

## CHAPITRE III: CATABOLISME DES GLUCIDES

### 2.4. 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. **Le cycle fournit les composés de départ des réactions de synthèse**. Il existe des différences sensibles entre organismes: dans le cycle «classique», le malate est oxydé en oxaloacétate par la **malate déshydrogénase** NAD-dépendante (*E. coli*), chez *Serratia* ou *Pseudomonas*, il existe une déshydrogénase directement liée aux cytochromes (Fig. 25).

Chaque tour du cycle produit, à partir de l'**acétate**, deux molécules de  $\text{CO}_2$  et 8 ( $\text{H}^+$ ,  $\text{e}^-$ ), sous forme de 2  $\text{NADH}_2$ , 1  $\text{NADPH}_2$  et 1  $\text{FADH}_2$ . Ces électrons et protons sont transportés vers l'oxygène par la **chaîne respiratoire**. Il y a formation au maximum de 3 molécules d'ATP par paire d'électrons transportée entre les NAD et l'oxygène. Le rendement global par mole de glucose oxydé par l'intermédiaire de la glycolyse et du **cycle de Krebs est donc au maximum de 38 ATP**.

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*.

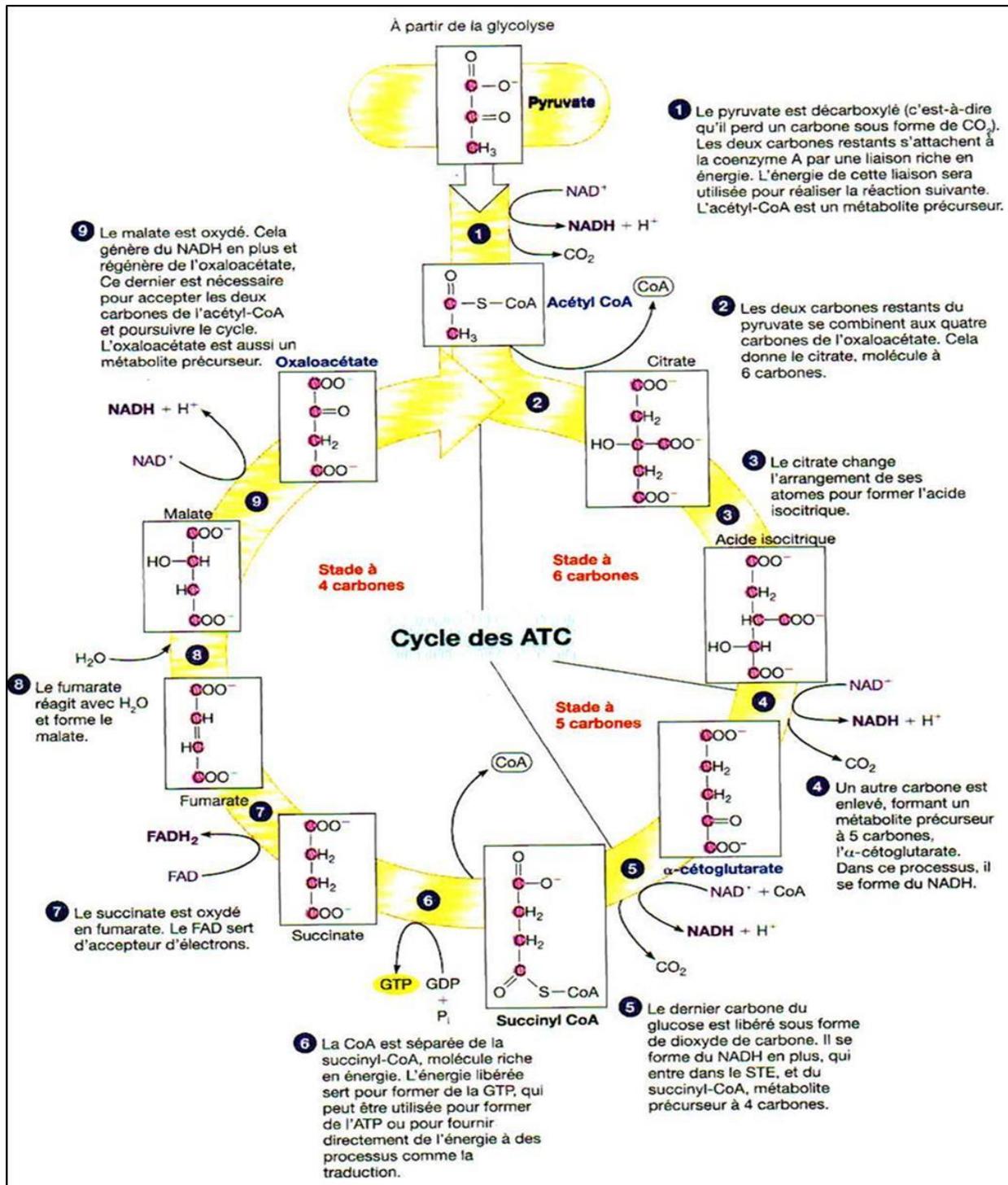


Figure 25: Cycle de KREBS

- |                              |   |
|------------------------------|---|
| 1) pyruvate déshydrogénase   | 5) 2-ketoglutarate déshydrogénase complexe        |
| 2) citrate synthase          | 6) succinate thiokinase (succinyl-CoA synthetase) |
| 3) aconitase                 | 7) succinate déshydrogénase                       |
| 4) isocitrate déshydrogénase | 8) fumarase (fumarate hydratase)                  |
| 9) malate déshydrogénase     |   |

La première étape de ce processus emploie un système multi-enzymatique, **le complexe de la pyruvate déshydrogénase** (association de trois enzymes intervenant séquentiellement pour catalyser la décarboxylation oxydative du pyruvate en acétyl-CoA.). Celui-ci oxyde et clive le pyruvate pour former un CO<sub>2</sub> et l'acétyl-coenzyme A.



L'acétyl-CoA est riche en énergie parce qu'un **thiol (-SH) groupement sulfhydryle** de haute énergie lie **l'acide acétique** à la **coenzyme A**. L'acétyl-CoA entre alors dans le cycle des acides tricarboxyliques (cycle des ATC) aussi appelé cycle du citrate ou cycle de Krebs.

Dans la première réaction, l'acétyl CoA sous l'action de l'enzyme **citrate synthase**, se condense avec (c'est-à-dire, est ajouté à) un intermédiaire à quatre carbones, **l'oxaloacétate**, pour former du **citrate**, une molécule à six carbones.



Le **citrate** (un alcool tertiaire) à son tour, sous l'action de l'enzyme **Aconitase**, est réarrangé pour donner **l'isocitrate**, un alcool secondaire plus facilement oxydable.

L'isocitrate est par la suite oxydé et décarboxylé deux fois, par l'enzyme **Isocitrate déshydrogénase** pour donner  $\alpha$ -cétoglutarate (cinq carbones), cette réaction globale se déroule en deux étapes :



Puis l' $\alpha$ -cétoglutarate est pris en charge par le complexe enzymatique  **$\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase** pour donner la succinyl-CoA (quatre carbones), une molécule comportant une liaison riche en énergie. A ce stade, 2 NADH ont été formés et 2 carbones sortis du cycle sous forme de CO<sub>2</sub>.

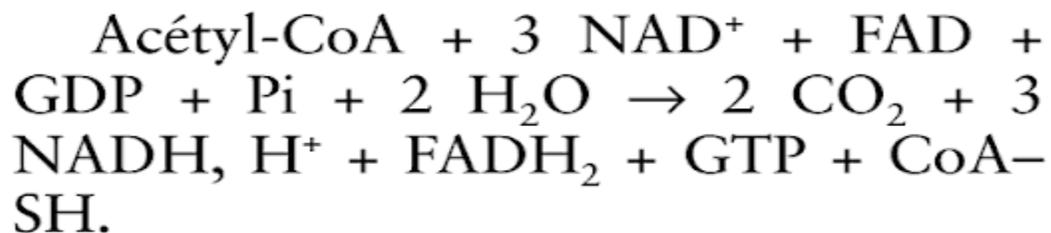
Le cycle continue par conversion de la succinyl-CoA en succinate par l'enzyme **Succinyle-CoA Ligase**. Il y a une rupture de la liaison riche en énergie de la succinyl-CoA et l'énergie libérée est sert à former une **GTP** par phosphorylation au niveau de substrat. La GTP est aussi une molécule riche en énergie, fonctionnellement équivalente à l'ATP.

Ensuite, il y a la déshydrogénation du succinate en fumarate par la **succinate déshydrogénase** à FAD. Cette catalyse génère une molécule de FADH<sub>2</sub>.

L'avant dernière réaction il y aura l'hydratation du fumarate en L-malate par une **fumarase**. La dernière étape d'oxydation régénère un oxaloacétate, et aussi longtemps qu'il est alimenté en acetyl CoA, le cycle se répète.

**Le cycle des ATC génère deux CO<sub>2</sub>, trois NADH, un FADH<sub>2</sub> et une GTP pour chaque molécule d'acétyl- CoA oxydée.**

Les enzymes du cycle des ATC sont largement répandues. Chez les procaryotes, elles sont localisées dans le cytoplasme. Chez les eucaryotes, on les trouve dans la mitochondrie. Le cycle complet semble fonctionnel chez de nombreuses bactéries aérobies, des protistes libres et des champignons. Ceci n'est pas surprenant, vu que le cycle est une source d'énergie tellement importante. Même les microgrammes dépourvus d'un cycle des ATC complet en possèdent généralement la plupart des enzymes, parce que ce cycle est aussi une source de squelette carboné pour la biosynthèse.



## 2.5. Shunt glyoxylique

Un certain nombre de microorganisme (*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 (Fig. 26). Ces organismes ont tous les enzymes du cycle de Krebs mais ont en plus deux enzymes:

- **Isocitratase qui coupe l'isocitrate en succinate et glyoxylate**
- **Malate synthétase qui 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 microorganisme est cultivé sur acétate car le glucose réprime les enzymes précédemment citées. Lors de la croissance sur acétate, les cellules décarboxylent l'oxaloacétate pour fournir du phosphoénolpyruvate, **point de départ de la biosynthèse des hexoses et pentoses.**

La croissance sur acétate, les cellules décarboxylent l'oxaloacétate pour fournir du phosphoénolpyruvate, **point de départ de la biosynthèse des hexoses et pentoses.**

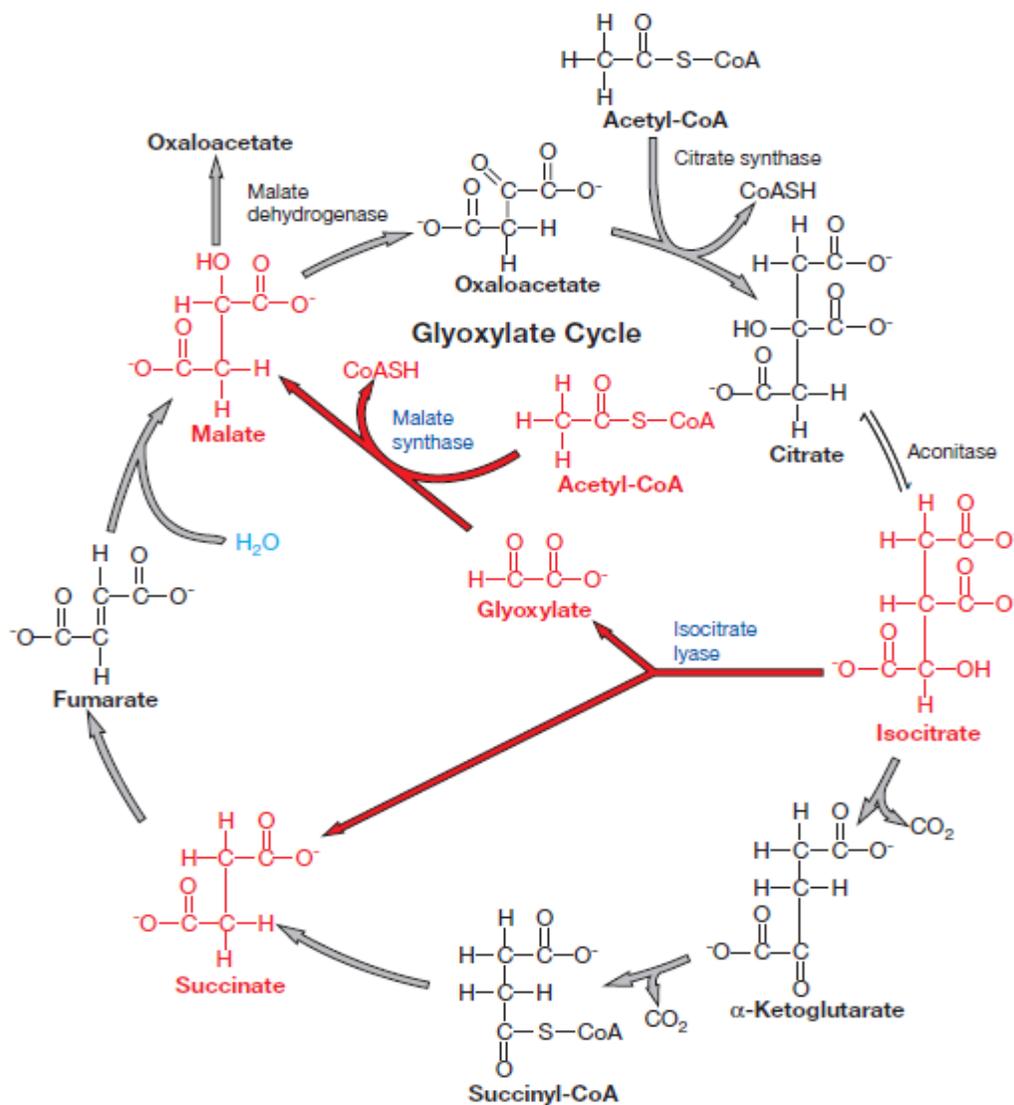


Figure 26: Cycle glyoxylique

## 2.6. 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 ;
- Peut être également obtenue par une mutation portant sur les gènes contrôlant ces enzymes.

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, ...)

### Exemple :

#### • Production de l'Acide citrique

L'acide citrique est utilisé abondamment dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique comme acidifiant, émulsifiant, antioxydant, agent chélateur, ... Il est produit par des souches d'*Aspergillus niger* ou d'*Aspergillus wentii* (Fig. 27). Plusieurs procédés sont utilisés :

- la fermentation Koji effectuée au Japon sur **son de blé humidifié** ;
- la fermentation de surface sur mélasses ;
- la culture agitée sur mélasses.

L'accumulation est obtenue à l'**aide de mutants** ou par des **modifications de milieu** (carence en phosphate, équilibre en sels minéraux). Le **fer** est un inhibiteur alors que le **Cuivre** active la production. Pendant la fermentation, l'**aconitase** disparaît alors que l'**isocitrate lyase** et l'**isocitrate déshydrogénase** sont **inhibées**. Dans la plupart des cas, la fermentation s'effectue en deux stades: au début il y a un développement du **mycélium**, puis la croissance s'arrête et il y a une accumulation d'acide citrique.

Plus d'information (Fermentation Microbiology and Biotechnology, Third Edition, Edited by E.M.T. El-Mansi • C.F.A. Bryce • B. Dahhou S. Sanchez • A.L. Demain • A.R. Allman.

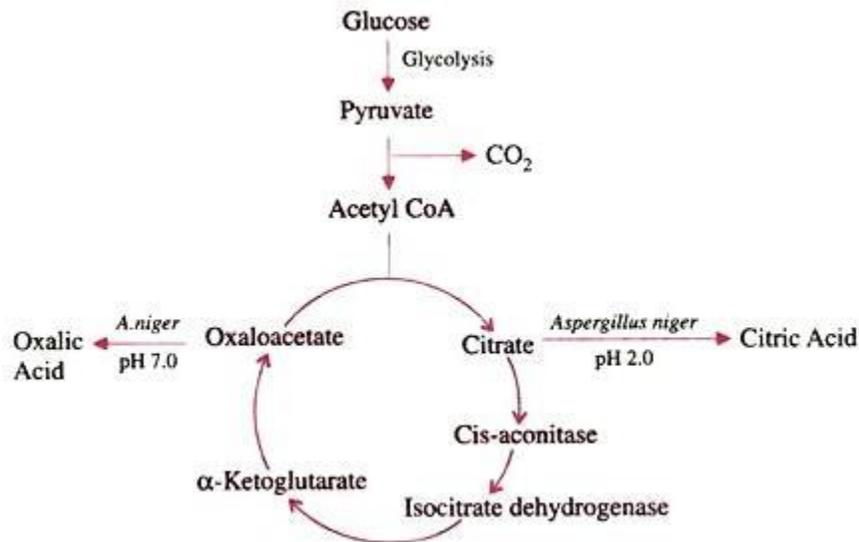


Figure 27: Voie biochimique de l'acide oxalique et l'acide citrique

#### • Production de l'Acide fumarique

Cet acide, utilisé dans l'industrie alimentaire et surtout dans l'industrie des résines polyesters, est produit par de nombreuses souches d'*Aspergillus* et de *Rhizopus*. À partir de 120g/l de glucose, *Rhizopus arrhizus* produit 97g/l d'acide fumarique. L'oxygénation de la culture est essentielle pour son accumulation. Si la culture n'est pas aérée, l'éthanol et le CO<sub>2</sub> sont les principaux produits de la fermentation. La fermentation du glucose en milieu aéré et agité en présence de CaCO<sub>3</sub> conduit à la cristallisation sous forme de fumarate de calcium.

#### Plus information (Biotechnology and Food Ingredients)

<https://books.google.dz/books?id=4W5N5eFu2CMC&pg=PA359&dq=fumaric+acid+production&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwi7gN738ZnoAhWM3OAKHcmdCpsQ6AEIOTAC#v=onepage&q=fumaric%20acid%20production&f=false>

#### • Production de l'acide itaconique

Cet acide peut être produit par des souches d'*Aspergillus* (*A. itaconucus*, *A. terreus*). Il provient de la décarboxylation de l'acide cis-aconitique. Cette réaction est catalysée par la **cisaconitate décarboxylase**.

L'acide itaconique peut être décomposé en acide itatartarique. L'accumulation de l'acide itaconique s'effectue lorsque les conditions sont défavorables à cette transformation: le calcium, le cuivre, un pH bas (<2,2) peuvent en particulier bloquer l'enzyme conduisant à l'acide itatartarique. Après production de mycélium, la fermentation est réalisée en milieu agité. L'acide itaconique est utilisé comme **copolymère** dans l'industrie des peintures et des matières plastiques.