche physiologischen Fähigkeiten muss *Rhodobacter sphaeroides* dazu besitzen?

1j Wechsel in der Pigmentierung

Wenn eine anaerob im Licht gewachsene Kultur von *Rhodobacter sphaeroides* unter Luftzutritt im Licht geschüttelt wird, so ändert die Farbe der Kultur von braun-grün zu rot. Wie ist dieser Pigmentwechsel zu verstehen?
