

## CHAPITRE II

### Catabolisme des glucides

Les glucides susceptibles d'être dégradés par les microorganismes sont nombreux et variés. Les polyholosides comme l'amidon, la cellulose, l'inuline et parfois des plus petites molécules comme le saccharose sont incapables de pénétrer dans la cellule. Ils doivent être au préalable découpés en fragments de faible poids moléculaire par des enzymes hydrolytiques, excrétées par le microorganisme dans le milieu. Les produits formés pénètrent ensuite dans la cellule. Dans la plupart des cas, la transformation des macromolécules glucidiques, ainsi que de diverses autres substances organiques, aboutit à la formation d'hexose (essentiellement glucose) ou de pentoses. Le glucose est le point de départ des principales voies du catabolisme cellulaire.

## II- Dégradation des polysaccharides :

### 1- Dégradation de l'amidon

L'amidon constitue la principale réserve glucidique végétale, il renferme deux polysaccharides en proportions variables selon les cas : l'amylose (constituant majeur) et l'amylopectine (constituant mineur).

L'amylose est une molécule flexible, de structure linéaire correspondant à plusieurs centaines de résidus  $\alpha$  D-glucopyranose unis par des liaisons 1-4.

L'amylopectine est aussi un polymère du glucose, composé de chaînes linéaires similaires à celle de l'amylose, mais reliées les unes aux autres par des liaisons  $\alpha$  (1-6). Les points de branchement sont distants d'environ 20 à 30 unités de glucose.

Les amylases microbiennes peuvent être classées essentiellement en deux grands groupes en fonction de leur mode d'attaque :

#### 1- $\alpha$ -amylase ou $\alpha$ (1-4)-glucane glucohydrolase (EC 3.2.1.1), dont

l'action est toujours de type endomoléculaire et conduit à la formation de D-glucose, de maltose et d'une petite quantité de maltodextrines. Les  $\alpha$ -amylases se rencontrent chez de nombreuses bactéries (des genres Bacillus et Clostridium), de nombreuses moisissures (des genres Aspergillus et Rhizopus), ainsi que chez quelques levures (des genres Candida, Pichia, Endomycopsis, lipomyces et Schwanniomyces).

#### 2 - Glucoamylase ou $\alpha$ (1-4)-glucane glucohydrolase (EC 3.2.1.3),

elle libère des unités de glucose à partir des extrémités non réductrices des polymères. Elle hydrolyse l'amylopectine et l'amylose complètement en D-glucose et est également capable

d'hydrolyser les liaisons  $\alpha$  (1-6) ainsi que les liaisons  $\alpha$ (1-4) et  $\alpha$ (1-3). Elle hydrolyse aussi le maltose. L'amyloglucosidase (glucoamylase ou  $\gamma$ -amylase) est rencontrée chez les

moisissures (Aspergillus, Rhizopus), les levures (Endomyces, Endomycopsis, Candida, Saccharomyces diastaticus...) et chez les bactéries.

Il existe des  $\beta$ -amylases (Bacillus subtilis, quelques moisissures), dont l'action est exomoléculaire. Elle est répandue chez les végétaux et rare chez les microorganismes

## 2- Dégradation de la cellulose

. La cellulose est un polymère linéaire de D-glucose, les molécules de glucose sont liées entre elles par des liaisons  $\beta$  (1-4).

Des microorganismes cellulolytiques sont rencontrés dans une grande variété de genres bactériens (Acetivibrio, Bacillus, Cellovibrio, Cellulomonas, Clostridium, Cytophaga, Erwinia, Streptomyces...) et de moisissures (Aspergillus, Cladosporium, Penicillium, Fusarium...), qui jouent un rôle de premier plan dans le cycle du carbone. Chez les levures ces enzymes sont rares.

## 3- Dégradation de la pectine

La cellulose est un polymère linéaire de D'acide galacturoniques ramifiés dont certains sont méthylés

Des microorganismes pectinolytiques peuvent dégrader cette molécule en petit fragment d'acides galacturoniques et du méthanol grâce aux enzymes :

Pectine esterase donne du méthanol

Pectine lyase donne de l'acide galacturoniques

## II – Dégradation (Catabolisme) du glucose

La voie de dégradation des hexoses la plus anciennement connue est la glycolyse qui conduit à la formation transitoire d'acide pyruvique.

Il existe des alternatives de la glycolyse chez une grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies. Ces voies sont empruntées soit de façon exclusive, soit concurremment avec la glycolyse.

### II-1- Glycolyse ou voie d'Embden-Meyerhof (EM) ou d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)

microorganismes Cette voie dite de l'hexose diphosphate, est très largement répandue parmi les levures, moisissures, bactéries aéro-anaérobies (Entérobactéries...).

Pour certains, le glucose est dégradé exclusivement, ou presque, par cette voie

(Streptomyces griseus 97%, Trypanosoma 100%)

Les **points importants** de la chaîne de la glycolyse sont :

- **Activation** du **glucose** sous forme de **glucose-6P** au moyen **d'ATP**, **isomérisation** et **seconde phosphorylation** pour donner du **fructose-1,6-diphosphate** et deux ADP.

**Clivage** du **fructose-1,6 diP** en **deux molécules** de **triose-phosphate**, sous l'action de **l'aldolase** (enzyme caractéristique de cette voie métabolique).

- **Isomérisation** **3-phosphoglyceraldéhyde/dihydroxyacétone-phosphate** et **déshydrogénation** avec réduction de **NAD<sup>+</sup>** Cette réaction s'accompagne d'une phosphorylation au niveau du substrat et **conduit à la formation de 1,3diphosphoglycérate** (possède une liaison riche en énergie).

- **Transfert** d'une liaison ester phosphorique du **1,3diphosphoglycérate** à l'ADP.

- **Transfert** de la liaison ester phosphorique **du phosphoénolpyruvate** à l'ADP et formation de **pyruvate** et ATP.

Le bilan est :



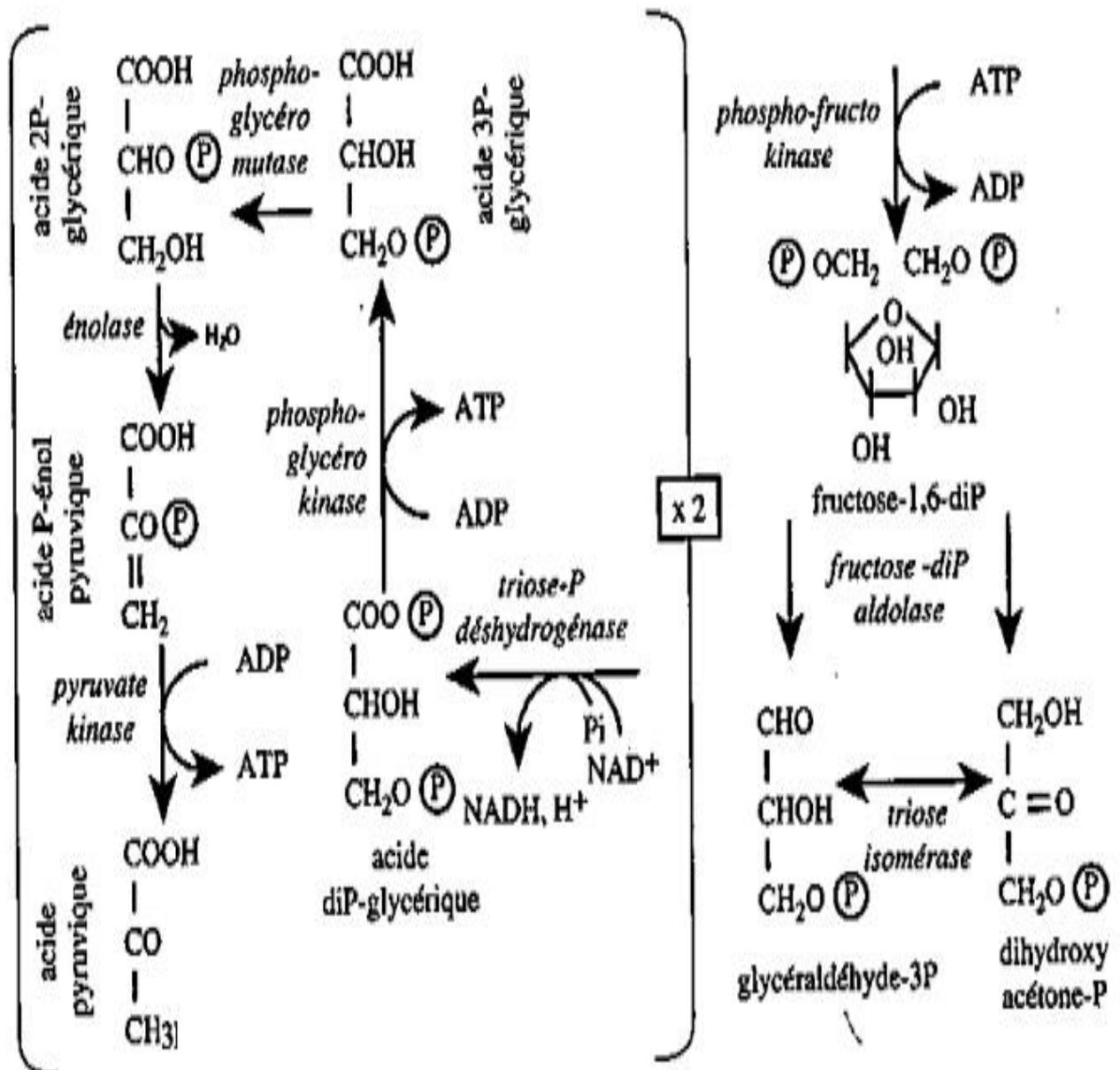
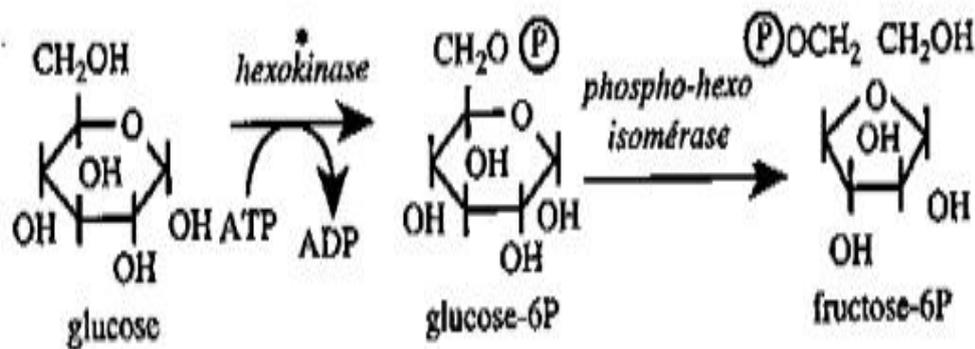


Figure 4 ■ Voie de la glycolyse (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas)

\* La phosphorylation du glucose peut aussi se faire dans le cadre de la translocation de groupe par couplage avec la réaction : phosphoénol pyruvate → pyruvate

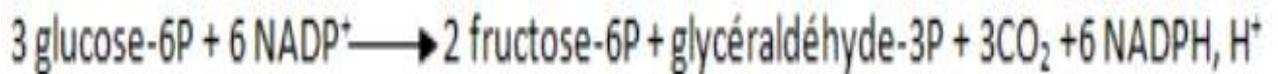
## II-2 Voie de l'hexose monophosphate (HMP) ou voie de Warburg-Dickens-Horecker :

Cette voie **aérobie** est très importante car elle **fournit** des **pentoses**, requis **pour** la synthèse des **acides nucléiques** et des groupements prosthétiques contenant des nucléotides. Elle **fournit** également les **éléments nécessaires** à la synthèse des acides **aminés aromatiques** et des **vitamines**. La voie de l'hexose monophosphate **ne produit pas** **directement** de **l'énergie**, mais le **NADPH<sub>2</sub>** formé est une source **d'ATP** lorsque les électrons sont transportés jusqu'à **l'oxygène** par **l'intermédiaire** de la chaîne respiratoire ; le **NADPH<sub>2</sub>** peut être également **utilisé** par le **métabolisme lipidique**.

Cette voie est **présente**, aux **côtés** de 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*...).

Les **premières étapes** conduisent à la **formation** de **gluconate-6P** et sont **communes** avec **d'autres voies respiratoires** et **fermentaires**. **A partir** du **gluconate-6P**, il y a formation de **ribulose-5P**, point de **départ** du cycle **oxydatif** des **pentoses-P**.

L'équation globale est :



### IMPORTANCE DE LA VOIE DES HEXOSES MONOPHOSPHATES

- **fournis des pentoses** et des oses pour les synthèses des autres **métabolites nécessaires** a la cellule microbienne
- **fournis du glycéraldéhyde** nécessaire pour la production de **l'énergie**
- **fournis du ribose phosphate** nécessaire aux synthèses **de l'ARN et ADN**
- **fournis du CO<sub>2</sub>** nécessaire à la synthèse des **acides gras**
- **fournis du NADPH<sub>2</sub>** nécessaire **synthèse des acides gras** et a la **production de l'énergie**

**DONC : C' est une voie de dégradation pour le glucose en meme temps une voie de synthèse pour la cellule microbienne**

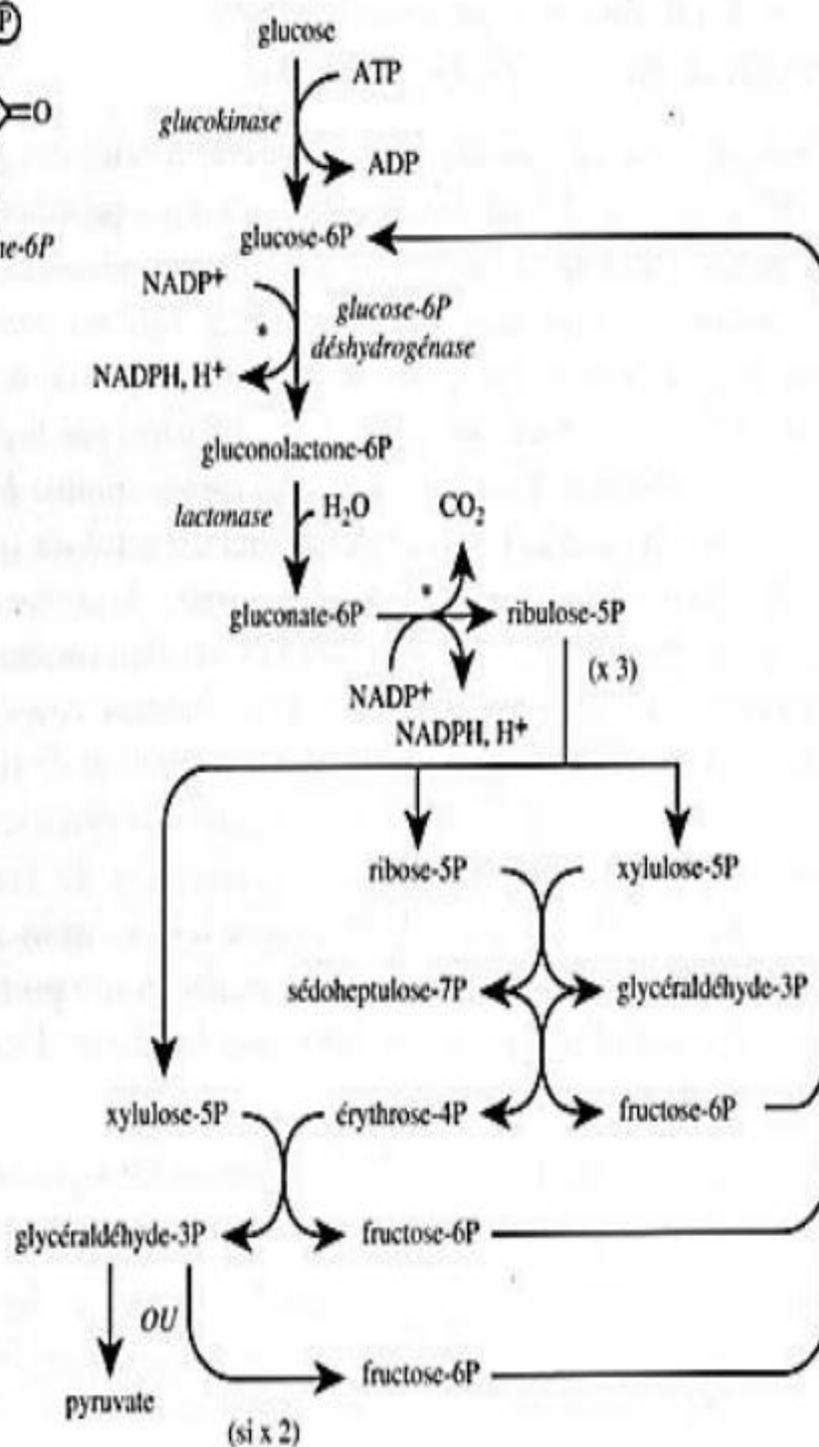
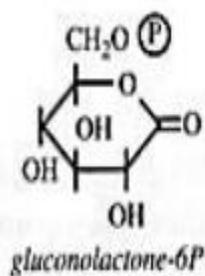


Figure 5 ■ Voie de l'hexose monophosphate (voie de Warburg-Dickens-Horecker)  
 \* parfois NAD<sup>+</sup>/NADH, H<sup>+</sup>

### II-3- Voie du 2-céto-3-désoxygluconate ou voie d'Entner-Doudoroff

Cette voie possède des étapes communes à la fois avec la voie de l'hexose monophosphate et avec la glycolyse. Elle a été découverte par ENTNER et DOUDOROFF en étudiant l'oxydation du glucose par des espèces de *Pseudomonas* (microorganismes aérobies). Elle est rencontrée aussi chez *Azotobacter* et certaines moisissures. Actuellement, il n'y a qu'une seule bactérie, *Zymomonas mobilis*, qui utilise cette voie pour la fermentation anaérobie du glucose.

#### Les étapes essentielles de cette voie sont :

- Activation du glucose par l'ATP conduit à la formation du glucose 6 phosphate
- Oxydation du groupement aldéhyde du glucose-6P pour former le 6-phosphogluconate avec Réduction parallèle du NADP<sup>+</sup>. Conduit à la formation du NADPH<sub>2</sub>
- Déshydratation du 6-phosphogluconate et formation du CDPG ou KDPG (2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate).
- Clivage par la CDPG-aldolase pour donner d'une part du glycéraldéhyde-3P et d'autre part du pyruvate.
- Transformation du glycéraldéhyde-3P en pyruvate au moyen de la glycolyse avec formation de 2 moles d'ATP et 1 mole de NADH<sub>2</sub> par mole de triose phosphate.

Pour une molécule de glucose, il y a formation de 1 ATP, 1 NADPH<sub>2</sub> et 1 NADH<sub>2</sub>.

Chez les *Pseudomonas*, cette voie est utilisée conjointement avec celle de l'hexose monophosphate.

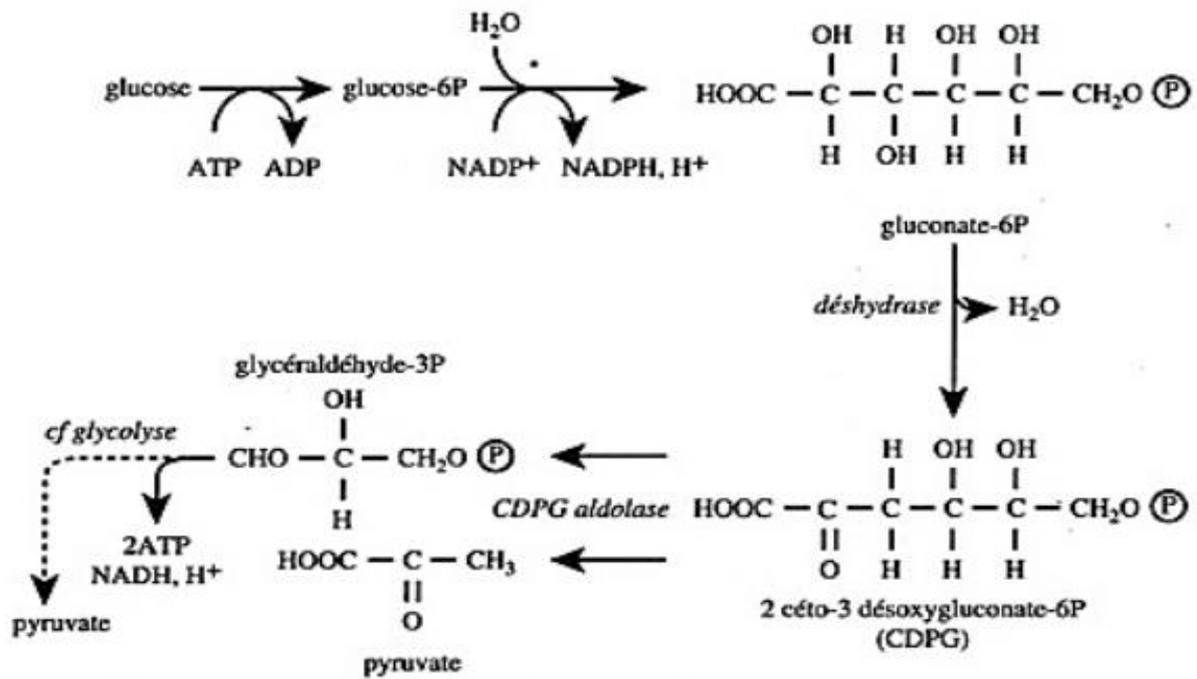


Figure 6 ■ Voie d'Entner-Doudoroff  
 \* Les deux étapes ne sont pas représentées

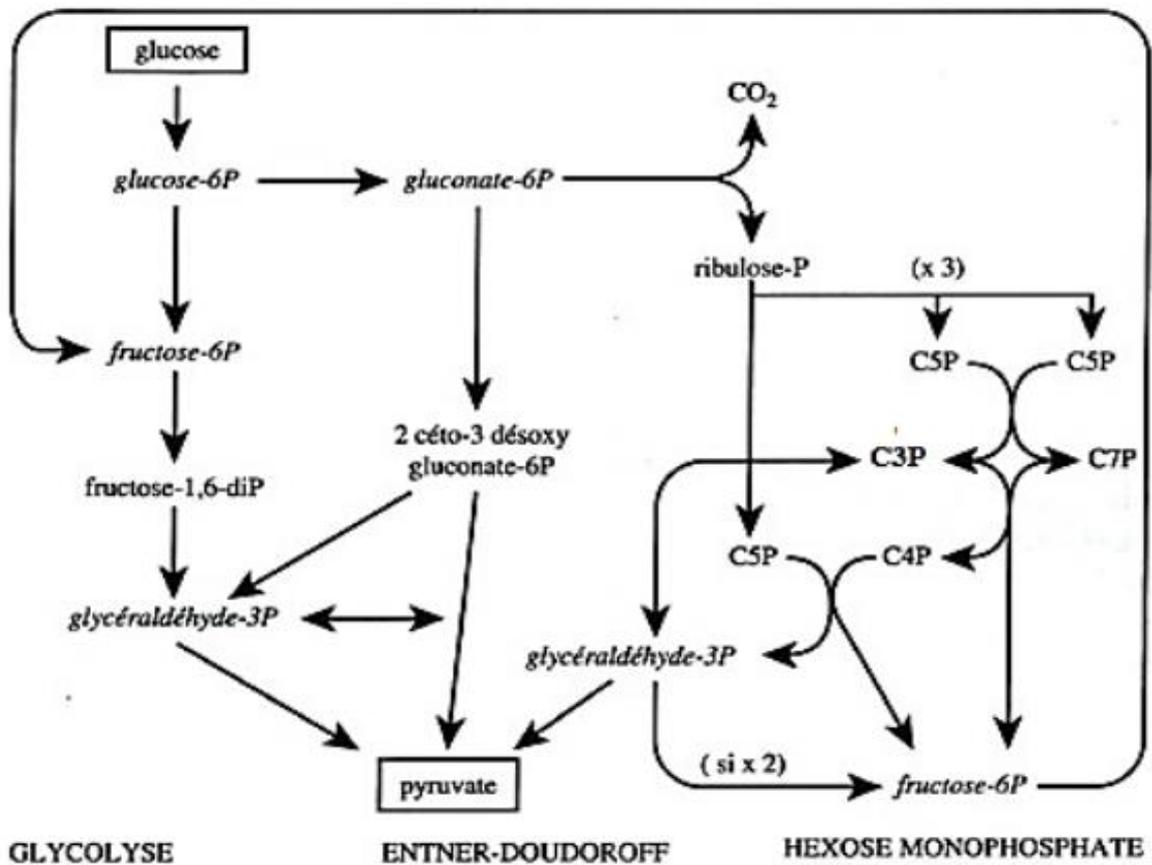


Figure 7 ■ Représentation schématique des rapports entre la glycolyse et les autres voies

### 3-4- Fermentations dérivées de la voie de l'hexose monophosphate

Le métabolisme des bactéries hétérolactiques en est un bon exemple « voie des pentoses-phosphates ». Elle aboutit, en dehors du lactate, à la formation d'éthanol, de CO<sub>2</sub> et d'acétate. Les bactéries hétérolactiques possèdent le système « glycéraldéhyde-P déshydrogénase », mais elles sont en revanche dépourvues de fructose-6P kinase. Il existe plusieurs systèmes de fermentation hétérolactique bactérienne.

Le plus courant est rencontré chez les *Leuconostoc* et les *Lactobacillus* hétérofermentaires. Cette voie est anaérobie facultative et produit du CO<sub>2</sub>. La voie de Warburg-Christian conduit au xylose- 5P, puis la pentulose phosphocétolase, l'enzyme caractéristique, clive ce composé (C5) en acétyl- phosphate (C2) et triose-phosphate (C3). Le même type de fermentation se rencontre chez *Microbacterium*, *Pediococcus*, et certains *Bacillus*.

Une fermentation de type différent se rencontre chez les *Bifidobacterium* (ex. *Lactobacillus bifidus*). Outre l'acide lactique, il se forme de l'acétate. Dans cette voie, il y a des étapes de la voie de l'hexose monophosphate et de la voie des *Lactobacillus*. La pentulose phosphocétolase est présente, le clivage du fructose-6P est dû à une fructose-6P phosphocétolase.

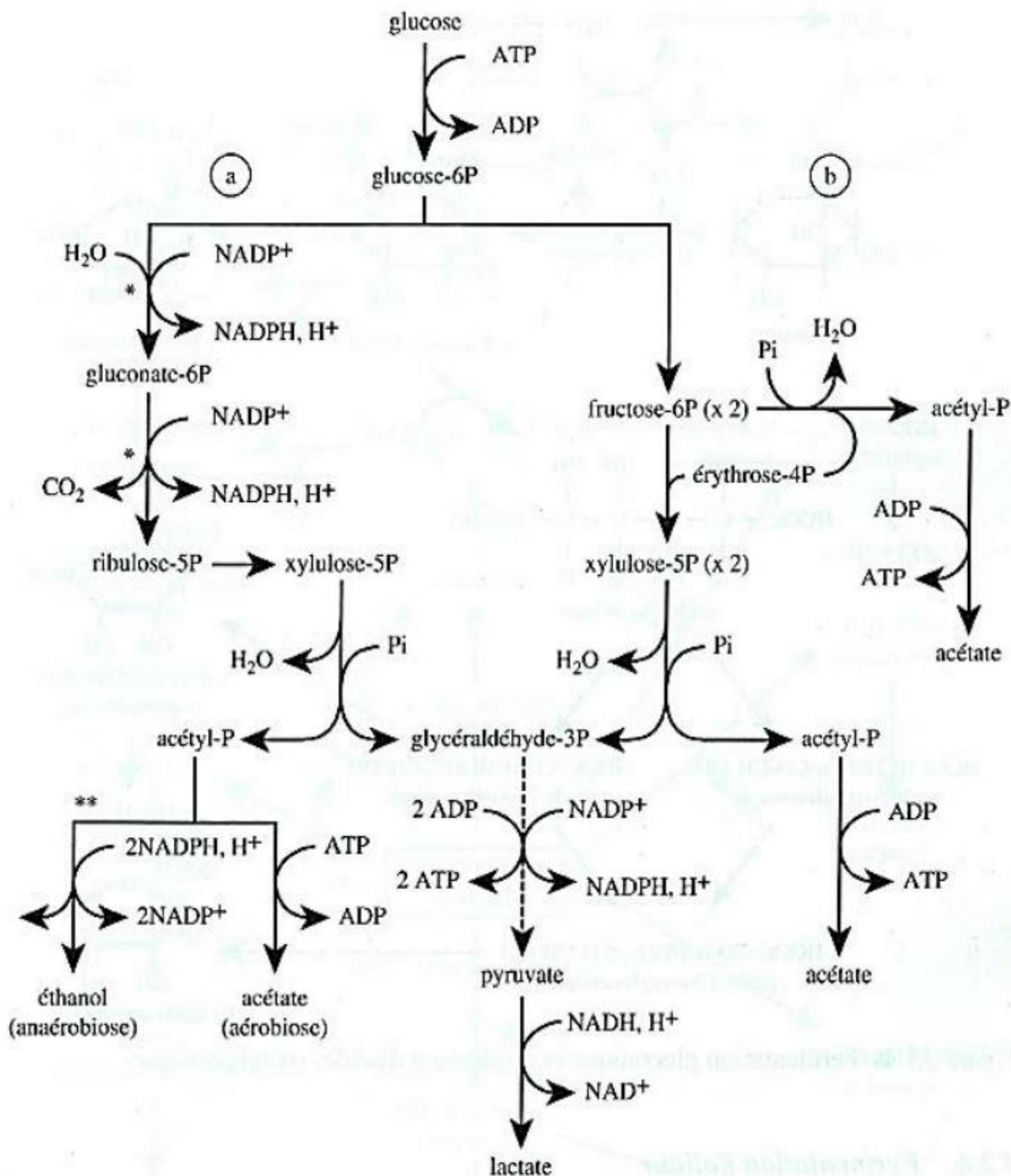


Figure 8 ■ Métabolisme du glucose par fermentation hétérolactique bactérienne

a) Voie des *Leuconostoc* et lactobacilles hétérofermentaires

b) Voie des *Bifidobacterium*

\* parfois  $\text{NAD}^+/\text{NADH}, \text{H}^+$  ; \*\* plusieurs étapes ( $\text{acétyl-P} \rightarrow \text{acétyl-CoA} \rightarrow \text{acétaldéhyde} \rightarrow \text{éthanol}$ )

## 4- Métabolisme anaérobie du pyruvate

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

### 4-1- Fermentation alcoolique

Il s'agit d'une fermentation très répandue chez les levures (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Brettanomyces*,...). Les bactéries capables de réaliser la fermentation alcoolique sont peu nombreuses (*Zymomonas mobilis*).

Le pyruvate, est décarboxylé en acétaldéhyde et CO<sub>2</sub>. Ensuite réduction de l'acétaldéhyde engendre la formation d'éthanol. D'autres substances peuvent être produites en faibles quantités (glycérol et acide acétique en particulier).

La conversion d'une molécule de glucose en éthanol, par les levures, se traduit par la synthèse de 2 molécules d'ATP.

Il s'avère que le taux de conversion du sucre en éthanol se situe entre 91 et 95% du rendement attendu. Les variations observées peuvent être liées à certains facteurs du milieu comme la qualité et la quantité des sources d'azote utilisables.

### 4-2- fermentations homolactiques

L'acide lactique est le produit essentiel de ce type de fermentation (>90% des produits formés),

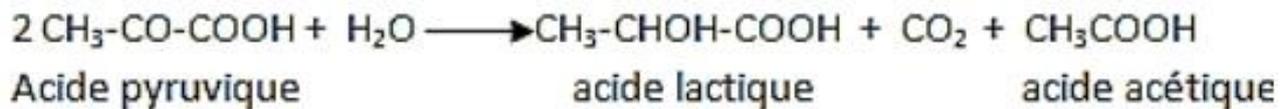
Contrairement à la fermentation hétérolactique (entre 25 et 90% d'acide lactique). L'acide lactique provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lactico-déshydrogénase. Il peut être de forme D, L

La fermentation homolactique est effectuée par tous les membres des genres bactériens *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Microbacterium*, par beaucoup de *Lactobacillus*, par certains *Bacillus* et certaines moisissures (Phycomycètes : Oomycètes).

L'acide lactique est utilisé comme additif alimentaire. Les fermentations homo- et hétérolactiques interviennent également dans la fabrication de nombreux produits alimentaires (fromages, choucroute, salaisons, saumure de légumes...).

### 4-3- Fermentation hétéro lactique

Parmi les moisissures, *Rhizopus oryzae* constitue un cas particulier. Cultivé en aérobiose, il produit un mélange d'acide lactique, de l'acide acétique et du CO<sub>2</sub>, alors que dans des conditions anaérobies, il produit un mélange d'acide lactique, d'éthanol, et de CO<sub>2</sub>.



En anaérobiose, une partie du pyruvate est transformée en éthanol et CO<sub>2</sub>, l'autre en acide lactique.

### 4-4- Fermentation acide mixte et butylène-glycolique

La fermentation acide mixte est réalisée par des Entérobactéries appartenant aux genres *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella*, *Yersinia*. Elle est aussi rencontrée chez les *Vibrio*, certains *Aeromonas*... Elle est caractérisée par la production d'éthanol et de plusieurs acides organiques : acides lactique, acétique, succinique et formique. Certaines espèces *Escherichia coli*, possèdent l'hydrogène lyase formique et décomposent immédiatement l'acide formique en H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> à pH neutre ou acide :



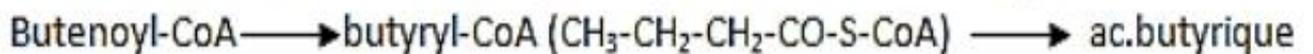
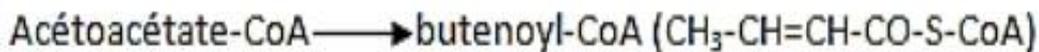
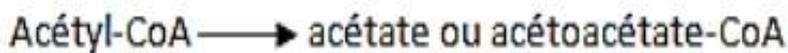
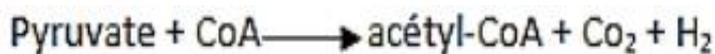
La fermentation butylène glycolique est réalisée par les membres des genres *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* (entérobactéries), mais aussi par certains *Aeromonas* et *Bacillus*. Elle aboutit aux produits de la fermentation acide mixte. Il y a en outre formation de 2,3-butanediol (ou 2,3-butylène glycol), qui est avec l'éthanol la substance la plus abondante. Le 2,3-butanediol est formé par réduction de l'acétylméthylcarbinol (ou acétoïne), produit issu du pyruvate par l'intermédiaire de l'acétolactate. L'acétoïne et le diacétyl sont formés en aérobiose.

Généralement, les acides sont en faible quantité, bien que *Serratia* produise beaucoup d'acide formique. Chez les autres Entérobactéries à fermentation butylène-glycolique, la présence d'hydrogène lyase formique entraîne la formation d'H<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub>

## 4-5- Fermentations butyriques et acétono-butyliques

Certains *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. perfringens*), les *Butyribacterium*, certaines *Serratia* et *Zymosarcina* produisent de l'acide butyrique, ainsi que de l'acide acétique, du CO<sub>2</sub> et de l'hydrogène. L'acide butyrique est formé par condensation de deux molécules d'acétyl-CoA en acétoacétate, lequel est ensuite réduit en β-hydroxybutyrate puis en butyrate. Une partie de l'acétyl-CoA, formé à partir du pyruvate, conduit à la formation d'ATP et d'acide acétique.

Chez les *Clostridium*, la décarboxylation du pyruvate se fait par réaction phosphoroclastique :



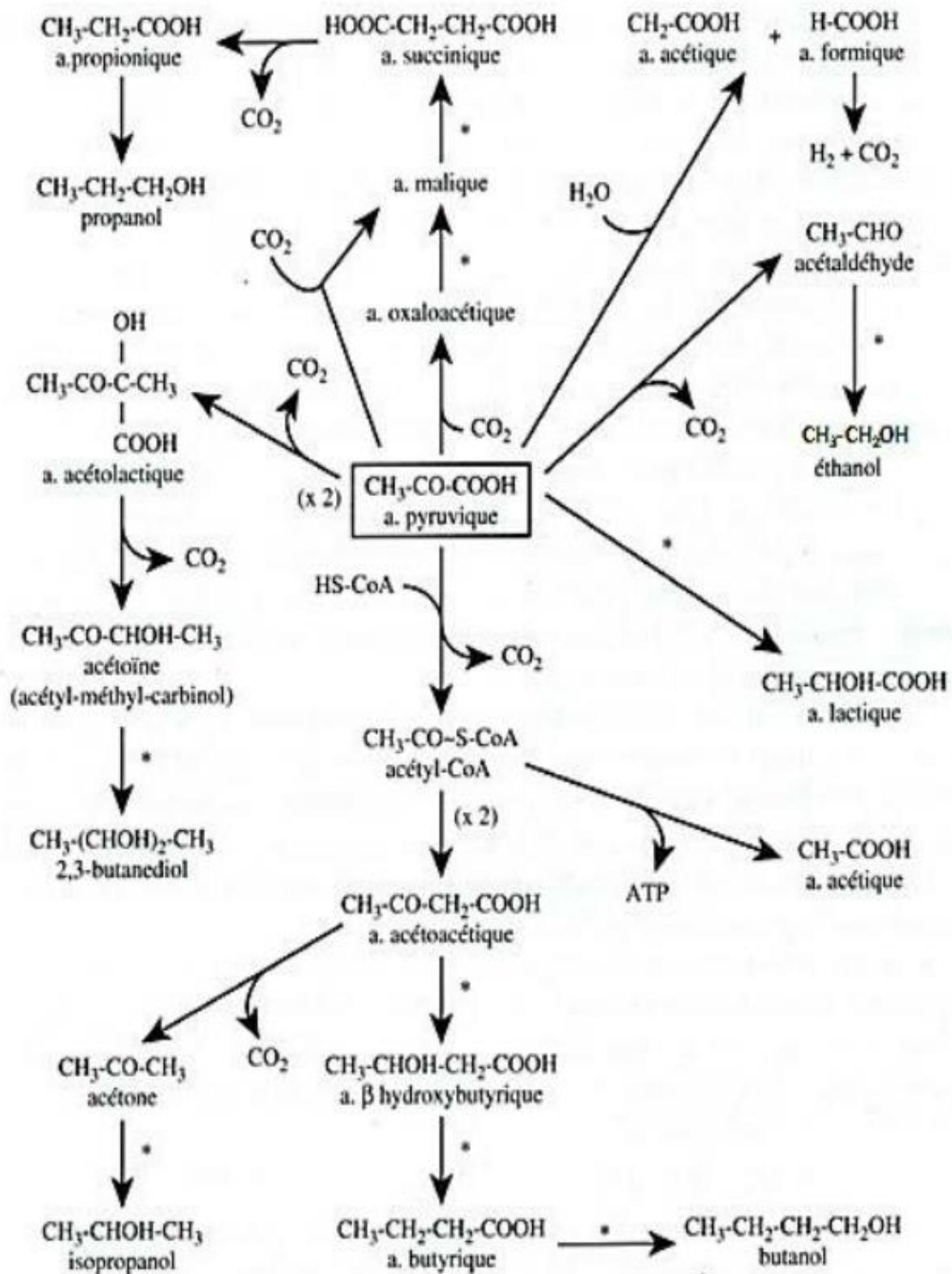
Outre les produits de la fermentation butyrique, certains *Clostridium* peuvent donner des alcools (butanol, éthanol, isopropanol) et de l'acétone.

## 4-6- Fermentations propioniques

Diverses bactéries anaérobies strictes ou facultatives (*Propionibacterium*, certains *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Veillonella*...) produisent par fermentation l'acide propionique, l'acide acétique, CO<sub>2</sub> et l'acide succinique. L'acide propionique est formé par réduction du pyruvate (l'acide lactique étant l'intermédiaire), mais il peut l'être aussi produit par décarboxylation de l'acide succinique (*Propionibacterium pentosaceum*).

La fermentation propionique peut s'effectuer aussi à partir du lactate avec le pyruvate comme intermédiaire,

Les *Propionibacterium* jouent un rôle important dans le tube digestif des ruminants. *Propionibacterium* intervient dans la fabrication des fromages à pâte cuite.



## 4- Métabolisme aérobie du pyruvate

### 5-1- cycle de Krebs (cycle des acides tricarboxyliques « TCA » ou cycle citrique)

En présence d'air, les microorganismes aérobies stricts ou facultatifs assurent l'oxydation complète du glucose. Le pyruvate formé est oxydé par le cycle de Krebs et le shunt glyoxylate.

Le cycle de Krebs est la voie d'oxydation aérobie de l'acétate provenant non seulement de la glycolyse ou du shunt de l'hexose monophosphate, mais encore de la  $\beta$ -oxydation des acides gras.

Ses composantes enzymatiques participent directement ou indirectement à la dégradation du squelette carboné de la plupart des aminoacides.

. Chez les bactéries, il est difficile de connaître le nombre réel d'ATP libérés, la présence d'ATPase gênant la mise en évidence de l'ATP formé. Des mesures indirectes suggèrent que le bilan est identique à celui des organismes supérieurs alors que les mesures directes ne permettent de mettre en évidence que 16 ATP par mole de glucose.

Le cycle de Krebs ne peut fonctionner en conditions anaérobies car la succinate déshydrogénase et l' $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase sont inactives. Cependant, il peut encore se produire des réactions à partir de l'oxaloacétate vers le succinate (branche réductrice « à contre-sens » avec intervention d'une fumarate réductase) et vers l' $\alpha$ -cétoglutarate (branche oxydative) : cas d'Escherichia coli.

### 5-2- shunt glyoxylique

Certains microorganismes (E. coli et de nombreuses espèces de moisissures et de Pseudomonas) sont capables de se développer à partir de l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie. Ces organismes ont toutes les enzymes du cycle de Krebs mais ont en plus :

- l'isocitrate lyase, coupe l'isocitrate en succinate et glyoxylate.

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

Le shunt glyoxylique ne fournit aucune énergie biologiquement utilisable. Il ne fonctionne que lorsque le micro-organisme est cultivé sur acétate car le glucose réprime ces deux enzymes.

Lors de la croissance sur acétate, les cellules décarboxylent l'oxaloacétate pour fournir du

phosphoénolpyruvate, point de départ de la biosynthèse des hexoses et des pentoses.

### 5-3- Fermentations dérivées du cycle de Krebs et du shunt glyoxylique

Ce sont des fermentations aérobies essentiellement réalisées par des moisissures. Elles aboutissent à la formation de divers acides organiques (métabolites directement issus du cycle de Krebs ou du shunt glyoxylate ou des produits de leur transformation). Ces acides sont accumulés lorsque le fonctionnement du cycle est interrompu. Cette interruption peut être obtenue par variation

Des conditions du milieu : pH, présence d'inhibiteurs des enzymes transformant normalement le produit formé. Elle peut être également obtenue par une mutation portant sur les gènes contrôlant ces enzymes.

Le point de départ de la synthèse des acides organiques du cycle de Krebs est l'oxaloacétate, ce dernier est normalement réobtenu dans la phase finale du cycle. Une abondante formation d'acides nécessite la présence d'un apport différent d'oxaloacétate.

- Il peut être formé par l'intermédiaire du succinate issu du shunt glyoxylique (2 molécules d'acétate donnent le succinate).

- Il peut aussi être formé par carboxylation du pyruvate. L'enzyme malique catalyse la réaction de carboxylation pour former le malate, lequel est transformé en oxaloacétate par la malate déshydrogénase.

L'oxaloacétate peut être issu de la carboxylation du phosphoénolpyruvate (précurseur du pyruvate).

Les acides organiques obtenus par ces fermentations sont très variés (acide citrique, acide itaconique, acide fumarique, acide oxalique, acide malique, acide glutarique, acide succinique, acide époxysuccinique,...)

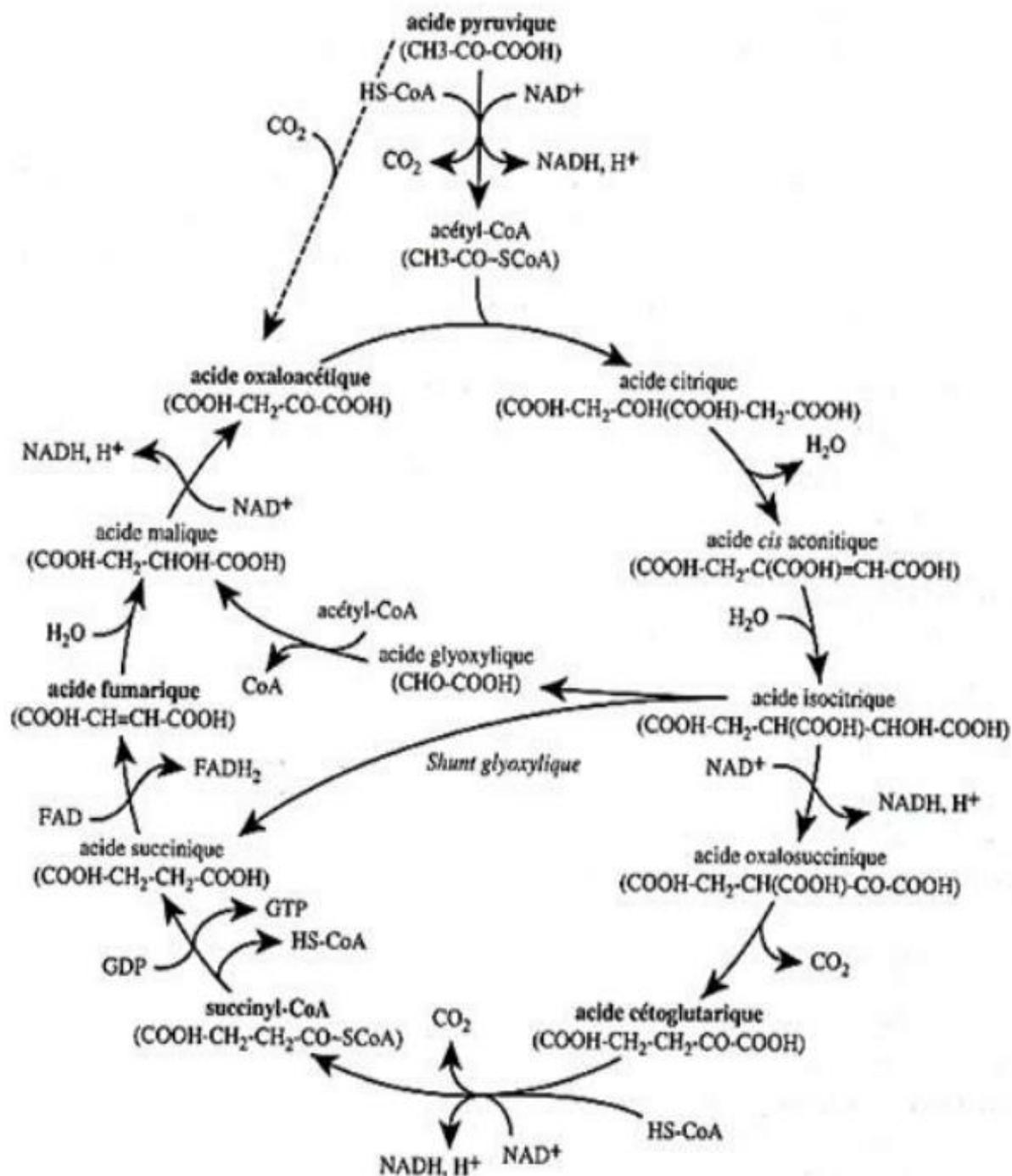


Figure 12 ■ Cycle tricarboxylique de Krebs et shunt glyoxylique

Les composés en gras sont les points de départ de réactions biosynthétiques ; les acides pyruvique, oxaloacétique,  $\alpha$ -cétoglutarique et fumarique sont impliqués dans la synthèse des acides aminés, le succinyl-CoA est utilisé dans la synthèse des porphyrines, l'acétyl-CoA sert dans les réactions d'acétylation. Il faut signaler également que la plupart des réactions sont réversibles.