

P XXIV/4 Fermentationsbilanzen: *Clostridien spp.*

Die Vielfalt fermentierender Bakterien bewältigt den Katabolismus einer grossen Zahl von organischen Molekülen. Beispiele sind in den Tabellen 15.6 und 15.7 BBOM, 9th ed. zusammengestellt. In dieser Übung untersuchen wir die Stoffwechselfähigkeiten einiger Clostridien-Arten. Dazu wurden anaerobe Batchkulturen in gut verschliessbaren Flaschen (Volumen 100ml) mit 80 ml Medium gefüllt. Der verbleibende Gasraum wurde mit einem O₂-freien Gasmisch (N₂:CO₂ = 9:1) geflutet und der Innendruck bei 20°C Zimmertemperatur auf den örtlichen Aussendruck eingestellt. Inkubiert wurden die Kulturen anschliessend bei 30°C.

Erklärungen:

Im Verlaufe der Glykolyse (Figur 4.12, BBOM 9th, Kapitel 4.9) werden die Hexosen zu Pyruvat oxidiert, das als Substrat für die verschiedensten Stoffwechselwege dient (Tabellen 15.6 und 15.7, BBOM 9th, Kapitel 15.22). Aus der Zusammenstellung in Figur 15.52 (BBOM Kapitel 15.21) lassen sich die ATP-Ausbeuten bei den verschiedenen Stoffwechselwegen herauslesen.

Zur Erinnerung

		Elektronen- Äquivalente/Mol	C- Äquivalente/Mol
Glukose	HOCH ₂ (HCOH) ₄ CHO	24	6
Butyrat	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COO ⁻	20	4
Acetat	CH ₃ COO ⁻	8	2
Laktat	CH ₃ CHOHCOO ⁻	12	3
Ethanol	CH ₃ CH ₂ OH	12	2
Butanol	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	24	4
Isopropanol	(CH ₃) ₂ CHOH	18	3
Aceton	CH ₃ COCH ₃	16	3
Kohlendioxid	CO ₂	0	1
Wasserstoff	H ₂	2	0

Aufgaben

Überlegen Sie sich Lösungen zu den folgenden Aufgaben:

Bei den Aufgaben soll die Gärung der verschiedenen *Clostridien*-Arten quantitativ beschrieben und die ATP-Ausbeute aus der Dissimilation für den betreffenden Gärungstyp bestimmt werden.

Es soll ausserdem die Biomassesynthese-Gleichung formuliert und der Substratumsatz errechnet werden, der nötig ist, um die für die Biosynthese nötige ATP-Menge zu generieren.

1a Säuregärung *C. butyricum*

Welche Fermentationsstöchiometrie lässt sich aus den in der Tabelle aufgeführten Messwerten für die Säuregärung durch *Clostridium butyricum* herleiten, wenn man annimmt, dass die Glukose nur dissimilativ verwertet wurde ?

Organismus: <i>C. butyricum</i>		Substratverbrauch (-) Produktebildung (+)	ATP- Bildung
Glukose	[mMol/l]	- 10.0
Butyrat	[mMol/l]	+ 7.6
Acetat	[mMol/l]	+ 4.2
Laktat	[mMol/l]	0	
Ethanol	[mMol/l]	0	
Butanol	[mMol/l]	0	
Isopropanol	[mMol/l]	0	
Aceton	[mMol/l]	0	
Kohlendioxid	[mMol/l]	
Wasserstoff	[mMol/l]	
ATP-Bildung total	[mMol/l]	
$Y^{ATP}_{Glukose}$	[-]	

0 bedeutet, dass für die betreffende Substanz analysiert wurde, dass sie aber nicht detektiert werden konnte, d.h. sie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht gebildet wurde.
 Werte wurden nicht gemessen, sie können aber als Bilanzwerte oder aus dem Fermentationsverlauf errechnet werden.

1b ATP-Ausbeute *C. butyricum*

Welche Stoffwechselreaktionen führen zur Energiekonservierung und wieviel ATP kann der Organismus mit der vorgenannten Gärung (Aufgabe 1a) gewinnen ? (siehe BBOM 9th ed., Fig. 15.52)

2a Biomassesynthese

Wie lautet für die oben aufgeführte Fermentation die stöchiometrische Assimilationsgleichung für Biomassesynthese, wenn Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ (MW 792 g/Mol) angenommen wird ?

2b ATP für Biomasse

Wieviel Substrat muss dissimilativ umgesetzt werden, um Biomasse zu synthetisieren, wenn man davon ausgeht, dass für die Bildung von 1 mMol Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ 100 mMol ATP benötigt werden ?

1c Einfluss von Eisen *C. perfringens*

Das Produktespektrum der Fermentation von Glukose durch *C. perfringens* lässt sich durch Entzug von Eisen verändern. Weshalb wohl ? Welche Fermentationsstöchiometrieen lassen sich aus den in der Tabelle aufgeführten Messwerten für die Gärung von Hexose durch *C. perfringens* herleiten, wenn man annimmt, dass das Substrat nur dissimilativ verwertet wurde ?

Organismus: <i>C. perfringens</i>		Substratverbrauch (-) Produktbildung (+)		ATP- Bildung	
		+ Fe	- Fe	+ Fe	- Fe
Glukose	[mMol/l]	- 10.0	- 10.0
Butyrat	[mMol/l]	+ 3.4	+ 0.9
Acetat	[mMol/l]	+ 6.0	+ 1.5
Laktat	[mMol/l]	+ 3.3	+ 16.0
Ethanol	[mMol/l]	+3.5	0
Butanol	[mMol/l]	0	0		
Isopropanol	[mMol/l]	0	0		
Aceton	[mMol/l]	0	0		
Kohlendioxid	[mMol/l]		
Wasserstoff	[mMol/l]		
ATP-Bildung total	[mMol/l]		
$Y^{ATP}_{Glukose}$	[-]		

0 bedeutet, dass für die betreffende Substanz analysiert wurde, dass sie aber nicht detektiert werden konnte, d.h. sie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht gebildet wurde.
 Werte wurden nicht gemessen, sie können aber als Bilanzwerte oder aus dem Fermentationsverlauf errechnet werden.

1d ATP-Ausbeute *C. perfringens*

Wie beeinflusst der Eisengehalt im Medium die Energiekonservierung und wieviel ATP kann der Organismus mit der vorgenannten Gärung (Aufgabe 1c) gewinnen ?

2a Biomassesynthese

Wie lautet für die oben aufgeführte Fermentation die stöchiometrische Assimilationsgleichung für Biomassesynthese, wenn Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ (MW 792 g/Mol) angenommen wird ?

2b ATP für Biomasse

Wieviel Substrat muss dissimilativ umgesetzt werden, um Biomasse zu synthetisieren, wenn man davon ausgeht, dass für die Bildung von 1 mMol Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ 100 mMol ATP benötigt werden ?

1e Gemischte Säure- Alkoholgärung *C. butylicum*

Welche Fermentationsstöchiometrie lässt sich aus den in der Tabelle aufgeführten Messwerten für die gemischte Säure- Alkoholgärung durch *Clostridium butylicum* herleiten, wenn man annimmt, dass das Substrat nur dissimilativ verwertet wurde ?

Organismus: <i>C. butylicum</i>		Substratverbrauch (-) Produktebildung (+)	ATP- Bildung
Glukose	[mMol/l]	- 10.0
Butyrat	[mMol/l]	+ 1.72
Acetat	[mMol/l]	+ 1.72
Laktat	[mMol/l]	0	
Ethanol	[mMol/l]	0	
Butanol	[mMol/l]	+ 5.86	
Isopropanol	[mMol/l]	+ 1.21	
Aceton	[mMol/l]	0	
Kohlendioxid	[mMol/l]	
Wasserstoff	[mMol/l]	
ATP-Bildung total	[mMol/l]	
$Y^{ATP}_{Glukose}$	[-]	

0 bedeutet, dass für die betreffende Substanz analysiert wurde, dass sie aber nicht detektiert werden konnte, d.h. sie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht gebildet wurde.
 Werte wurden nicht gemessen, sie können aber als Bilanzwerte oder aus dem Fermentationsverlauf errechnet werden.

1f ATP-Ausbeute *C. butylicum*

Welche Stoffwechselreaktionen führen zur Energiekonservierung und wieviel ATP kann der Organismus mit der vorgenannten Gärung (Aufgabe 1e) gewinnen ?

2a Biomassesynthese

Wie lautet für die oben aufgeführte Fermentation die stöchiometrische Assimilationsgleichung für Biomassesynthese, wenn Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ (MW 792 g/Mol) angenommen wird ?

2b ATP für Biomasse

Wieviel Substrat muss dissimilativ umgesetzt werden, um Biomasse zu synthetisieren, wenn man davon ausgeht, dass für die Bildung von 1 mMol Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ 100 mMol ATP benötigt werden ?

1g Aceton- Butanolgärung *C. acetobutylicum*

Welche Fermentationsstöchiometrie lässt sich aus den in der Tabelle aufgeführten Messwerten für die Aceton- Butanolgärung durch *Clostridium acetobutylicum* herleiten, wenn man annimmt, dass das Substrat nur dissimilativ verwertet wurde ?

Organismus: <i>C. acetobutylicum</i>		Substratverbrauch (-) Produktebildung (+)	ATP- Bildung
Glukose	[mMol/l]	- 10.0
Butyrat	[mMol/l]	+ 0.4
Acetat	[mMol/l]	+ 1.4
Laktat	[mMol/l]	0	
Ethanol	[mMol/l]	0.7	
Butanol	[mMol/l]	+ 5.6	
Isopropanol	[mMol/l]	0	
Aceton	[mMol/l]	2.2	
Kohlendioxid	[mMol/l]	
Wasserstoff	[mMol/l]	
ATP-Bildung total	[mMol/l]	
$Y^{ATP}_{Glukose}$	[-]	

0 bedeutet, dass für die betreffende Substanz analysiert wurde, dass sie aber nicht detektiert werden konnte, d.h. sie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht gebildet wurde.
 Werte wurden nicht gemessen, sie können aber als Bilanzwerte oder aus dem Fermentationsverlauf errechnet werden.

1h ATP-Ausbeute *C. acetobutylicum*

Welche Stoffwechselreaktionen führen zur Energiekonservierung und wieviel ATP kann der Organismus mit der vorgenannten Gärung (Aufgabe 1g) gewinnen ?

2a Biomassesynthese

Wie lautet für die oben aufgeführte Fermentation die stöchiometrische Assimilationsgleichung für Biomassesynthese, wenn Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ (MW 792 g/Mol) angenommen wird ?

2b ATP für Biomasse

Wieviel Substrat muss dissimilativ umgesetzt werden, um Biomasse zu synthetisieren, wenn man davon ausgeht, dass für die Bildung von 1 mMol Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ 100 mMol ATP benötigt werden ?

1i Acetat-Laktat-Gärung *C. lacto-acetophilum*

Clostridium lacto-acetophilum führt mit Glukose eine Säuregärung durch. Mit Acetat als Oxidationsmittel kann es auch Laktat verwerten. Welche Fermentationsstöchiometrien lassen sich aus den in der Tabelle aufgeführten Messwerten für die Gärungen durch *Clostridium lacto-acetophilum* herleiten, wenn man annimmt, dass die Substrate nur dissimilativ verwertet wurden ?

Organismus: <i>C. lacto-acetophilum</i>		Substratverbrauch (-) Produktebildung (+)		ATP- Bildung	
Laktat		mit Glukose	mit Laktat	mit Glukose	mit
Glukose	[mMol/l]	- 10.0	0
Butyrat	[mMol/l]	+ 7.3	+ 6.5
Acetat	[mMol/l]	+ 2.8	- 3.2
Laktat	[mMol/l]	0	- 10.0
Ethanol	[mMol/l]	0	0
Butanol	[mMol/l]	0	0		
Isopropanol	[mMol/l]	0	0		
Aceton	[mMol/l]	0	0		
Kohlendioxid	[mMol/l]		
Wasserstoff	[mMol/l]		
ATP-Bildung total	[mMol/l]		
$Y^{ATP}_{Glukose}$	[-]		

0 bedeutet, dass für die betreffende Substanz analysiert wurde, dass sie aber nicht detektiert werden konnte, d.h. sie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht gebildet wurde.
 Werte wurden nicht gemessen, sie können aber als Bilanzwerte oder aus dem Fermentationsverlauf errechnet werden.

1j ATP-Ausbeute *C. lacto-acetophilum*

Welche Stoffwechselreaktionen führen zur Energiekonservierung und wieviel ATP kann der Organismus mit der vorgenannten Gärung (Aufgabe 1i) gewinnen ?

2a Biomassesynthese

Wie lautet für die oben aufgeführte Fermentation die stöchiometrische Assimilationsgleichung für Biomassesynthese, wenn Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ (MW 792 g/Mol) angenommen wird ?

2b ATP für Biomasse

Wieviel Substrat muss dissimilativ umgesetzt werden, um Biomasse zu synthetisieren, wenn man davon ausgeht, dass für die Bildung von 1 mMol Biomasse der Zusammensetzung $<C_{39}H_{52}O_{17}>$ 100 mMol ATP benötigt werden ?