

Chapitre III

Catabolismes des glucides

Les microorganismes sont capable de cataboliser la plus part 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.

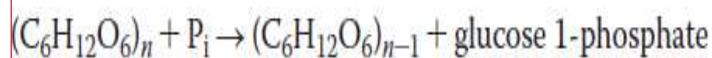
| Substance | Composition | Sources | Catabolic enzymes |
|-----------|--|--|--------------------------------|
| Cellulose | Glucose polymer (β-1,4-) | Plants (leaves, stems) | Cellulases (β, 1-4-glucanases) |
| Starch | Glucose polymer (α-1,4-) | Plants (leaves, seeds) | Amylase |
| Glycogen | Glucose polymer (α-1,4- and α-1,6-) | Animals (muscle) and microorganisms (granules) | Amylase, phosphorylase |
| Laminarin | Glucose polymer (β-1,3-) | Marine algae (<i>Phaeophyta</i>) | β-1,3-Glucanase (laminarinase) |
| Paramylon | Glucose polymer (β-1,3-) | Algae (<i>Euglenophyta</i> and <i>Xanthophyta</i>) | β-1,3-Glucanase |
| Agar | Galactose and galacturonic acid polymer | Marine algae (<i>Rhodophyta</i>) | Agarase |
| Chitin | N-Acetylglucosamine polymer (β-1,4-) | Fungi (cell walls) | Chitinase |
| | | Insects (exoskeletons) | |
| 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

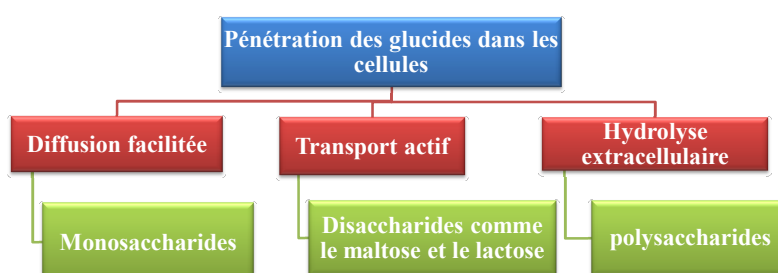
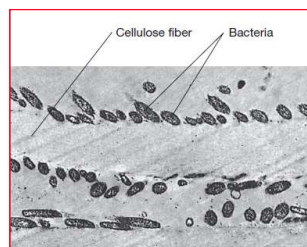
Intracellulaire sous forme de réserves (**Phosphorolyse**)

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

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

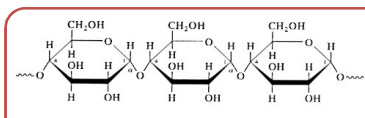


Hydrolyse: par des enzymes hydrolytiques, excrétées par le microorganisme pour dégrader des polysaccharides extracellulaires comme l'amidon, la cellulose, l'inuline et parfois des plus petites molécules comme le saccharose et le mélibiose et les produits formés (hexose, essentiellement glucose ou de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

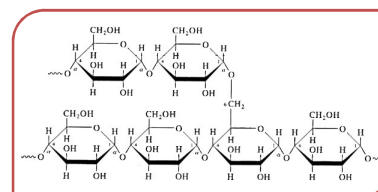


Amidon (20% Amylose + 80% Amylopectine)

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

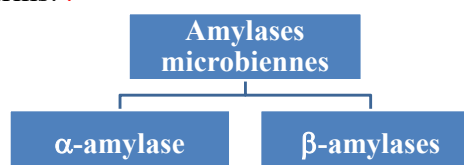


Amylopectine : Comporte des chaines latérale branchées par liaisons α (1-6) tous les 20 résidus glucose environ sur la chaîne principale α (1-4)



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. stearotherophilus*, *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 (*Aspergillus* , *Rizopus* etc.) et chez quelques levures (*Candida*, *Endomycopsis*, *Endomyces*..) et des bactéries.

Glucose Maltose

β-amylases

Libèrent des unités de maltose, maltotriose (3 unités de glucose) et des dextrines 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'acides 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 enchainement de glucose. L'amylase quand elle est une enzyme capable de dégrader l'amidon, substrat.

On obtient donc :

Amidon $\xrightarrow{\text{Amylase}}$ Glucose

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

Après l'incubation l'ajout de di-iodé (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

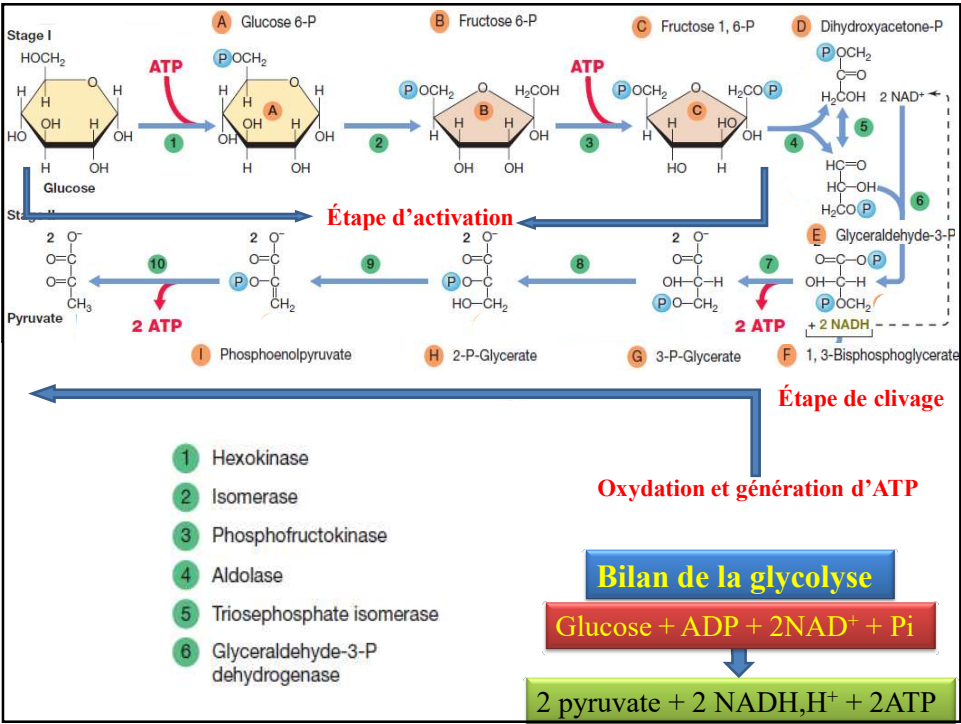
- Ensemencer par une strie centrale ou trois spots
- Incuber 48 heures à 37 °C
- Après incubation, recouvrir la gélose d'une solution de di-iodé c'est-à-dire une solution de lugol
- Observer le résultat obtenu

5 Résultats

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

6. Précautions

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

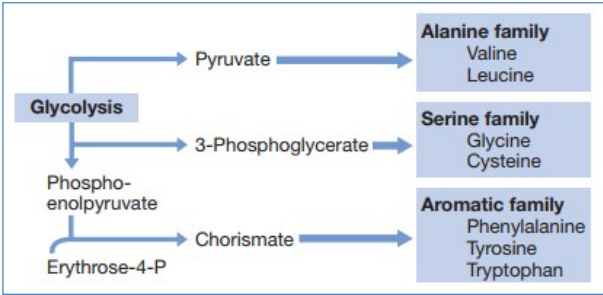


La glycolyse n'est pas relativement efficace dans la production d'énergie par phosphorylation au substrat de l'ordre de 2%, (2ATP).

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 phosphate ou pentoses phosphates

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

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

Découverte en 1955

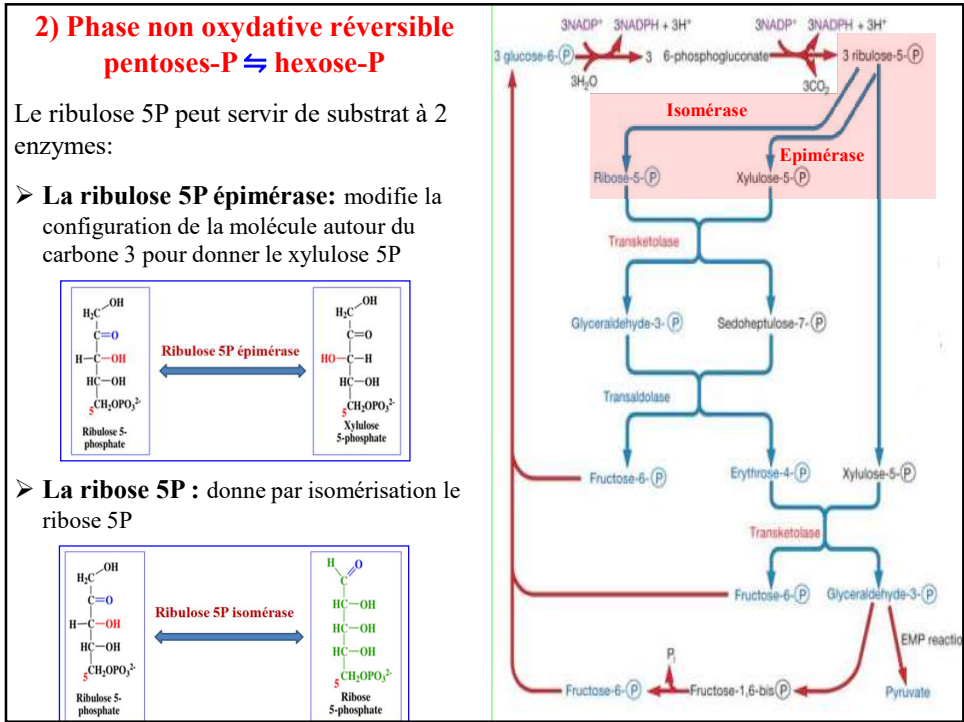
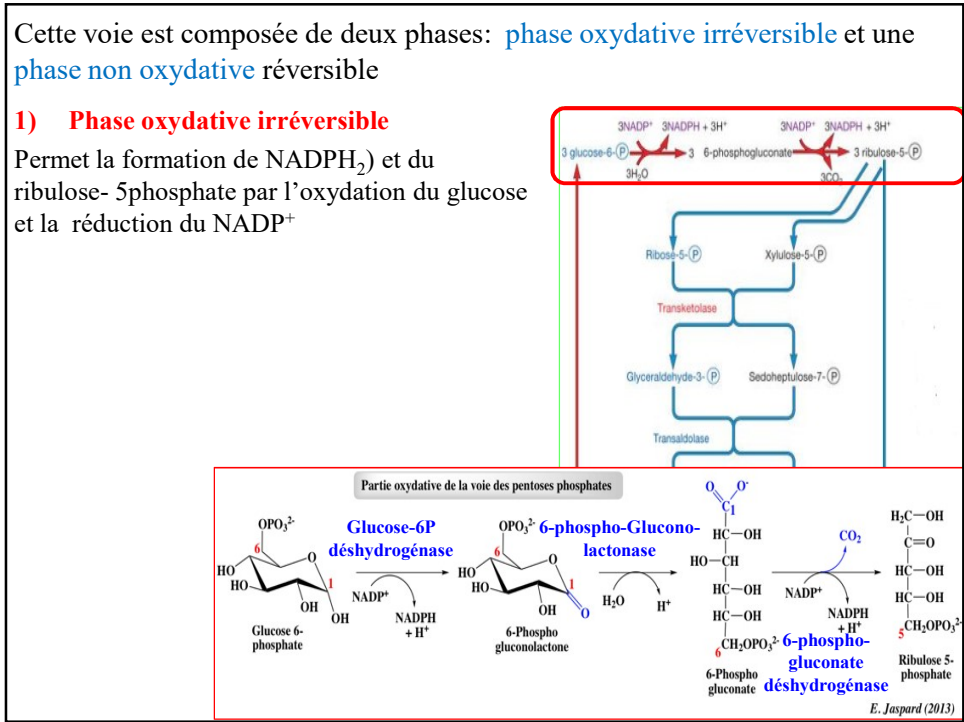
Cette voie existe chez tous les eucaryotes et la quasi-totalité des bactéries.

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*

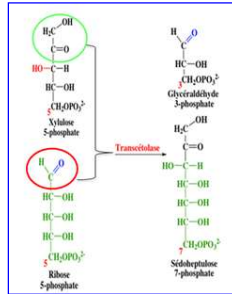
Elle joue un rôle fondamental chez les bactéries aérobies dépourvues de glycolyse (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acetobacter xylinum*...).



Deux enzymes uniques à cette voie jouent un rôle central dans la transformation

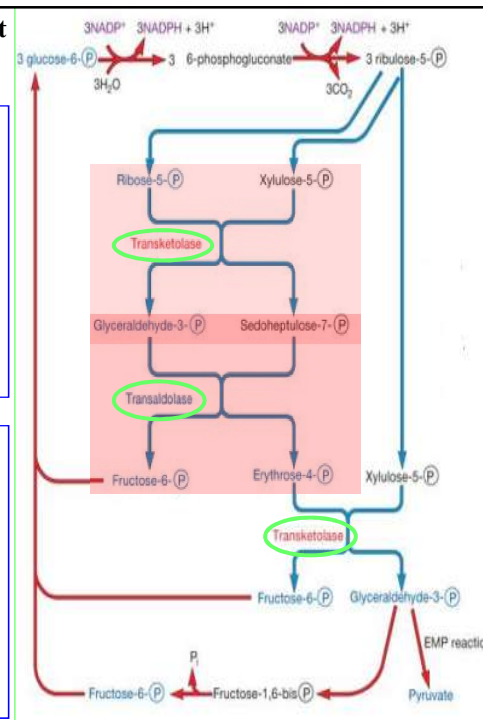
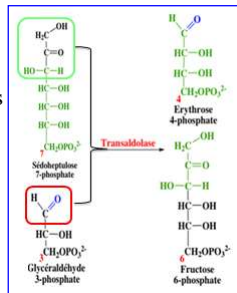
1. La transcétole

catalyse le transfert de d'unité à deux carbones de xylose-5-phosphate au ribose-5-phosphate et production de sédoheptulose-7-P et glyceraldéhyde-3-P

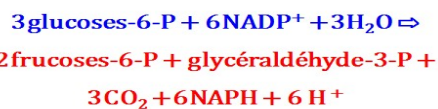


2. La transaldolase

catalyse le transfert d'un groupement à trois carbone du sédoheptulose-7-P au glyceraldéhyde-3-P et production du fructose-6-P et Erythrose-4-P



Bilan de la conversion de trois (3) molécules de glucose-6-P

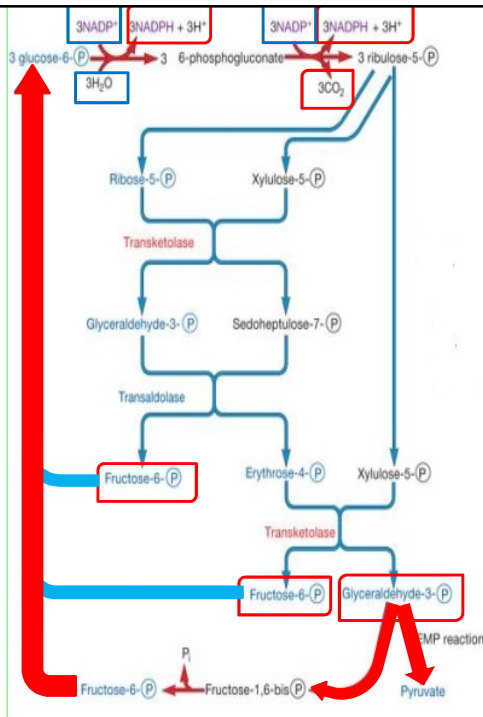
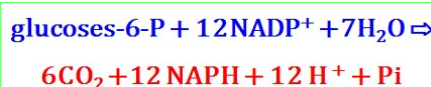


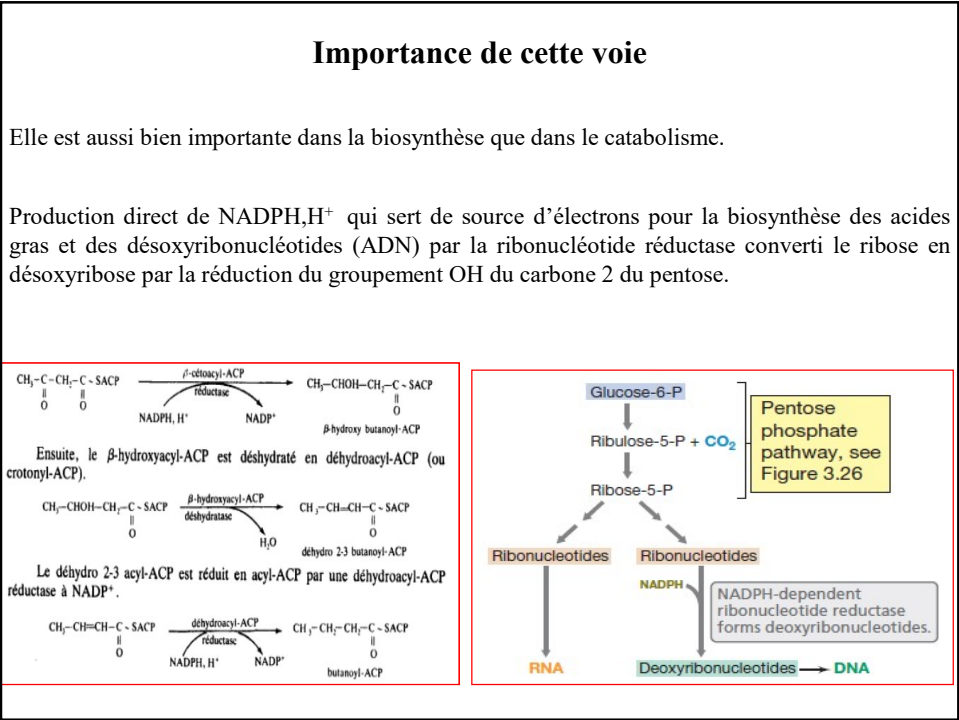
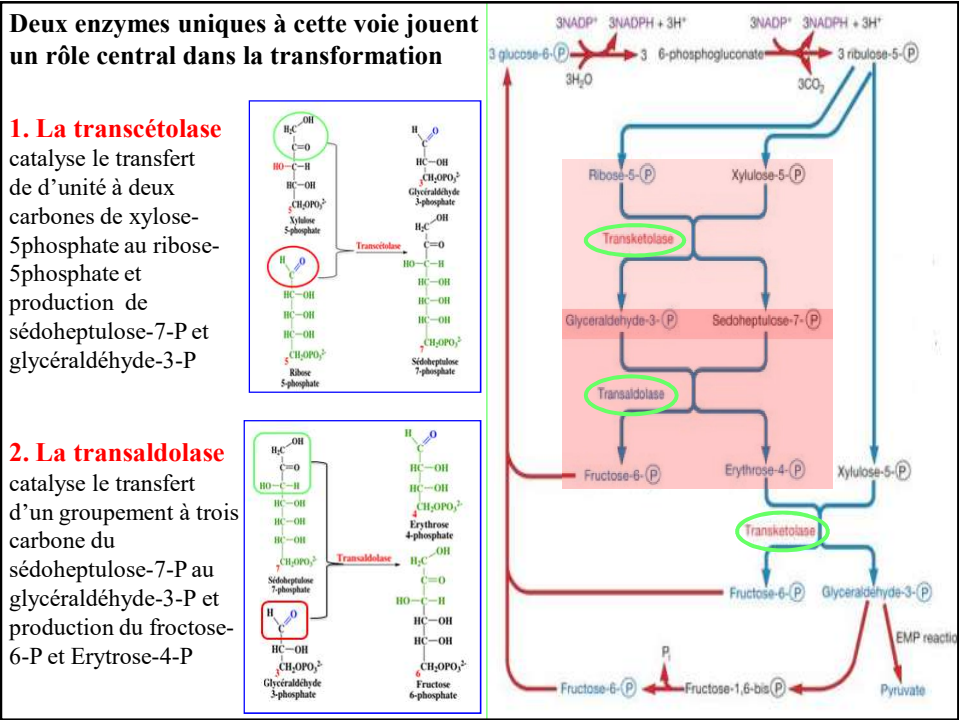
Ces intermédiaires (fructose -6-P et glyceraldéhyde-3-P) sont utilisés de deux façons:

1. Conversion du fructose-6-P en glucose-6-P
2. Transformation de glyceraldéhyde-3-P en pyruvate par les enzymes de la glycolyse.

Aussi le glyceraldéhyde-3-P peut retourner dans la voie des pentoses phosphates par la formation de glucose-6-P.

Ceci conduit à la dégradation complète de glucose-6-P en CO_2 et la production d'une grande quantité de NADPH





Synthèse des sucres à:

4 carbones
érythrose-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

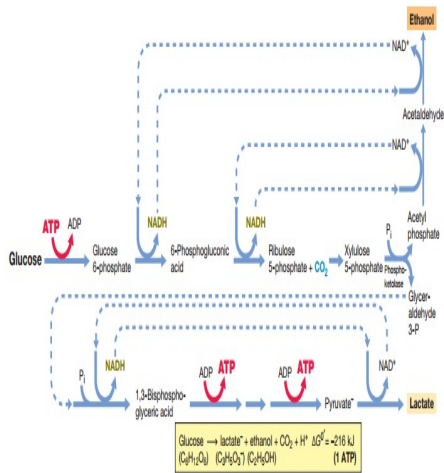
Le glycéraldéhyde-3-P, entre dans l'étape à 3 carbones de la glycolyse puis converti en ATP et pyruvate

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

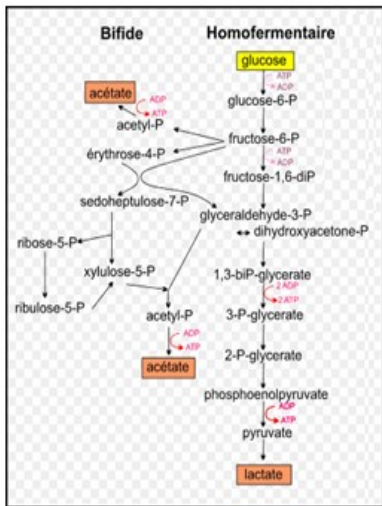
Le NADPH est converti en NADH qui lors de son oxydation dans la chaîne de transfert d'électrons fournit de l'ATP

Fermentations dérivées de la voie de l'hexose monophosphate

Voie de *Leuconostoc* et *Lactobacillus* hétérofermentaires



Voie des bifides

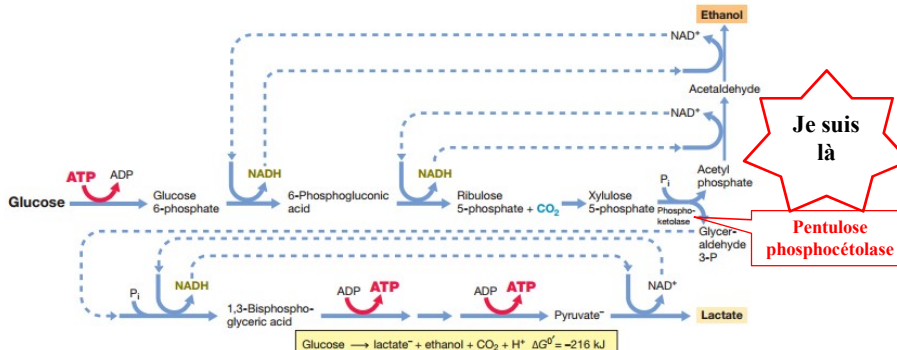


1. Voie de *Leuconostoc* et *Lactobacillus* hétérofermentaires

Cette voie est anaérobie facultative

Se fait chez le μ-organismes dépourvues 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



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.

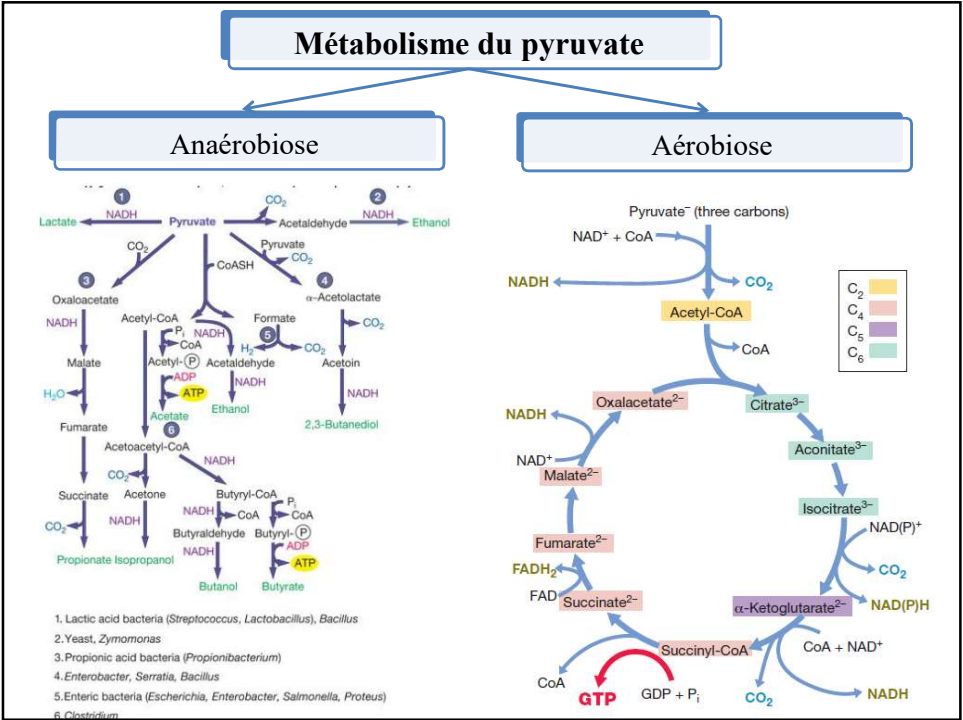
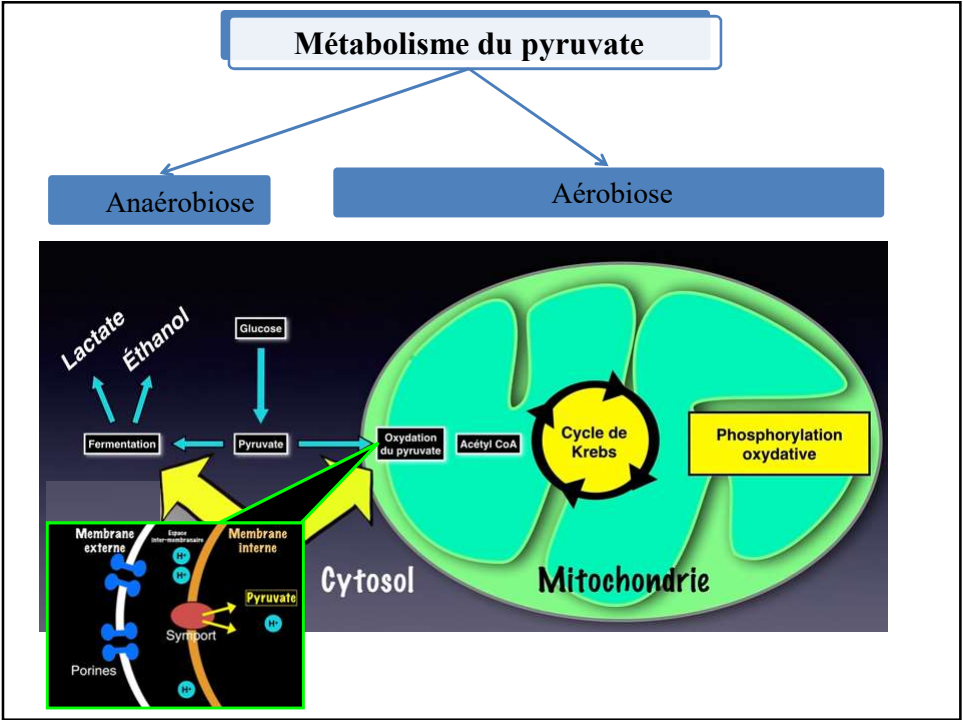
Le glycéraldéhyde-3-phosphate est transformé en pyruvate par les enzymes qui interviennent dans la glycolyse

Bilan

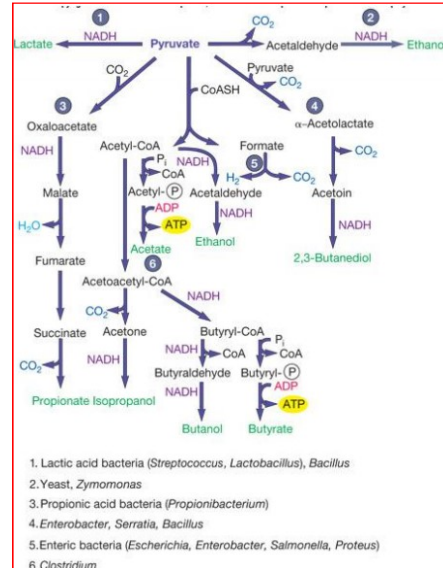
$$\text{Glucose} + \text{ADP} + \text{NADP}^+ + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons 2 \text{ pyruvate} + \text{ATP} + \text{NADPH} + \text{NADH}_2$$

Catabolismes des glucides

Voie d'Embden-Meyer hoff **Voie de Dickens et Horecker** **Voie d'Entner-Doudoroff**



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



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

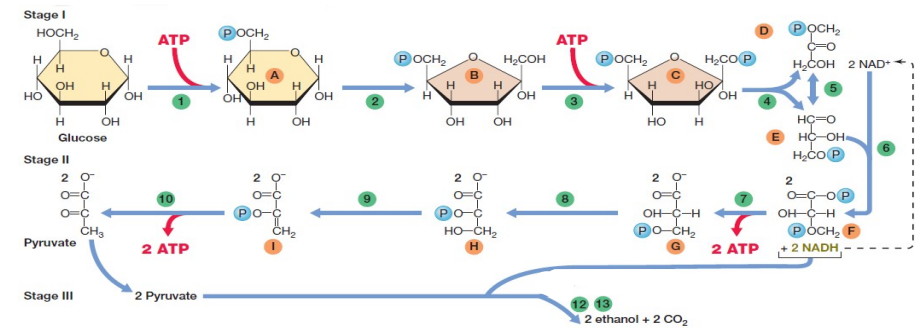
Il existe d'autres fermentation qui dérivent d'autres composés que le pyruvate. Certaines bactéries formant des endospores (genre *Clostridium*) fermentent des acides aminés, d'autre fermentent les purines et le pyrimidine et d'autres anaérobie fermentent des composés aromatiques

| 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 fermentation ont un intérêt industriel ou diagnostique

1. Fermentation alcoolique

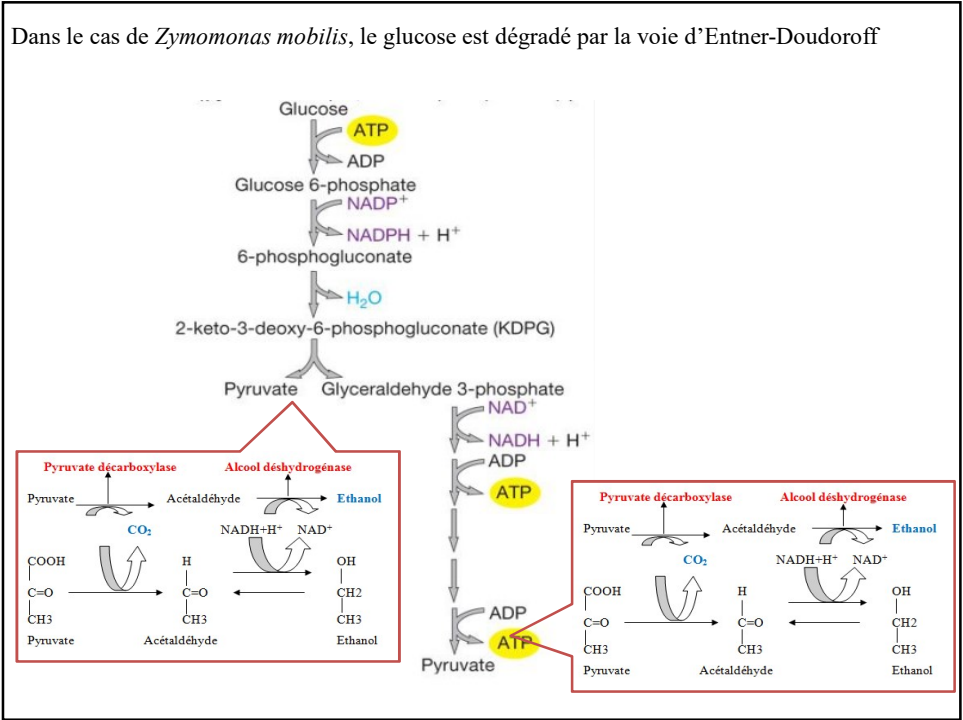
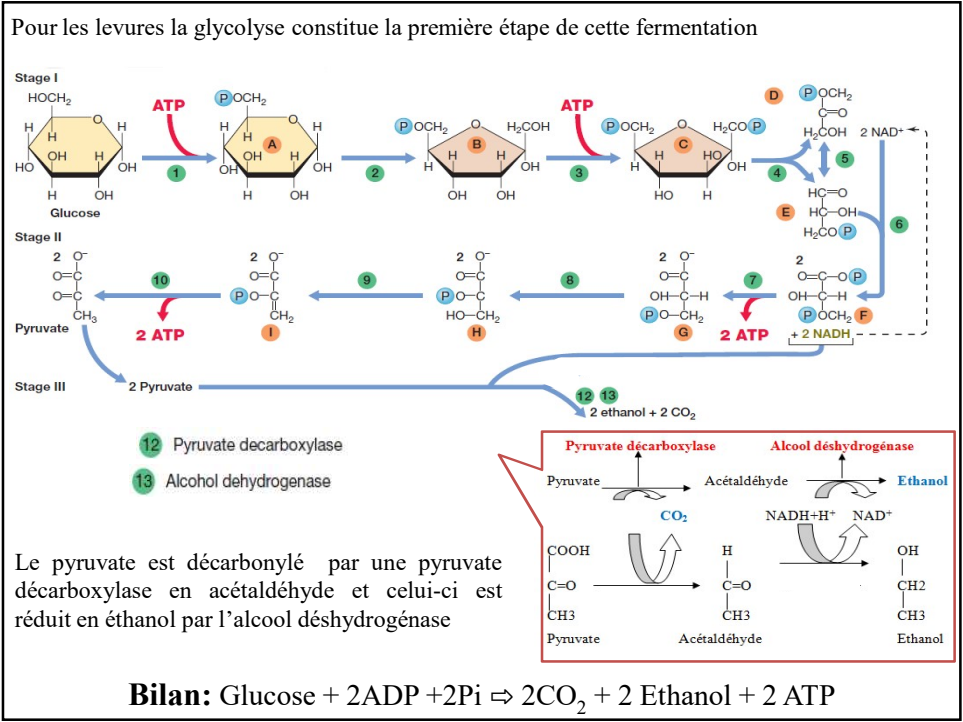
Faites par de nombreux mycètes (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Aspergillus* , *Penicillium* , *Mucor* quelques bactéries (*Zymomonas mobilis*) , Algue et protozoaires ...etc



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

Utilisée dans la levée de la pate en boulangerie et en pâtisserie par le CO₂ dégagé

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



2. Fermentations lactiques

On la retrouve chez les bactérie (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:

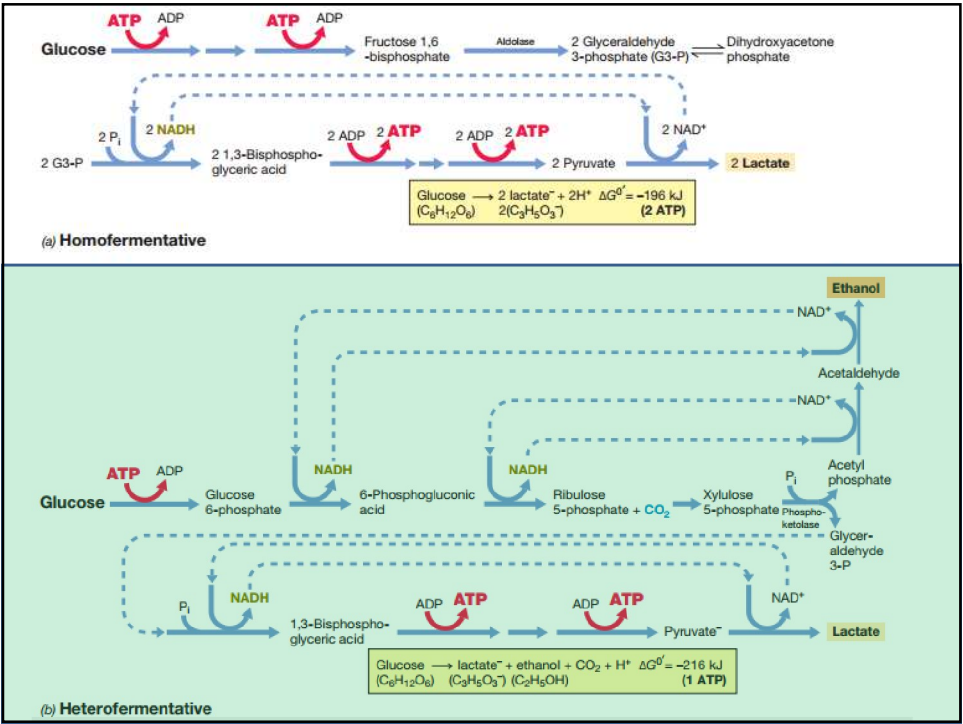
Les organismes à fermentation homolactique

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 biphosphate 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*

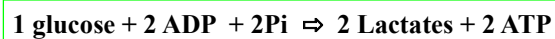
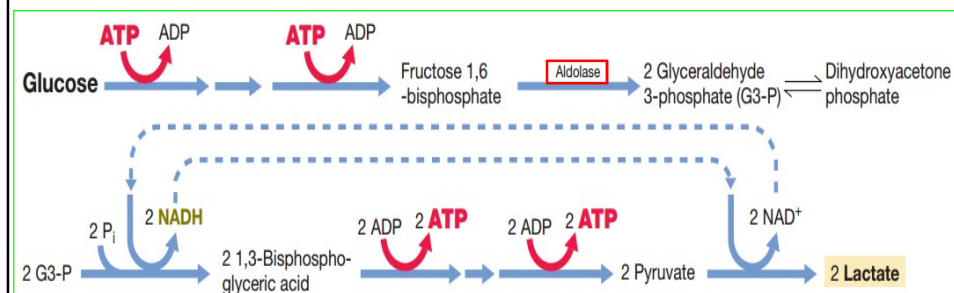
Certaines espèces de *Lactobacilles* (*Lb. laci*s, *Lb. Bulgaricus* , *Lb. casei* , *Lb. plantarum*

Thermobacterium (*T. yoghurti*).

Certaines moisissures (Phycomycètes : Oomycètes).

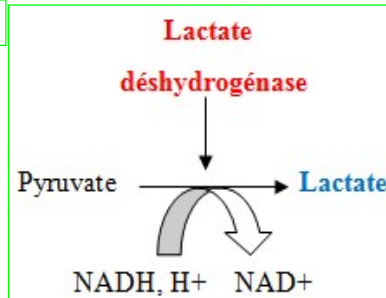
Ils fermentent en général le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le saccharose et le lactose.

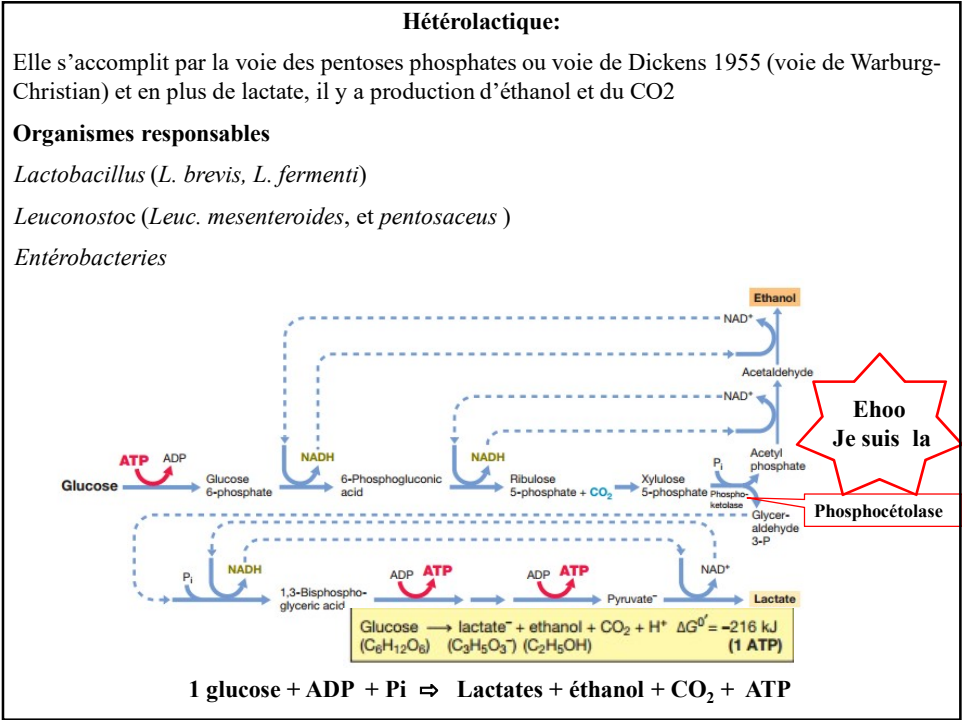
Utilisent la glycolyse et réduisent directement tout le pyruvate en lactate à l'aide d'une lactate déshydrogénase



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)





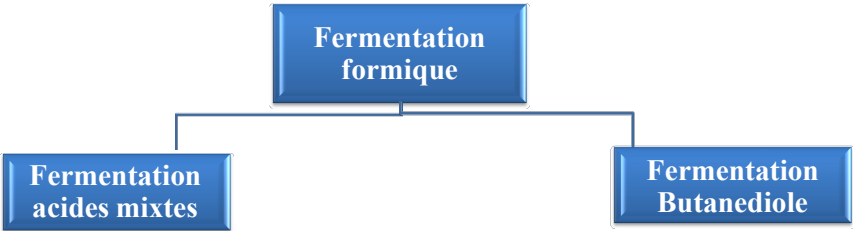
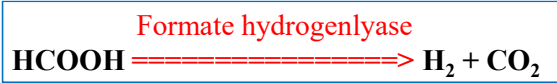
3. Fermentation formique

Faite par de nombreuses bactéries

Spécialement par la famille des entérobacteriaceae

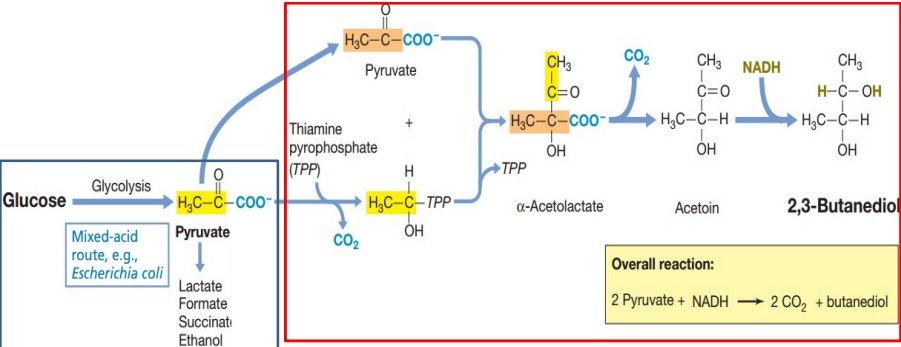
Appelée ainsi car le pyruvate est métabolisé en acide formique et d'autres substances

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



Fermentation 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 butanediol

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

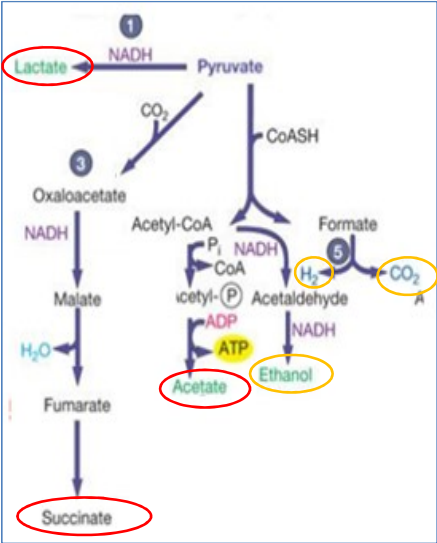
Fermentation acides mixtes

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*, (anaérobie facultatif)

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 => beaucoup de gaz
à pH basique => 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, CO₂ et le H₂ 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 diacétyl sont formés.

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

mais

Il y a deux molécules supplémentaire 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-proskauer:
Un procédé colorométrique qui détecte l'acétoïne, le précurseur du butanediol

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

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

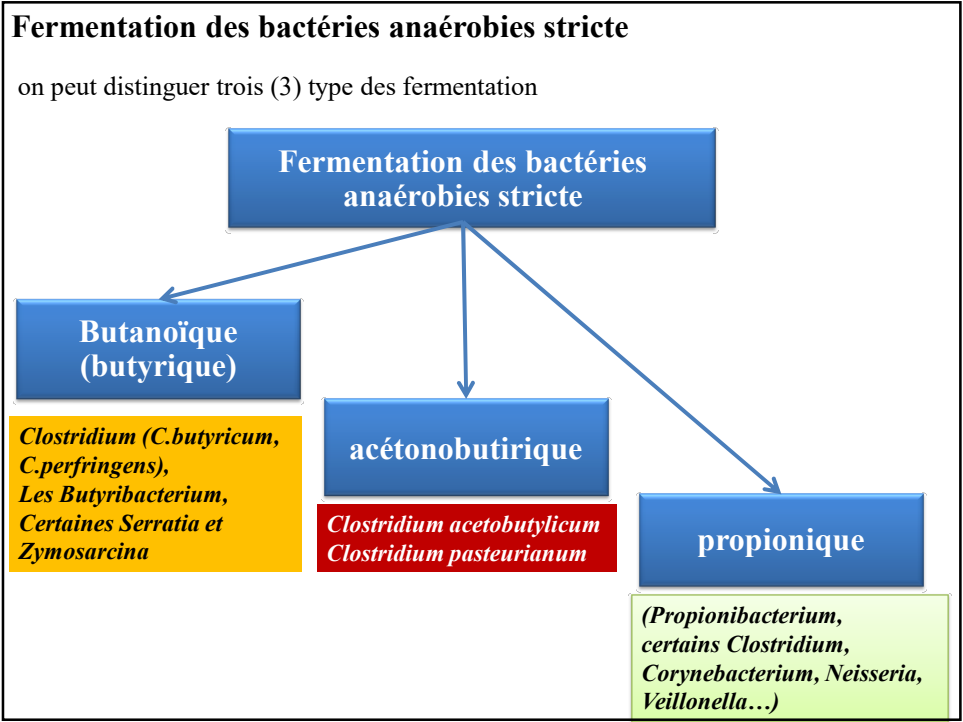
Production du butanediol (transformé en butadiène et peut servir pour la synthèse du Caoutchouc synthétique).

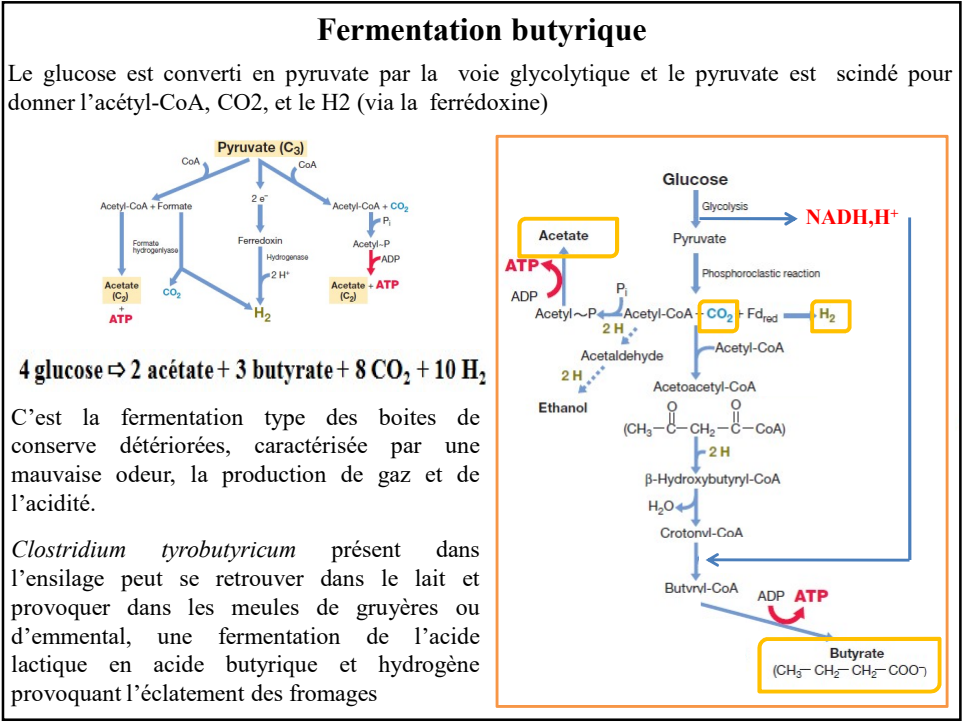
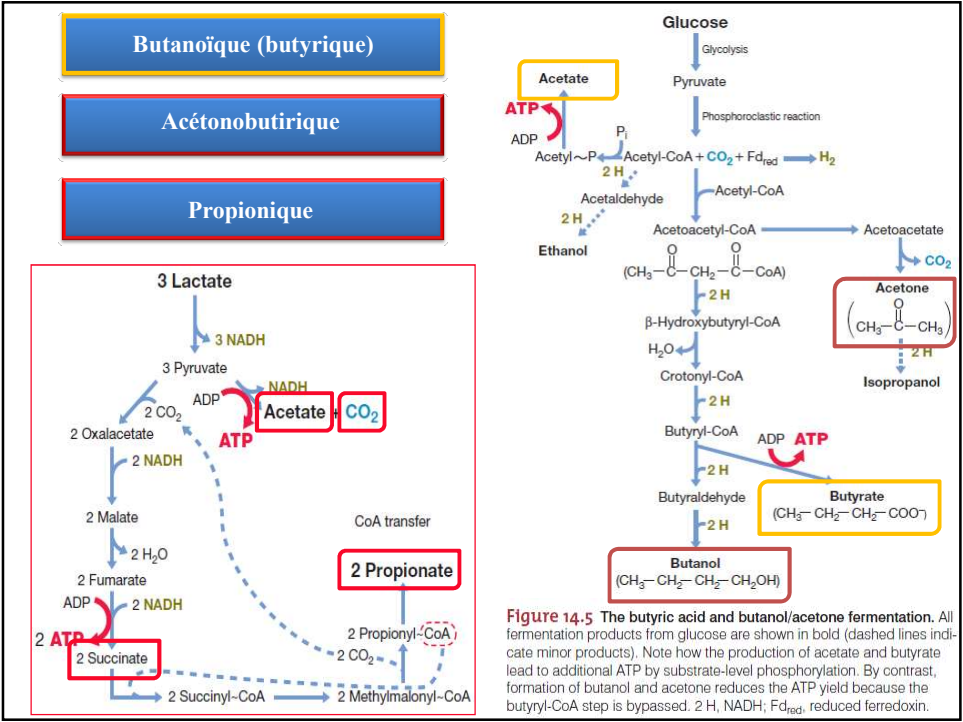
(a) Mixed-acid fermentation (for example, *Escherichia coli*)

The diagram shows the metabolic pathway of mixed-acid fermentation. Glucose is converted to Pyruvate via Glycolysis. Pyruvate can be converted to Lactate or enter the Citric Acid Cycle (CO₂ release). Alternatively, Pyruvate is converted to Acetyl-CoA, which then enters the Citric Acid Cycle (CO₂ release). Acetyl-CoA can also be converted to Ethanol, Acetate, or Formate. Formate is further converted to CO₂ and H₂. The diagram also shows a test tube with a yellow liquid (acidic) and a gas collection tube showing gas production (acid + gas reaction (H₂ + CO₂)).

(b) Butanediol fermentation (for example, *Enterobacter aerogenes*)

The diagram shows the metabolic pathway of butanediol fermentation. Glucose is converted to Pyruvate via Glycolysis. Pyruvate is converted to 2,3-Butanediol + CO₂. Alternatively, Pyruvate is converted to Ethanol, Lactate, or Succinate. Succinate is further converted to Acetate, which then enters the Citric Acid Cycle (CO₂ + H₂ release). The diagram also shows a test tube with a red liquid (alkaline) and a gas collection tube showing gas production (weak acid + strong gas reaction). A label indicates 'Butanediol color reaction'.





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)

$5 \text{ glucose} \Rightarrow 3 \text{ butanol} + 1 \text{ acetate} + 1 \text{ acetone} + 11 \text{ CO}_2 + 8 \text{ H}_2$

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 premier stades de la fermentation, de petites quantités de butyrate et d'acétate sont produit.

L'accumulation des produits acides acétate et butyrate abaissent le pH ce qui conduit à l'arrêt de la synthèse de ces acides et l'acétone et butanol commencent à s'accumulés 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 des pH neutre par ajout de solution tampons il y aurais production continue de l'acide butyrique et d'une petites 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 propionyl-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

Overall: 3 Lactate \longrightarrow 2 propionate + acetate + CO₂ + H₂O
 $\Delta G^\circ = -171 \text{ kJ}$ (3 ATP)

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 gout caractéristique

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

NB : Fermentation sans phosphorylation au substrat

Propionigenium modestum

C'est un bacille à Gram – qui vit dans les eaux salées et douces.

Il requière le NaCl pour la croissance et le catabolisme de succinate dans des condition anaérobie

$\text{Succinate}^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{propionate}^- + \text{HCO}_3^-$
 $\Delta G^{0'} = -20.5 \text{ kJ}$

Oxalobacter formigenes

C'est un gram – Anaérobie stricte
Il appartient aux Betaproteobacteria

Présent dans le tractus intestinal des animaux et des humain.

Il catabolise le l'oxalate (C2) pour produire le formate et le CO2.

Métabolisme aérobie du pyruvate

En présence de l'air, les microorganismes aérobie strictes ou facultatifs assure l'oxydation complète du glucose en CO₂ et H₂O.

Métabolisme aérobie du pyruvate

Cycle tricarboxylique de Krebs

Shunt glyoxylate

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 CO₂.

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 du 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 CO₂, du NADH, et un composé riche en énergie l'acétyl-CoA

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

Dans la 2^{ème} 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 cétooglutarate

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

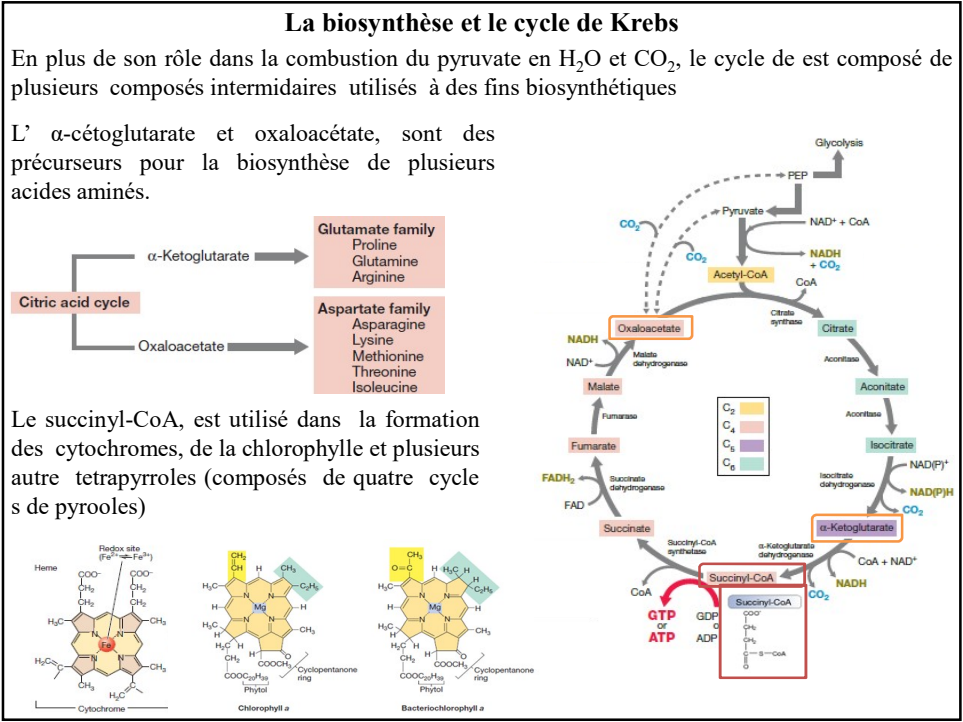
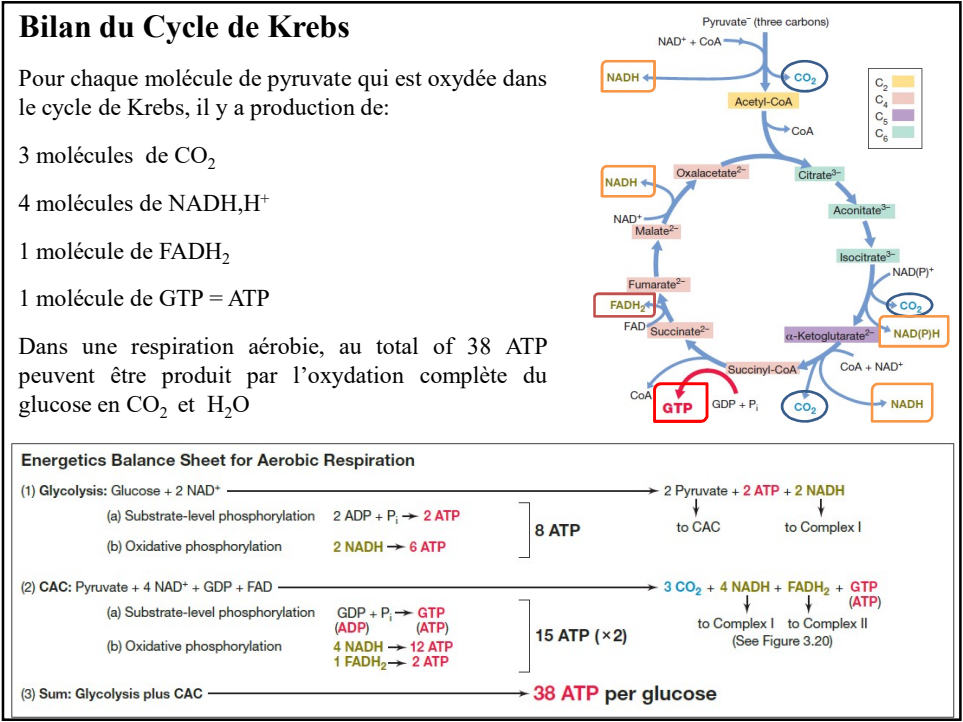
A ce niveau les deux carbones intégrés dans le cycle par l'acétyl-CoA sont sortis en 2 CO₂ et l'équilibre est maintenu.

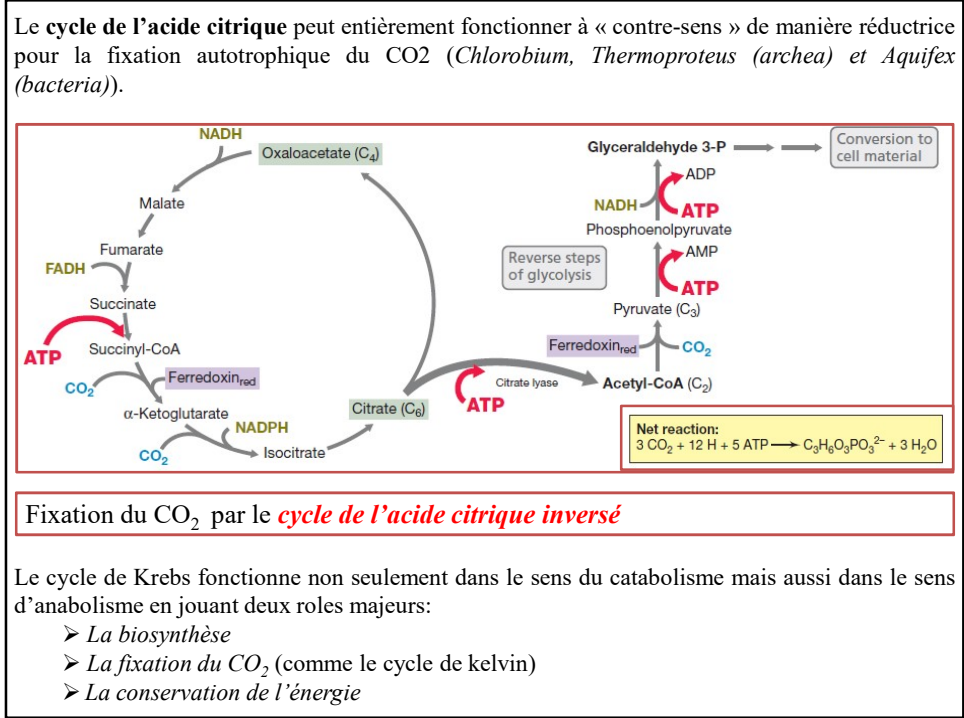
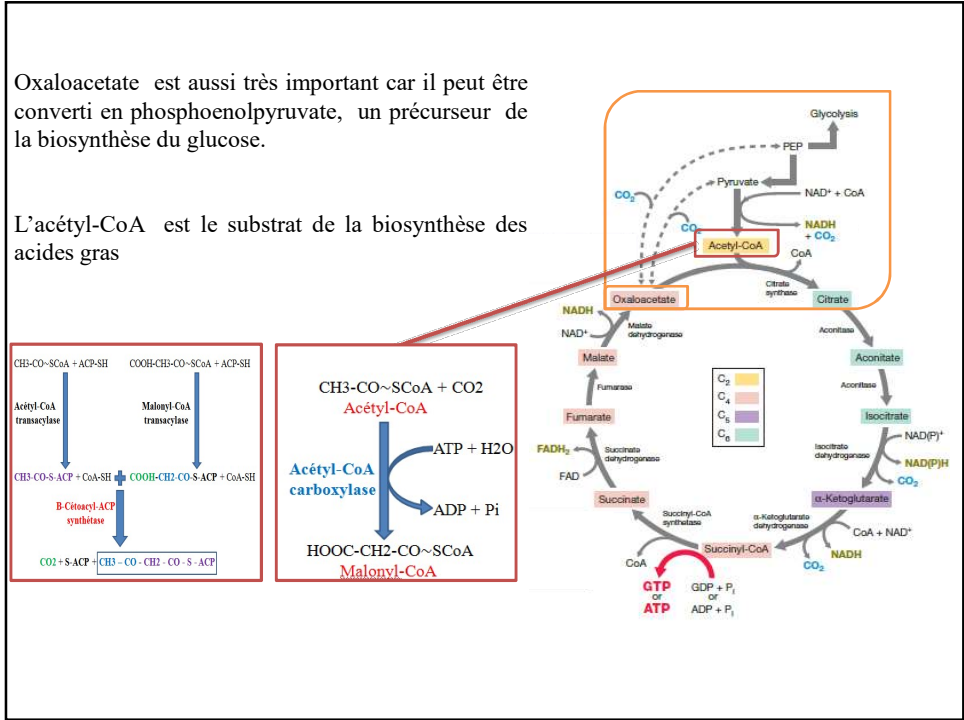
Le cycle entre dans l'étape à 4 carbones durant laquelle deux oxydations donneront le Coenzyme A, un FADH₂, un NADH et un GTP par phosphorylation au substrat à partir du succinyl-CoA

En fin un oxaloacétate est reformé et prêt à se lié à un autre acétyl-CoA.

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

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





Shunt glyoxylate

Les microorganismes qui utilisent des C4 et C6 (Citrate, malate, fumarate, et succinate) comme substrat de croissance, peuvent utiliser le cycle tricarboxylique de Krebs pour les oxyder en CO2 et H2O.

Mais ces microorganismes ne peuvent pas croître dans un milieu contenant l'acétate comme substrat de croissance.

Car les composés à deux carbone ne peuvent pas régénérer l'oxaloacétate

Lors de la rupture de l'oxaloacétate ou autres intermédiaires de cycle de Krebs, ce dernier devient non fonctionnel.

Lors que l'acétate est utilisé comme une source d'électrons ou substrat de croissance un autre variant de cycle est utilisé, c'est **cycle glyoxylate**

Il est nommé ainsi car le glyoxylate (un composé à C2) est un composé intermédiaire clé

OK

Mais c'est quoi shunt glyoxylate

Se trouve chez certains microorganismes qui sont capables de se développer à partir de l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie (*E. coli* et de nombreuses espèces de moisissures et de *Pseudomonas*).

Se trouve aussi chez végétaux, notamment les graines oléagineuses en germination

N'existe pas chez les animaux

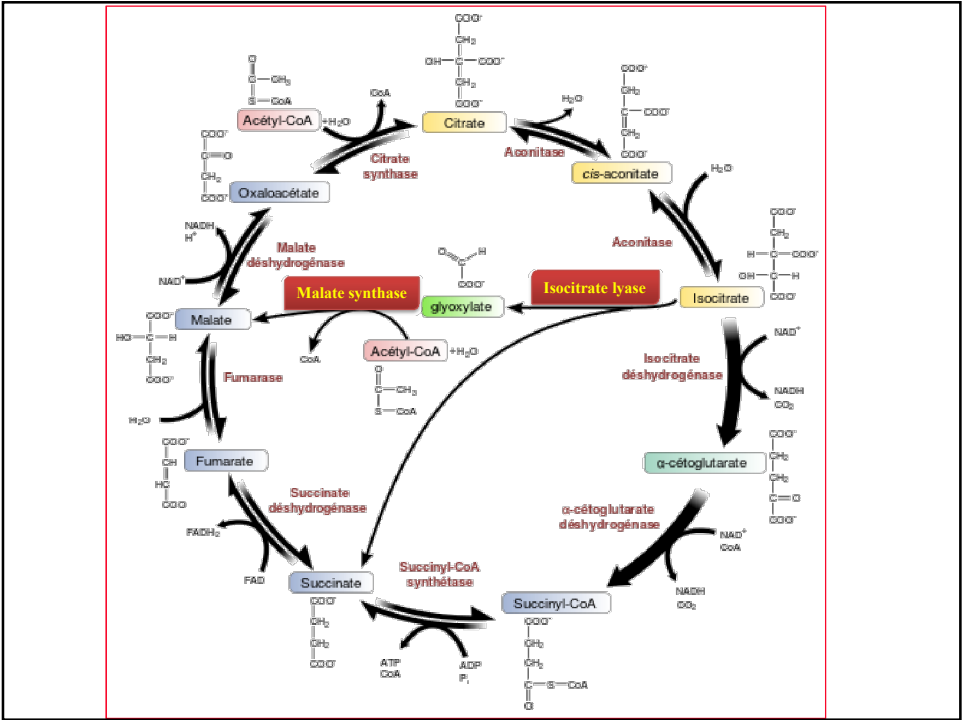
Ces organismes ont toutes les enzymes du cycle de Krebs mais ont en plus:

L'isocitrase lyase, scinde l'isocitrate en glyoxylate et succinate qui orienté vers la biosynthèse.

La malate synthétase condense le glyoxylate avec l'acétyl-CoA pour former le malate

NB: Le glucose réprime ces deux enzymes: cette voie ne fonctionne que lorsque le microorganisme est cultivé sur l'acétate

Contrairement au cycle tricarboxylique de Krebs le shunt glyoxylate ne fournit aucune énergie biologiquement utilisable



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

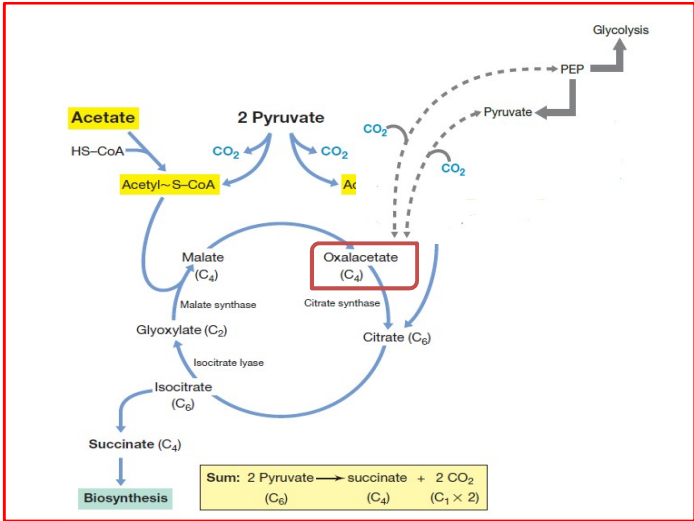
2. Biosynthèse

3. Fabrication du glucose à partir des lipides

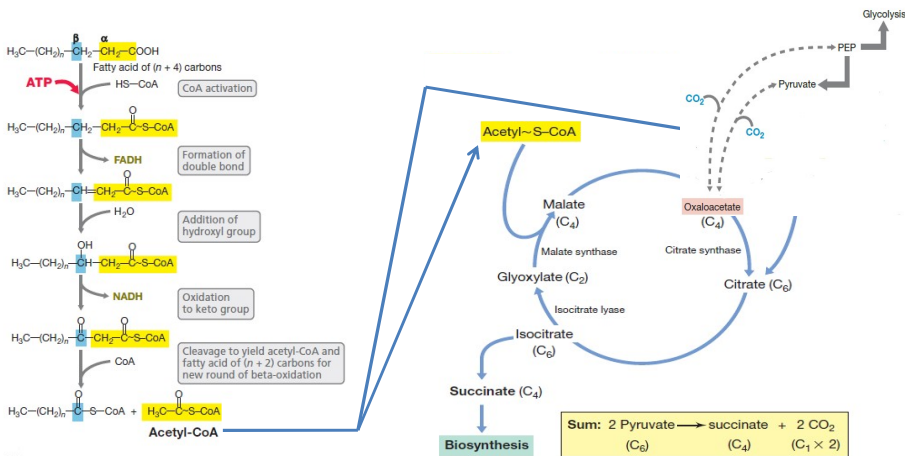
Sum: Isocitrate + Acetate → Succinate + Malate

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 carbones ne peuvent pas être catabolisé 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.

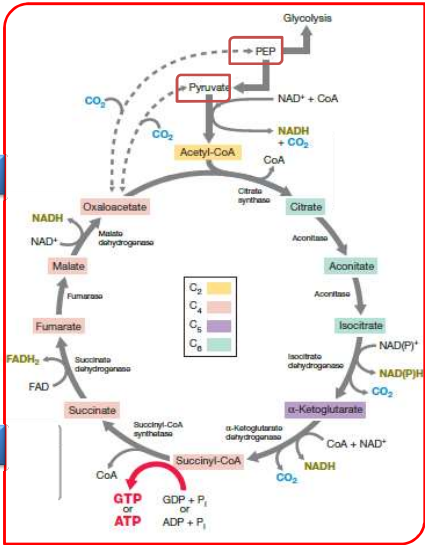
Pour faire fonctionner le cycle à nouveau l'oxaloacétate est synthétisé à partir du pyruvate ou de phosphoénolpyruvate par l'addition d'un atome de carbone à partir de CO2.

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

Pyruvate + ATP + CO₂ → oxalacetate + ADP + Pi

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

Phospho-enolpyruvate + CO₂ → Pi + 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.

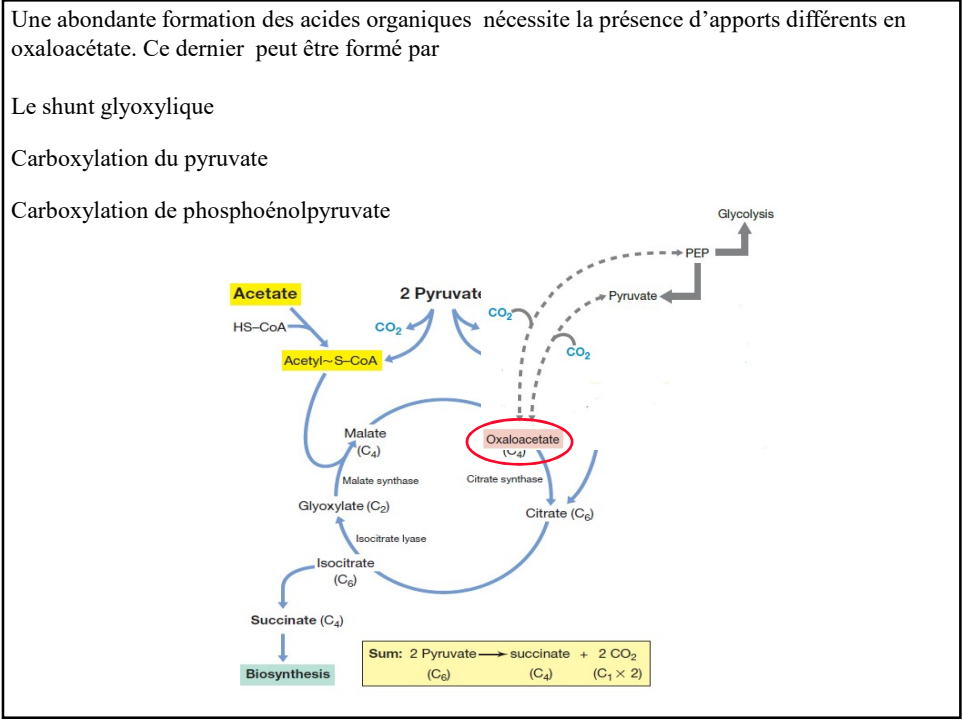
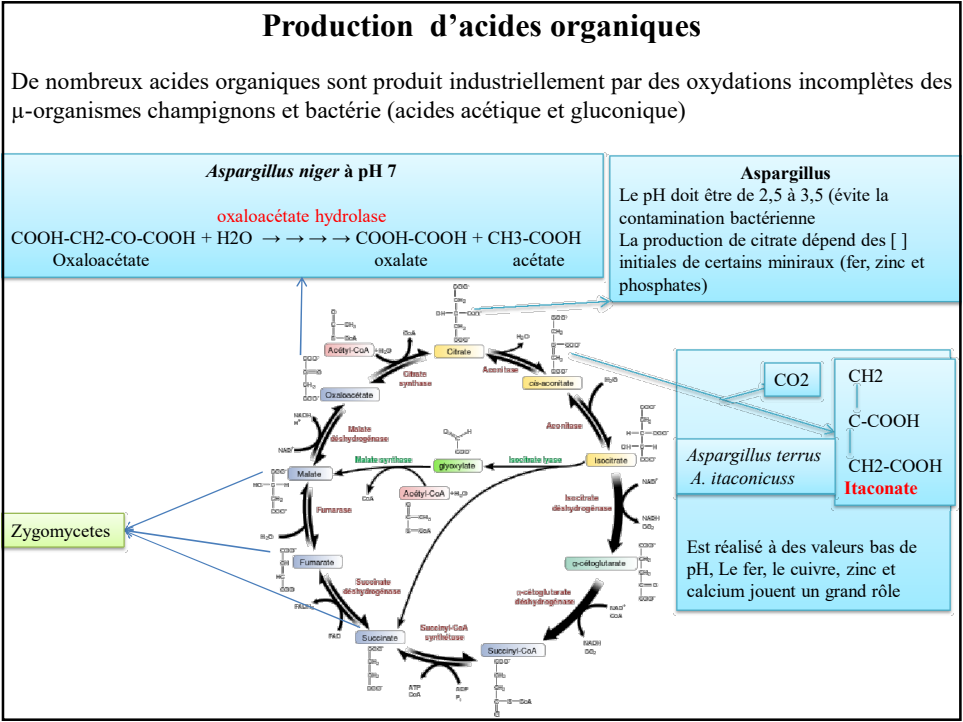
C'est le cas de la production de l'acide glutamique par *Corynebacterium glutamicum*, déficient en α -cétooglutarate déshydrogénase.

The diagram illustrates the Citric Acid Cycle and its role in glutamate production. Key intermediates and enzymes shown include: Citrate, Isocitrate, α -ketoglutarate, Succinyl-CoA, Succinate, Fumarate, Malate, and Oxaloacetate. Enzymes like Citrate synthase, Aconitase, Isocitrate lyase, Isocitrate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase, Succinyl-CoA synthetase, Succinate dehydrogenase, Fumarase, Malate dehydrogenase, and Malate synthase are labeled. A red arrow labeled 'Glutamate déshydrogénase' indicates the conversion of α -ketoglutarate to glutamate. A subsequent vertical sequence shows glutamate being converted to glutamate semialdehyde, then ornithine, proline, citrulline, and finally arginine.

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

The diagram shows the metabolic pathway for L-lysine production. It starts with Aspartate, which is converted to Aspartate phosphate, then to Aspartate semialdehyde. Aspartate semialdehyde can then be converted to Threonine or Lysine. A detailed inset shows the Citric Acid Cycle with a blue arrow pointing from Oxaloacetate to Aspartate.

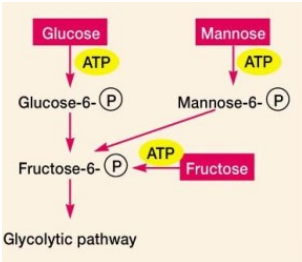
D'autres mutants de *Corynebacterium glutamicum*, des entérobactéries et des *pseudomonas* produisent de la L-homosérine, L-valine, L-isoleucine, L-tryptophane, L-tyrosine, et d'autres acides aminés



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

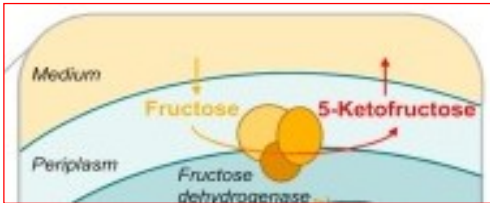
Il ne sont métabolisés qu’après activation sous forme d’esters phosphoriques ou hexoses phosphate

Les trois premier sont phosphorylés grâce à l’ATP et entrent facilement dans les voies glycolytique.



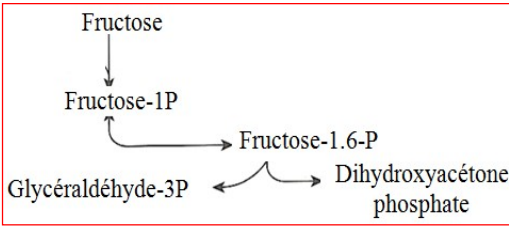
Dégradation du fructose

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*.

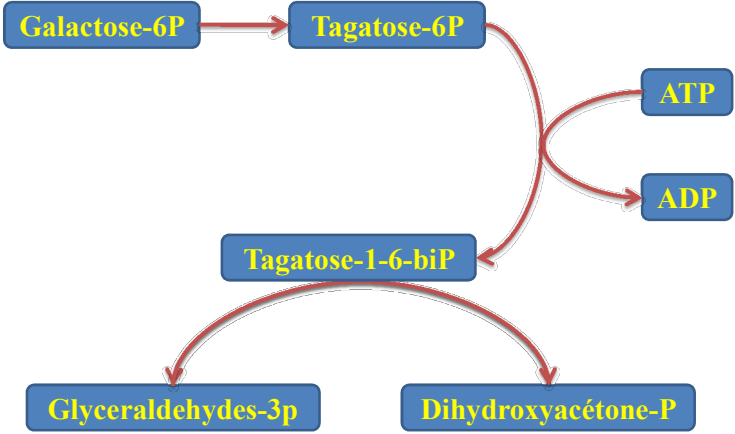
Le galactose doit être converti en uridine-diphosphate-galactose après phosphorylation initiale et être ensuite transformé en glucose-6-phosphate dans un processus à trois étapes.

Galcatose + ATP $\xrightarrow{\text{Galactose kinase}}$ Galcose-1-P + ADP

Galcose-1-P + UDP-Glucose $\xrightarrow{\text{Transferase}}$ UDP-Galactose + Glucose-1-P

UDP-Galactose $\xrightarrow{\text{Epimérase}}$ UDP- Glucose

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

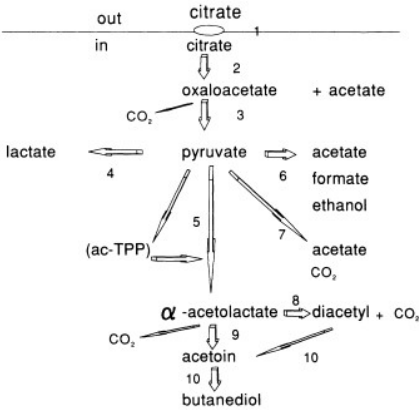
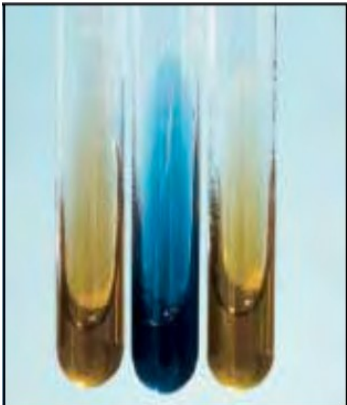


Figure 6.8 Citrate metabolism in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar diacetylactis involving four different pathways. (A) Lactate production via lactate dehydrogenase (4). (B) Formate and acetate or ethanol production via pyruvate formate lyase (6). (C) Acetate and CO₂ production via pyruvate 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 Hugenholtz, 1993.)



CITRATE UTILIZATION

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

1. Maltose

The diagram illustrates the phosphotransferase cycle for glycogen breakdown. It shows the conversion of Maltodextrine (glucose)_n to Maltodextrine (glucose)_{n-1} + Glucose-1-P, catalyzed by Phosphoamylase, with ATP as a cofactor. Glucose-1-P is then converted to Glucose-6-P by Phosphoglucomutase.

Maltose + **Maltodextrine (glucose)_n** \rightarrow **Maltodextrine (glucose)_{n+1}** + **glucose**

| 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> ... |
| Pas de coloration | ONPG - | Souches lactose -, β -gal - : <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> sauf <i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> et <i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> ONPG +, lactose + (par acquisition d'un plasmide)... |

