

Chapitre III

Catabolismes des glucides

Les microorganismes sont capables de cataboliser la plus grande partie des glucides

Les sucres les plus rencontrés dans la nature et les plus catabolisés sont des polysaccharides; majoritairement l'amidon et la cellulose et peu de disaccharides.

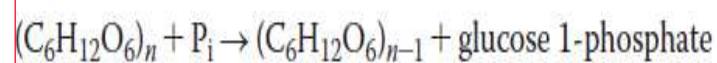
| Substance | Composition | Sources | Catabolic enzymes |
|-----------|--|--|--|
| Cellulose | Glucose polymer (β -1,4-) | Plants (leaves, stems) | Cellulases (β , 1,4-glucanases) |
| Starch | Glucose polymer (α -1,4-) | Plants (leaves, seeds) | Amylase |
| Glycogen | Glucose polymer (α -1,4- and α -1,6-) | Animals (muscle) and microorganisms (granules) | Amylase, phosphorylase |
| Laminarin | Glucose polymer (β -1,3-) | Marine algae (Phaeophyta) | β -1,3-Glucanase (laminarinase) |
| Paramylon | Glucose polymer (β -1,3-) | Algae (Euglenophyta and Xanthophyta) | β -1,3-Glucanase |
| Agar | Galactose and galacturonic acid polymer | Marine algae (Rhodophyta) | Agarase |
| Chitin | N-Acetylglucosamine polymer (β -1,4-) | Fungi (cell walls) Insects (exoskeletons) | Chitinase |
| Pectin | Galacturonic acid polymer (from galactose) | Plants (leaves, seeds) | Pectinase (polygalacturonase) |
| Dextran | Glucose polymer | Capsules or slime layers of bacteria | Dextranase |
| Xylan | Heteropolymer of xylose and other sugars (β -1,4- and α -1,2 or α -1,3 side groups) | Plants | Xylanases |
| Sucrose | Glucose-fructose disaccharide | Plants (fruits, vegetables) | Invertase |
| Lactose | Glucose-galactose disaccharide | Milk | β -Galactosidase |

Ils sont soit

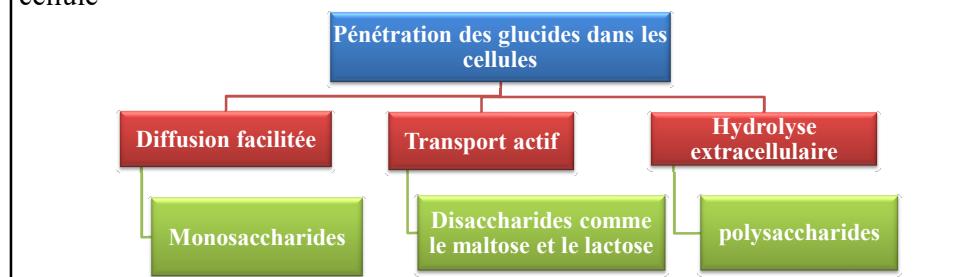
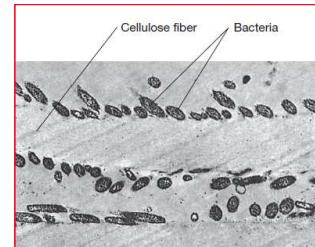
Intracellulaire sous forme de réserves (**Phosphorolyse**)

Extracellulaires, présent dans l'environnement cellulaire (**Hydrolyse**)

Phosphorolyse: lorsque il s'agit des polysaccharides de réserve intracellulaires.

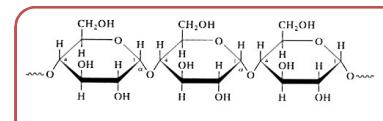


Hydrolyse: par des enzymes hydrolytiques, excrétées par le microorganisme pour dégrader des polysaccharides extracellulaires comme l'amidon, la cellulose, l'inuline et parfois des plus petites molécules comme le saccharose et le mélibiose et les produits formés (hexose, essentiellement glucose ou de pentoses) pénètrent ensuite dans la cellule

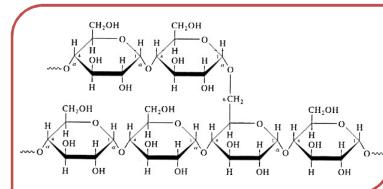


Amidon (20% Amylose + 80% Amylopectine)

Amylose: Polymère α (1-4)-D-glucopyranoside (10^3 à 4.10^3 monomères)

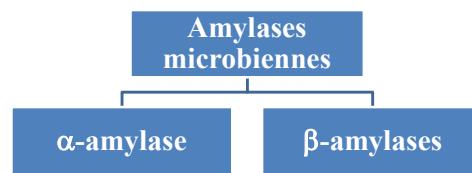


Amylopectine : Comporte des chaînes latérale branchées par liaisons α (1-6) tous les 20 résidus glucose environ sur la chaîne principale α (1-4)



L'amidon est dégradé par des **amylases** et libèrent du maltose, glucose, et dextrins..

Les amylases microbiennes sont des exo-enzymes classées en 2 grands groupes selon leur mode d'attaque:



α -amylase:

Leur action est toujours de type endomoléculaire

Libèrent du D- glucose, de maltose et d'une petite quantité de maltodextrines (Polyoside ou oligoside)

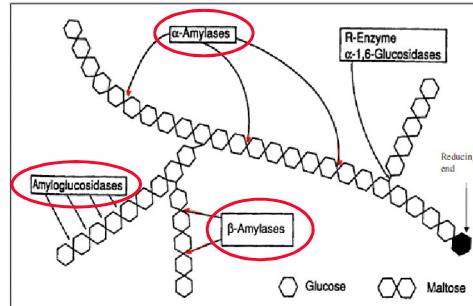
- NOMBREUSES bactéries du genre *Bacillus* (*B. stearothermophilus*, *B. subtilis*..), *Clostridium*,
- NOMBREUSES moisissures des genres *Aspergillus* et *Rhizopus*
- Quelques levures des genres *candida*, *pichia*, *Endomycopsis* ou *Lipomyces*

α -Amyloglucosidase

hydrolyse les liaisons α (1-4), α (1-6) et α (1-3)

Libère des unités glucose à partir des extrémités non réductrices de l' amylopectines et les amyloses et le maltose

Existent chez les moisissures (*Aspegillus*, *Rizopus* etc.) et chez quelques levures (*Candida*, *Endomycopsis*, *Endomyces*..) et des bactéries.



β -amylases

Libèrent des unités de maltose, maltotriose (3 unités de glucose) et des dextines à poids moléculaire élevés.

Hydrolyse les extrémités non réductrices des substrats

Très rare chez les micro-organismes elles sont retrouvées chez *B. subtilis* et quelques moisissures

Gélose à l'Amidon

1. But

Le but de cette gélose est de rechercher l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase, afin de voir si la bactérie est capable ou non de dégrader l'amidon.

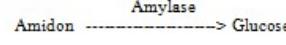
2. Composition

| Eléments | g/L | Rôles |
|-------------|-----|--|
| Peptones | 5 | Source de Carbone, d'azote, et d'énergie, et d'acide aminés. |
| Amidon (1%) | 10 | Source de Carbone et d'énergie |
| Agar | 10 | Gélifiant qui permet au milieu de devenir solide |
| Eau | | |

3. Principe

L'amidon est une macromolécule glucidique constituée d'un anchainement de glucose. L'amylase quand à elle est une enzyme capable de dégrader l'amidon, substrat.

On obtient donc :



En présence d'iode l'amidon change de couleur et vire au bleu foncé/ombre.

Après l'incubation l'ajout de di-iode (I_2), contenu dans le lugol, sur la gélose à l'amidon permet de mettre en évidence autour des colonies la présence ou non d'amidon et donc d'amylase.

4. Technique

- Ensemencer par une strie centrale ou trois spots
- Incuber 48 heures à 37 °C
- Après incubation, recouvrir la gélose d'une solution de di-iode c'est-à-dire une solution de lugol
- Observer le résultat obtenu

5. Résultats

| Observation (après ajout de lugol) | Interprétation | Conclusion |
|---------------------------------------|--|---------------------------|
| Auréole claire autour de la culture | L'amidon a été dégradé La bactérie possède donc l'amylase (enzyme) | Amidon (+) Ammylie (+) |
| Coloration bleue autour de la culture | Présence d'amidon autour de la culture La bactérie ne possède donc pas l'amylase | Amidon (-) Ammylie (-) |

6. Précautions

- Bien séparer suffisamment les stries d'ensemencement pour avoir une dégradation sur la pourtour des colonies
- Lors de la lecture ne pas ajouter trop de lugol

Catabolisme du glucose

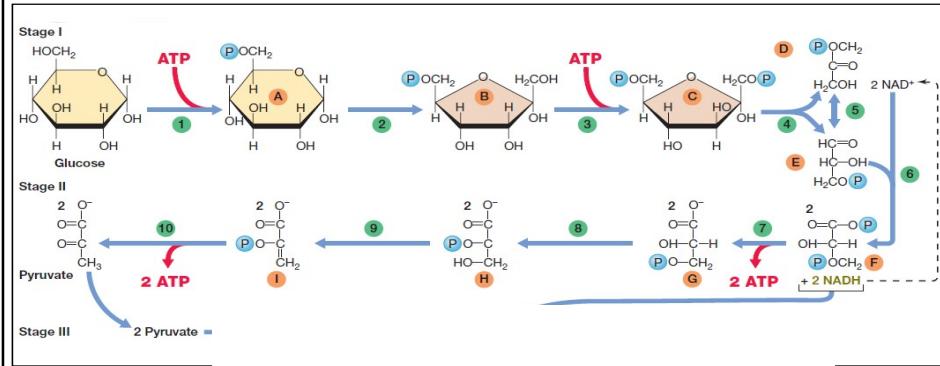
Les principales voies par lesquelles les sucres sont dégradés en pyruvate et similaires intermédiaires seront:

1. **La glycolyse** ou voie d'Embden-Meyer hoff ou voie du fructose bi-phosphate (hexose di-phosphate)
2. **La voie des pentose phosphate** ou voie de Warburg–Dickens Horecker ou shunt des hexoses monophosphate, voie des phosphoglucanates
3. **La voie d'Enter Doudoroff** ou voie de 2-céto-3désoxy-6-phosphogluconate (CDPG ou KDPG)

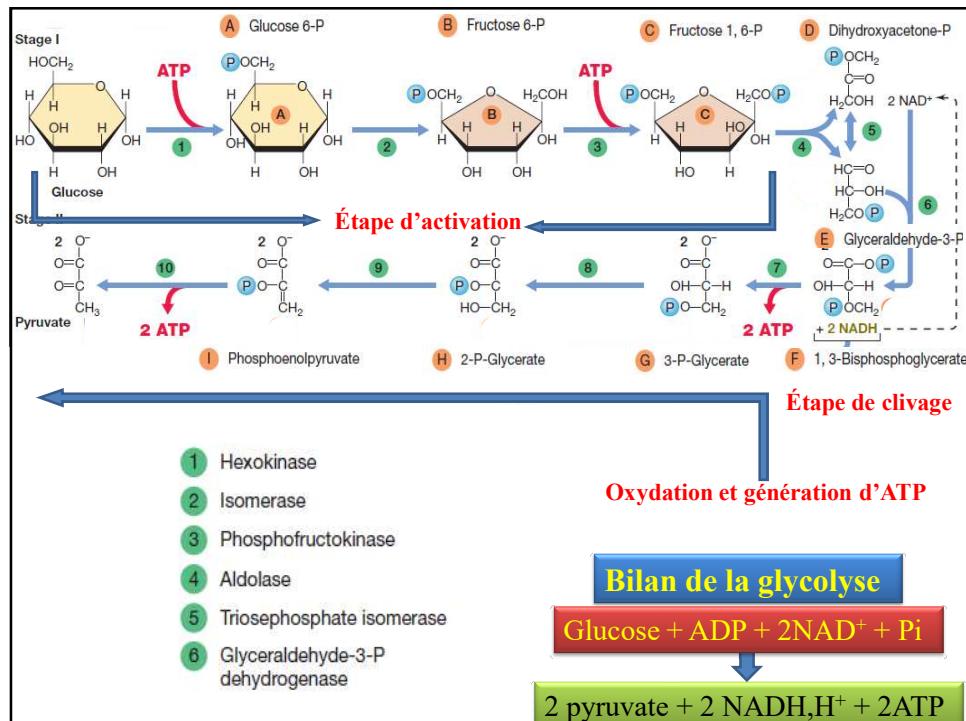
1. La glycolyse (voie d'Embden-Meyer hoff)

C'est la voie biochimique la plus connue; elle est suivi aussi bien chez les animaux (muscles) que chez les levure et un grand nombre de bactéries aérobies, anaérobies strictes ou facultatives (Entérobactéries...).

Ces organismes ont un tronc commun jusqu'au pyruvate cependant ils n'ont pas les mêmes produits finals.



C'est un processus anoxique qui peut être divisé en 3 phases comprenant chacune une série de réactions catalysées par des enzymes spécifiques.

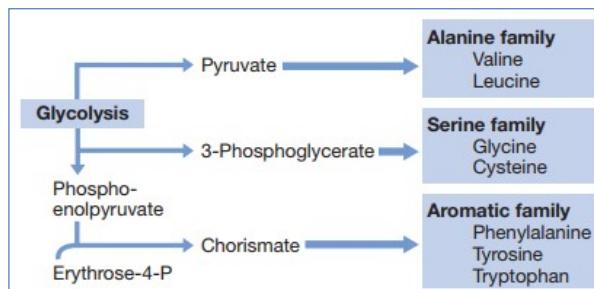


La glycolyse n'est pas relativement efficace dans la production d'énergie par phosphorylation au substrat de l'ordre de 2%, (2ATP).

La plus grande part de l'énergie qui reste est accumulée dans le NADH et le pyruvate

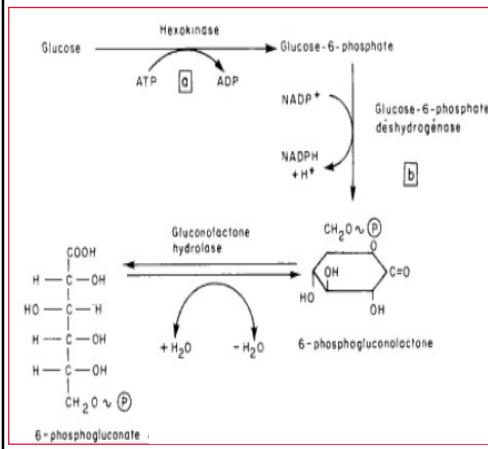
Cette énergie produite s'avère aussi très importante lors de la fermentation.

Elle fournit des petites molécules qui serviront comme éléments de construction pour les procaryotes et les eucaryotes



Les alternatives de la glycolyse

Les autres possibilités de dégradation de glucose dans le monde microbien font suite à la voie de **Warburg et Christian**



➤ La voie Warburg -Dickens et Horecker ou des hexose phosphates ou pentoses phosphates

➤ La voie d'Entner Doudoroff ou voie de 2-céto-3désoxy-6-phosphogluconate « CDPG »

Voie de Warburg -Dickens et Horecker (hexoses monophosphates ou pentoses phosphates)

Découverte en 1955

Cette voie existe chez tous les eucaryotes et la quasi-totalité des bactéries.

Elle est indépendante de l'oxygène; S'opère en aérobiose et en anaérobiose dans le cytosol chez la plupart des organismes, mais dans les plastes chez les plantes

Peut être utilisée en même temps que la glycolyse à des proportions variables chez de nombreux microorganismes.

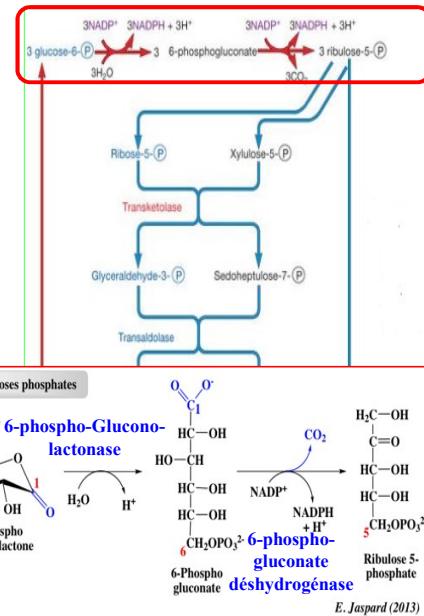
Elle est utilisée, au moins partiellement, par les levures et moisissures et de nombreuses bactéries aéro-anaérobies comme *Escherichia coli*

Elle joue un rôle fondamental chez les bactéries aérobies dépourvues de glycolyse (*Pseudomonas, Xanthomonas, Acetobacter xylinum...*).

Cette voie est composée de deux phases: **phase oxydative irréversible** et une **phase non oxydative réversible**

1) Phase oxydative irréversible

Permet la formation de NADPH₂) et du ribulose- 5phosphate par l'oxydation du glucose et la réduction du NADP⁺

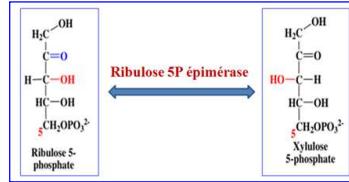


E. Jaspard (2013)

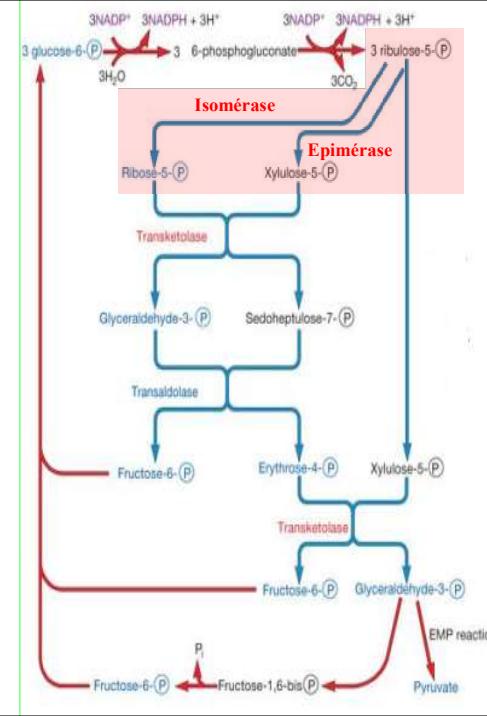
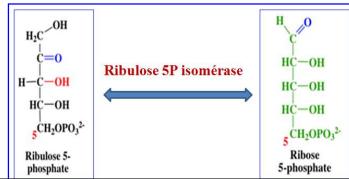
2) Phase non oxydative réversible pentoses-P ⇌ hexose-P

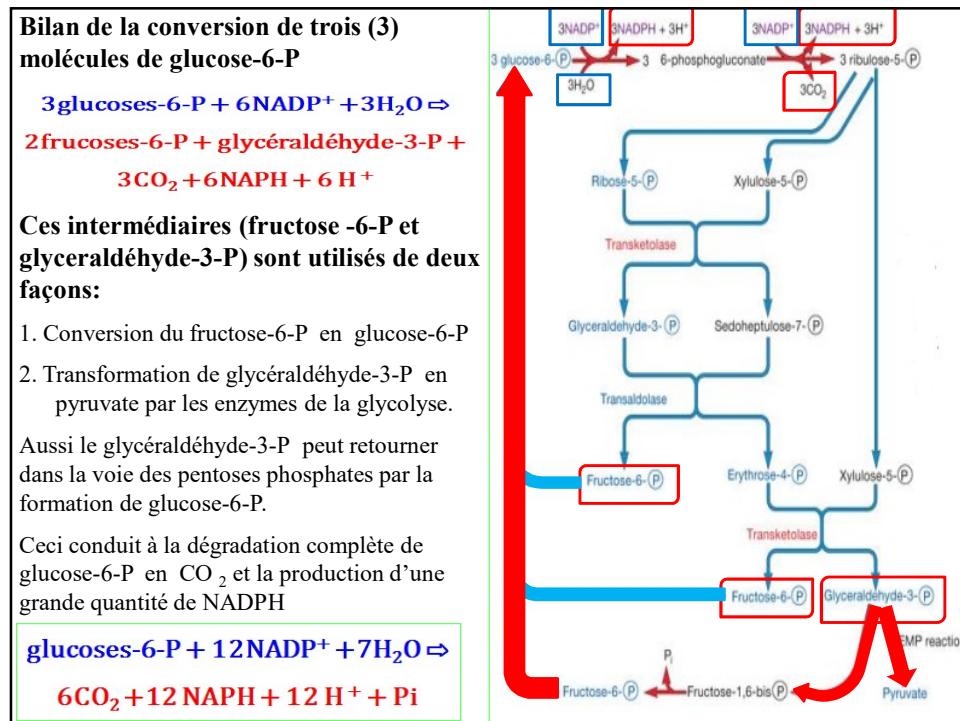
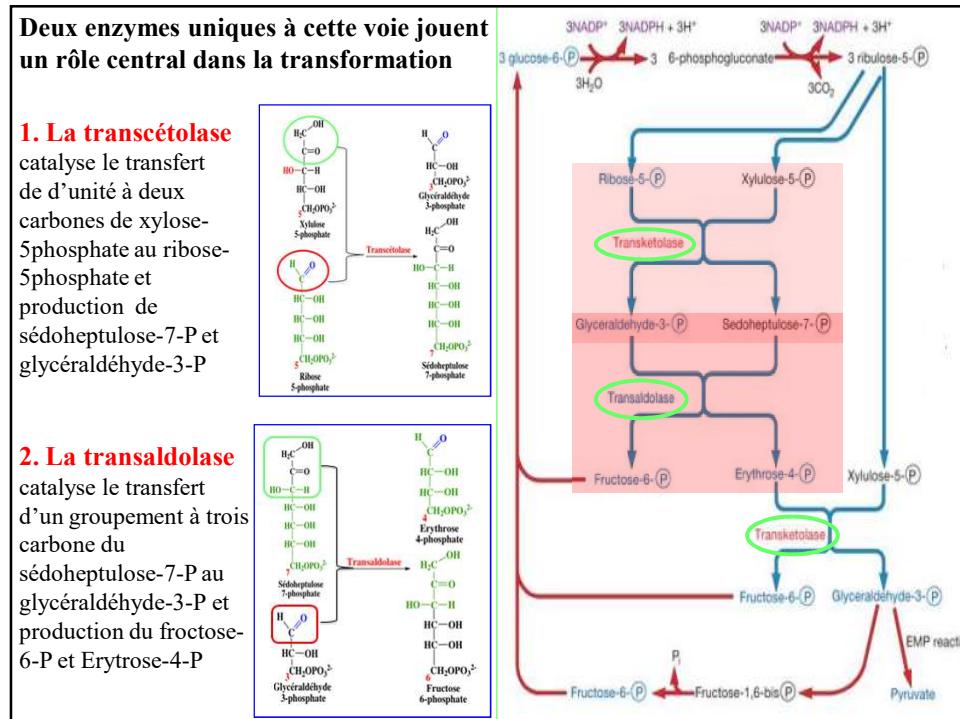
Le ribulose 5P peut servir de substrat à 2 enzymes:

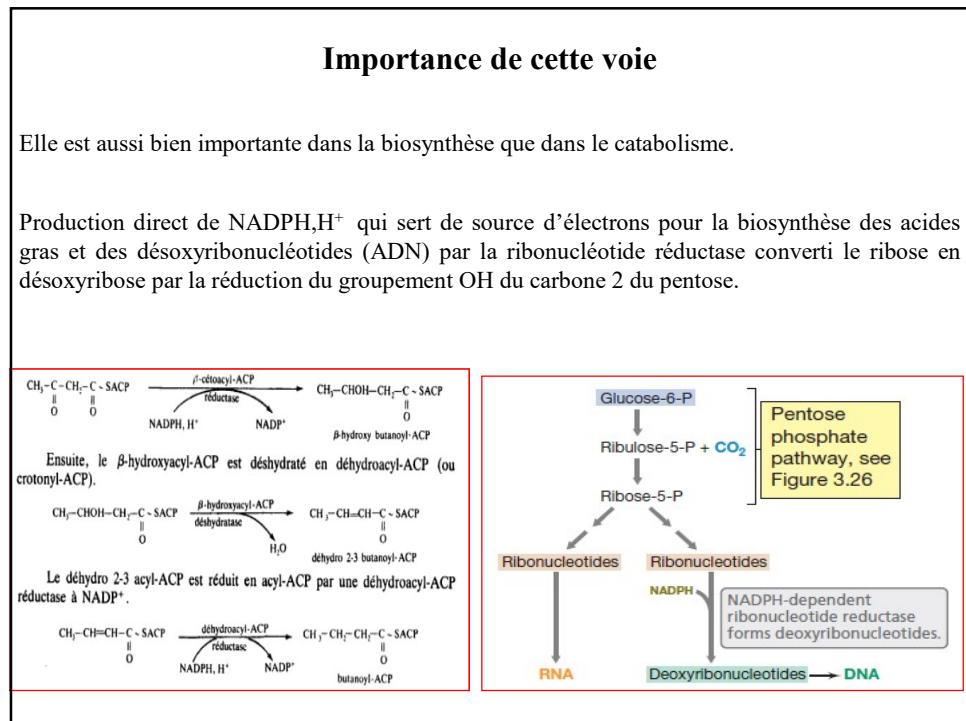
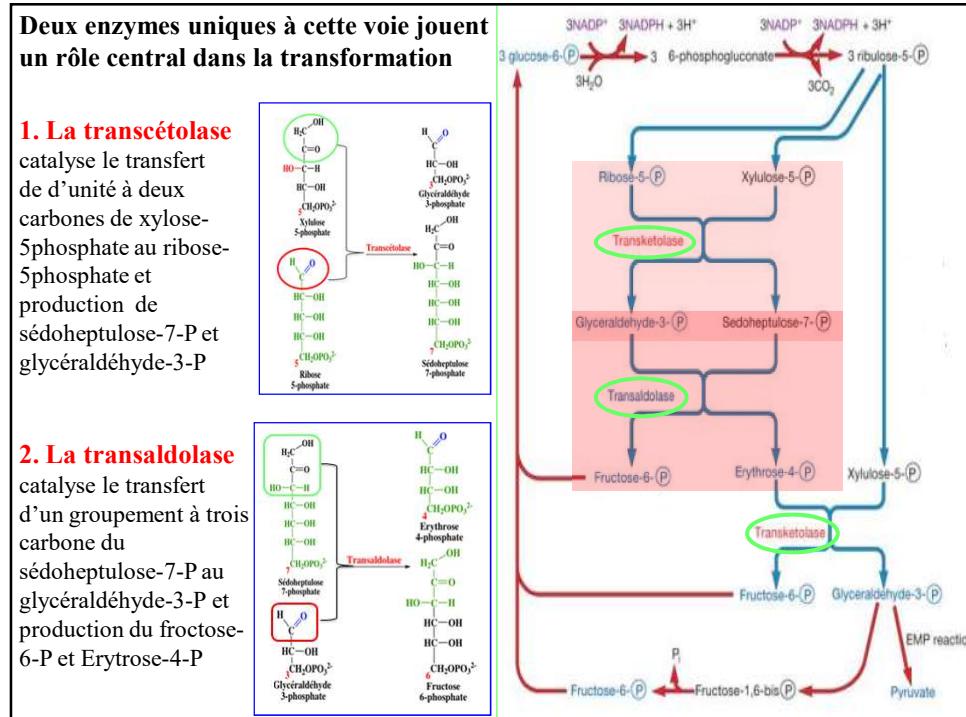
- **La ribulose 5P épimérase:** modifie la configuration de la molécule autour du carbone 3 pour donner le xylulose 5P



- **La ribose 5P :** donne par isomérisation le ribose 5P







Synthèse des sucres à:

4 carbones

érythroose-4-P, est utilisé dans synthèse des acides aminés aromatiques et la vitamine B6 (pyridoxal)

5 carbones

Le ribose -5-P: est un composant majeur des acides nucléiques

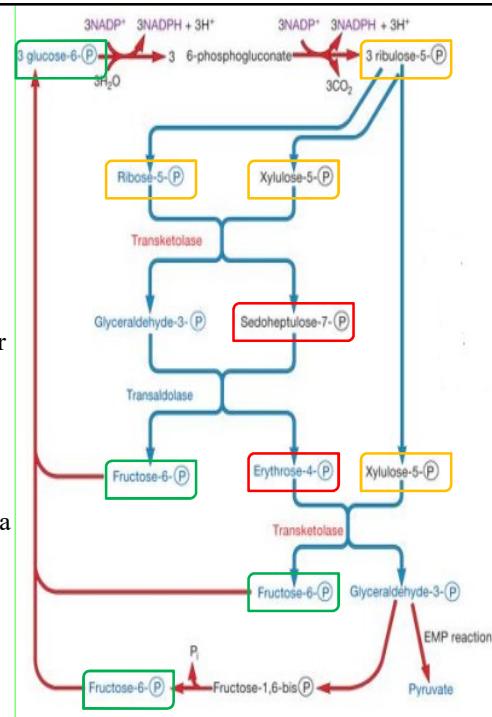
Le ribulose-1,5-biphosphate est l'accepteur primaire du CO₂ dans la photosynthèse

6 carbones

Quant un pentose est consommé comme source de carbone, la voie des pentose phosphate peut fournir des carbones pour la production des hexose (glucose pour la synthèse du peptidoglycane)

7 carbones

Sedoheptulose est utilisé dans la synthèse de la paroi bactérienne

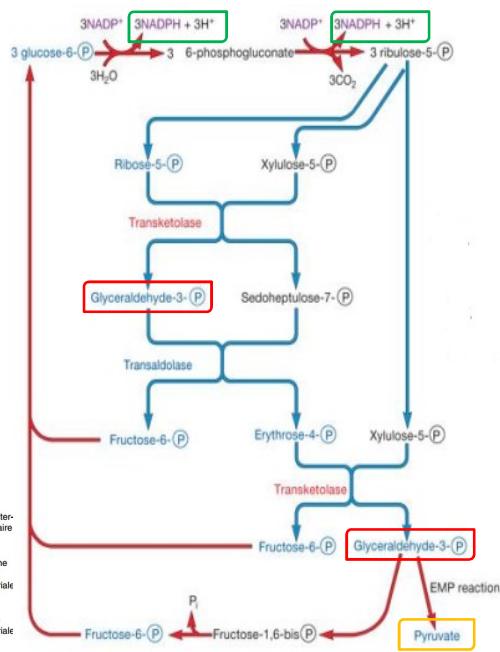
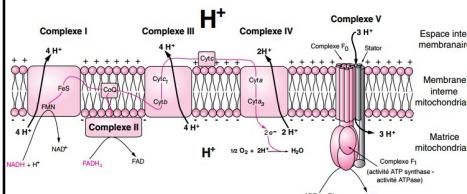


Production de l'ATP

Le glycéraldéhyde-3-P, entre dans l'étape à 3 carbones de la glycolyse puis converti en ATP et pyruvate

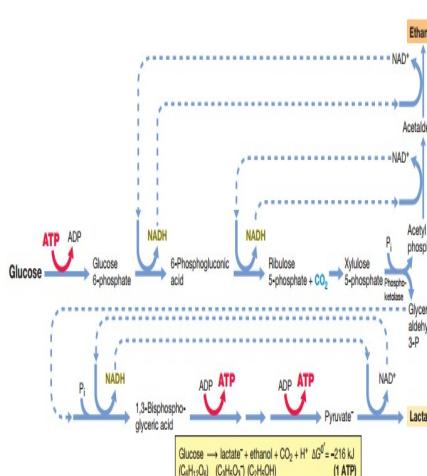
Le pyruvate peut être oxydé dans le cycle des acides tricarboxylique et générer plus d'énergie.

Le NADPH est converti en NADH qui lors de son oxydation dans la chaîne de transfert d'électrons fournit de l'ATP

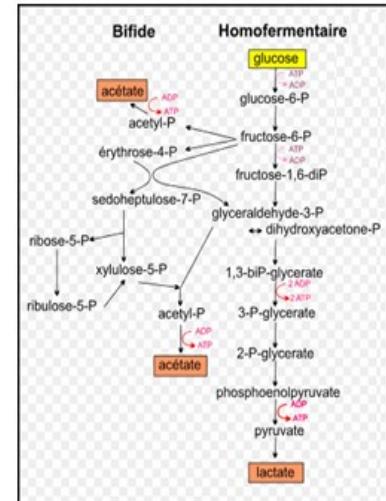


Fermentations dérivées de la voie de l'hexose monophosphate

Voie de *Leuconostoc* et *Lactobacillus* hétérofermentaires



Voie des bifides

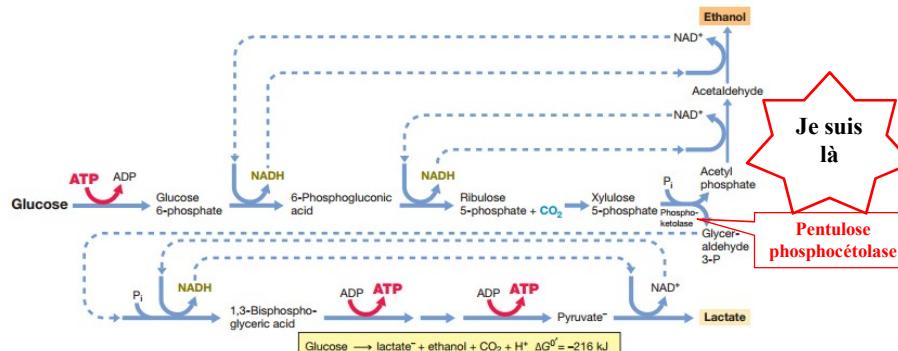


1. Voie de *Leuconostoc* et *Lactobacillus* hétérofermentaires

Cette voie est anaérobiose facultative

Se fait chez le μ-organismes dépourvus de **fructose-6-P kinase** comme *Leuconostoc* et les *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Pediococcus*, et certains *Bacillus* hétérofermentaires.

Le xylulose- 5P, est clivé par la **pentulose phosphocétolase**, en acétyl-phosphate et Glyceraldéhyde 3-P, et aboutit, en dehors du lactate, à la formation d'éthanol, de CO₂ et d'acétate



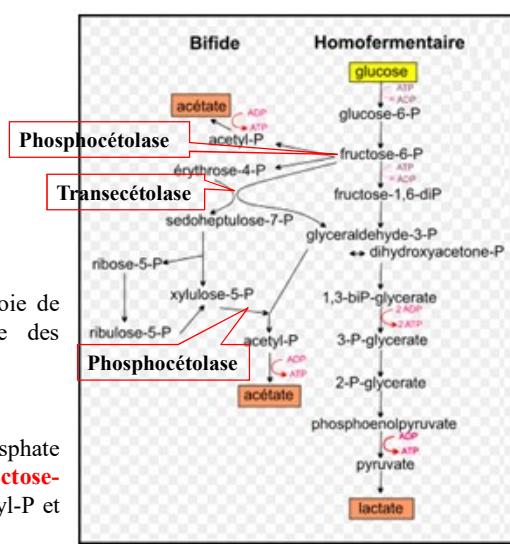
2. Voie des bifides

Rencontre chez les *Bifidobacterium*

Produit de 2 lactate et 2 d'acétate.

Dans cette voie, il y a les étapes de la voie de l'hexose monophosphate et de la voie des *Lactobacillus* hétérofermentaire

Les étapes de la voie de l'hexose monophosphate
 \Rightarrow clivage du fructose-6P par une **fructose-6P phosphocétolase** et libération de l'acetyl-P et erythrose-4-P



Etape de la voie des *Lactobacillus* hétérofermentaire \Rightarrow clivage de xylulose phosphate, en acetyl-phosphate et Glyceraldéhyde 3-P par la **pentulose phosphocétolase**

La voie d'Entner-Doudoroff (Voie du 2-céto-3-désoxygluconate)

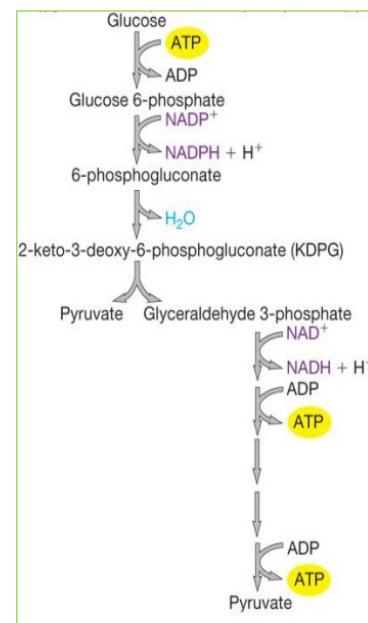
Découverte en 1952 par ces deux chercheurs en étudiant l'oxydation du glucose par des espèces de *Pseudomonas* (μ -organismes aérobies)

Les bactéries pour la plupart, possèdent les voies de la glycolyse et la voie des pentoses phosphates, mais quelques-unes utilisent la voie d'Entner-Doudoroff

Rencontrée aussi chez *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Agrobacterium* et quelques autres bactéries Gram-négatives

On la retrouve rarement chez les bactéries Gram positif, *Enterococcus faecalis* étant l'exception

Actuellement, il n'y a qu'une seule bactérie, *Zymomonas mobilis*, qui utilise cette voie pour la fermentation anaérobie du glucose



Cette voie est caractérisée par

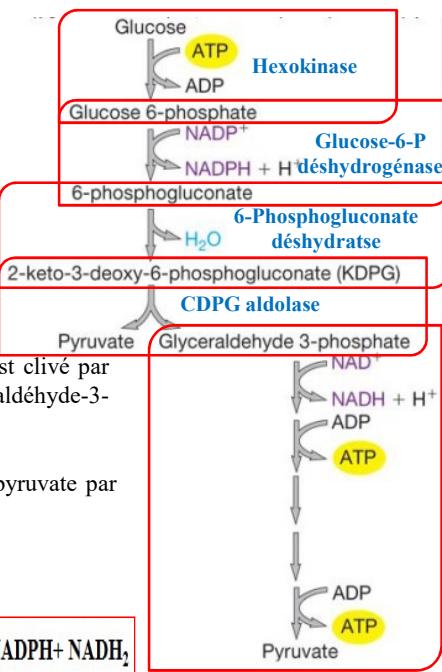
Une activation du glucose par une Hexokinase et production de glucose-6-P.

Une oxydation de Glucose-6-P par une déshydrogénase et libération de 6-phosphogluconate

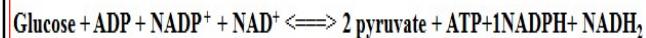
Le 6 phosphogluconate est déshydraté par une 6-phosphogluconate déshydratase pour former le 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate (CDPG)

Le 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate (CDPG) est clivé par une **CDPG aldolase** en pyruvate et un glycéraldéhyde-3-phosphate.

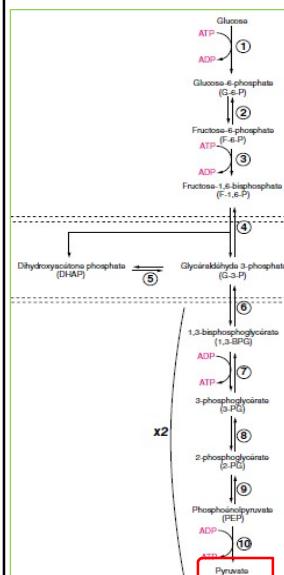
Le glycéraldéhyde-3-phosphate est transformé en pyruvate par les enzymes qui interviennent dans la glycolyse



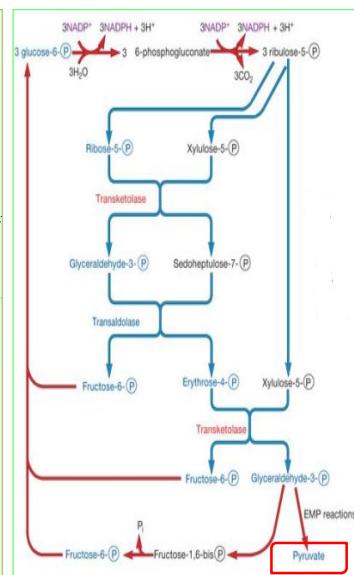
Bilan



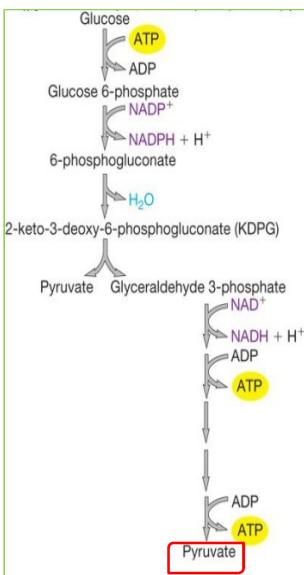
Catabolismes des glucides



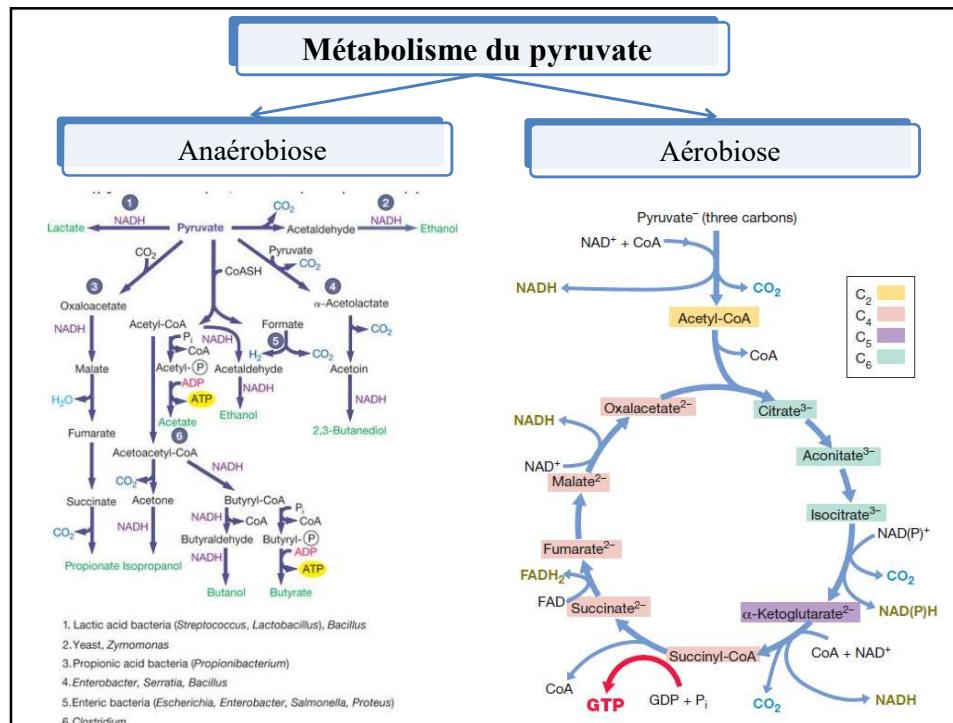
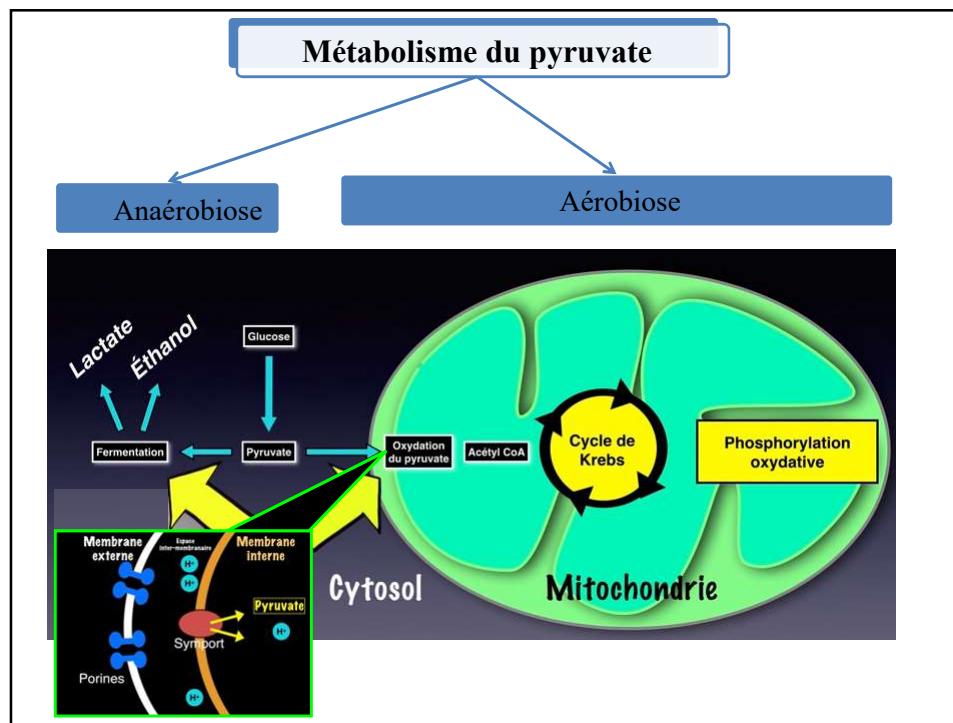
Voie d'Emden-Meyerhoff



Voie de Dickens et Horecker



Voie d'Entner-Doudoroff



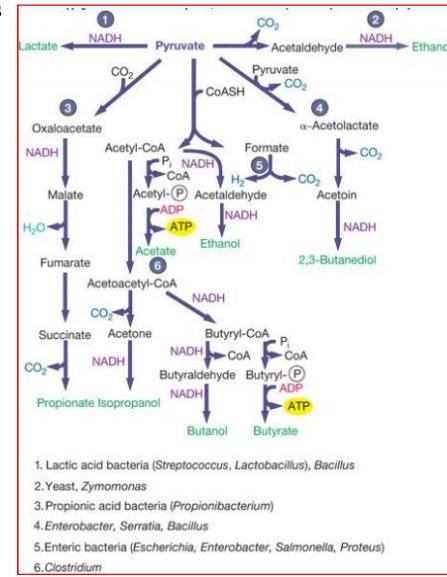
Le métabolisme anaérobie du pyruvate

Chez les microorganismes se fait par des fermentations

L'accepteur final des électrons est soit le pyruvate soit un dérivé du pyruvate.

Le NADH est oxydé en NAD^+

L'ATP ne se forme que par phosphorylation au niveau du substrat



Différents microorganismes, en particulier des bactéries anaérobies strictes ou facultatives, métabolisent le pyruvate en anaérobiose par des voies variées.

Ces fermentations sont généralement nommées selon les produits final de fermentation à partir de pyruvate

Table 14.2 Common bacterial fermentations and some of the organisms carrying them out

| Type | Reaction | Organisms |
|---------------------------|--|---|
| Alcoholic | $\text{Hexose} \rightarrow 2 \text{ ethanol} + 2 \text{ CO}_2$ | Yeast, <i>Zymomonas</i> |
| Homolactic | $\text{Hexose} \rightarrow 2 \text{ lactate}^- + 2 \text{ H}^+$ | <i>Streptococcus</i> , some <i>Lactobacillus</i> |
| Heterolactic | $\text{Hexose} \rightarrow \text{lactate}^- + \text{ethanol} + \text{CO}_2 + \text{H}^+$ | <i>Leuconostoc</i> , some <i>Lactobacillus</i> |
| Propionic acid | $3 \text{ Lactate}^- \rightarrow 2 \text{ propionate}^- + \text{acetate}^- + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ | <i>Propionibacterium</i> , <i>Clostridium propionicum</i> |
| Mixed acid ^{a,b} | $\text{Hexose} \rightarrow \text{ethanol} + 2,3\text{-butanediol} + \text{succinate}^{2-} + \text{lactate}^- + \text{acetate}^- + \text{formate}^- + \text{H}_2 + \text{CO}_2$ | Enteric bacteria including <i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> |
| Butyric acid ^b | $\text{Hexose} \rightarrow \text{butyrate}^- + 2 \text{ H}_2 + 2 \text{ CO}_2 + \text{H}^+$ | <i>Clostridium butyricum</i> |
| Butanol ^b | $2 \text{ Hexose} \rightarrow \text{butanol} + \text{acetone} + 5 \text{ CO}_2 + 4 \text{ H}_2$ | <i>Clostridium acetobutylicum</i> |
| Caproate/Butyrate | $6 \text{ Ethanol} + 3 \text{ acetate}^- \rightarrow 3 \text{ butyrate}^- + \text{caproate}^- + 2 \text{ H}_2 + 4 \text{ H}_2\text{O} + \text{H}^+$ | <i>Clostridium kluyveri</i> |
| Acetogenic | $\text{Fructose} \rightarrow 3 \text{ acetate}^- + 3 \text{ H}^+$ | <i>Clostridium aceticum</i> |

Il existe d'autres fermentations qui dérivent d'autres composés que le pyruvate. Certaines bactéries formant des endospores (genre *Clostridium*) fermentent des acides aminés, d'autre fermentent les purines et le pyrimidine et d'autres anaérobies fermentent des composés aromatiques

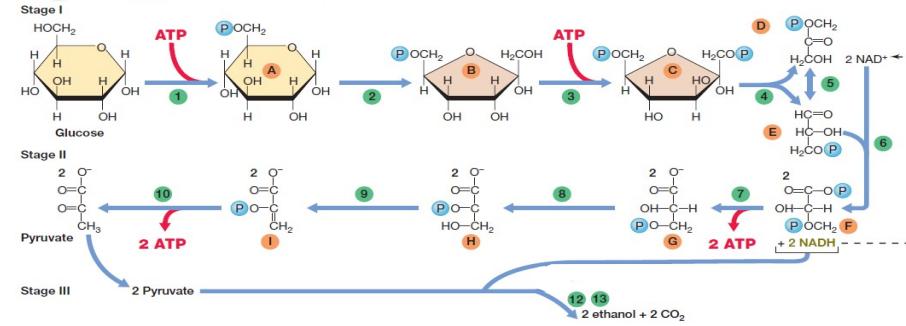
Table 14.3 Some unusual bacterial fermentations

| Type | Reaction | Organisms |
|---------------------------|--|--|
| Acetylene | $2 \text{C}_2\text{H}_2 + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ethanol} + \text{acetate}^- + \text{H}^+$ | <i>Pelobacter acetylenicus</i> |
| Glycerol | $4 \text{Glycerol} + 2 \text{HCO}_3^- \rightarrow 7 \text{acetate}^- + 5 \text{H}^+ + 4 \text{H}_2\text{O}$ | <i>Acetobacterium</i> spp. |
| Resorcinol (aromatic) | $2 \text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2 + 6 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{acetate}^- + \text{butyrate}^- + 5 \text{H}^+$ | <i>Clostridium</i> spp. |
| Phloroglucinol (aromatic) | $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3 + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 3 \text{acetate}^- + 3 \text{H}^+$ | <i>Pelobacter massiliensis</i> <i>Pelobacter acidigallici</i> |
| Putrescine | $10 \text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 + 26 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{acetate}^- + 7 \text{butyrate}^- + 20 \text{NH}_4^+ + 16 \text{H}_2 + 13 \text{H}^+$ | Unclassified gram-positive nonsporulating anaerobes |
| Citrate | $\text{Citrate}^{3-} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{formate}^- + 2 \text{acetate}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ | <i>Bacteroides</i> spp. |
| Aconitate | $\text{Aconitate}^{3-} + \text{H}^+ + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{CO}_2 + 2 \text{acetate}^- + \text{H}_2$ | <i>Acidaminococcus fermentans</i> |
| Glyoxylate | $4 \text{Glyoxylate}^- + 3 \text{H}^+ + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 5 \text{H}_2 + \text{glycolate}^-$ | Unclassified gram-negative bacterium |
| Benzoate | $2 \text{Benzoate}^- \rightarrow \text{cyclohexane carboxylate}^- + 3 \text{acetate}^- + \text{HCO}_3^- + 3 \text{H}^+$ | <i>Syntrophus aciditrophicus</i> |

NOMBREUSES DE CES FERMENTATIONS ONT UN INTÉRÊT INDUSTRIEL OU DIAGNOSTIQUE

1. Fermentation alcoolique

Faites par de nombreux mycètes (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* quelques bactéries (*Zymomonas mobilis*), Algues et protozoaires...etc

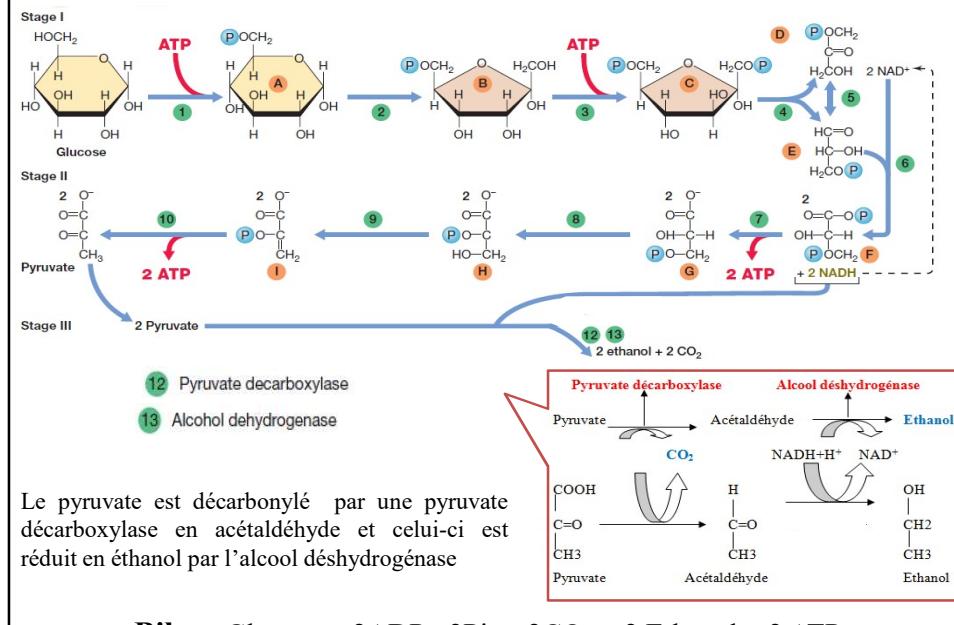


Utilisée pour la fabrication de toutes les boissons alcooliques (vin...)

Utilisée dans la levée de la pâte en boulangerie et en pâtisserie par le CO_2 dégagé

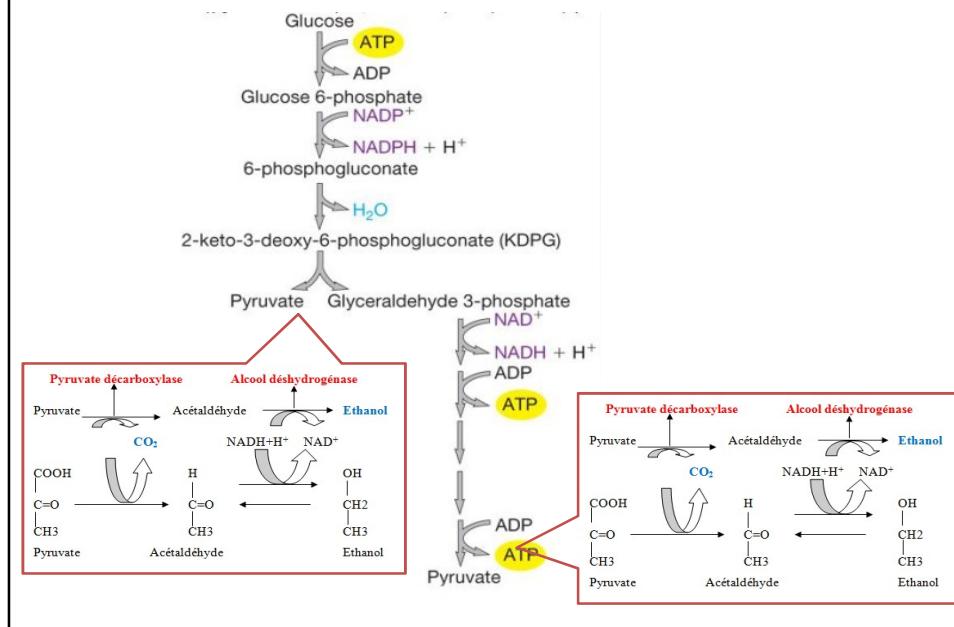
Utilisée pour la fabrication du carburol (produit de remplacement d'essence, produit par fermentation de betterave, canne à sucre...)

Pour les levures la glycolyse constitue la première étape de cette fermentation



Le pyruvate est décarbonylé par une pyruvate décarboxylase en acétaldehyde et celui-ci est réduit en éthanol par l'alcool déshydrogénase

Dans le cas de *Zymomonas mobilis*, le glucose est dégradé par la voie d'Entner-Doudoroff



2. Fermentations lactiques

On la retrouve chez les bactéries (bactéries lactiques, bacillus), les algues (*Chlorella*), quelque moisissures aquatiques des protozoaires et même dans le muscle animale.

Les Bactéries à fermentation lactique sont divisés en deux groupes:

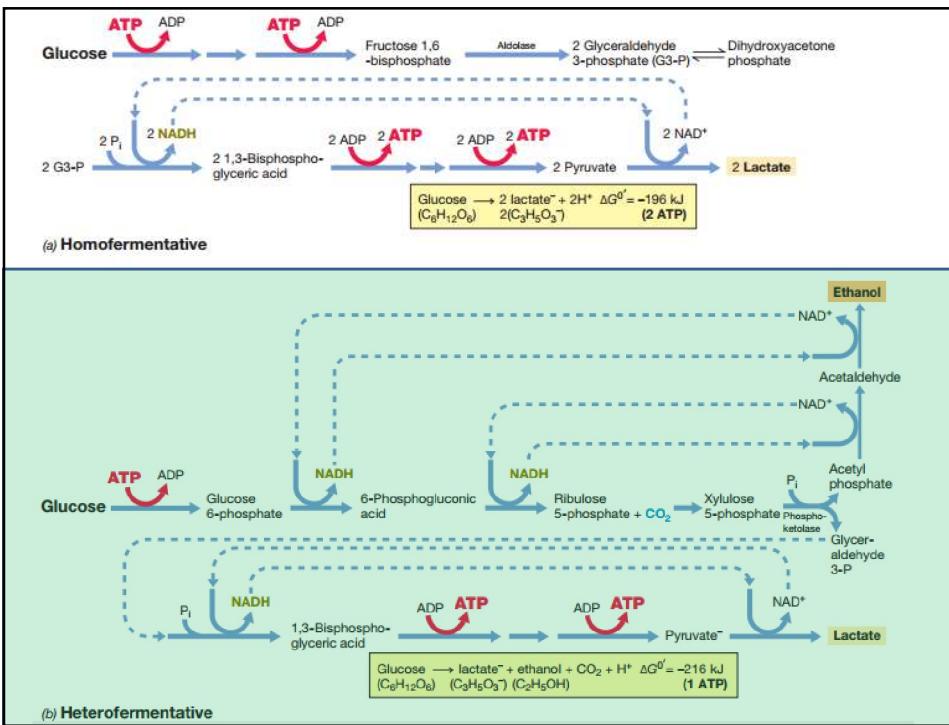
Les organismes à fermentation homolactique

Les organismes à fermentation hétérolactique

Les différences observées peuvent être attribuées à la présence ou à l'absence de l'enzyme **aldolase**, une enzyme clé de la glycolyse.

Les bactéries lactiques homofermentaires contiennent de l'**aldolase** et produisent deux molécules de lactate à partir du glucose par la voie glycolytique.

Les hétérofermentaires manquent d'**aldolase** et ne peuvent donc pas décomposer le fructose bisphosphate en trioses phosphate



Homolactique:

C'est quand la quantité d'acide lactique est très supérieure (> 90%) des autres produits formés

C'est la fermentation principale du lait (entraînent l'abaissement du pH propice à la conservation).

Utilisé dans divers produit laitier (fromage, yaourt, raib, leben) choucroute, jambon ...

La fermentation homolactique est effectuée par tous les membres des genres bactériens comme *Streptococcus* et *Lactococcus*

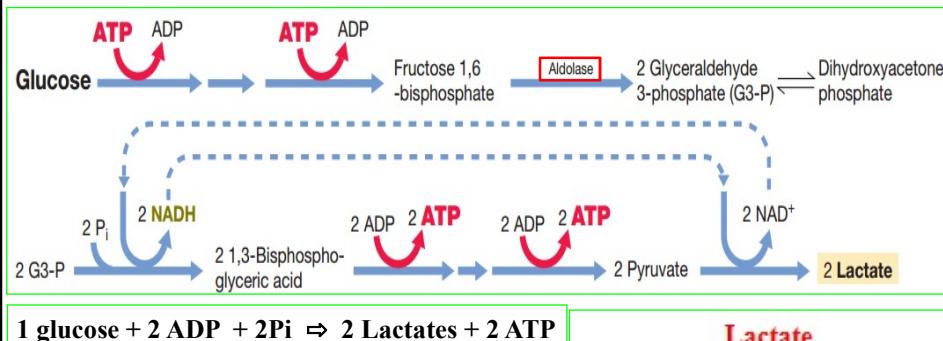
Certaines espèces de *Lactobacilles* (*Lb. lacis*, *Lb. Bulgaricus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*

Thermobacterium (T. yoghurti).

Certaines moisissures (Phycomycètes : Oomycètes).

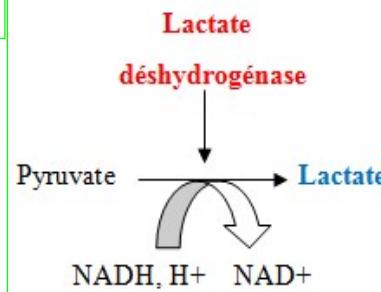
Ils fermentent en général le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le saccharose et le lactose.

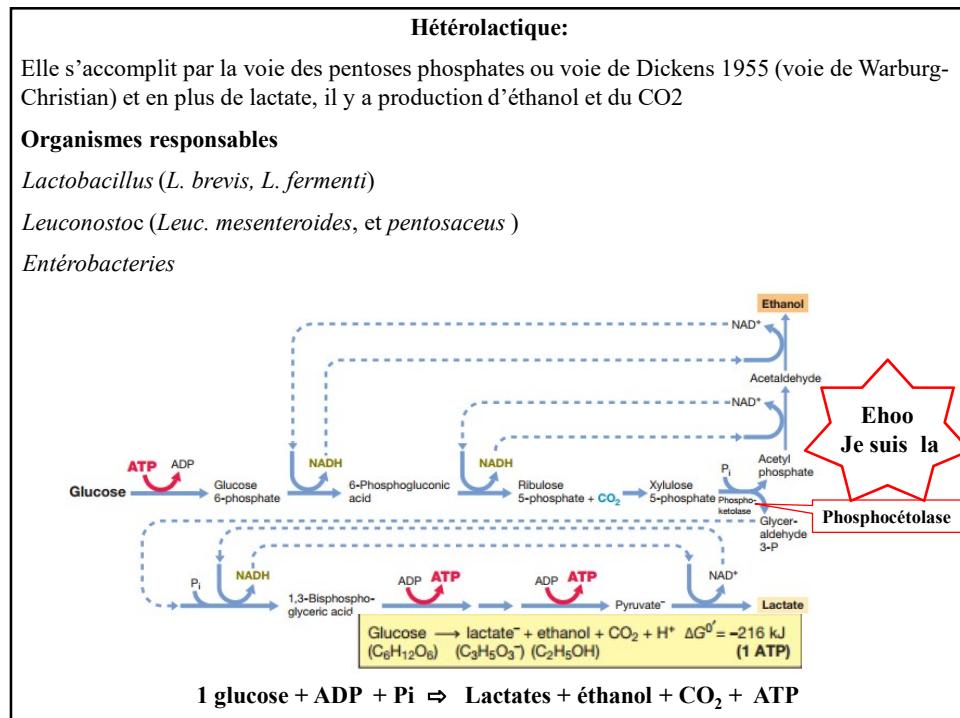
Utilisent la glycolyse et réduisent directement tout le pyruvate en lactate à l'aide d'une lactate déshydrogénase



L'acide lactique (provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lactate déshydrogénase.

L'acide lactique peut être de forme D, L, ou DL selon la stéréospécificité de lactate déshydrogénase et la présence ou l'absence de racémase)





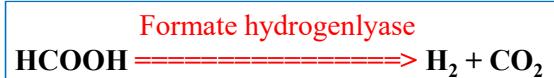
3. Fermentation formique

Faite par de nombreuses bactéries

Spécialement par la famille des entérobacteriaceae

Appelée ainsi car le pyruvate est métabolisé en acide formique et d'autres substances

L'acide formique produit est lysé en CO₂ et H₂ par la formate hydrogenlyase



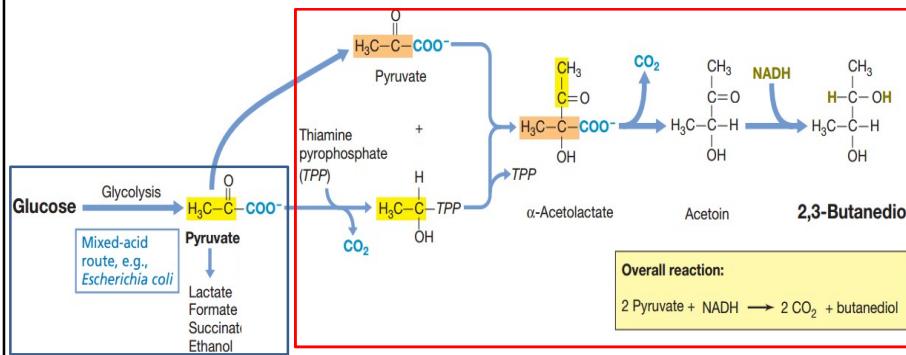
Fermentation formique

Fermentation acides mixtes

Fermentation Butanediol

Fermentation acides mixtes

Il y trois acides qui sont formés avec une forte quantité acétique, lactique et succinique; l'éthanol, le CO₂ et le H₂ sont aussi formés mais pas le butanediol



Fermentation butanediole

Une petite quantité des acides acétique, lactique et succinique est formée.
Le butanediol, l'éthanol, CO₂ et le H₂ sont majoritairement produit

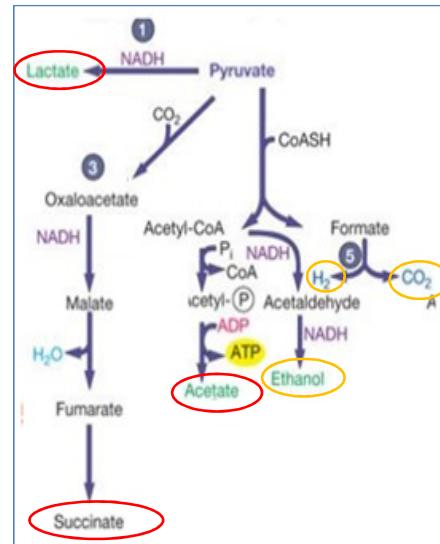
Fermentation acides mixtes

Réalisée par des Entérobactéries appartenant aux genres *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella*, *Yersinia*. Elle est aussi rencontrée chez les *Vibrio*, certains *Aeromonas*...

Trois acides acétique, lactique et succinique sont formés avec des fortes quantités.

L'éthanol, le CO₂ et le H₂ sont aussi formés mais pas le butanediol

Les quantités de CO₂ et H₂ sont égales car ils sont uniquement formés par la lyse de l'acide formique par la **formate hydrogenlyase**



Attention:

Les quantités des produits de la fermentation acides mixtes changent avec le changement des conditions de culture

Exemple: *E.Coli*, (anaérobio facultativo)

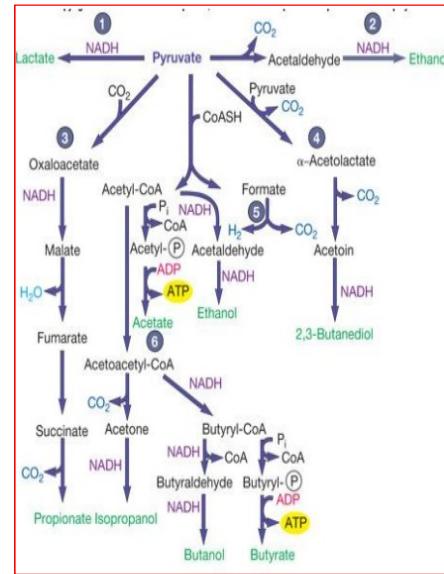
À pH 6-6,2 (légèrement acide)
 9 glucose ==> 5éthanol + 4 acétate + 8 lactate
 + 1 succinate + 8 CO₂ + 8 H₂

À pH 7,8 - 8 (légèrement alcalin)
 9 glucose ==> 5éthanol + 4 acétate + 7 lactate
 + 1,5 succinate + 9 formate

| Donc:

à pH acide \Rightarrow beaucoup de gaz
 à pH basique \Rightarrow pas de gaz

Dans les deux cas des traces de nombreux autres produit sont obtenus (acétone, butanediol, glycérol etc.



Fermentation butanediol

Réalisée par les membres des genres *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* (entérobactéries), mais aussi par certains *Aeromonas* et *Bacillus*.

De petites quantités des acides acétique, lactique et succinique sont formées.

Le butanediol, l'éthanol, CO_2 et le H_2 sont majoritairement produit.

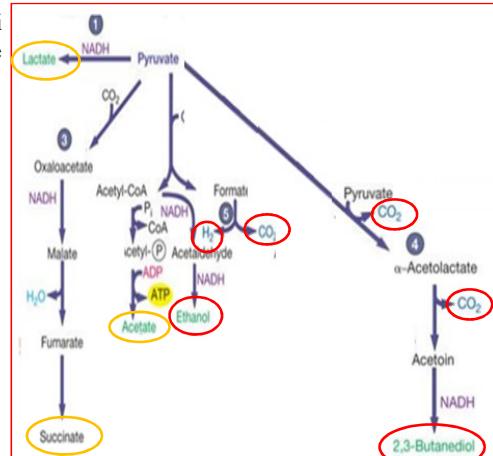
Le pyruvate est transformé en acétoïne qui ensuite réduit en 2,3-butanediol en présence de NADH

En aérobiose l'acétoïne et le diacétyle sont formés.

Le CO₂ et le H₂ sont aussi produit à partir de l'acide formique par la formate hydrogenlyase

mais

Il y a deux molécules supplémentaires de CO₂ qui sont formées durant chaque formation du butanediol

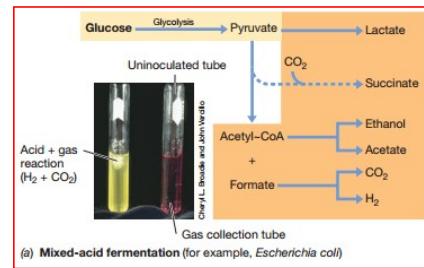


Importance de la fermentation formique

Identifier les membres des *enterobacteriaceae* en distinguant les entérobactéries à fermentation acides mixte et butanediol.

Teste de rouge de méthyle

Les bactéries réalisant la fermentation acide mixte acidifient beaucoup plus le milieu d'incubation jusqu'à pH 4,4 et causent ainsi le virage de l'indicateur de pH du jaune au rouge

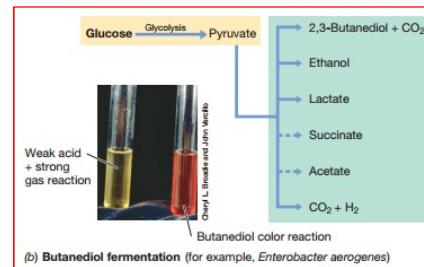


Teste de Voges-proskaur:

Un procédé colorométrique qui détecte l'acétoine, le précurseur du butanediol

- Positif chez bactérie à fermentation butanediol
- Négatif chez ceux à fermentation acides mixtes

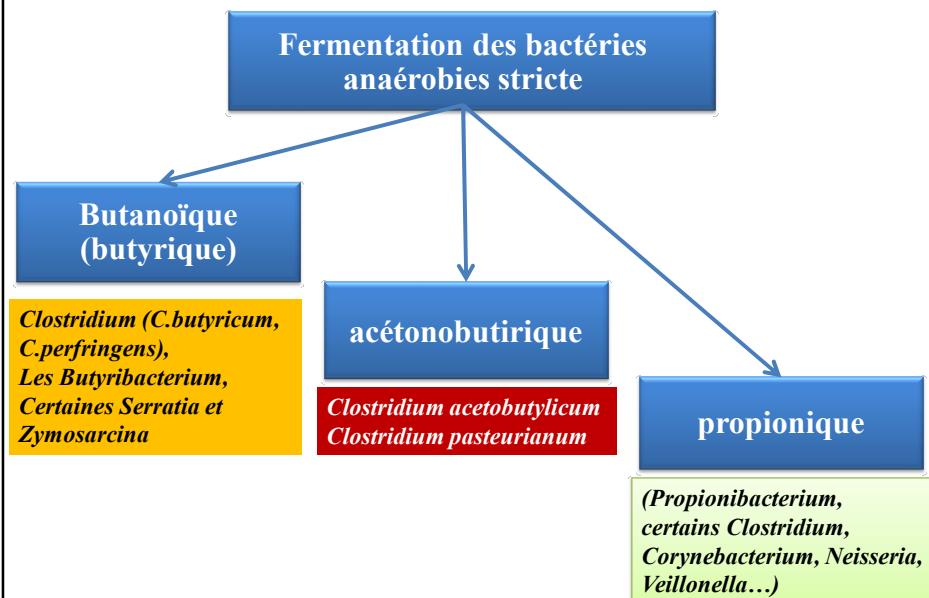
Production d'acétoine; qui par oxydation au contact de l'air, donne le diacétyle (responsable du goût du beurre).



Production du butanediol (transformé en butadiène et peut servir pour la synthèse du Caoutchouc synthétique).

Fermentation des bactéries anaérobies stricte

on peut distinguer trois (3) type des fermentation



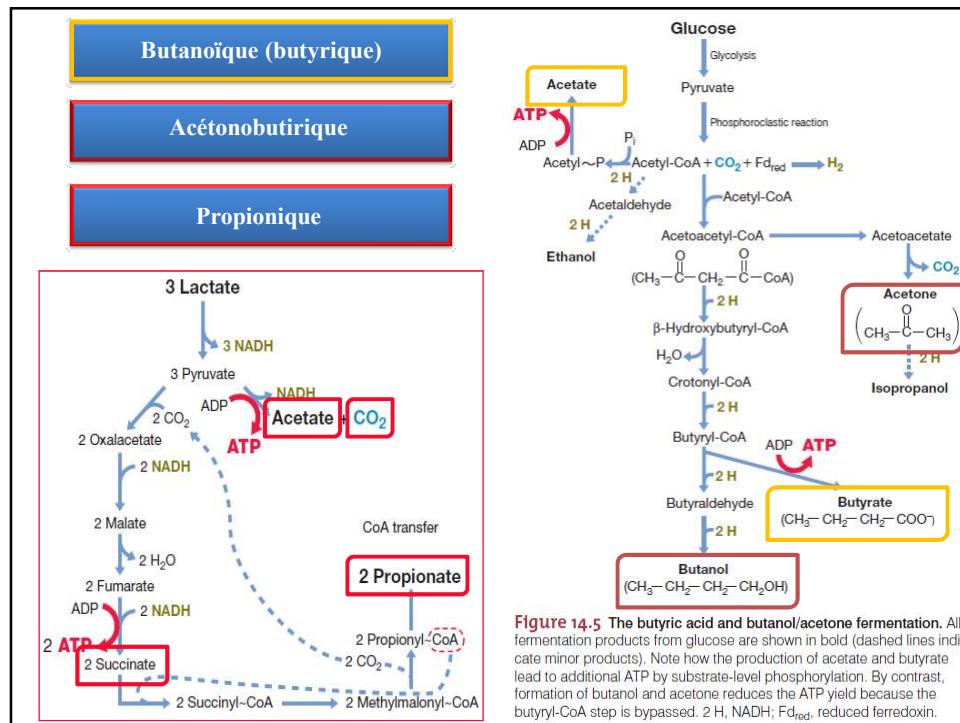
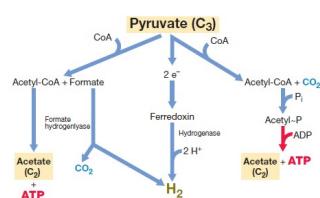


Figure 14.5 The butyric acid and butanol/acetone fermentation. All fermentation products from glucose are shown in bold (dashed lines indicate minor products). Note how the production of acetate and butyrate lead to additional ATP by substrate-level phosphorylation. By contrast, formation of butanol and acetone reduces the ATP yield because the butyryl-CoA step is bypassed. 2 H, NADH; Fd_{red}, reduced ferredoxin.

Fermentation butyrique

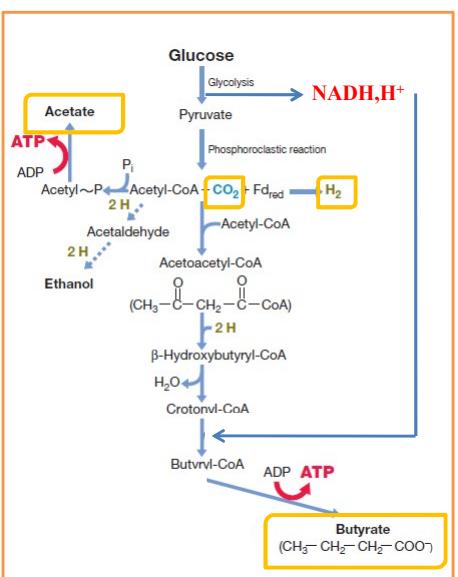
Le glucose est converti en pyruvate par la voie glycolytique et le pyruvate est scindé pour donner l'acétyl-CoA, CO₂, et le H₂ (via la ferrédoxine)



$$4 \text{ glucose} \Rightarrow 2 \text{ acetate} + 3 \text{ butyrate} + 8 \text{ CO}_2 + 10 \text{ H}_2$$

C'est la fermentation type des boîtes de conserve déteriorées, caractérisée par une mauvaise odeur, la production de gaz et de l'acidité.

Clostridium tyrobutyricum présent dans l'ensilage peut se retrouver dans le lait et provoquer dans les meules de gruyères ou d'emmental, une fermentation de l'acide lactique en acide butyrique et hydrogène provoquant l'éclatement des fromages

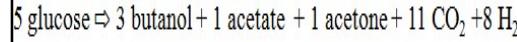


Fermentation acétonobutyrique (butanol-acétone)

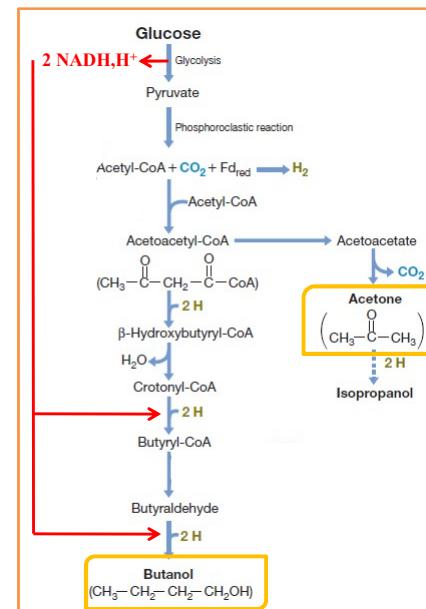
Est une variation de celle du type acide butyrique, réalisée par *Cl. Acetobutylicum*

Les μ -organisme faisant cette fermentation sont utilisés pour la valorisation des déchets organiques et la production des substances entéritiques (acétone, butanol, H₂)

Les produits finaux sont neutres (acétone et butanol)



Elle est utilisée par les allemands lors de la 1^{er} guerre mondiale pour la production d'explosifs à partir de l'acétone

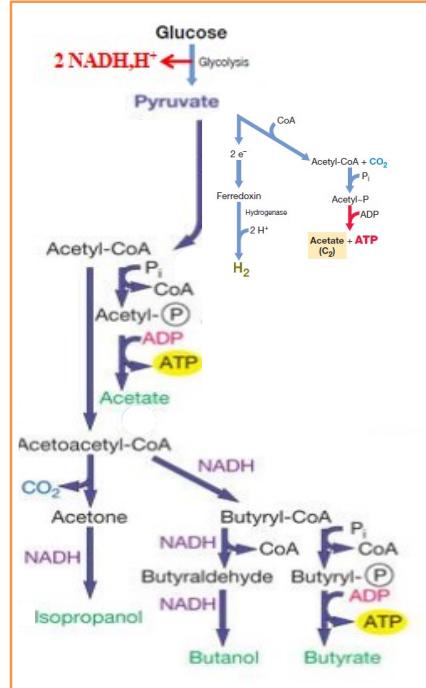


Le glucose est converti en pyruvate par la voie glycolytique et le pyruvate est scindé pour donner l'acétyl-CoA, CO₂, et H₂ (via la ferrédoxine)

Dans les premiers stades de la fermentation, de petites quantités de butyrate et d'acétate sont produits.

L'accumulation des produits acides acétate et butyrate abaisse le pH ce qui conduit à l'arrêt de la synthèse de ces acides et l'acétone et butanol commencent à s'accumuler en quantités égales par l'activation des gènes responsables de la production des solvants (acétone et butanol)

Mais si le pH de milieu est fixé à un pH neutre par ajout de solution tampon il y aurait production continue de l'acide butyrique et d'une petite quantité des produits neutres



Fermentation propionique

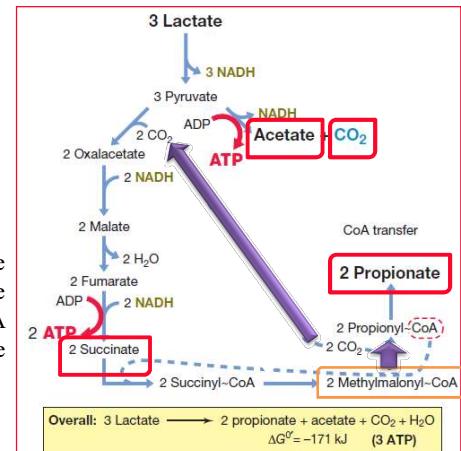
Effectuée par diverses bactéries anaérobies strictes ou facultatives (*Propionibacterium*, certains *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Veillonella*...)

Produisent, à partir du glucose ou du lactate, un mélange d'acétate, de propionate, succinate et du CO₂ en proportions variables

Le pyruvate issue de la glycolyse (lors que le substrat est le glucose) ou de l'oxydation de lactate est carboxylé par la méthylmalonyl-CoA décarboxylase conduisant à la formation de l'oxaloacétate et le propionyle-CoA

le propionyle-CoA réagit avec le succinate dans une étape catalysée par une enzyme la CoA transferase, produisant ainsi le succinyl-CoA et le propionate.

Le succinyl-CoA subit une isomérisation pour devenir méthylmalonyl-CoA



3 Glucose => 4 propionates + 2 acétates + 2 CO₂ + 2 H₂O

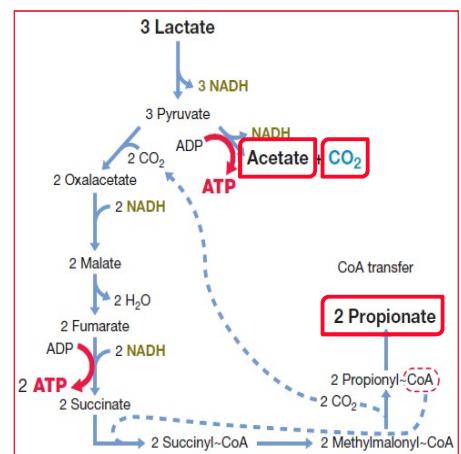
3 Lactate => 2 propionates + acétates + CO₂ + H₂O

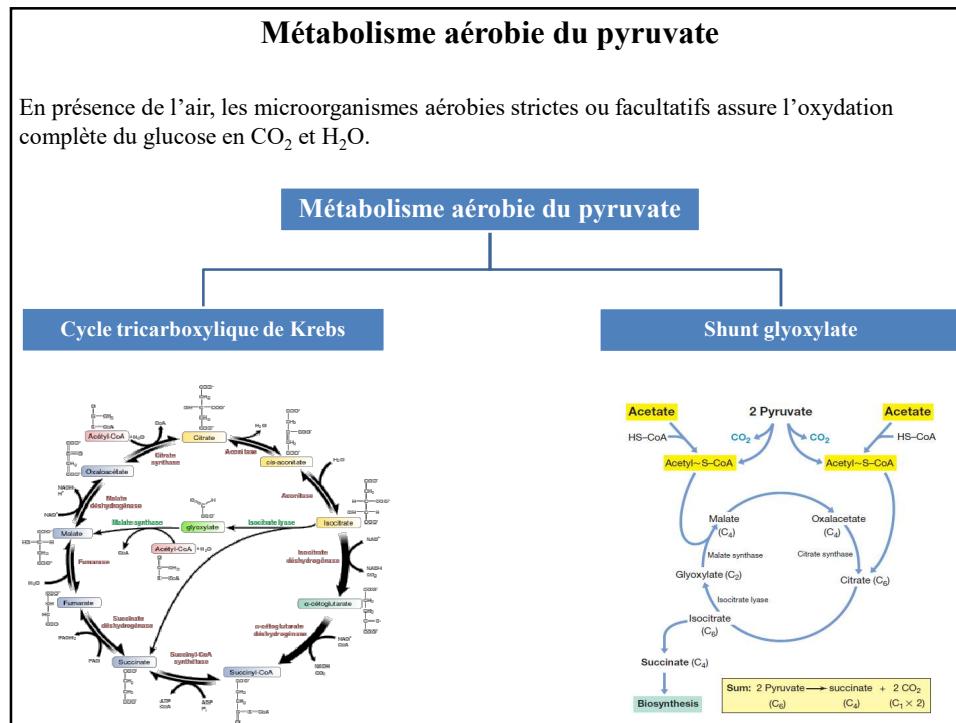
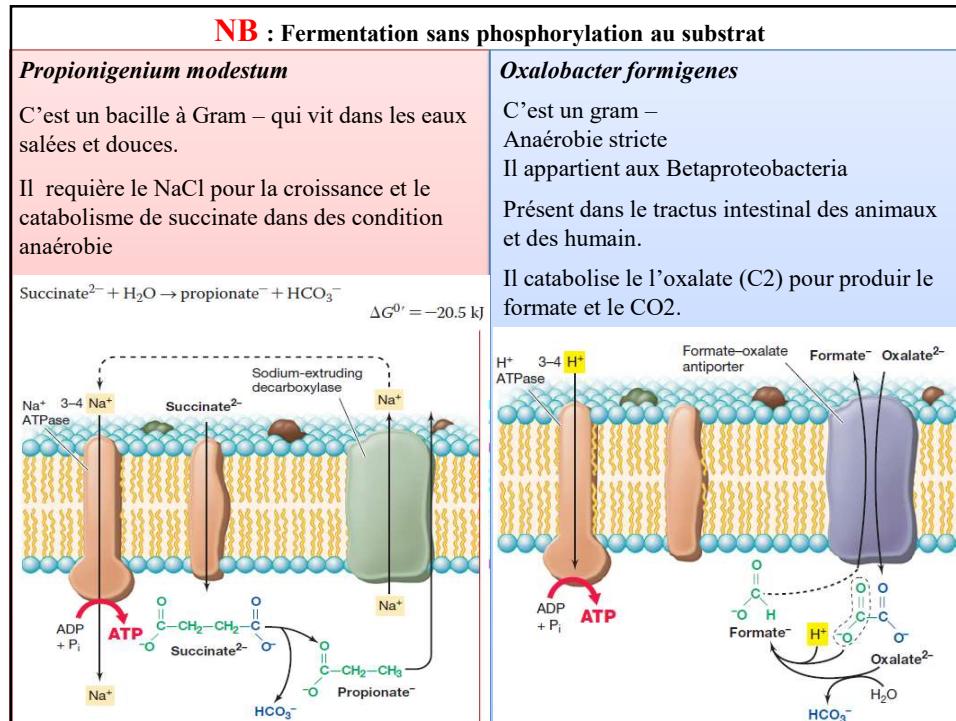
Dans le fromage Suisse (Emmental) *Propionibacterium* utilise l'acide lactique produit de la fermentation lactique comme substrat majeur pour fermentation propionique



L'acides acétique et propionique participent au goût caractéristique

Le CO₂ est l'origine des trous (yeux) dans le fromage.





Cycle de Krebs

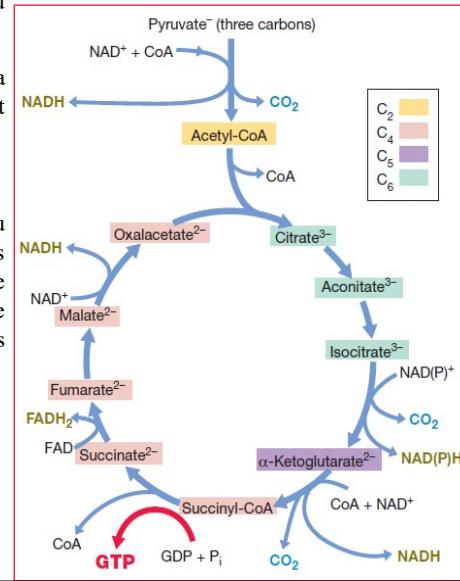
Appelé aussi cycle des acides tricarboxyliques « TCA » ou cycle de l'acide citrique

C'est la voie de l'oxydation complète du pyruvate en CO_2 .

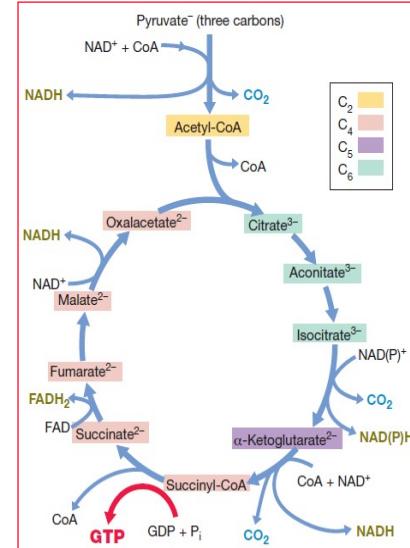
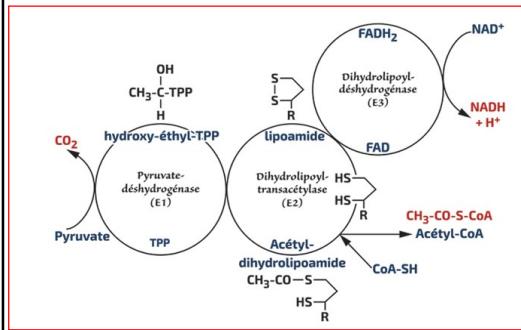
C'est un cycle: puisque il commence par la condensation de l'oxaloacétate et l'acétyl-CoA et s'achève par la régénération de l'oxaloacétate

Assure chez les microorganismes aérobies ou aérobie facultatif comme chez les organismes supérieurs l'oxydation complète de l'acétate provenant de la glycolyse, de shunt de l'hexose monophosphate et de la β -oxydation des acides gras.

Participent directement ou indirectement à la dégradation du squelette carboné de la plupart des aminoacides.



1. Le pyruvate est oxydé par le complexe pyruvate déshydrogénase pour former du CO_2 , du NADH, et un composé riche en énergie l'**acetyl-CoA**



Dans la première étape l'accétyl-CoA est condensé avec l'oxaloacétate pour former le citrate (alcool tertiaire)

Dans la 2^{ième} le citrate est réarrangé pour donner l'isocitrate (alcool secondaire) plus facilement oxydable.

L'isocitrate est par la suite oxydé et décarboxylé pour donner l' α cétoglutarate

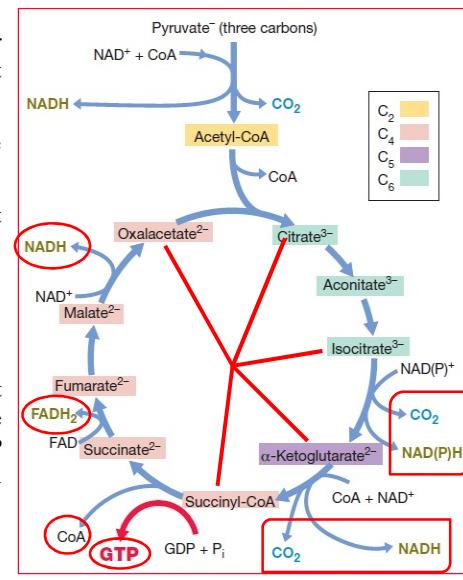
l' α cétoglutarate à son tour va être oxydé et décarboxylé pour donner le succinyl-CoA.

À ce niveau les deux carbones intégrés dans le cycle par l'accétyl-CoA sont sortis en 2 CO₂ et l'équilibre est maintenu.

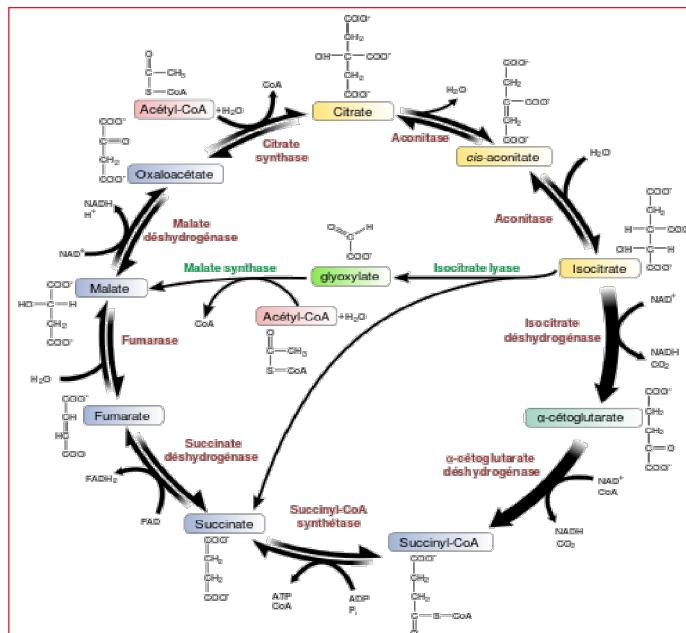
Le cycle entre dans l'étape à 4 carbones durant laquelle deux oxydations donneront le Coenzyme A, un FADH₂, un NADH et un GTP par phosphorylation au substrat à partir du succinyl-CoA

Enfin un oxaloacétate est reformé et prêt à se lier à un autre accétyl-CoA.

NB 1: Le cycle de Krebs ne peut fonctionner en conditions anaérobies car la succinate déshydrogénase et l' α -cétoglutarate déshydrogénase sont inactives.



NB 2: À part la formation du succinyl-CoA, toutes les réactions du cycle sont réversibles



Bilan du Cycle de Krebs

Pour chaque molécule de pyruvate qui est oxydée dans le cycle de Krebs, il y a production de:

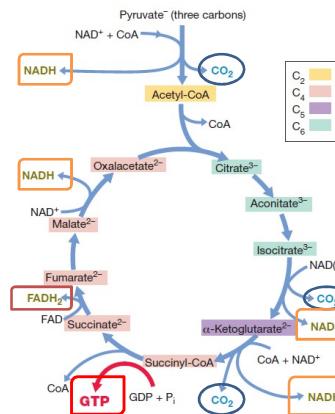
3 molécules de CO_2

4 molécules de NADH, H^+

1 molécule de FADH_2

1 molécule de GTP = ATP

Dans une respiration aérobie, au total of 38 ATP peuvent être produit par l'oxydation complète du glucose en CO_2 et H_2O



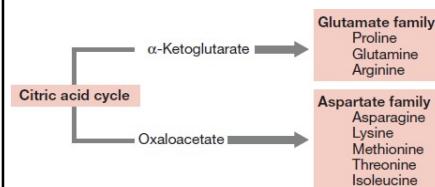
Energetics Balance Sheet for Aerobic Respiration

| | |
|--|--|
| (1) Glycolysis: Glucose + 2 NAD^+ | 2 Pyruvate + 2 ATP + 2 NADH |
| (a) Substrate-level phosphorylation | 2 ADP + $\text{P}_i \rightarrow$ 2 ATP |
| (b) Oxidative phosphorylation | 2 NADH \rightarrow 6 ATP |
| | 8 ATP |
| (2) CAC: Pyruvate + 4 NAD^+ + GDP + FAD | 3 CO_2 + 4 NADH + FADH_2 + GTP (ATP) |
| (a) Substrate-level phosphorylation | GDP + $\text{P}_i \rightarrow$ GTP (ADP) (ATP) |
| (b) Oxidative phosphorylation | 4 NADH \rightarrow 12 ATP 1 $\text{FADH}_2 \rightarrow$ 2 ATP |
| | 15 ATP ($\times 2$) |
| (3) Sum: Glycolysis plus CAC | 38 ATP per glucose |

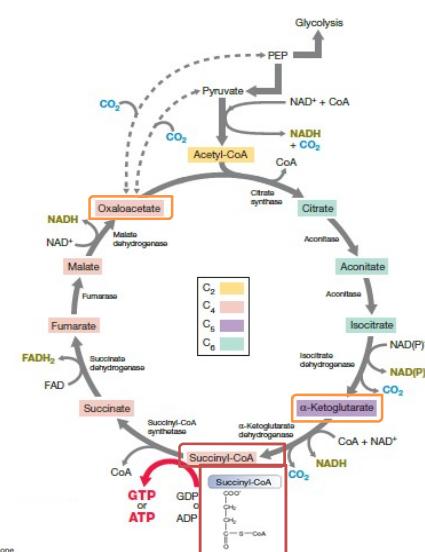
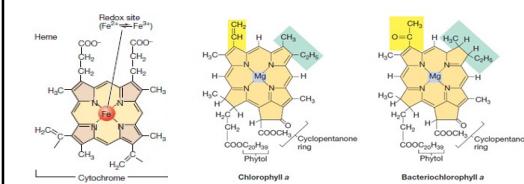
La biosynthèse et le cycle de Krebs

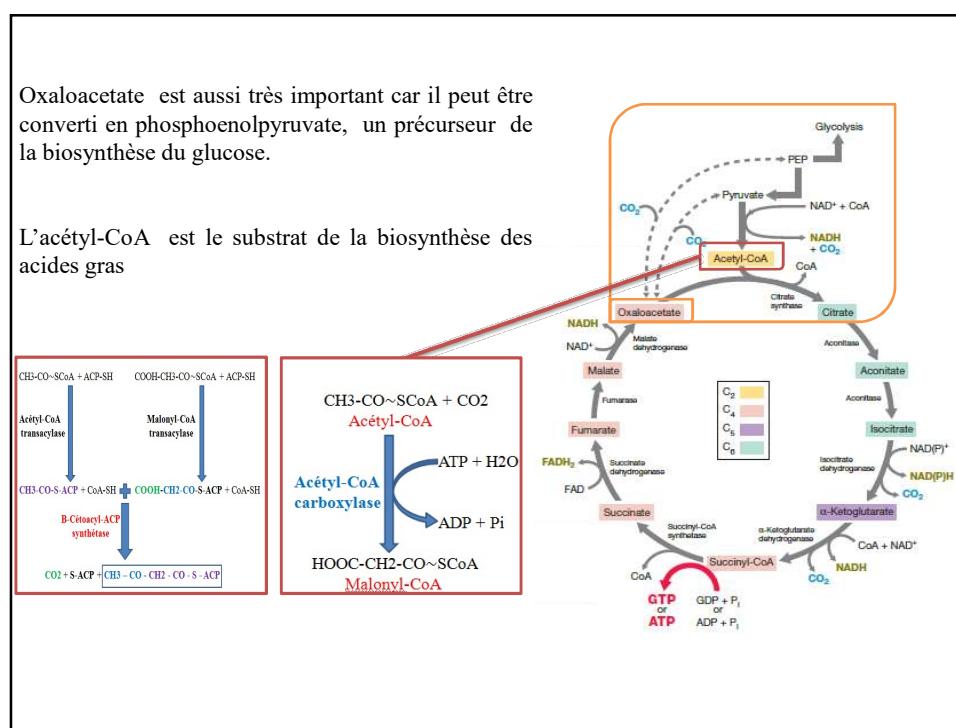
En plus de son rôle dans la combustion du pyruvate en H_2O et CO_2 , le cycle de est composé de plusieurs composés intermédiaires utilisés à des fins biosynthétiques

L' α -céto glutarate et oxaloacétate, sont des précurseurs pour la biosynthèse de plusieurs acides aminés.

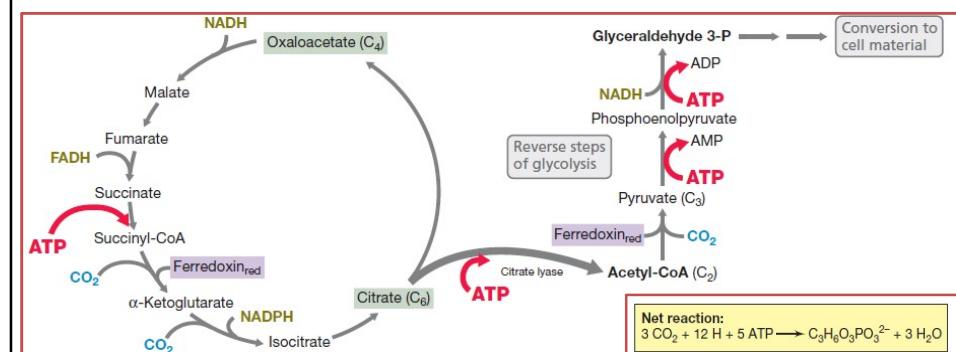


Le succinyl-CoA, est utilisé dans la formation des cytochromes, de la chlorophylle et plusieurs autre tetrapyrroles (composés de quatre cycles de pyrolooles)





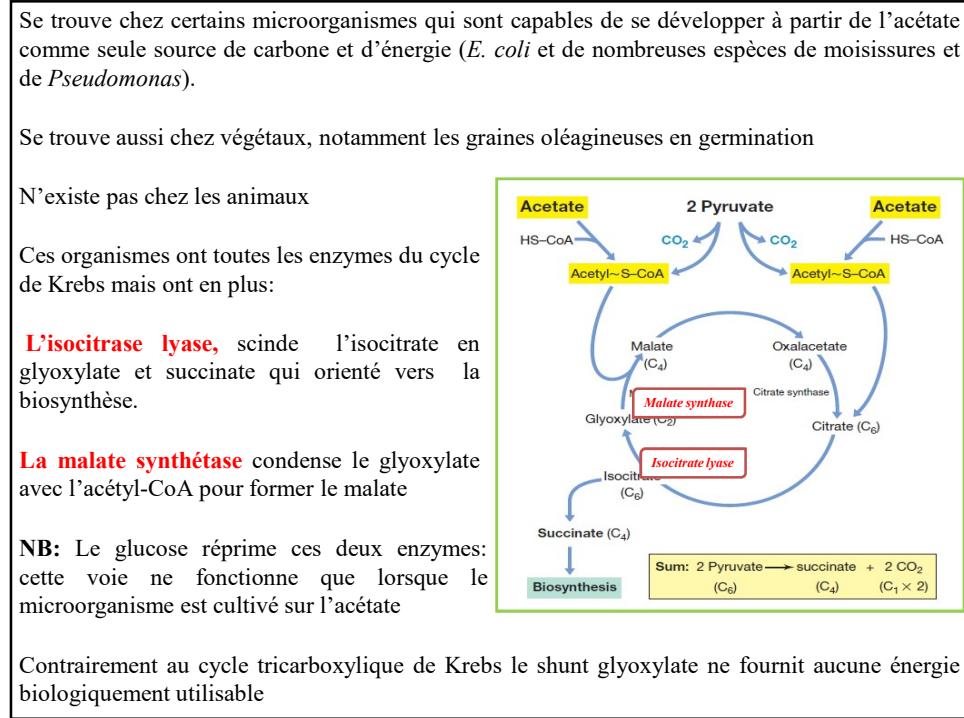
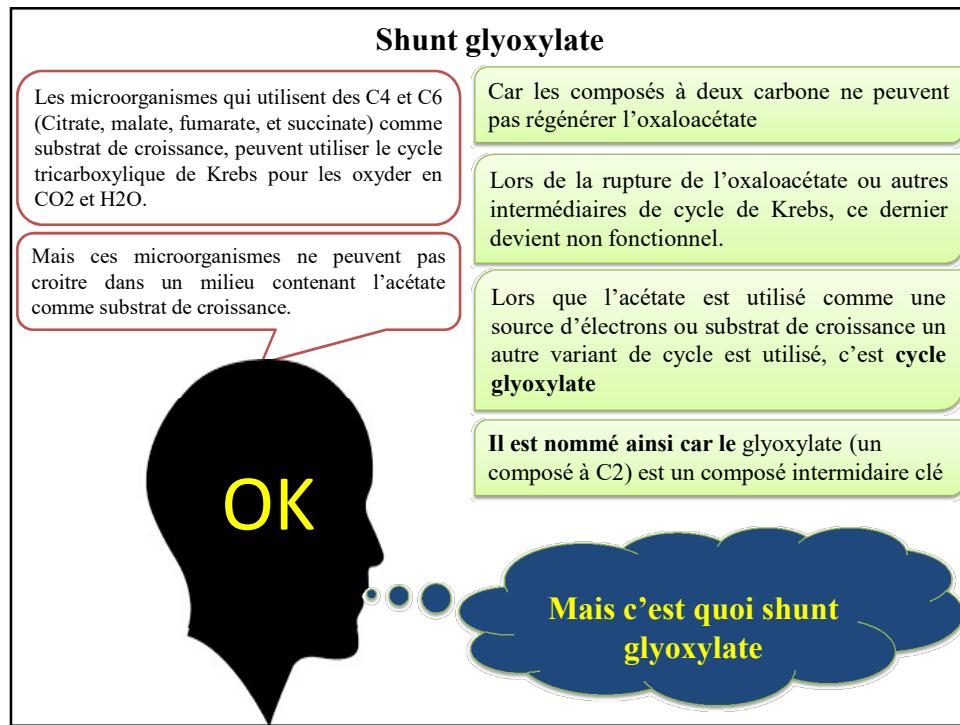
Le **cycle de l'acide citrique** peut entièrement fonctionner à « contre-sens » de manière réductrice pour la fixation autotrophique du CO₂ (*Chlorobium*, *Thermoproteus (archaea)* et *Aquifex (bacteria)*).

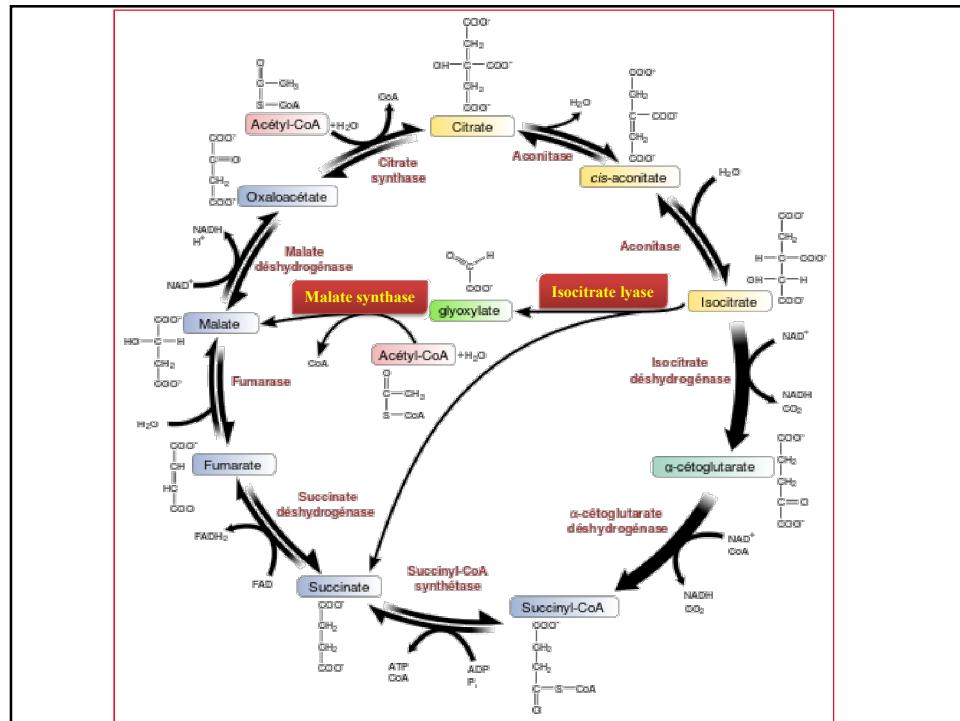


Fixation du CO₂ par le *cycle de l'acide citrique inversé*

Le cycle de Krebs fonctionne non seulement dans le sens du catabolisme mais aussi dans le sens d'anabolisme en jouant deux rôles majeurs:

- La biosynthèse
- La fixation du CO₂ (comme le cycle de kelvin)
- La conservation de l'énergie





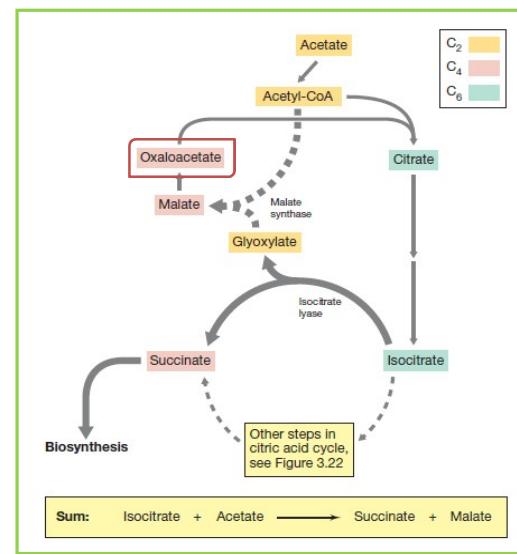
Importance de shunt glyoxylique

1. Régénération de l'oxaloacétate

L'oxaloacétate est régénéré à partir du malate, qui peut entrer dans un nouvel cycle d'acide tricarboxylique

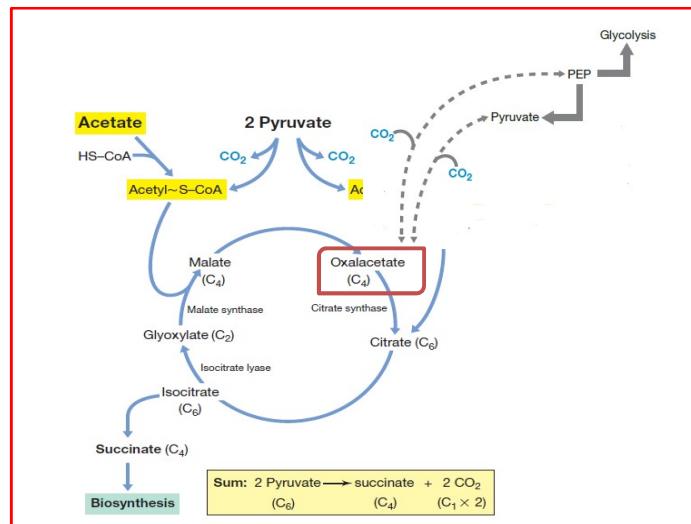
2. Biosynthèse

3. Fabrication du glucose à partir des lipides

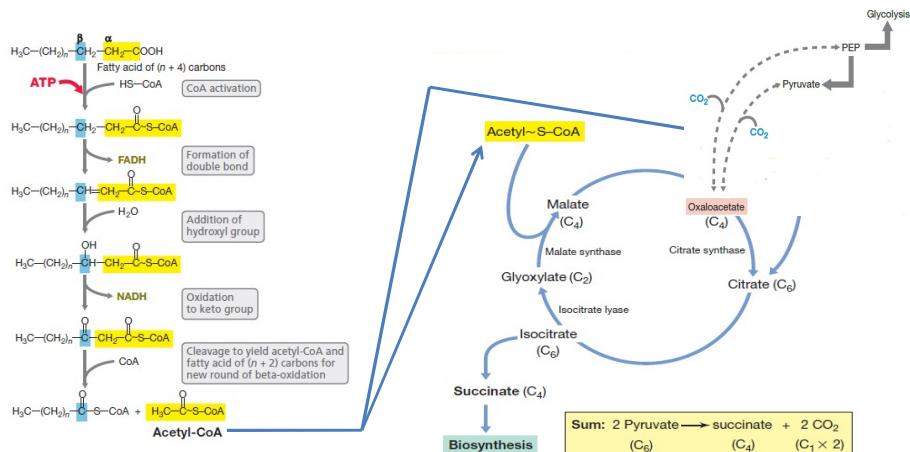


2. Biosynthèse

Lors de la croissance sur l'acétate, les cellules décarboxylent l'oxaloacétate pour fournir le phosphoénolpyruvate ou le pyruvate, points de départ de la biosynthèse des hexoses et des pentoses



3. Fabrication du glucose à partir des lipides



Et les composés à trois carbones alors; que va-t-on dire ???



Les composés à trois carbones comme le pyruvate, l'acide lactique ou les hydrates de carbone ne peuvent pas être catabolisés par le cycle tricarboxylique seul.

Car les intermédiaires de cycle tricarboxylique sont utilisés pour la biosynthèse; et l'oxaloacétate nécessaire pour faire fonctionner le cycle s'en est épuisé et le cycle s'arrête.

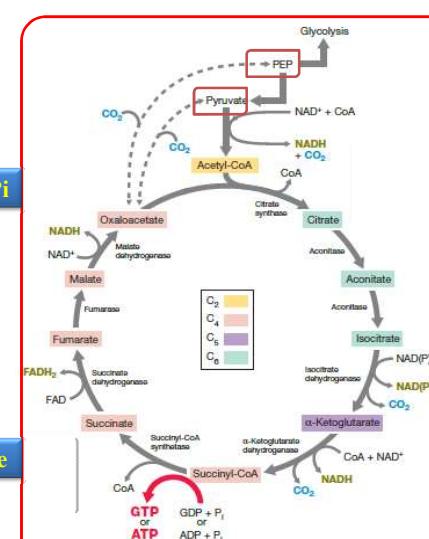
Pour faire fonctionner le cycle à nouveau l'oxaloacétate est synthétisé à partir du pyruvate ou de phosphoenolpyruvate par l'addition d'un atome de carbone à partir de CO₂.

Dans certains organismes cette étape est catalysée par la **pyruvate carboxylase**:

$\text{Pyruvate} + \text{ATP} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{oxalacetate} + \text{ADP} + \text{Pi}$

Dans d'autre elle est catabolisée par la **phosphoenolpyruvate carboxylase**

$\text{Phospho-enolpyruvate} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{Pi} + \text{oxalacetate}$



Fermentations dérivées du cycle de Krebs et du shunt glyoxylique

Appelées aussi fermentations aérobies ou oxydations incomplètes réalisées essentiellement par des moisissures

Elles aboutissent à la formation de divers métabolites issues du cycle de Krebs ou du shunt glyoxylate ou des produits de leur transformation

Ces métabolites sont accumulées lorsque le fonctionnement du cycle est interrompu par:

Variation des conditions du milieu : pH, présence d'inhibiteurs des enzymes transformant normalement le produit formé

Mutation portant sur les gènes contrôlant ces enzymes

Manque d'une enzyme quelconque impliquée dans la voie métabolique

Manque de l'un des constituants essentiels au métabolisme comme : le zinc, le fer, manganèse, cuivre, magnésium, potassium et calcium.

Ajout des glucides en excès et au désorganisation du métabolisme

Ces métabolites peuvent être des

➤ Métabolite primaires

Acides aminés

Acides organiques (acétate, fumarate, gluconate, citrate, lactate, fumarate)

Produits de leur transformation par Interconversion

➤ Métabolites secondaires

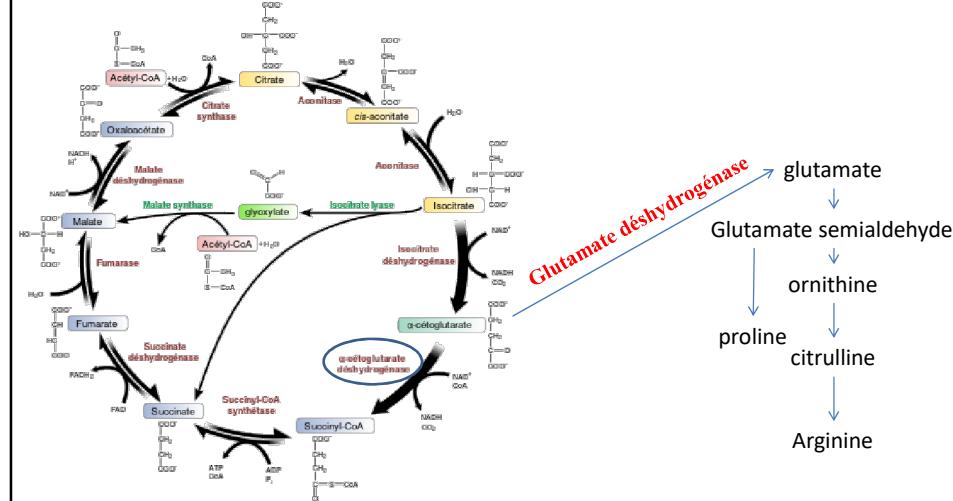
Antibiotiques

autres métabolites secondaires: coumarine, alcaloïde, peptides, oligosaccharides, insecticide, inhibiteurs enzymatiques, analogues de métabolites, riboflavine

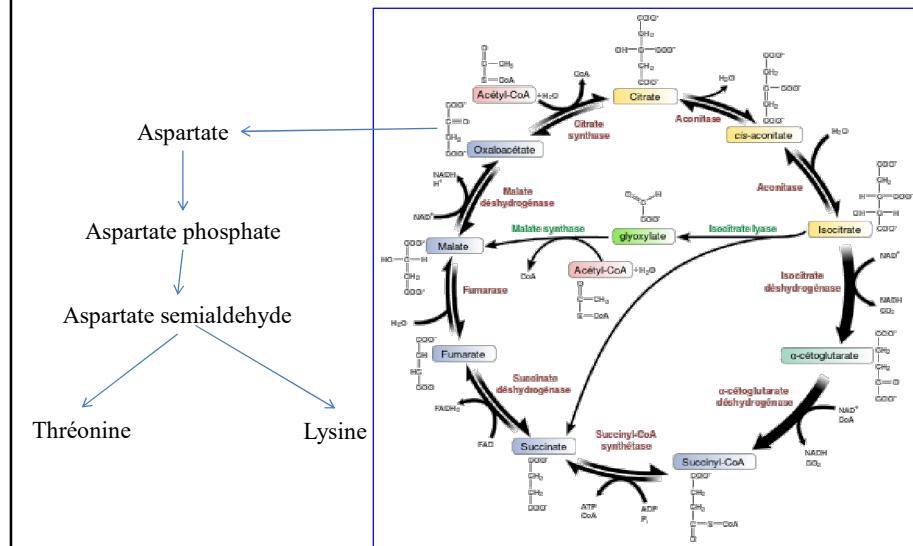
1. Acides aminés

Il ne sont pas, ou en faible quantité, excrétés dans le milieu extracellulaire, sauf si les souches bactériennes sont déficientes en une enzyme déterminée.

C'est le cas de la production de l'acide glutamique par *Corynebacterium glutamicum*, déficient en α -cétoglutarate déshydrogénase.



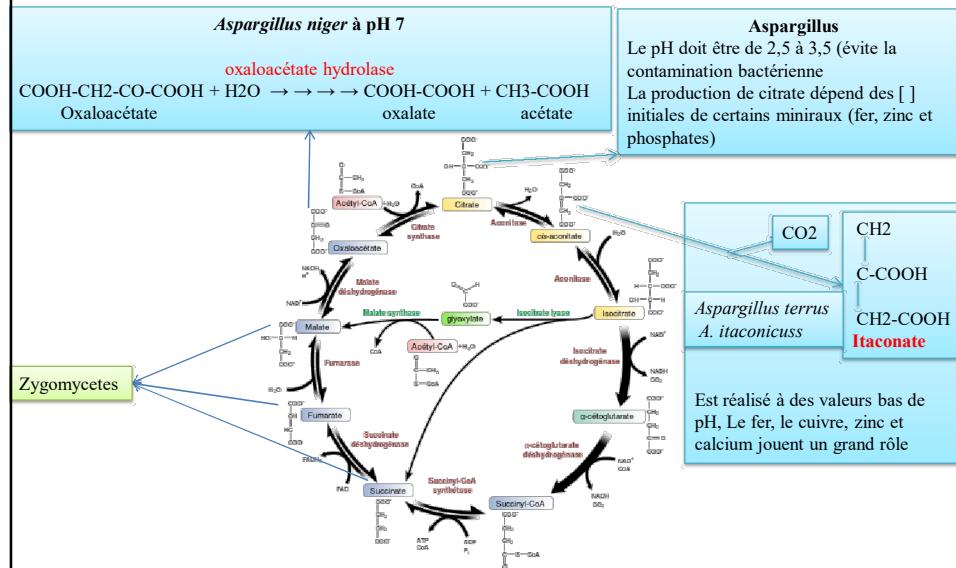
Des mutants auxotropes de *Corynebacterium glutamicum* sont utilisés pour la production de L-lysine



D'autres mutants de *Corynebacterium glutamicum*, des entérobactéries et des *pseudomonas* produisent de la L-homosérine, L-valine, L-isoleucine, L-tryptophane, L-tyrosine, et d'autres acides aminés

Production d'acides organiques

De nombreux acides organiques sont produits industriellement par des oxydations incomplètes des μ -organismes champignons et bactéries (acide acétique et gluconique)

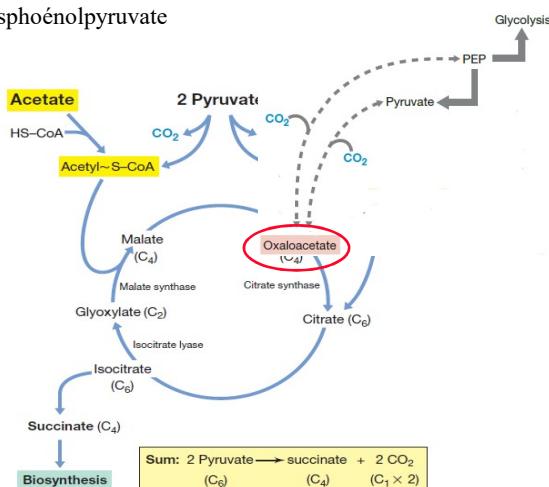


Une abondante formation des acides organiques nécessite la présence d'apports différents en oxaloacétate. Ce dernier peut être formé par

Le shunt glyoxylique

Carboxylation du pyruvate

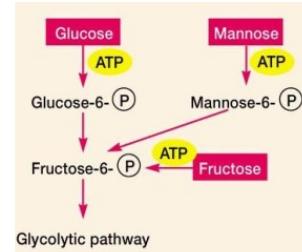
Carboxylation de phosphoénolpyruvate



Catabolisme des hexoses (glucose, fructose, galactose, manose)

Il ne sont métabolisés qu'après activation sous forme d'esters phosphorique ou hexoses phosphate

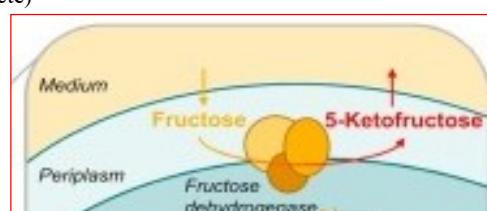
Les trois premiers sont phosphorylés grâce à l'ATP et entrent facilement dans les voies glycolytiques.



Dégradation du fructose

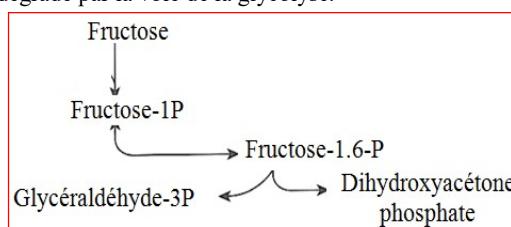
Le fructose peut être soit

Oxydé en 5-céto-D-fructose par la D-fructose-NADP-5 oxydo-réductase (*Acetobacter cerinus*, bactérie aérobie stricte)



Phosphorylé en fructose-1P (*Escherichia coli*, *Zymomonas*, *Clostridium*) ou plus rarement en fructose-6P.

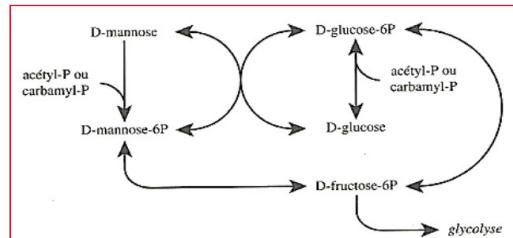
La première phosphorylation est suivie d'une seconde qui aboutit au fructose-1,6-diphosphate, celui-ci est ensuite dégradé par la voie de la glycolyse.



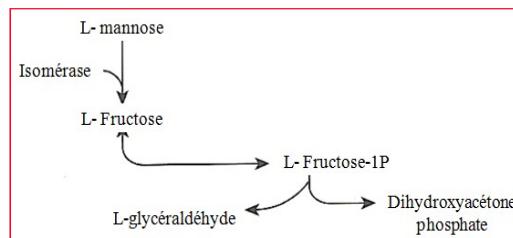
Dégradation du mannose

Le mannose peut être catabolisé par deux mécanismes différents :

Mécanisme cyclique: fait par (*Aerobacter aerogenes*) et concerne l'isomère D



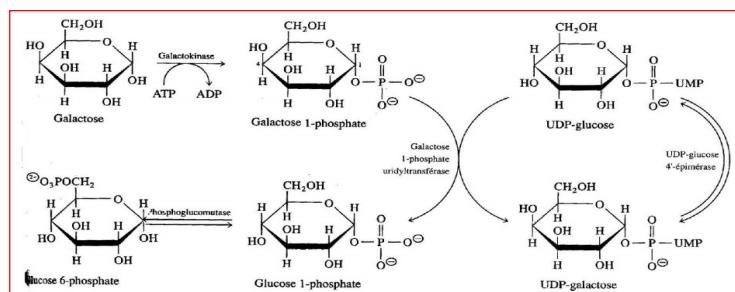
Mécanisme non cyclique Concerne les isomères L et D



Galactose

Il est dégradé par deux voies celle de **Leloir-Kalchar** ou celle de **tagatose**

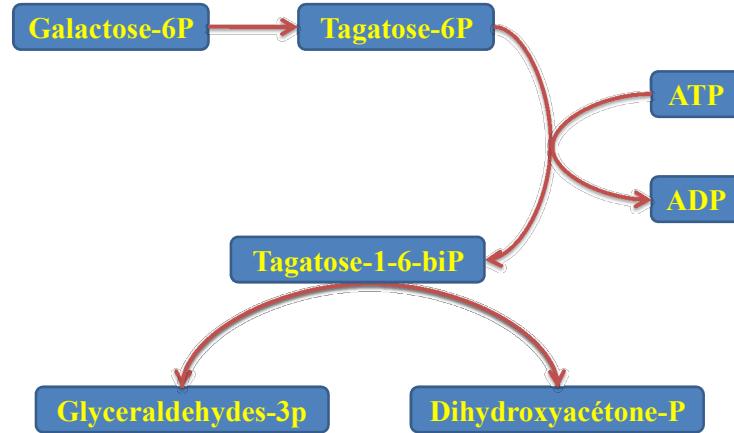
1. La voie de Leloir-Kalchar est faite par les levures et *E. coli*.



Le galactose doit être converti en uridine-diphosphatogalactose après phosphorylation initiale et être ensuite transformé en glucose-6-phosphate dans un processus à trois étapes.

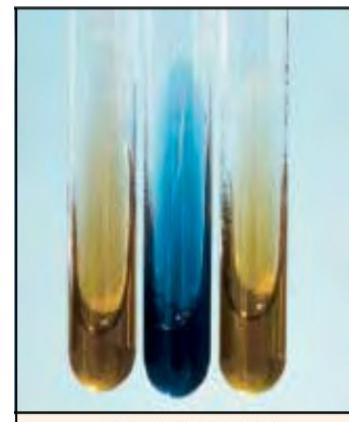
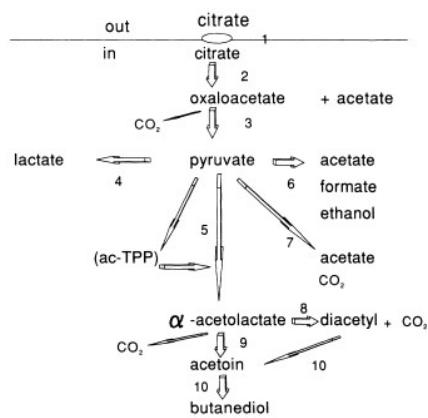


2. La voie du tagatose est faite par *Lactobacillus casei* et *Staphylococcus aureus*



Le galactose peut aussi être oxydé et utilisé par la voie d'Entner-Doudoroff

Dégradation du citrate

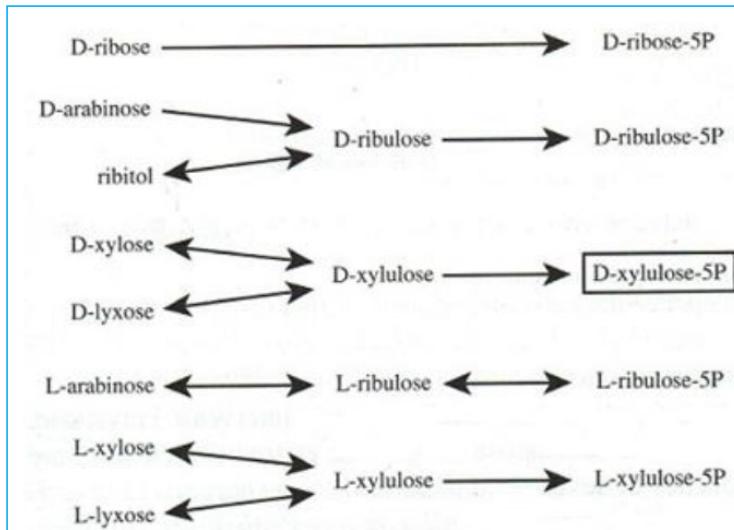


CITRATE UTILIZATION
Left to right: uninoculated, positive (*E. aerogenes*), and negative.

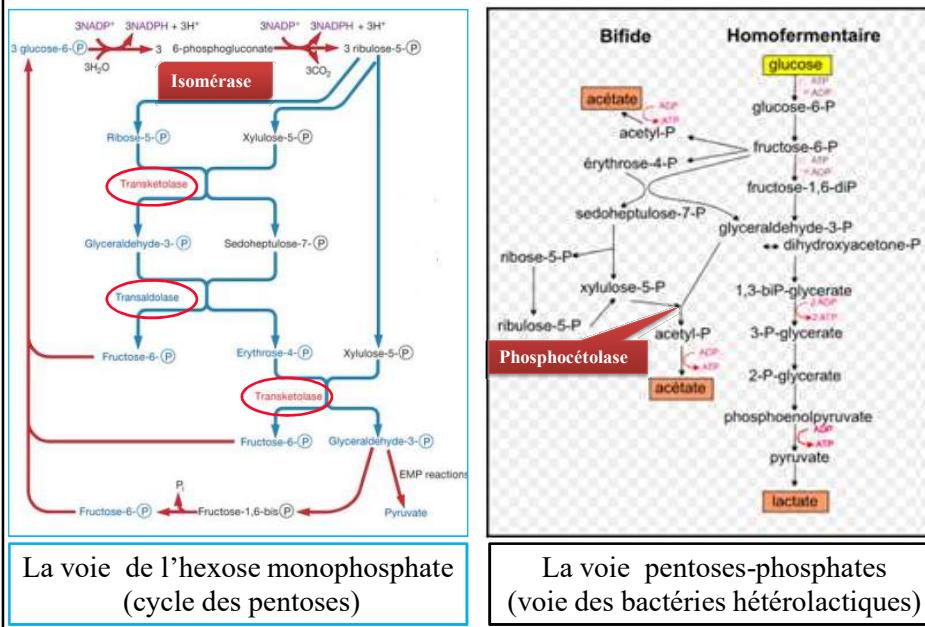
Figure 6.8 Citrate metabolism in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar diacetylactis involving four different pathways. (A) Lactate production via lactate dehydrogenase (4). (B) Formate and acetate or ethanol production via pyruvate formate lyase (6). (C) Acetate and CO₂ production via pyruvate dehydrogenase (7). (D) α -Acetolactate production via α -acetolactate synthase (5) and subsequent acetoin and butanediol production by α -acetolactate decarboxylase (9) and acetoin reductase (10). Production of diacetyl is by spontaneous chemical disintegration of α -acetolactate. The citrate permease (1) is coded on plasmids, citrate lyase (2) and oxaloacetate decarboxylase (3) are coded on the chromosome. Resulting diacetyl concentration in sour milk, cream and butter are between 1.5 and 2.5 mg/kg. (Modified from Hogenholtz, 1993.)

Catabolisme des pentoses

Quel que soit le pentose métabolisé, sa dégradation aboutit à la formation de D-xylulose-5P par l'intervention d'isomérasées, transcétolases et transaldolases,



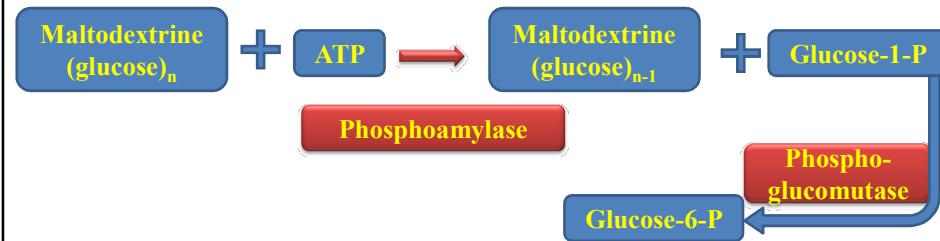
Le xylulose sera ensuite métabolisé soit par



Catabolisme des disaccharides

1. Maltose

Il est généralement hydrolysé en 2 molécules de glucose par une maltase (ou glucoamylase).



Chez *E. coli*, il est métabolisé avec intervention d'une transglycosylation



Test de L'ONPG

Permet de mettre en évidence la β -galactosidase.

L'ONPG (orthonitrophénol- β -D- galactopyranoside) est un analogue structural du lactose.

L'ONPG (composé incolore) après hydrolyse libère l'orthonitrophénol qui est responsable de la coloration jaunâtre de milieu correspondant à la présence d'une ONPG-hydrolases

- ❖ Un anse complète d'une culture bactérienne cultivée sur un milieu lactosé gélosé est suspendue dans d'eau déminéralisée stérile puis homogénéisée.
- ❖ Placer un disque d'ONPG
- ❖ Incuber au bain marie à 37°C pendant 15-30mn et jusqu'à 24H au max

| Couleur dans le tube | Test ONPG | Entérobactéries ¹ |
|----------------------|-----------|---|
| Coloration jaune | ONPG + | Souches lactose +, β -gal + : <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Citrobacter</i> ... |
| | | Souches lactose -, β -gal - : certaines espèces de <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Yersinia</i> ... |
| Pas de coloration | ONPG - | Souches lactose -, β -gal - : <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> sauf <i>S. enterica</i> subsp. <i>arizona</i> et <i>S. enterica</i> subsp. <i>darwizonae</i> ONPG +, lactose + (par acquisition d'un plasmide)... |

