

2. Métabolisme

Les micro-organismes sont capables d'effectuer une grande diversité de réactions biochimiques se traduisant par la production de biomasse (corps cellulaires) et par la dégradation, la transformation ou la production de substances organiques ou minérales. Pour leur vie (entretien ou maintenance), pour leur développement (croissance et multiplication), pour l'expression de leurs propriétés (mobilité, luminescence,...), les micro-organismes ont besoin d'énergie et d'éléments nutritifs. Le catabolisme est l'ensemble des réactions permettant la récupération d'énergie biologiquement utilisable et la production de métabolites de base à partir de substrats organiques ou de réserves cellulaires. Cette dégradation est plus ou moins complète et donne lieu à la formation de métabolites (déchets du catabolisme). L'anabolisme est l'ensemble de réactions de synthèses cellulaires à partir de métabolites de base issus du catabolisme et d'éléments du milieu.

2.1. Métabolisme énergétique

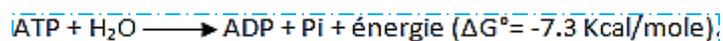
2.1.1. Sources d'énergie et types trophiques

Le type trophique définit la manière dont un organisme vivant construire sa propre matière organique et produit l'énergie dont il a besoin. Les types trophiques s'analysent en trois axes :

- La nature de source du carbone
- La nature de source d'électron
- La nature de source d'énergie

2.1.1.1. Source d'énergie

L'énergie nécessaire aux micro-organismes est fournie par la lumière (organismes phototrophes) ou par l'oxydation de substances chimiques (organismes chimiotrophes). Dans les deux cas, l'énergie libérée sous forme chimique est stockée dans la cellule sous forme d'un composé à haute énergie l'ATP (Adénosine triphosphate). L'ATP intervient dans tous les processus énergétique de la cellule. Les réactions de synthèse utilisent l'énergie libérée par la décomposition de l'ATP en ADP



:

2.1.1.1.1. Organismes phototrophes

Les plantes tirent leur énergie de la lumière, celle-ci intervient également chez les algues vertes, les Cyanophycées et quelques espèces bactériennes. Le processus de photosynthèse comprend deux étapes : phase lumineuse et phase obscure. La phase lumineuse ou photophosphorylation aboutit à la formation d'ATP, c'est une réaction génératrice d'énergie utilisable par la cellule.

2.1.1.1.2. Organismes chimiotrophes

Les levures, les moisissures et la plupart des bactéries, sont incapables d'effectuer la photosynthèse. Ces microorganismes utilisent l'énergie libérée au cours de réactions chimiques d'oxydation, ce sont les « chimiotrophes ». Les réactions d'oxydation s'effectuent de plusieurs façons. Certains microorganismes (chimolithotrophes) tirent leur énergie de l'oxydation des substances minérales, alors que d'autres la tirent de substances organiques (chimioorganotrophes). Dans la plupart des cas la perte d'électrons est couplée à une perte de protons. Ces électrons et protons réduisent un accepteur final par l'intermédiaire d'une chaîne d'oxydoréduction. La formation d'ATP s'effectue en grande partie durant ce transport d'électrons et de protons.

2.1.1.2.Source d'électrons

Suivant la nature de source d'électron prélevée dans le milieu par la bactérie, on décrit deux types différents : L'organotrophie, la source d'électrons est organique, exemple : glucose, acide gras, ...et la lithographie, la source d'électrons est minérale, exemple : ammoniac, soufre,

2.1.1.3.Source de carbone

Suivant la nature organique de la source de carbone prélevée dans le milieu par la bactérie, on décrit deux types nutritionnels différents : l'autotrophie au carbone, la source de carbone de la bactérie est inorganique , le dioxyde de carbone (CO_2) et mono hydrogénocarbonates (HCO_3^-) du milieu et l'hétérotrophie au carbone , la source de carbone est organique, une molécule organique. Ces trois axes fondamentaux, combinés, sont à la source de huit mécanismes sont utilisés par les microorganismes.

Tableau I : Huit types trophiques chez les microorganismes

Source d'énergie	Source d'électrons	Source de carbone	Type trophique	
Lumière -Photo-	Composés organiques -Organo-	Organique (Ex glucose) -Hétérotrophe	Photo-organo-hétérotrophe	
		Minérale (CO ₂) -Autotrophe	Photo-organo-autotrophe	
	Composés minérales -Litho-	Organique : -Hétérotrophe	Photo-litho-hétérotrophe	
		Minérale : -Autotrophe	Photo-litho-autotrophe	
	Composés Chimique (organique ou Minérale) -Chimio-	Composés organiques -Organo-	Organique : -Hétérotrophe	Chimio-organo-hétérotrophe
			Minérale : -Autotrophe	Chimio-organo-autotrophe
Composé s (minérale) -Litho-		Organique : -Hétérotrophe	Chimio-litho-hétérotrophe	
		Minérale : -Autotrophe	Chimio-litho-autotrophe	

2.1.2. Classification par rapport à l'accepteur final d'électrons

2.1.2.1. Respiration aérobie

Traditionnellement, lorsque l'accepteur final d'électrons est l'oxygène moléculaire, on parle de respiration et les micro-organismes de ce type sont dits aérobies. Il existe divers mécanismes de respiration aérobie, ils ne peuvent intervenir que dans des conditions d'aérobiose. Les microorganismes ne possédant qu'un système de ce type sont des « aérobies strictes ». Les micro-organismes réalisant la respiration possèdent une chaîne de transport électronique « chaîne respiratoire » ou « chaîne des Phosphorylations oxydatives » liée à une membrane cellulaire.

La phosphorylation oxydative est le processus permettant la synthèse d'ATP à partir de l'énergie libérée lors du transfert des électrons. L'hypothèse la plus largement acceptée pour produire l'ATP est la théorie chimiosmotique (ou couplage chimiosmotique), qui fut formulé par le biochimiste britannique Peter Mitchell, 1961. Selon cette hypothèse. Chez les bactéries, la localisation des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire est membranaire (membrane cytoplasmique) et il existe de nombreuses variantes, en revanche sont localisés dans la membrane interne des mitochondries chez les Eucaryotes. Voir Figure 1.

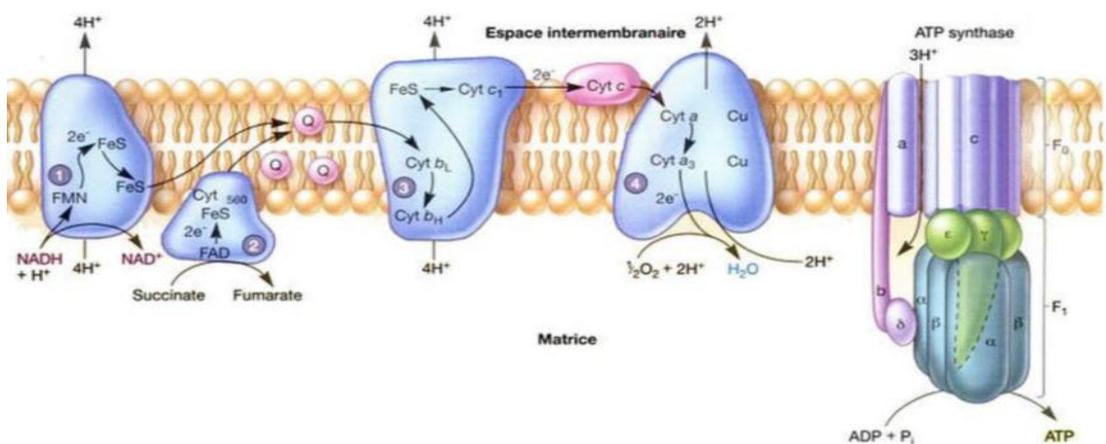


Figure 1: Mécanisme de respiration aérobie

Dans ce schéma, les transporteurs sont organisés de façon asymétrique dans la membrane interne des eucaryotes ou dans la membrane plasmique des bactéries, de sorte que les protons sont transportés au travers, pendant que les électrons se déplacent le long de la chaîne. La libération des protons dans l'espace inter-membranaire chez les eucaryotes ou le milieu extracellulaire chez les bactéries a lieu quand les électrons sont transférés d'un transporteur membranaire d'électron à l'autre. La coenzyme Q transporte des électrons depuis les complexes I et II vers le complexe III. Le cytochrome C déplace les électrons entre les complexes III et IV. Le complexe IV pompe les électrons à travers la membrane, lorsque ceux-ci passent du cytochrome à l'oxygène qui est finalement réduit par deux électrons pour former une molécule d'eau. La circulation des électrons le long de la chaîne respiratoire génèrent un gradient de concentration de

protons (gradient électrochimique ou force proton motrice). Le passage des protons à travers la membrane génère l'ATP. La synthèse d'ATP au niveau d'une enzyme située sur la face interne de la membrane cytoplasmique, Pour les bactéries, l'ATP synthétase.

Test d'oxydase

- Sur un papier filtre, déposer un disque d'oxydase imprégné de « N- diméthyl parophénylène diamine » - humidifier le disque avec l'eau distillée à l'aide d'une anse de platine.- On prendre la bactérie à identifier (culture de 18 à 24 heures) et la déposer sur ce disque. - Apparition d'une coloration violette immédiatement, la souche est dite oxydase positive. -La présence de complexe IV (respiration aérobie) c'est à dire l'enzyme cytochrome oxydase à une grande importance sur l'identification de bactéries aérobies strictes. Sous le nom test oxydase. - si le papier présente une touche violette Oxydase (+) présence d'enzyme. - si le papier ne présente pas cette couleur (reste incolore) Oxydase (-) absence d'enzyme.

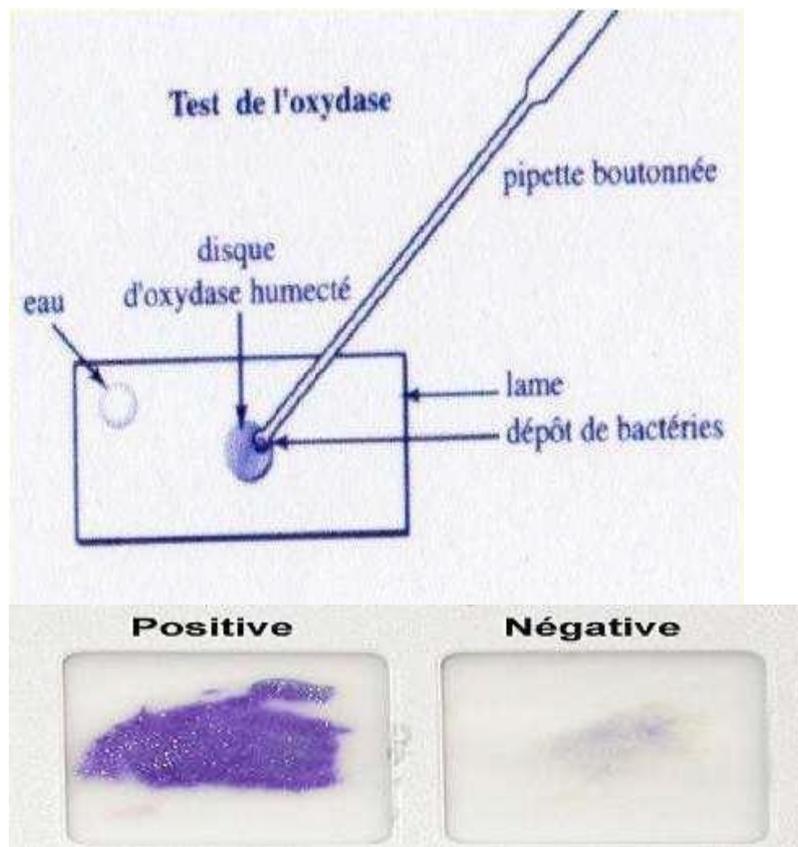


Figure 2 : Test d'oxydase

2.1.2.2. Respiration anaérobie

Il s'agit d'un processus où l'accepteur final hydrogène est une substance minérale oxydée. De nombreux microorganismes sont capables d'oxyder complètement le glucose en l'absence d'air à condition qu'il y ait du nitrate dans le milieu. Outre les nitrates, d'autres produits peuvent être utilisés : sulfates, fumarate, CO₂...

Tableau II : Différents accepteurs d'électrons utilisés lors de la respiration anaérobies chez les bactéries

Accepteur d'électrons	Produit final réduit	Nom du processus	Exemples de microorganismes
NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , NH ₃ or N ₂	Respiration anaérobie (dénitrification)	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i>
SO ₄ ⁻²	S or H ₂ S	Respiration anaérobie (réduction des sulfates)	<i>Desulfovibrio</i>
fumarate	Succinate	Respiration anaérobie utilisant un accepteur d'e ⁻ organique	<i>Escherichia coli</i>
CO ₂	CH ₄	Méthanogenèse	<i>Methanococcus</i>

Respiration de nitrates

Les microorganismes qui utilisent le nitrate comme accepteur d'électrons réduisent le nitrate en nitrites par l'action de nitrate réductase selon l'équation suivante :



Test de nitrate réductase

A une culture en bouillon nitraté de 24 à 48 h d'incubation à 37 °C, on ajoute quelques gouttes de réactifs de Griess. Après agitation. La lecture est immédiate.

A- coloration rouge orangé, ex : E-coli : nitrates réduites en nitrites (nitrate réductase positives NR⁺).

B -milieu restant incolore, ajoute un peu de poudre de zinc (réducteur des nitrates) et on agite bien.

C- Si le milieu devient rouge, il reste des nitrates, donc ces derniers n'ont pas été réduits par la bactérie (nitrate réductase négative NR⁻).

D- si le milieu reste incolore, il ne reste plus de nitrates, les bactéries les ont réduits au-delà du stade nitrites en azote (nitrate réductase positive NR⁺) \longrightarrow

les nitrates chez certains microorganismes (*Pseudomonas*) peuvent aller jusqu'à le stade azote (N_2) (nitrates réductase très active). Ce procédé appelé dénitrification est utilisé par *Pseudomonas* et quelques espèce de *Bacillus* (bactéries dénitrifiantes).

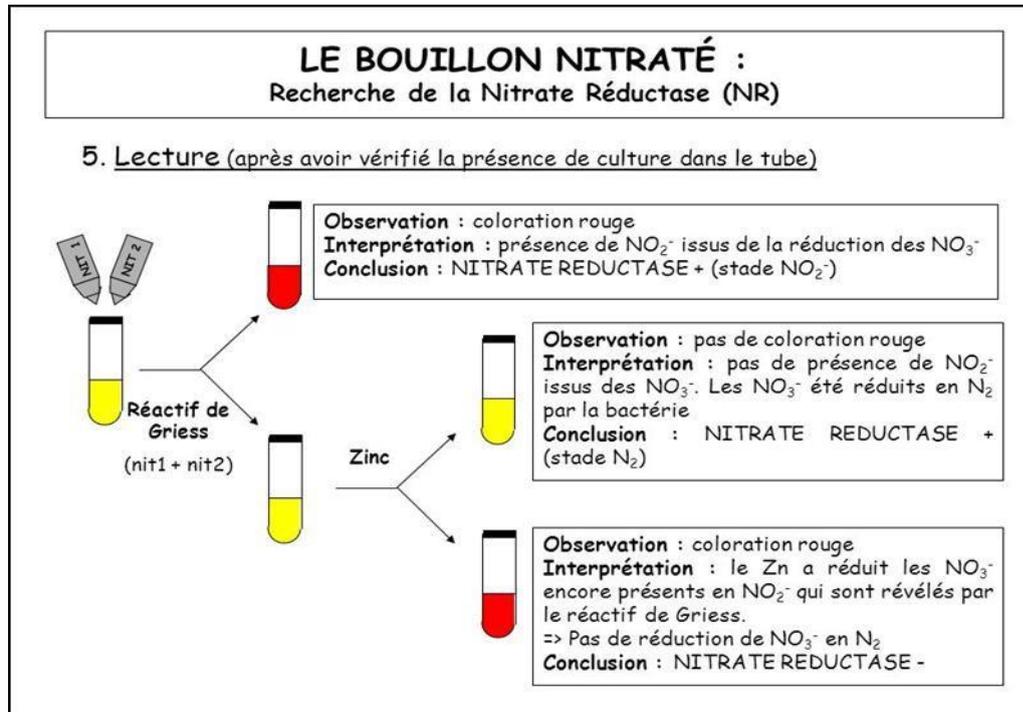


Figure 3 : Test de nitrate réductase

Exemple n°2

Réduction du sulfate (SO_4^{2-}) en sulfure (ion sulfure) S^{2-}

Réduction du sulfate (SO_4^{2-}) en sulfure (ion sulfure) S^{2-} chez les *Désulfovibrio* puis en hydrogène sulfuré (H_2S) (sulfure d'hydrogène). *Désulfovibrio desulfuricans* : ce sont des bactéries anaérobies à une métabolisme généralement respiratoire utilisant le sulfate pour remplacer l'oxygène dans la respiration cellulaire donc ces bactéries utilisent le sulfate ou autre composé soufrés comme accepteurs finaux d'électron.

La réduction du SO_4^{2-} en S^{2-} puis en H_2S se fait selon la réaction :



Ces bactéries réductrices de soufre ont une grande importance dans le recyclage de soufre dans les écosystèmes.

2.1.2.3. Fermentation

Dans le cas d'une fermentation l'accepteur final d'électron (et de protons) est une molécule organique. De nombreuses fermentations peuvent s'effectuer en anaérobie car tous les électrons et protons issus de l'oxydation du substrat servent à réduire l'accepteur organique (exemple cas de la fermentation homolactique). La fermentation est utilisée par : les bactéries aéro-anaérobies facultatives, qui utilisent préférentiellement la respiration quand elle est possible et les bactéries anaérobies strictes (ex : *Clostridium*). Le rendement énergétique des fermentations est inférieur à ceux des respirations. Le NADH provenant de la glycolyse est oxydé, lorsqu'il est utilisé pour réduire le pyruvate ou un dérivé du pyruvate (X). Le produit résultant est le lactate, soit un produit Y réduit

Respiration aérobie > respirations anaérobies > fermentations.

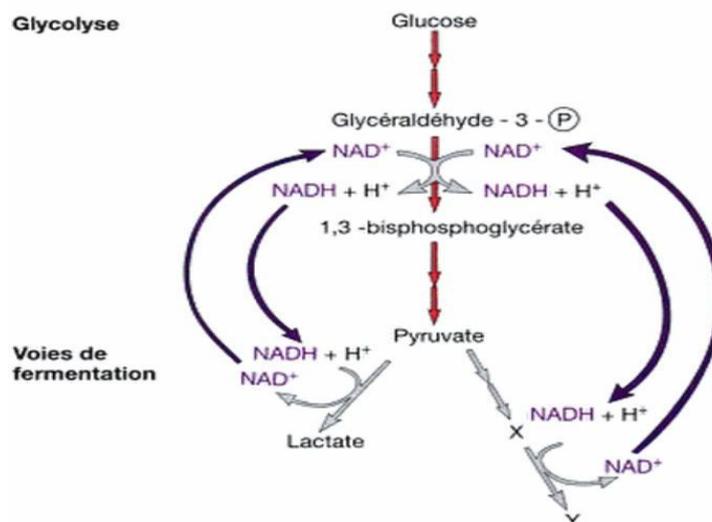


Figure 4: L'oxydation du NADH durant la fermentation.

2.1.3. Classification en fonction de leurs rapports avec l'oxygène

Il existe plusieurs classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec O₂

- Aérobie strictes ne se développent qu'en présence d'air. Leur source principale d'énergie est la respiration. L'oxygène moléculaire, ultime accepteur d'électron, est réduit en eau (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Neisseria*).

- Microaérophiles se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air (*Campylobacter*, *Mycobacteriaceae*).
- Aéro-anaérobies facultatives se développent avec ou sans air : les entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*), les streptocoques, les staphylocoques. L'énergie provient de l'oxydation des substrats et de la voie fermentaire.
- Anaérobies strictes ne se développent qu'en absence totale ou presque d'oxygène qui est le plus souvent toxique. C'est le cas des bactéries intestinales (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*) et de nombreuses bactéries présentes dans les flores normales de l'organisme. Certaines bactéries à respiration anaérobie (et les bactéries anaérobies strictes) le dioxygène est inutile et même souvent toxique. En effet le dioxygène peut par réaction chimique produire des ions superoxydes, des radicaux hydroxyles (HO) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui peuvent oxyder des lipides et protéines de la cellule bactérienne. Ces bactéries n'ont pas d'enzymes de protection telles que la super oxyde dismutase, la catalase ou la peroxydase.

Test de catalase

Déposer une goutte d'eau oxygénée au centre de la lame, prenez l'anse de platine, avec le fil de boucle, vous flamber bien jusqu'à que cette boucle et le fil de boucle deviennent rouge, vous patientez (quelques secondes), puis retirez le en laissant refroidir dans le champ stérile. Vous prenez votre boîte de Pétri où il y a la souche à identifier et grattez quelques colonies avec anse de platine. Vous déposez ensuite les bactéries prélevés dans la goutte de H₂O₂ et observer si il y a formation des bulles ou (effervescence). Si des bulles se forment, la bactérie synthétise l'enzyme catalase (catalase positive) si non la bactérie ne la synthétise pas (catalase négative). Sans oublier de flambez pour le 2^{ème} fois l'anse de platine puisque il reste un liquide (il faut stériliser et bruler la bactérie qui reste). Une fois l'expérience est terminée, vous jetez la lame dans la poubelle de décontamination (un récipient rempli d'eau du javel).

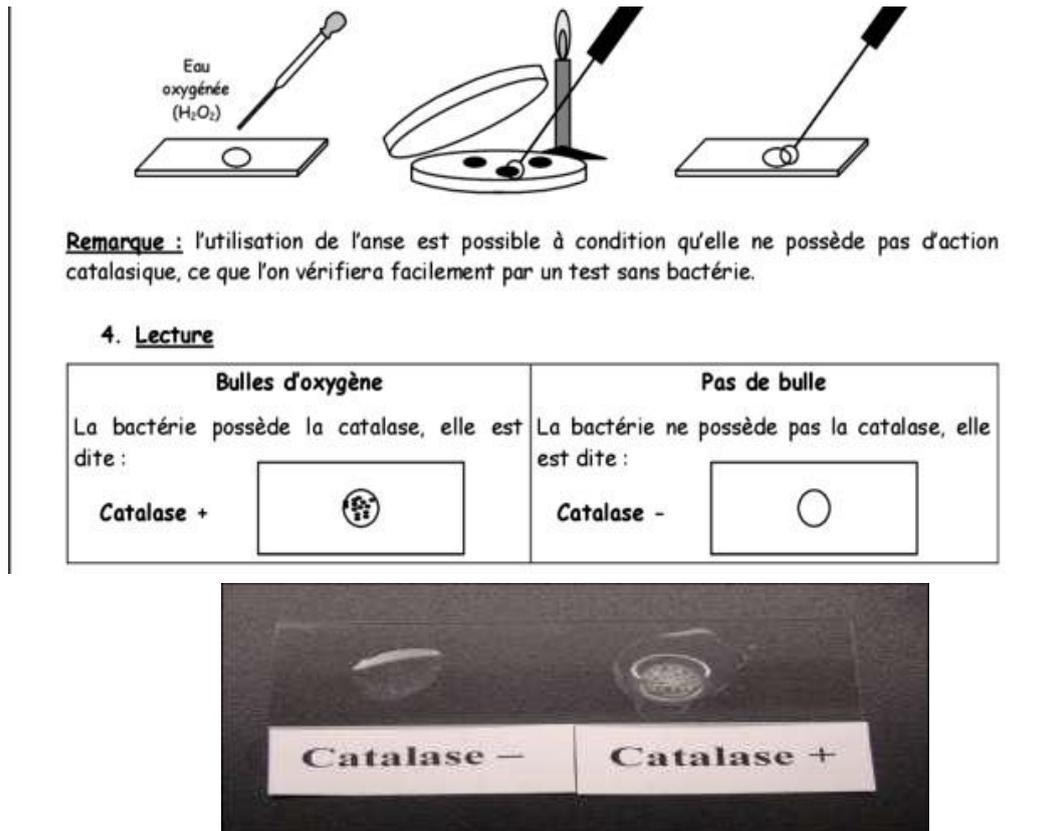


Figure 5: Test de catalase

2.2. Catabolisme des glucides

Le métabolisme des glucides est l'ensemble des divers processus biochimiques responsables de la formation, la dégradation et de l'inter conversion des glucides chez les organismes vivants. Le catabolisme des glucides correspond aux réactions chimiques qui conduisent à la dégradation de molécules (catabolisme) de glucides pour produire de l'énergie.

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 hexose (essentiellement glucose) ou de pentoses. Le glucose est le point de départ des principales voies du catabolisme

2.2.1. 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 α 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 α (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 :

✚ **α -amylase ou α (1-4)-glucane glucanohydrolase**

✚ **Glucoamylase ou α (1-4)-glucane glucohydrolase**

2.2.2. Dégradation de la cellulose

La cellulose est un polymère linéaire de D-glucose, les molécules de glucose sont liées entre elles par des liaisons β (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.

2.2.3. Dégradation du saccharose

Le saccharose est d'abord hydrolysé en glucose et fructose par l'invertase présente chez de nombreuses levures (*Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*...), de nombreuses moisissures (*Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*...) et de nombreuses bactéries (*Clostridium pasteurianum*, *Streptococcus*...). Après hydrolyse du lactose, le glucose formé est dégradé par l'une des voies ultérieurement décrites.

2.2.4. Dégradation du lactose

De nombreux microorganismes possèdent une β -galactosidase : des levures (*Kluyveromyces*, *Candida*...), des moisissures (*Aspergillus*...), des bactéries (*E. coli*, *Lactobacillus*, *Bacillus*...). Après hydrolyse du lactose, le glucose formé est dégradé par l'une des voies ultérieurement décrites.

2.2.5. Dégradation du maltose

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

2.2.6. 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.

2.2.6.1. Glycolyse ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)

Cette voie dite d'hexose diphosphate, est une suite de réactions permettant la transformation du glucose en deux molécules de pyruvate, au cours de laquelle sont produites deux molécules de NADH et deux molécules d'ATP (4 ATP formés par phosphorylation au niveau du substrat et 2 ATP consommés). La glycolyse est très largement répandue parmi les microorganismes : 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 de 3-phosphoglyceraldéhyde/dihydroxyacétone-phosphate et déshydrogénation avec réduction de NAD⁺. Cette réaction s'accompagne d'une phosphorylation au niveau du substrat et conduit à la formation de 1,3 diphosphoglycérate (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 du Processus est :

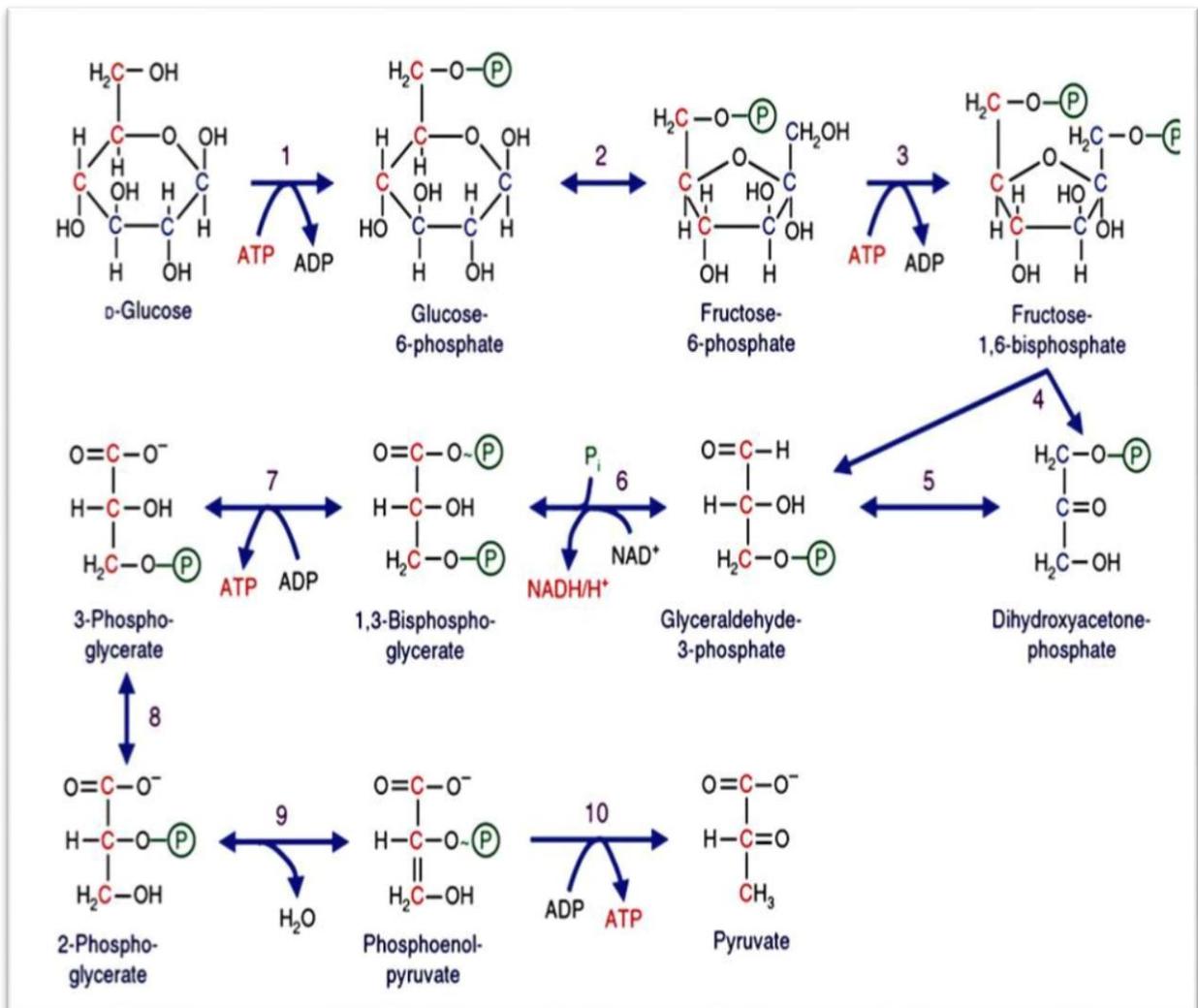


Figure 6: Voie de la glycolyse (voie d'Embden-Meyerhof Parnas)

- (1) (ATP-dépendant) hexokinase, (6) glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH),
 (2) phosphoglucosomerase (PGI), (7) phosphoglycerokinase (PGK),
 (3) (ATP-dépendant) phosphofruktokinase (PFK), (8) phosphoglycérate mutase (PGM),
 (4) fructose bisphosphate aldolase (FBA), (9) (phosphoglycérate) enolase,
 (5) triose phosphate isomerase, (10) Pyruvate kinase (PYK)

2.2.2.6.2. Alternatives à la glycolyse

2.2.6.2.1. Pentoses phosphates ou hexoses monophosphates

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 NADPH₂ formé est une source d'ATP lorsque les électrons sont transportés jusqu'à l'oxygène par l'intermédiaire de la chaîne respiratoire ; le NADPH₂ peut être également utilisé par le métabolisme lipidique. La voie de l'hexose monophosphate ne fournit pas directement de l'énergie, mais le NADH₂ formé est une source d'ATP lorsque les électrons sont transportés jusqu'à l'oxygène par l'intermédiaire de la chaîne respiratoire. Le NADPH₂ formé peut être utilisé également par le métabolisme lipidique.

Cette voie est présente, aux côtés de la glycolyse à des proportions variables, chez de nombreux microorganismes. 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 la suivante (Figure 7) :



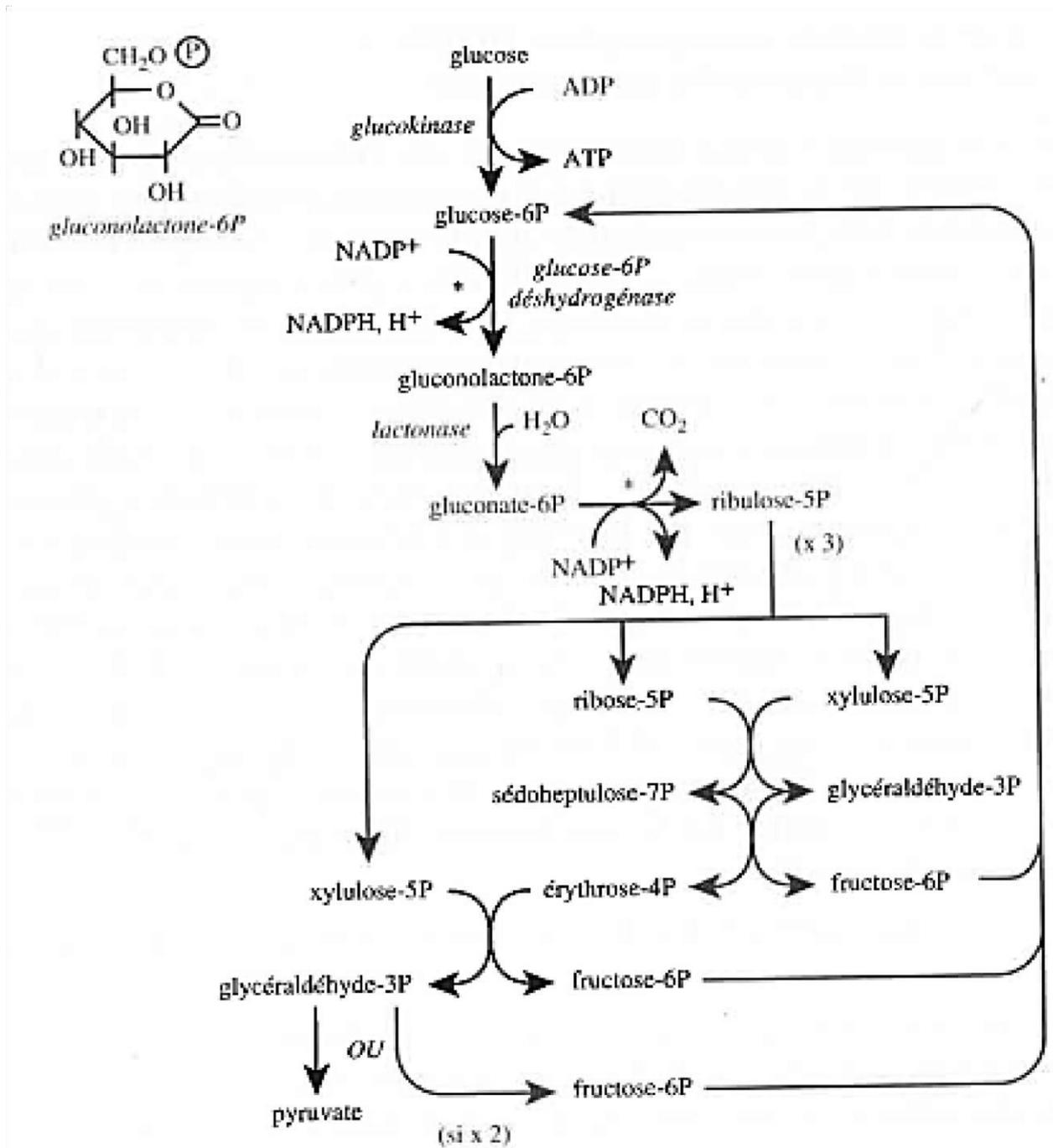


Figure 7: Voie d'hexose monophosphate

Les connexions entre la voie de la glycolyse et celle de l'hexose monophosphate sont nombreuses (Figure 9). Le glycéraldéhyde-3P peut être transformé en pyruvate. Le pyruvate est utilisé par les voies que nous verrons ultérieurement (métabolisme de pyruvate). Le glycéraldéhyde-P peut aussi être condensé en fructose-6P par la glycéraldéhyde-P-aldolase .

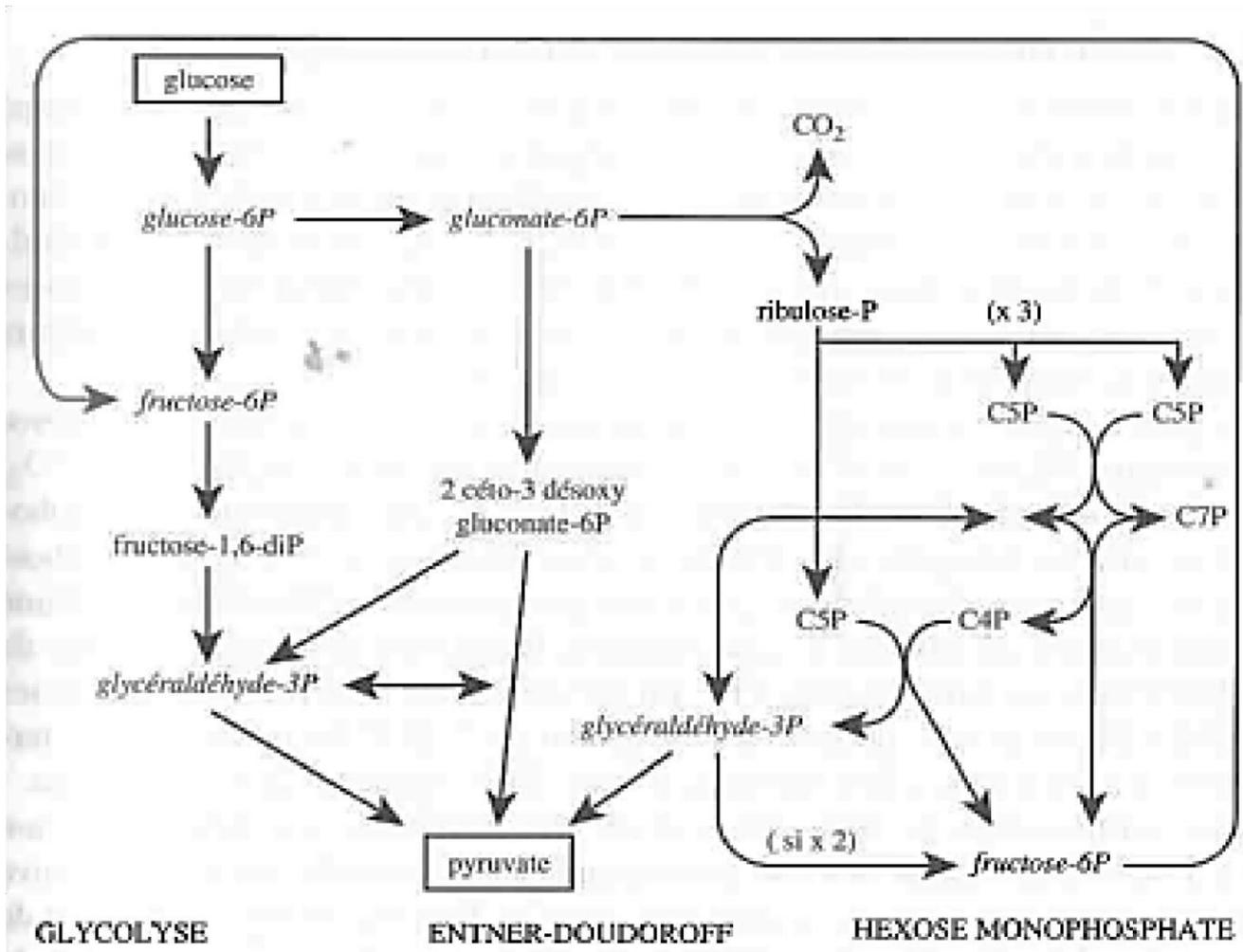


Figure 8 : Glycolyse et les autres voies

On peut décomposer la voie des pentoses phosphates en 3 parties :

- Une partie oxydative : série de réactions qui oxydent le glucose-6P, réduisent le NADP⁺ en NADPH et aboutissent à la formation du ribulose-5-phosphate
- Une partie non oxydative : réactions de transcétolisation et de transaldolisation (transfert de groupements contenant plusieurs carbones).

❖ Etapes oxydatives

La glucose-6-phosphate déshydrogénase catalyse l'oxydation de la fonction aldéhyde (hémiacétal) portée par le carbone C1 du glucose-6-P pour former un acide carboxylique dans une liaison ester, une lactone. Le NADP⁺ sert d'accepteur d'électrons. Cette réaction est irréversible. La 6-phosphogluconolactonase catalyse l'hydrolyse de la lactone et ouvre le cycle pour former le 6-phosphogluconate. La phosphogluconate déshydrogénase catalyse la décarboxylation oxydative du 6-phosphogluconate pour former le ribulose-5-phosphate. L'hydroxyle en position C3 de la 6-phosphogluconate est oxydé en cétone, ce qui favorise la

perte du carboxyle en C1 sous la forme de CO₂. Le NADP⁺ sert d'accepteur d'électrons.

Le ribulose 5-phosphate est aussi un intermédiaire clé du cycle de Calvin (photosynthèse).

❖ **Étapes non oxydatives (réversibles)**

Étapes d'isomérisation et d'épimérisation

- ✚ L'épimérase inter-convertit le ribulose-5-phosphate et le xylulose-5-phosphate
- ✚ L'isomérase transforme le ribulose-5-phosphate (cétose) en ribose-5-phosphate (aldose)

Étape de transcétolisation et de transaldolisation

✚ Transcétolisation

La réaction de transcétolisation consiste à transférer un groupement de deux atomes de carbone (CH₂OH-CO) du xylulose 5-phosphate au ribose 5-phosphate. L'enzyme qui catalyse cette réaction est la transcétolase. Ainsi on obtient le sedoheptulose 7-phosphate et 3-phospho D-glyceraldéhyde.

✚ Transaldolisation

La réaction consiste à transférer un groupement de trois atomes de carbones CH₂OH-CO-CH₂OH du sedoheptulose 7-phosphate au 3-phospho D-glyceraldéhyde. L'enzyme qui catalyse cette réaction est la transaldolase. On obtient ainsi l'érythrose phosphate et le fructose 6-phosphate.

✚ Transcétolisation

La transcétolase transfère le groupement de deux atomes de carbone du xylulose 5-phosphate à l'érythrose 4-phosphate. On obtient ainsi du fructose 6-phosphate et du 3-phospho D-glyceraldéhyde.

Cette voie :

- ✓ Est une alternative à la glycolyse avec une finalité plus anabolique (biosynthèse) que catabolique (dégradation).
- ✓ Existe chez tous les Eucaryotes et presque toutes les bactéries. est indépendante de l'oxygène (elle a lieu en aérobiose et en anaérobiose).
- ✓ La production d'un pouvoir réducteur sous la forme de NADPH qui est ensuite utilisé notamment pour la biosynthèse des acides gras.
- ✓ La production de pentoses, en particulier le ribose-5-phosphate utilisé pour la biosynthèse des

coenzymes pyridiniques (NAD⁺ et NADP⁺), des coenzymes flaviniques (FMN et FAD), du coenzyme A et pour la biosynthèse des nucléotides.

- ✓ La production d'érythrose-4-phosphate, précurseur d'acides aminés aromatiques.
- ✓ Le ribulose 5-phosphate est aussi un intermédiaire clé du cycle de Calvin (photosynthèse).

2.2.6.2.1. 2-Céto- 3 -désoxy gluconate 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 .Les étapes essentielles de cette voie sont :

- Activation du glucose par l'ATP.
- Oxydation du groupement aldéhyde du glucose-6P pour former le 6-phosphogluconate avec réduction parallèle du NADP⁺.
- Déshydratation du 6-phosphogluconate et formation du CDPG ou KDPG (2-céto-3-désoxy6-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 NADH₂ par mole de triose phosphate. Pour une molécule de glucose, il y a formation de 1 ATP, 1 NADPH₂ et 1 NADH₂.

2.2.7. Métabolisme aérobie du pyruvate

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.

2.2.7 .1. Cycle de Krebs (cycle des acides tricarboxyliques « TCA » ou cycle citrique

Le cycle de Krebs est la voie d'oxydation aérobie de l'acétate provenant non seulement de la glycolyse ou du shunt d'hexose monophosphate. Le cycle fournit les composés de départ des réactions de 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' α -cétoglutarate déshydrogénase sont inactives.

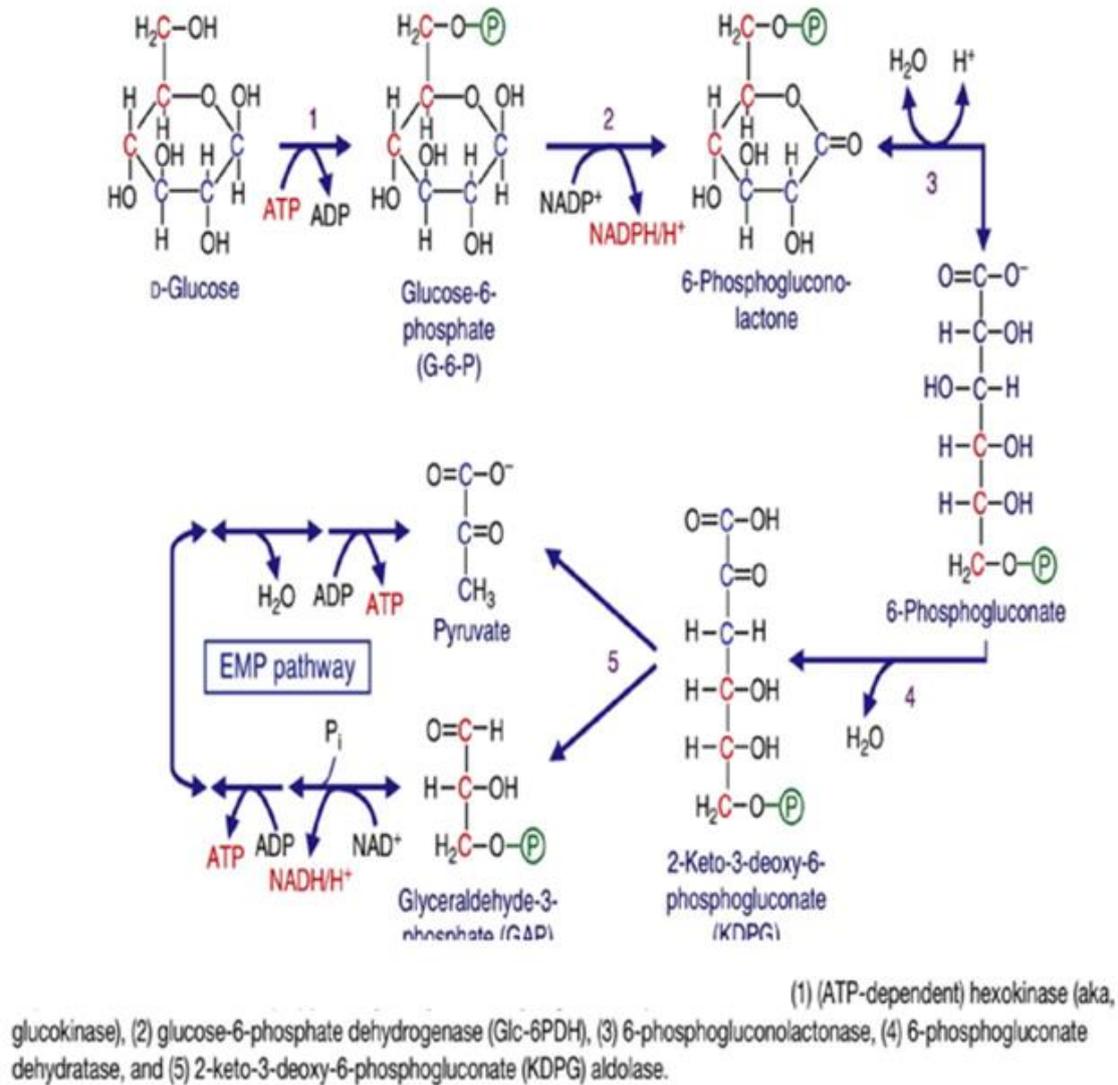
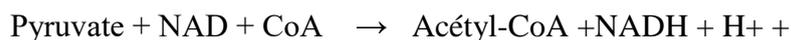


Figure 9 : Voie d'Entner-Doudoroff

La première étape de ce processus emploie un système multienzymatique, 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 CO₂ et 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 l'oxaloacetate, pour former du citrate, une molécule à six carbones.

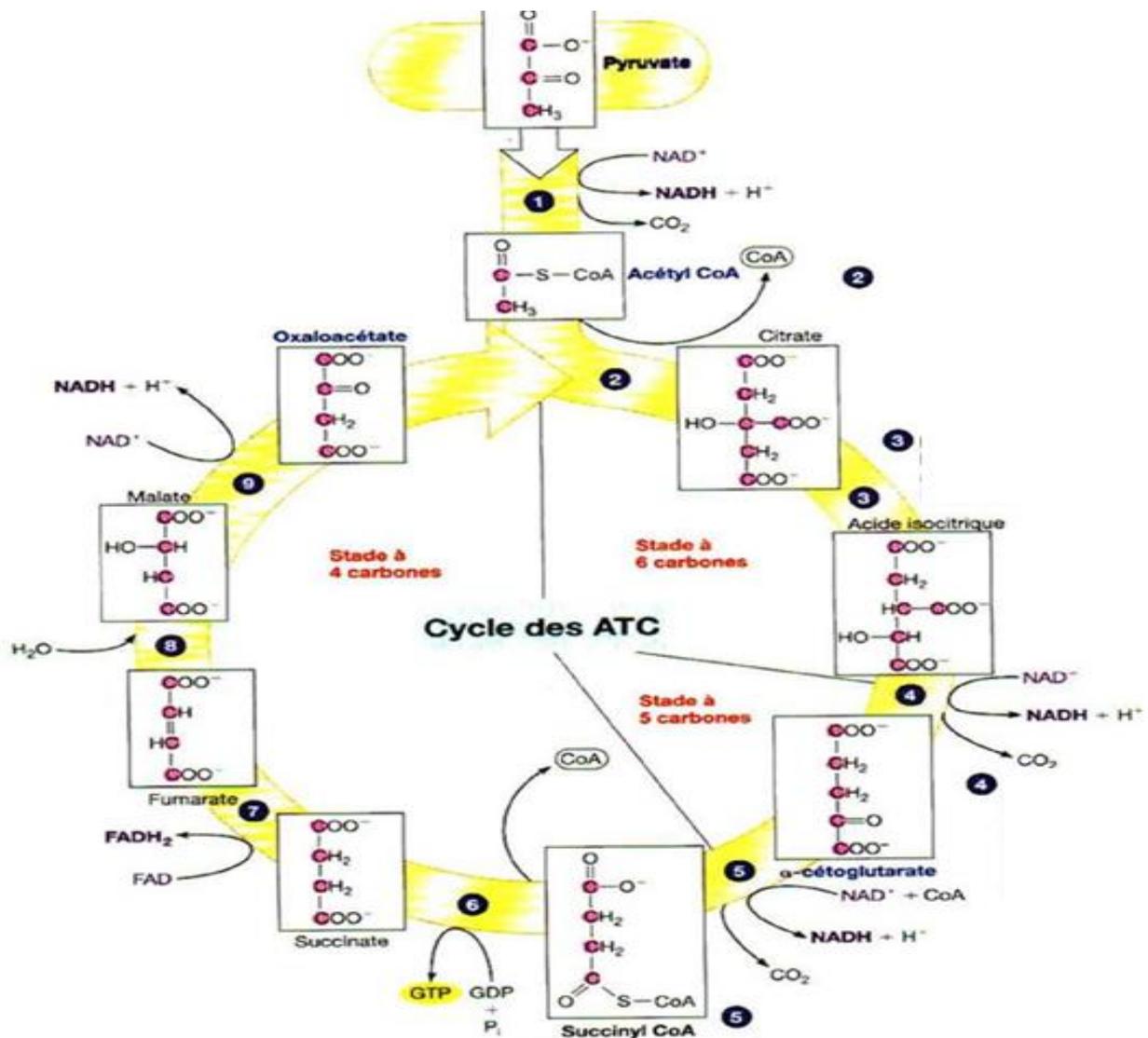


Figure 10: Cycle de KREBS

1, pyruvate déshydrogénase; 2, citrate synthase 3, aconitase; 4, isocitrate déshydrogénase ; 5, Cétoglutarate déshydrogénase ; 6, succinate thiokinase (succinyl-CoA synthétase) ; 7, succinate déshydrogénase ; 8, fumarase (fumarate hydratase) ; 9, malate déshydrogénase.

- ✚ 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 α -cétoglutarate (cinq carbone), Cette réaction globale se déroule en deux étapes
- ✚ Puis l' α -cétoglutarate est pris en charge par le complexe enzymatique α -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 carbone sortis du cycle sous forme de CO₂. Le cycle continue par conversion de la succinyl-CoA en succinate par l'enzyme *Succinyle-CoA Ligase*. Il y a 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 deshydrogenase à FAD. Cette catalyse génère une molécule de FADH₂.
- ✚ L'avant dernière réaction il y aura l'hydratation du fumarate en L-malate par une fumarase. La dernière étape d'oxydation régénère un oxaloacetate, et aussi longtemps qu'il est alimenté en acétyl CoA, le cycle se répète.
- ✚ Le cycle des ATC génère deux CO₂, trois NADH, un FADH₂ et une GTP pour chaque molécule d'acétyl- CoA oxydée. Les enzymes du cycle sont largement répandues parmi les microorganismes. Chez les procaryotes, elles sont localisées dans le cytoplasme. Chez les eucaryotes, on les trouve dans la mitochondrie.

2.2.7.2. Shunt glyoxylique

Un certain nombre de microorganisme 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 deux enzymes :

- l'isocitrate qui coupe l'isocitrate en succinate et glyoxylate
- la 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'oxaloacetate pour fournir du phosphoénolpyruvate, point de départ de la biosynthèse des hexoses et pentoses.

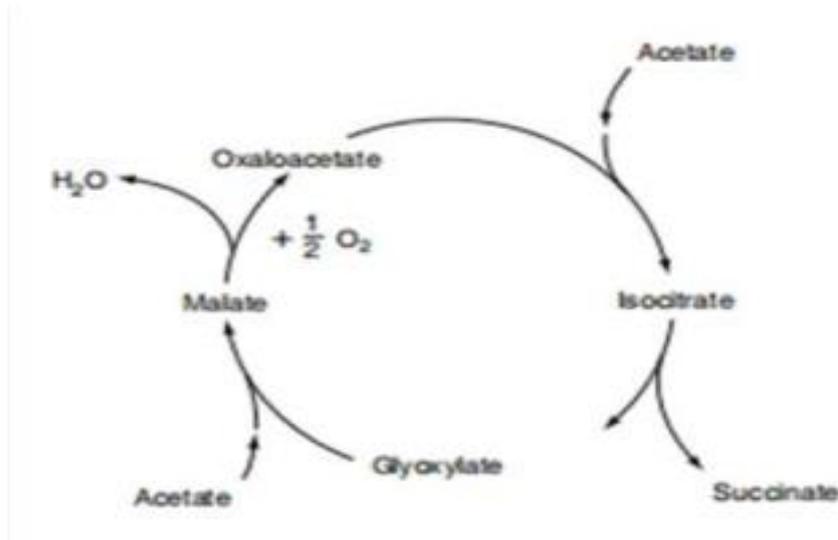


Figure 11. Cycle glyoxylique

2.2.8. Catabolisme des lipides

Les microorganismes utilisent souvent des lipides comme d'énergie. Des triglycérides ou triacylglycérols, des esters de glycérol et des acides gras sont des sources énergétiques courantes.

Les triglycérides sont hydrolysés en acides gras et glycérol, grâce à des lipases ou à des estérases moins spécifiques, souvent exocellulaires. Ces lipases se rencontrent chez les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Geotrichum...*), les levures (*Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis...*) et les bactéries (*Serratia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Chromobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus...*).

Le glycérol est phosphorylé et oxydé en dihydroxyacétone-P et dégradé dans la glycolyse. Les acides gras, quant à eux, sont catabolisés par un processus (cycle) appelé β -oxydation. Ils sont d'abord activés par l'ATP en présence de coenzyme A pour former un acyl-CoA, lequel est oxydé en β -céto-acyl-CoA. Après hydrolyse, il se forme de l'acétyl-CoA et un acyl-CoA possédant deux carbones de moins. Les réactions d'oxydation se poursuivent autant qu'il est nécessaire selon la longueur de la chaîne carbonée. L'acétyl-CoA formé peut être incorporé dans le cycle de Krebs et le shunt glyoxylique. Le NADH_2 et le FADH_2 produits respectivement peuvent être oxydés par la chaîne de transfert des électrons pour produire de l'ATP. Les acides gras constituent une source énergétique riche pour la croissance microbienne.

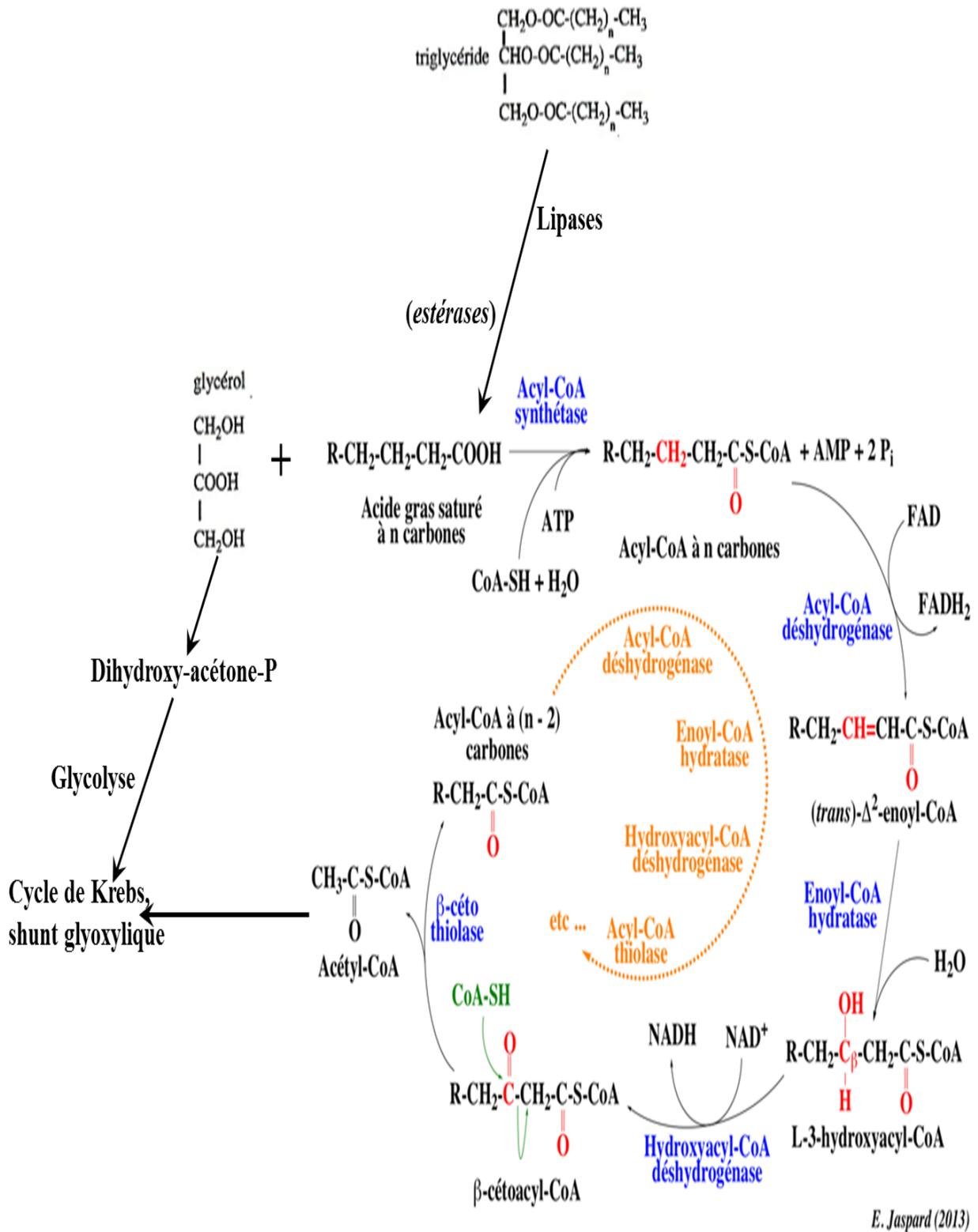


Figure 12 : β -oxydation des acides g

2.2.9. Catabolisme des protéines

Les protéines sont des composés organiques de haut poids moléculaire, constituées d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Il existe de nombreuses protéases microbiennes (généralement exocellulaires) plus ou moins spécifiques : collagénases, gélatinases... Elles agissent aussi bien sur les protéines que sur les oligopeptides. Elles scindent la molécule protéique en fragments polypeptidiques, constitués de quelques acides aminés seulement.

Les espèces protéolytiques les plus connues appartiennent aux genres bactériens *Clostridium*, *Bacillus*, *Proteus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*... ainsi qu'à de nombreux genres fongiques.

Les peptidases hydrolysent les polypeptides et les transforment en leurs sous-unités constitutives, les acides aminés. L'entrée des acides aminés dépend de la présence de systèmes « perméase » nombreux et variés.

Les peptidases sont de deux types, les endopeptidases et les exopeptidases, en fonction de leur mode d'attaque de la chaîne polypeptidique. Les exopeptidases sont elles-mêmes subdivisées en deux catégories :

- Les aminopeptidases commencent leur action par l'extrémité $-NH_2$ libre du polypeptide et leur activité dépend souvent de la présence d'ions métalliques.
- Les carboxypeptidases débutent leur attaque par l'extrémité $-COOH$ libre du polypeptide. L'activité de ces différentes enzymes conduit à la libération de di- et tripeptides qui sont ensuite hydrolysés en acides aminés.

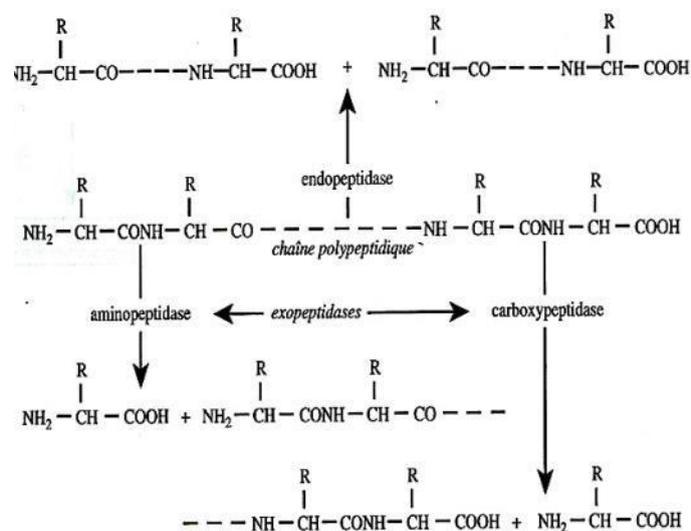


Figure 13 : Mode d'attaque de la chaîne polypeptidique

2.2.10. Catabolisme des acides aminés

Il existe deux voies principales : la désamination et la décarboxylation.

2.2.10.1. Désamination

Désamination oxydative

Elle conduit à la formation d'un iminoacide (molécule possédant à la fois un groupe fonctionnel COOH (carboxyle) et un groupe fonctionnel $>C=N-$ (imine) qui est ensuite hydrolysé en ammoniacque et en acide α -cétonique : elle fait intervenir des coenzymes flaviniques (FAD).

Désamination non oxydative

Peut être de trois types :

-La *désamination désaturante* produit l'ammoniacque et un acide insaturé (exemple : aspartate se transforme en fumarate).

-La *désamination par déshydratation* est particulière aux acides aminés hydroxylés (serine), elle est exclusivement microbienne. Il y a formation d'ammoniacque et d'un acide cétonique. La dégradation de la cystéine se fait par une réaction voisine mais il y a libération de SH₂ (cystéine sulfhydrase).

-La *désamination réductive* consiste en une réduction de l'acide aminé en acide saturé correspondant, avec formation d'ammoniacque.

-La *désamination couplée* (réaction de Stickland). Il s'agit d'une réaction d'oxydoréduction couplée entre deux acides aminés, l'un jouant le rôle d'accepteur d'hydrogène, l'autre de donneur.

Les acides issus de la désamination intègrent les voies du métabolisme glucidique : pyruvate (alanine, glycine, sérine, cystéine...), acétyl-CoA (leucine, isoleucine, lysine...), oxaloacétate (aspartate) ...

2.2.10.2. Décarboxylation

Les décarboxylases agissent sur les aminoacides pour former du CO₂ et une amine. Un milieu acide favorise la formation de décarboxylases alors que le milieu alcalin stimule celle de désaminases.

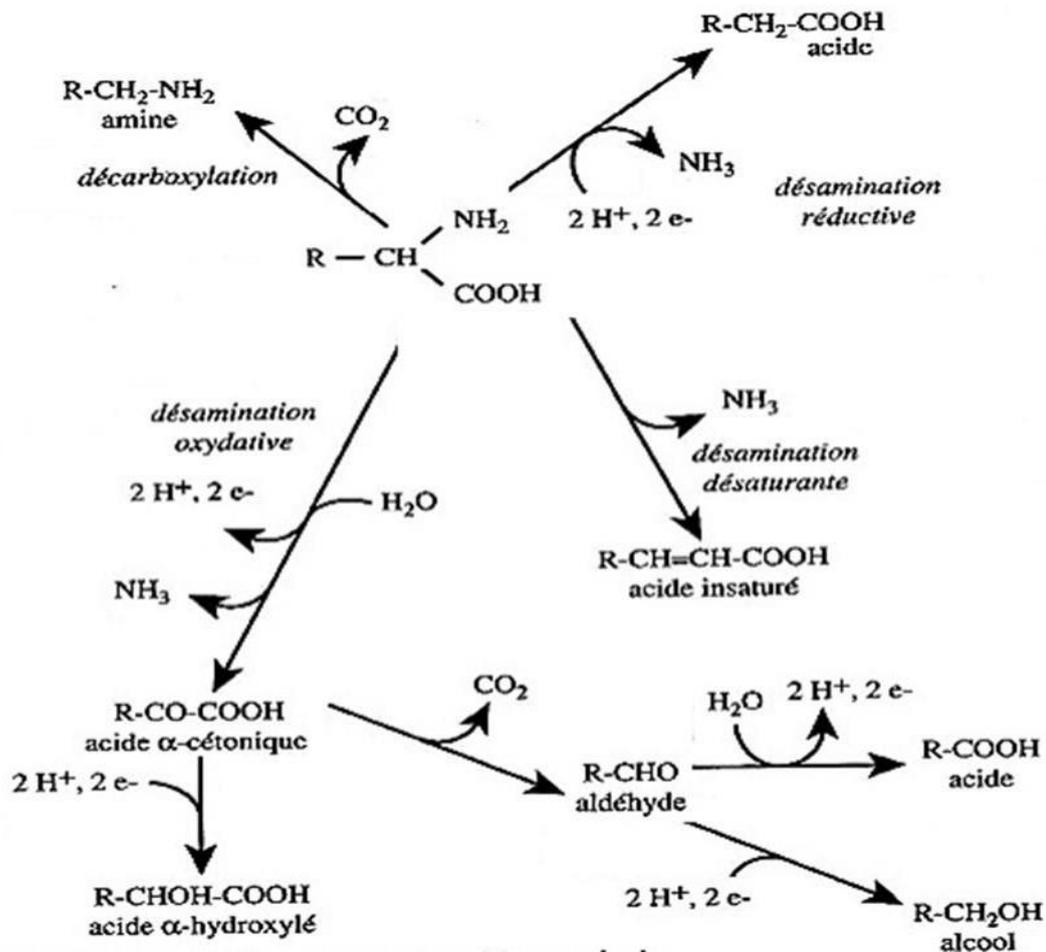


Figure 14 : Dégradation des acides aminés.

2.2.11. Dégradation des autres sucres

Pentoses

La dégradation des pentoses a été très bien étudiée chez les Entérobactéries et les Lactobacilles. Quel que soit le pentose métabolisé, sa dégradation aboutit à la formation de D-xylulose-5P, lequel est ensuite métabolisé par la voie de l'hexose monophosphate (cycle des pentoses) soit par celle des pentoses-phosphates (voie des bactéries hétérolactiques) avec intervention de la phosphocétolase. Selon le pentose de départ, il y a intervention d'isomérases, transcétolases et transaldolases, avant d'aboutir au xylulose-5P. L'assimilation du xylose chez les bactéries fait intervenir une isomérase.

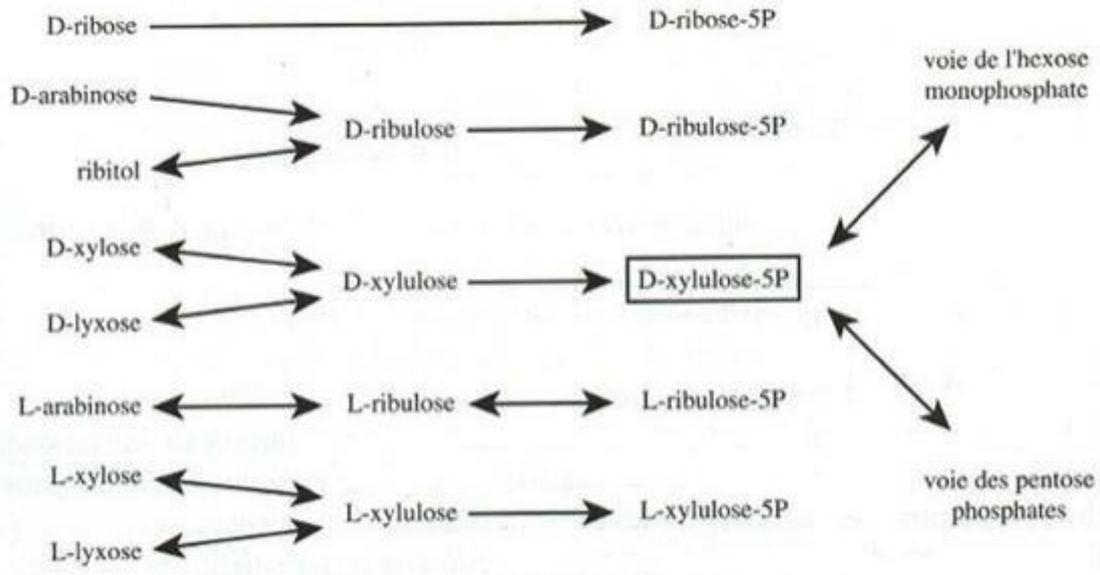


Figure 15 : Schéma général du métabolisme des pentoses.

Fructose

Le fructose peut être soit oxydé en 5-céto-D-fructose par la D-fructose-NADP-5oxydo-réductase (*Acetobacter cerinus*, bactérie aérobique stricte), soit phosphorylé en fructose-1 (*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.

Mannose

Le mannose peut être catabolisé par deux mécanismes différents : un mécanisme cyclique et un mécanisme non cyclique. Les deux mécanismes existent pour l'isomère D, alors que l'isomère L semble n'être catabolisé que par le mécanisme non cyclique.

Dans le mécanisme cyclique (*Aerobacter aerogenes*), le D-mannose est phosphorylé en mannose-6P, qui est ensuite transformé en fructose-6P (métabolisé ensuite par la glycolyse). La phosphorylation du mannose se fait par transfert du phosphate du glucose-6P au mannose. Le glucose 6P est ensuite régénéré soit par isomérisation du mannose-6P en fructose-6P, soit par phosphorylation directe du glucose, grâce à une glucokinase. L'utilisation du L-mannose fait intervenir le mécanisme non cyclique. Le L-mannose est d'abord converti en L-fructose par une isomérase. Il y a ensuite phosphorylation du fructose en fructose-1P, lequel est coupé en dihydroxyacétone-phosphate et en L-glycéraldéhyde, dont la métabolisation s'effectue par la glycolyse.

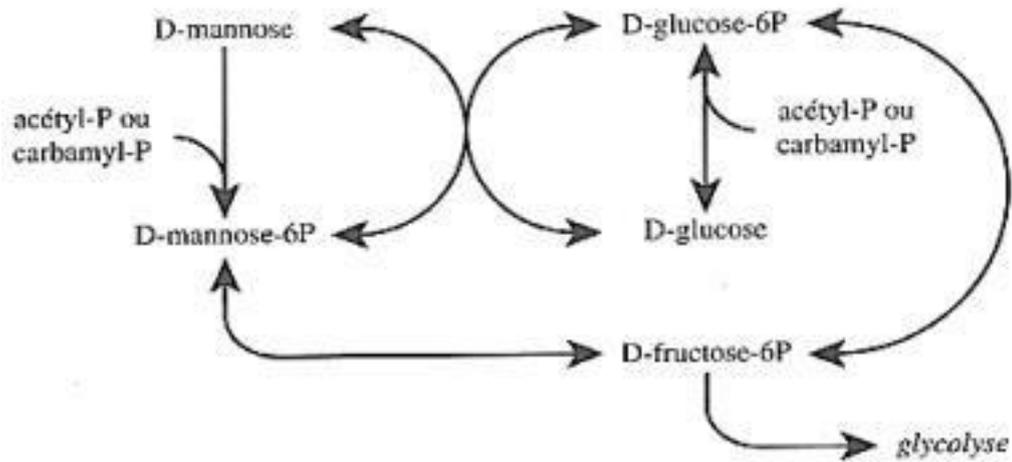


Figure 16. Métabolisme cyclique du mannose.

Saccharose

Le saccharose est d'abord hydrolysé en glucose et fructose par l'invertase présente chez de nombreuses levures (*Saccharomyces cerevisiae*), de nombreuses moisissures (*Aspergillus niger*) et de nombreuses bactéries (*Clostridium pasteurianum*). Le glucose et le fructose sont dégradés par les voies précédemment décrites. Le saccharose est hydrolysé à l'extérieur de la cellule chez les levures et moisissures. Chez de nombreuses bactéries (bactéries lactiques, *Bacillus subtilis*), le saccharose est transporté à l'intérieur de la cellule sous forme de saccharose-P et ensuite hydrolysé en glucose-6P et fructose. Chez diverses bactéries (*Bacillus subtilis*, *Zymomonas*), il existe en outre une levane saccharase qui contribue à la synthèse des levanes.

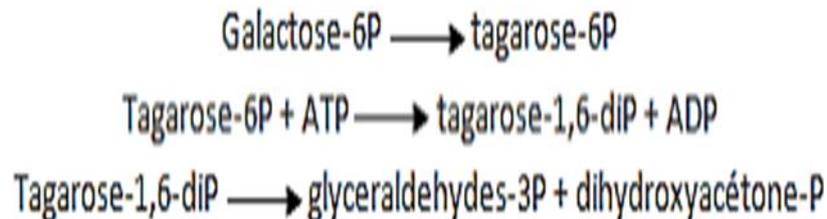
Lactose et galactose

De nombreux microorganismes possèdent une β -galactosidase : des levures (*Candida*), des moisissures (*Aspergillus*), des bactéries (*E. coli*, *Lactobacillus*, *Bacillus*). Après hydrolyse du lactose, le glucose formé est dégradé par l'une des voies précédemment décrites. Quant au galactose, il est dégradé, notamment chez les levures, par la voie de Leloir- Kalchar.

Le galactose provenant de l'hydrolyse du lactose est converti en glucose-6P par une série de trois réactions :

- Il est d'abord phosphorylé par l'ATP en galactose-1P sous l'action de la galactokinase, métabolite directement utilisable par la cellule après isomérisation en glucose-6P.
- La phosphogalactose-uridyl transférase catalyse le transfert du galactosyl du galactose-1P à l'UDP-glucose avec libération de glucose-1P.
- La troisième réaction, catalysée par l'UDP-galactose-4 épimérase, est une épimérisation du galactosyl en glucosyl par inversion de la configuration de l'hydroxyl en position 4.

Chez *Escherichia coli*, le métabolisme du lactose dépend d'une perméase spécifique et utilise *la voie de Leloir* comme chez la levure. Chez *Lactobacillus casei*, le lactose est phosphorylé par un système phosphotransférase en lactose-P qui est scindé dans la cellule en glucose et en galactose-6P; la métabolisation a lieu par *la voie du tagarose*. *La voie du tagarose* est également utilisée chez *Staphylococcus aureus* pour le métabolisme du lactose et du galactose.



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.

2.2.12. Catabolisme des Alcools

Dégradation du glycérol

Le catabolisme du glycérol a été étudié chez les Entérobactéries, les lactobacilles, les bactéries acétiques et chez *Clostridium butyricum*. Le glycérol est dégradé, en particulier chez les bactéries acétiques, par deux voies (Figure 17). *Acetobacter suboxydans*, qui ne possède pas de cycle de Krebs, peut cependant métaboliser le glycérol. Cette bactérie est utilisée pour la production de dihydroxyacétone, intermédiaire de la dégradation du glycérol. Les Entérobactéries catabolisent le glycérol en le transformant en dihydroxyacétone en

glycéraldéhyde-3P, lesquels sont ensuite dégradés par la voie de la glycolyse. Le processus est uniquement fermentaire. Le catabolisme du glycérol chez *Escherichia coli* fait intervenir une glycéról kinase qui donne naissance à l' α -glycérophosphate, qui est encore transformé en dihydroxyacétone- phosphate.

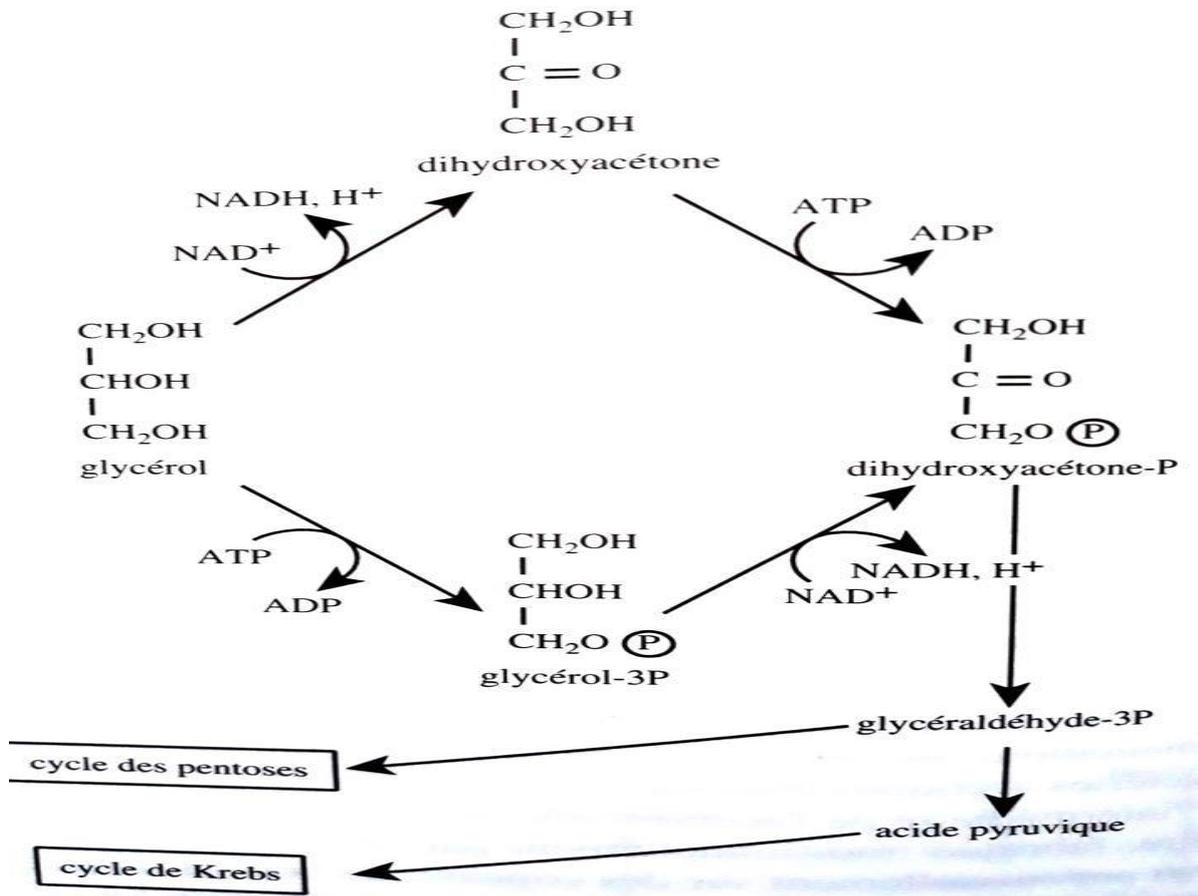


Figure 17 : Catabolisme de Glycérol

Dégradation de l'éthanol

L'éthanol peut être dégradé totalement en CO_2 et H_2O comme chez certaines levures (*Brettanomyces, debaryomyces*) comme il peut être transformé en acide acétique (*Acetobacter, Gluconobacter*). Dans les deux cas, la première étape conduit à la formation d'acétaldéhyde. Dans le cas des levures, l'acétaldéhyde est incorporé dans le cycle de Krebs par oxydation en acétyl-CoA. Cette dégradation est aérobie. Dans le cas des bactéries acétiques, l'acétaldéhyde est transformé directement en acide acétique. Cette fermentation (base de la fabrication du vinaigre) est aérobie. Certaines bactéries acétiques peuvent ensuite transformer l'acide acétique en CO_2 et H_2O .

2.2.13. Fermentations Microbiennes

La fermentation est un processus qui aide à décomposer les grosses molécules organiques via l'action de micro-organismes en molécules plus simples. Par exemple, les enzymes de levure convertissent les sucres et les amidons en alcool, tandis que les protéines sont converties en peptides ou acides aminés.

La fermentation est un processus générateur d'ATP (Tableau II) dans lequel des composés organiques servent à la fois de donneurs d'électrons (devenant oxydés) et d'accepteurs d'électrons (devenant réduite). Les glucides sont les principaux substrats de la fermentation. Certains composés appartenant à d'autres classes chimiques peuvent également être fermentés ; acides organiques, acides aminés, purines et pyrimidines.

Tableau II : Le rendement énergétique de certaines fermentations microbiennes

Fermentation	Energie
Fermentation alcoolique	2 mol ATP/mol glucose
Fermentation propionique (glucose)	4 mol ATP/mol glucose
Fermentation propionique(lactate)	0.3 mol ATP/ mol lactate
Fermentation des acides aminés	0.3 mol ATP /mol acides aminés
Fermentation homolactique	2 mol ATP/ mol glucose
Fermentation hétérolactique	1 mol ATP/ mol glucose
Fermentation hétérolactque des <i>Bifidobacterium</i>	2.5 mol ATP/mol glucose
Fermentation acides mixtes	2.5 mol ATP/mol glucose
Fermentation Butanediolique	2.5 mol ATP/mol glucose
Fermentation butyrique	3 mol ATP/mol glucose

La fermentation est un moyen naturel d'améliorer les vitamines, les acides aminés essentiels, les anti nutriments, les protéines, l'apparence des aliments, leurs saveurs et leur arôme amélioré. Les actions microbiennes sur les ingrédients alimentaires ont tendance à fermenter les aliments, entraînant des changements biochimiques souhaitables responsables d'une modification significative de l'aliment.

Selon l'équipement enzymatique des espèces bactériennes, on obtiendra différents produits de fermentation à partir du pyruvate (Figure 18) ; il peut aussi être complètement oxydé. De nombreuses fermentations ont un intérêt industriel ou diagnostique.

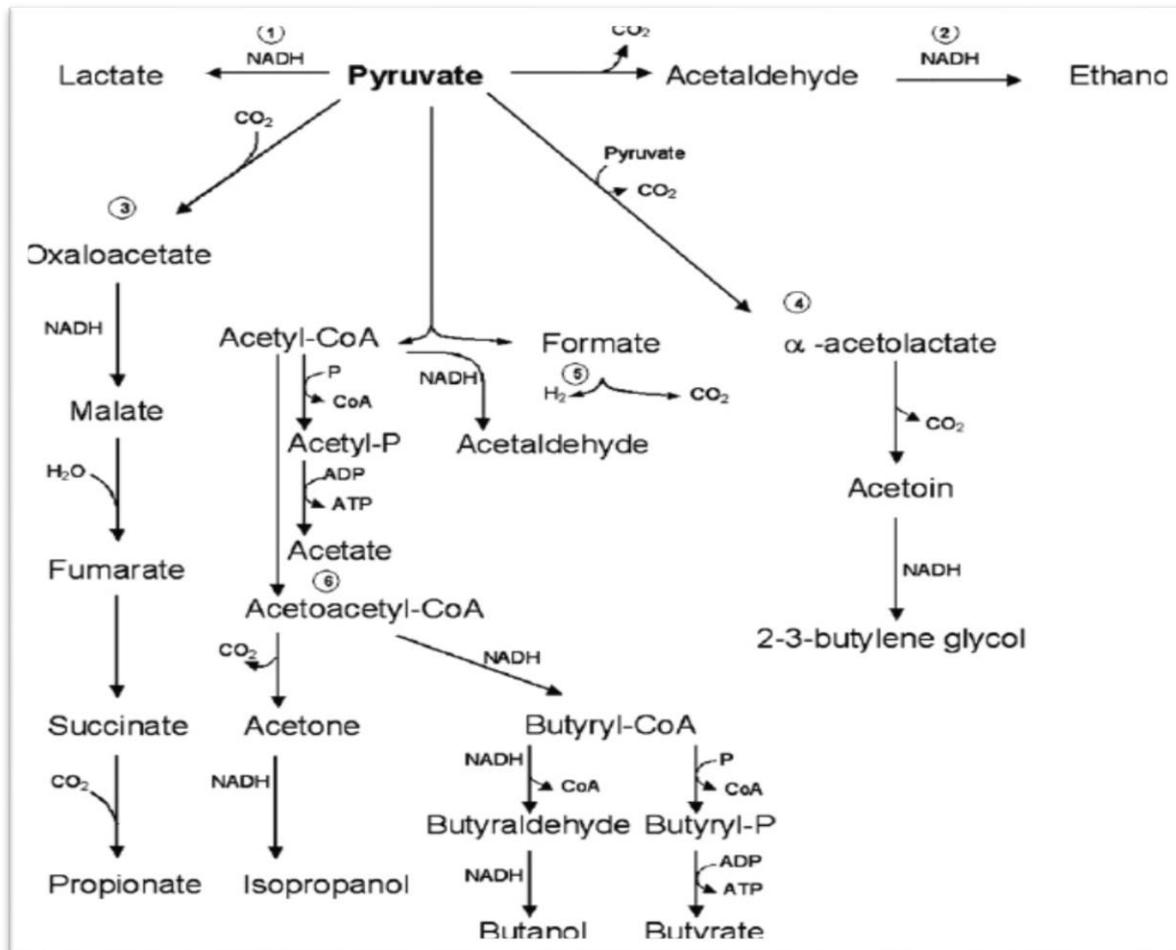


Figure 18 : Fermentations microbiennes liées au pyruvate. (1) : Bactéries lactiques (*Bacillus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*). (2) : levures, *Zymomonas mobilis*. (3) : *Propionibactérium*. (4) : *Enterobacter*, *Serratia*. (5) : Entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*).

2.2.12.1. Fermentation lactique

Dans le métabolisme des bactéries lactiques, la fermentation lactique peut synthétiser un variété d'acides organiques dont l'acide lactique. Cette fermentation est divisée en fermentation homolactique et hétérolactique. *Lactobacillus* effectuent une fermentation homolactique, tandis que *Leuconostoc* et *bifidobacterium* effectuent la une fermentation hétérolactique. Les voie de fermentation homolactique et hétérolactique des sucres sont mentionnées dans la Figure. L'acide lactique est un acide organique essentiel en tant que matière première industrielle avec plusieurs applications dans l'agriculture, l'alimentation, la

pharmacie, la médecine, les industries chimiques, la protection de l'environnement et les cosmétiques (Figure 19).

2.2.12.2. Fermentation homolactique

La première partie de la fermentation homolactique du glucose en lactate est la voie oxydative en utilisant le glucose comme source de carbone pour produire le pyruvate et les équivalents réducteurs par la glycolyse. Les équivalents réducteurs s'accumulent sous forme de NADH₂. Dans la deuxième partie de cette fermentation, les équivalents réducteurs sont réoxydés et le pyruvate agit comme accepteur d'électrons et est réduit en lactate sous l'action de lactate déshydrogénase. Cette deuxième réaction utilise NADH₂. Qui régénère le NAD.

2.2.12.3. Fermentation hétérolactique

Les bactéries lactiques de la famille hétérolactique, le glucose peut être décomposé en lactate, éthanol, acétate et CO₂. Cette dénomination fermentation hétérolactique s'explique par la présence d'autres composés à côté de l'acide lactique.

2.2.12.4. Fermentation acides mixtes

La fermentation des sucres s'effectue via la voie de la glycolyse, ce qui donne une grande diversité de produits de fermentation, de l'acide lactique, de l'acide acétique, de l'acide succinique, de l'acide formique et de l'éthanol (Figure 20).

2.2.12. 5. Fermentation butylène glycolique

La fermentation butylène glycolique s'accompagne de la production de l'acétoïne et 2,3 butanediol. Une caractéristique métabolique fermentative unique d'*Enterobacter* et de *Serratia* et de certaines espèces d'*Erwinia* est la formation d'un produit final neutre (butanediol). Les propriétés métaboliques des membres de la famille des Enterobacteriaceae sont utiles pour les caractériser et les distinguer. L'acétoïne qui, par oxydation à l'air, donne du diacétyl (responsable du goût du beurre et produit lors de la maturation de la crème). Le butanediol qui peut être transformé en butadiène et servir pour la synthèse du caoutchouc synthétique (Figure 20).

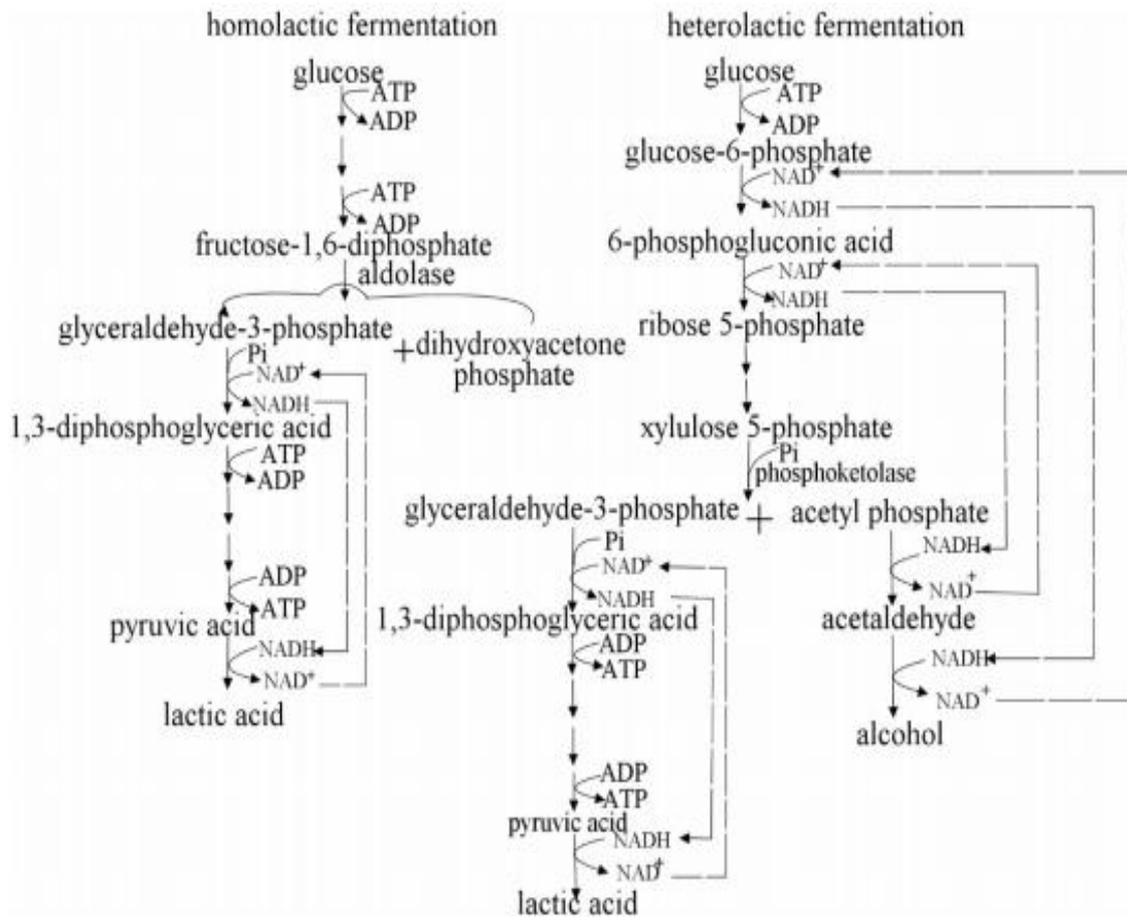


Figure 19 : Fermentation homolactique et hétérolactique

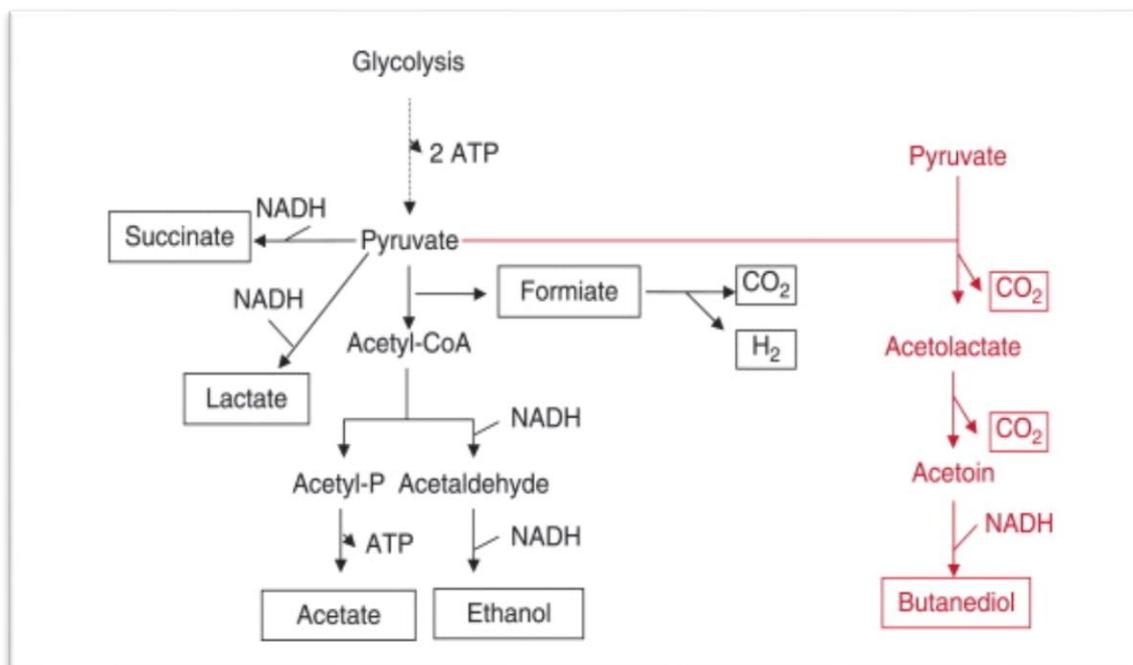


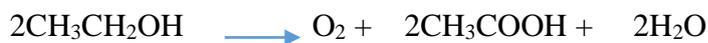
Figure 20 : Fermentation acides mixtes et butylène glycolique

2.2.12.6. Fermentation acétique

L'acide acétique de qualité alimentaire peut être produite par le processus du vinaigre en deux étapes. La première étape est la production d'éthanol à partir d'une source de glucides telle que le glucose. Ceci est réalisé à 30-32 C en utilisant la levure anaérobie *Saccharomyces cerevisiae*



La deuxième étape est l'oxydation de l'éthanol en acide acétique. Bien que diverses bactéries puissent produire de l'acide acétique, seuls les membres d'Acétobacter sont utilisés commercialement tel que la bactérie *Acetobacter aceti*. Cette fermentation est une oxydation incomplète car les équivalents réducteurs générés sont transférés en oxygène et non au dioxyde de carbone :



2.2.12.7. Fermentation propionique

La fermentation propionique est effectuée par plusieurs bactéries appartenant au genre *Propionibactérium* et à l'espèce *Clostridium propionicum*. Pendant la fermentation de l'acide propionique, le sucre et le lactate peuvent être utilisés comme substrat initial. Lorsque le sucre est disponible, ces bactéries utilisent la voie de la glycolyse pour produire du pyruvate. Le pyruvate est carboxylé en oxaloacétate, puis réduit en propionate via le malate, le fumarate et le succinate. Les autres produits finaux de la fermentation propionique sont l'acide acétique et le CO₂ en proportions variables. Elle correspond à la fermentation secondaire de certains fromages à pâte cuite (gryuère et emmenthal), l'acide propionique est un acide carboxylique naturel intervenant dans la saveur et le CO₂ étant à l'origine des trous. L'acide propionique est largement utilisé comme conservateur et stabilisant alimentaire dans l'industrie alimentaire (Figure 21).

2.2.12.8. Fermentation butyrique

Fermentation butanoïque (anciennement butyrique). Réalisée par *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, et d'autres, elle donne lieu aux sous-produits suivants (butyrate). C'est la fermentation type des boîtes de conserve avariées, caractérisée par une mauvaise odeur, de la production de gaz, de l'acidité. *Clostridium butyricum*, que l'on trouve souvent et grande quantité dans l'ensilage, peut se retrouver dans le lait et provoquer dans les meules et gryuère ou d'emmenthal une fermentation l'acide lactique en acide butyrique et hydrogène provoquant leur éclatement (Figure 21).

La majeure partie de l'acide butyrique est consommée dans la fabrication de plastiques. Une certaine quantité d'acide butyrique est utilisée pour fabriquer des herbicides. Il est également utilisé comme intermédiaire pour les produits pharmaceutiques, les émulsifiants et les désinfectants, comme agent de tannage du cuir et comme agent édulcorant dans l'essence. Il est utilisé dans la synthèse des parfums d'esters de butyrate et dans la fabrication d'esters dont certains servent de base aux ingrédients aromatisants artificiels de certaines liqueurs, sirops d'eau gazeuse, bonbons. Une autre utilisation est comme additif alimentaire dans les arômes de beurre, de fromage, de caramel au beurre, de caramel, de fruits et de noix. L'acide butyrique est également utilisé dans la conservation des grains de blé très humides afin de prévenir la détérioration fongique.

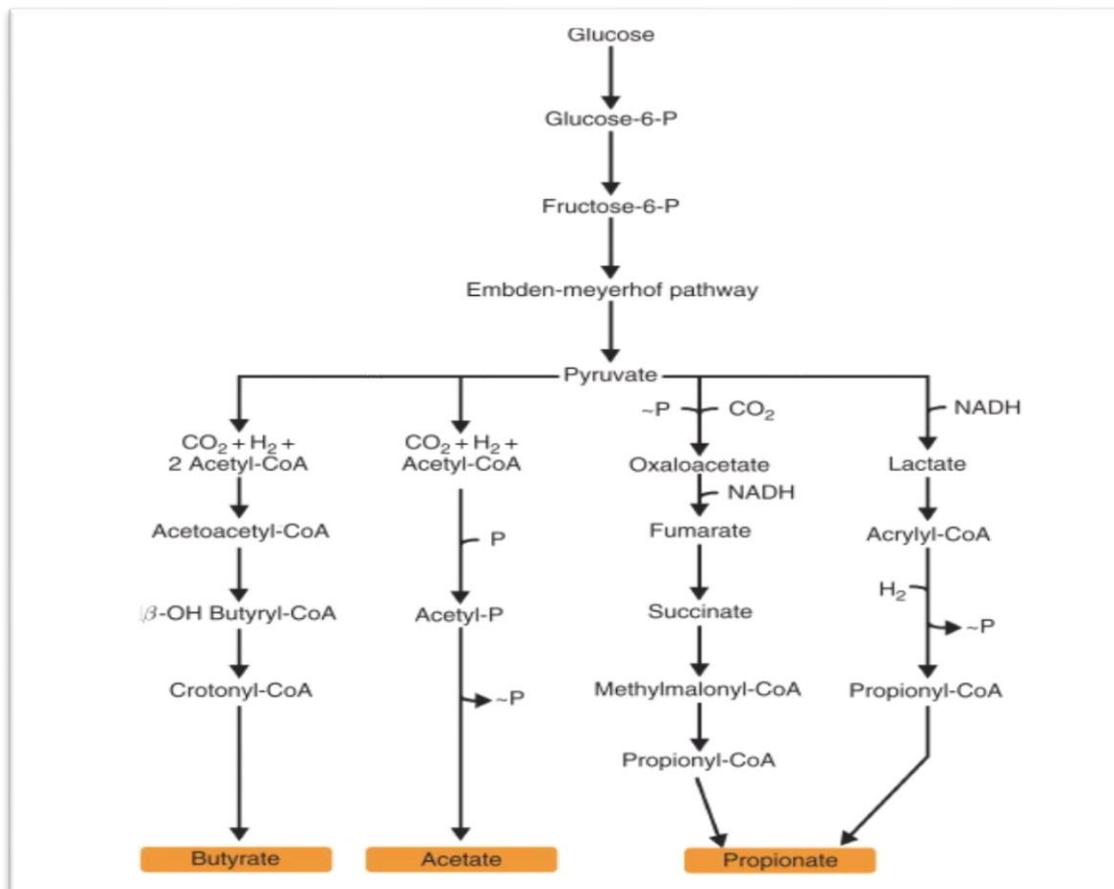


Figure 21 : Fermentation propionique et butyrique

2.2.12.9. Fermentation acétono-butylique

La fermentation acétono-butylique est basée sur la culture de diverses souches de *Clostridia* dans des milieux riches en glucides. Dans des conditions anaérobies pour produire du butanol et de l'acétone. *Clostridium acétobutylicum* est l'organisme de choix dans la production de ces solvants organiques. Ces fermentations n'étaient pas à la mode jusqu'à très récemment en raison de la disponibilité d'acétone et de butanol issus de l'industrie pétrolière. Ces fermentations suscitent aujourd'hui un intérêt considérable. Cependant, la concentration de produits finaux dans ces fermentations est assez faible et les fermentations sont un type de fermentation mixte donnant un mélange de composés tels que comme l'acide butyrique, le butanol, l'acétone (Figure 22).

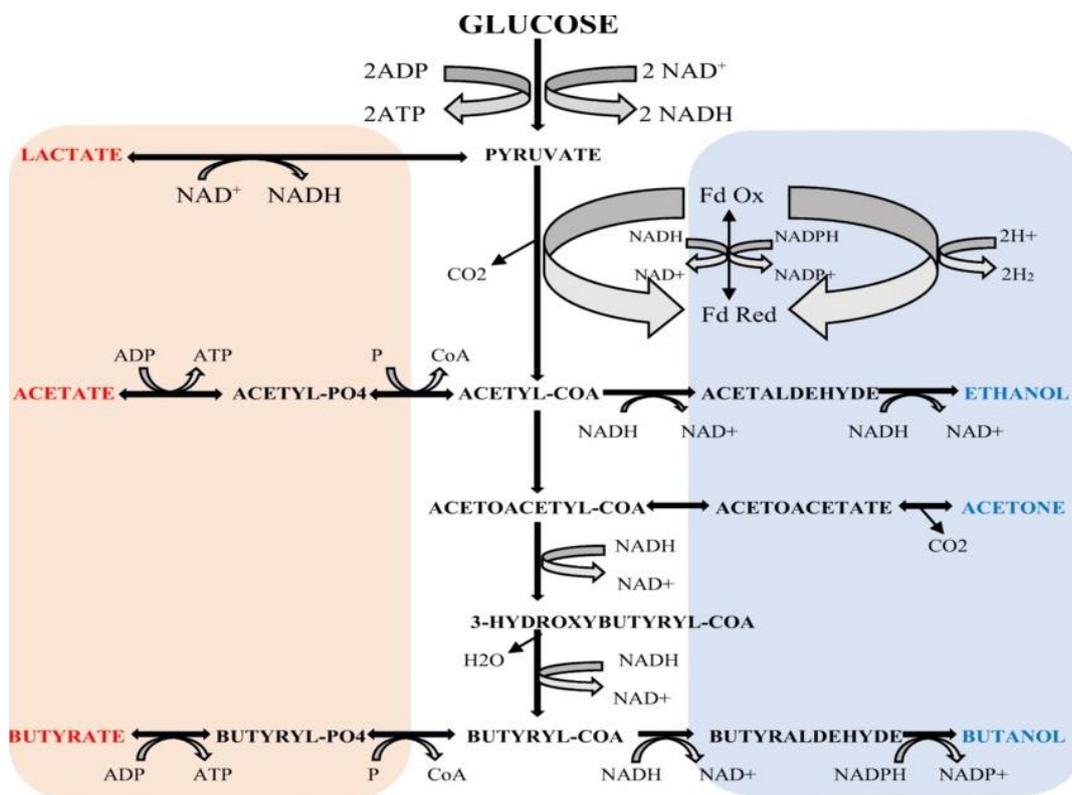


Figure 22: Fermentation acétonobutylique.

2.2.12.10. Fermentation kojique

L'acide kojique est un produit métabolique fongique produit par quelques espèces d'*Aspergillus*, en particulier par *A. oryzae*, qui porte le nom commun japonais koji (Figure 23). L'acide kojique a été isolé pour la première fois en 1907 par Saito à partir de mycéliums d'*A. oryzae* cultivés sur du riz cuit à la vapeur. En 1912, Yabuta lui donna le nom d'acide kojique et ce n'est qu'en 1924 qu'il déchiffra la structure correcte de la molécule de cet acide.

L'acide kojique est un inhibiteur de la croissance des bactéries, des champignons et de la multiplication des virus. En raison de ses propriétés antibactériennes, antioxydantes et protectrices de la couleur, l'acide kojique est utilisé dans l'industrie cosmétique et dans l'industrie alimentaire comme précurseur d'exhausteurs de goût (maltol et éthylmaltol), sur les fruits coupés pour éviter le brunissement oxydatif, anti-rassissement des fruits et légumes, ainsi que dans les fruits de mer et les viandes pour préserver les couleurs roses et rouges. L'acide kojique est largement consommé dans l'alimentation japonaise avec la conviction qu'il est bénéfique pour la santé.

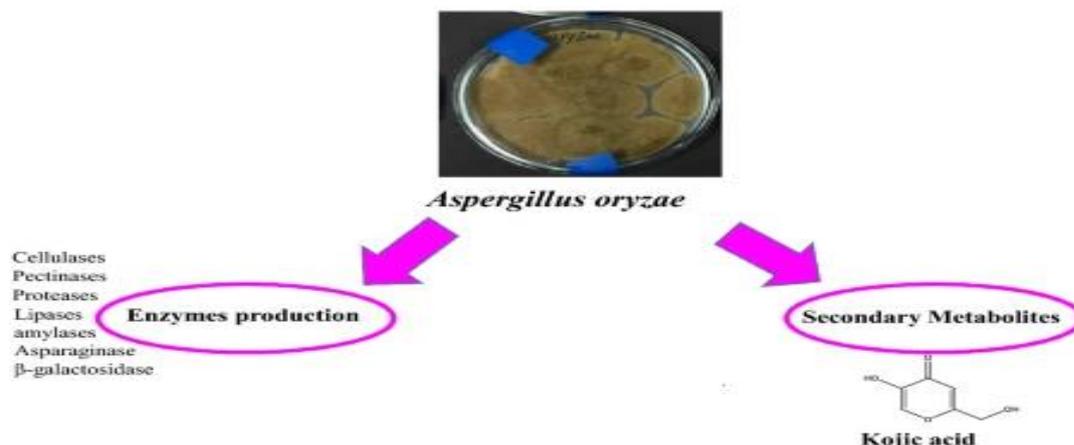


Figure 23 : Certains intérêts d'*Aspergillus oryzae* dans la biotechnologie.

2.2.12.13. Fermentation gluconique

L'acide gluconique (acide pentahydroxycaproïque, $C_6H_{12}O_7$) est le produit d'oxydation du glucose, présent naturellement dans les plantes, les fruits et autres sources naturelles. La forme physiologique D de l'acide gluconique est généralement formée par

l'oxydation microbienne du glucose (Figure 24). L'acide gluconique est produit commercialement à partir d'acides organiques fongiques, à partir de glucose ou saccharose utilisant des souches sélectionnées d'*Aspergillus niger*. L'acide gluconique est un produit qui présente un grand intérêt pour beaucoup applications, dans divers secteurs industriels ; comme détergent et produits pharmaceutiques (carence en fer et en calcium).

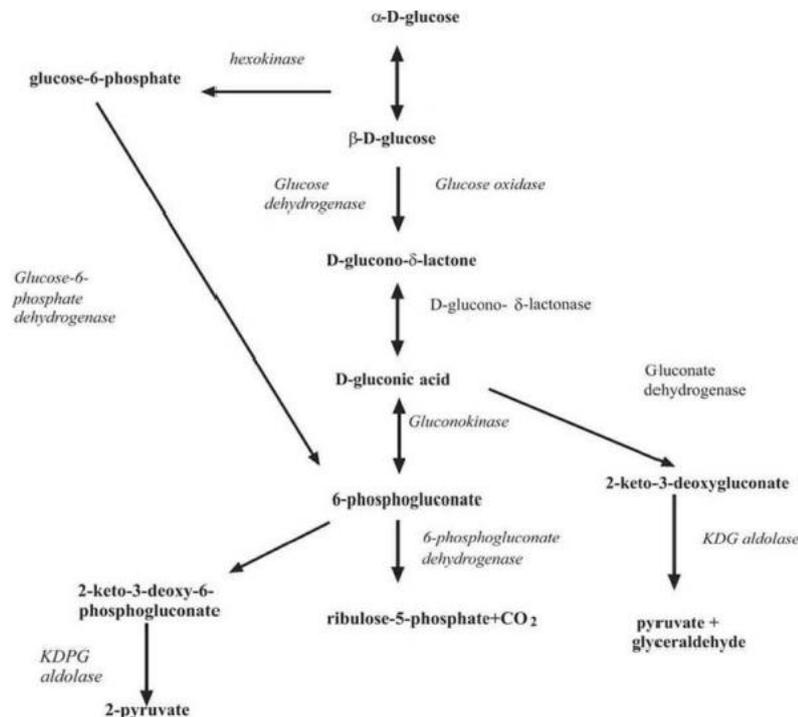


Figure 24: Fermentation gluconique.

2.2.12.14. Fermentation citrique

L'acide citrique (C₆H₈O₇) est un constituant des agrumes, tels que l'orange et le citron, qui étaient à une certaine époque la seule source industrielle de cet acide. Cependant, il y a plus d'un siècle, on a découvert que l'acide citrique était un produit du métabolisme de moisissures, et plus particulièrement d'*Aspergillus niger* (le meilleur champignon producteur). En effet, la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* est largement utilisée dans l'alimentation, comme additif alimentaire, mais aussi dans la composition des détergents et des cosmétiques.

2.2.12.15. Fermentation oxalique

L'acide oxalique et ses sels sont utilisés comme réactifs dans analyses, comme dans la synthèse de nombreux composés organiques. En raison de son pouvoir réducteur élevé, il est utilisé comme agent de blanchiment. *Aspergillus niger* est capable de produire une quantité assez élevée en acide oxalique utilisant le saccharose comme source de carbone et d'énergie.

2.2.12.16. Fermentation itonique

La voie métabolique pour la production d'acide itaconique a été étudiée chez *Aspergillus terreus*. L'acide itaconique est produit à partir de l'acide cis-aconitique, un intermédiaire du cycle de l'acide citrique. Le glucose de l'environnement extracellulaire est converti en pyruvate via glycolyse, suivi par décarboxylation oxydative pour générer de l'acétyl-CoA. Dans le mitochondrion, l'acétyl-CoA et oxaloacétate forment l'acide citrique via le citrate synthase. L'acide citrique est déshydraté en acide cis-aconitique, qui est transporté vers le cytosol par un transporteur et converti en acide itaconique par l'acide cis-aconitique décarboxylase (Figure 25). Il est largement utilisé pour la production de polymères. L'acide itaconique présente également une certaine activité antimicrobienne.

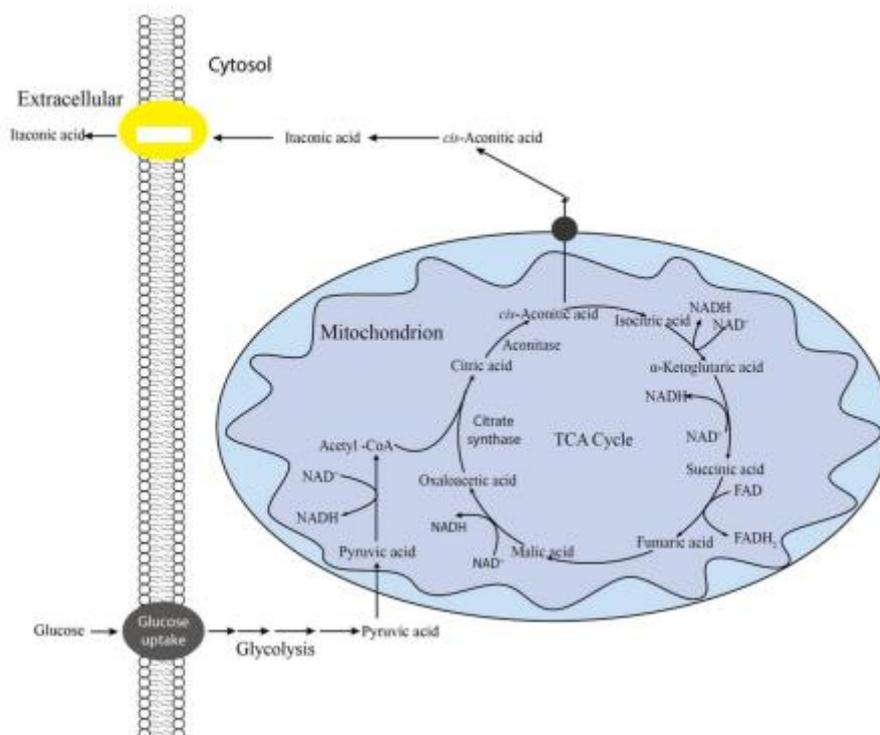


Figure 25: Fermentation itaconique.

2.2.13. Photosynthèse

Chez les microbes, la photosynthèse peut être anoxygénique (ne produit pas d'oxygène) et oxygénique (produit de l'oxygène). Les Cyanobactéries sont des microbes présentant une photosynthèse oxygénique. Ce groupe, auparavant appelé algues bleu-vert, comprend des formes unicellulaires (ex : *Synechococcus*) et filamenteuses (ex: *Anabaena*). L'appareil de photosynthèse des Cyanobactéries est localisé dans des systèmes membraneux intracytoplasmiques appelés thylacoïdes, qui sont couverts par des phycobilisomes contenant des composants photosensibles. Ces pigments captent l'énergie lumineuse. Les pigments absorbant la lumière peuvent être divisés en chlorophylles, qui absorbent la lumière rouge (> 640 nm) et bleue (<440 nm), et en caroténoïdes, phycobiliprotéines, phycoérythrine et phycocyanine, appelés pigments accessoires, car ils absorbent la lumière non captée par les chlorophylles (470-630 nm). Ces pigments sont disposés de façon hautement organisée pour maximiser le transfert d'énergie lumineuse en photosystème I (PS I) qui absorbe la lumière de 700 nm et en photosystème II (PS II) qui absorbe la lumière de 680 nm. La photosynthèse chez les algues est similaire à celle des Cyanobactéries (Figure 26).

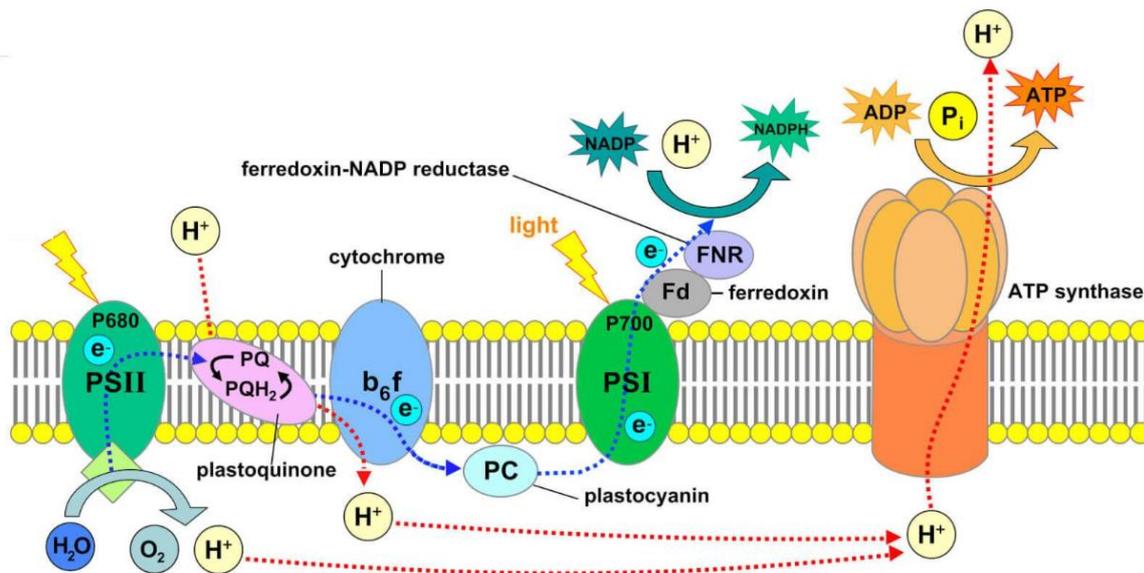


Figure 26 : Photosynthèse chez les cyanobactéries.

2.2.13.1. Photophosphorylation oxygénique

Le flux d'électrons chez les Cyanobactéries est initié lorsque le PSI transfère l'énergie lumineuse à la chlorophylle P700. Le potentiel de réduction de la molécule devient alors plus négatif. Elle peut alors donner un électron à une autre chlorophylle. L'électron est ensuite transféré à une ferredoxine et peut cheminer dans l'une de ces deux voies :

1- La voie cyclique implique un mouvement d'électrons à travers une série de transporteurs d'électrons et le retour à la P700 avec genèse d'ATP après formation d'un gradient transmembranaire de protons. Ce processus est appelé photophosphorylation cyclique et nécessite seulement un photosystème (Figure 27).

2- Dans la voie non cyclique, l'ATP se forme lorsque des électrons sont transférés au niveau du PS II ou du PS I. Ce processus est appelé photophosphorylation non cyclique. La voie non cyclique génère un ATP et un NADPH + H (Figure 27)..

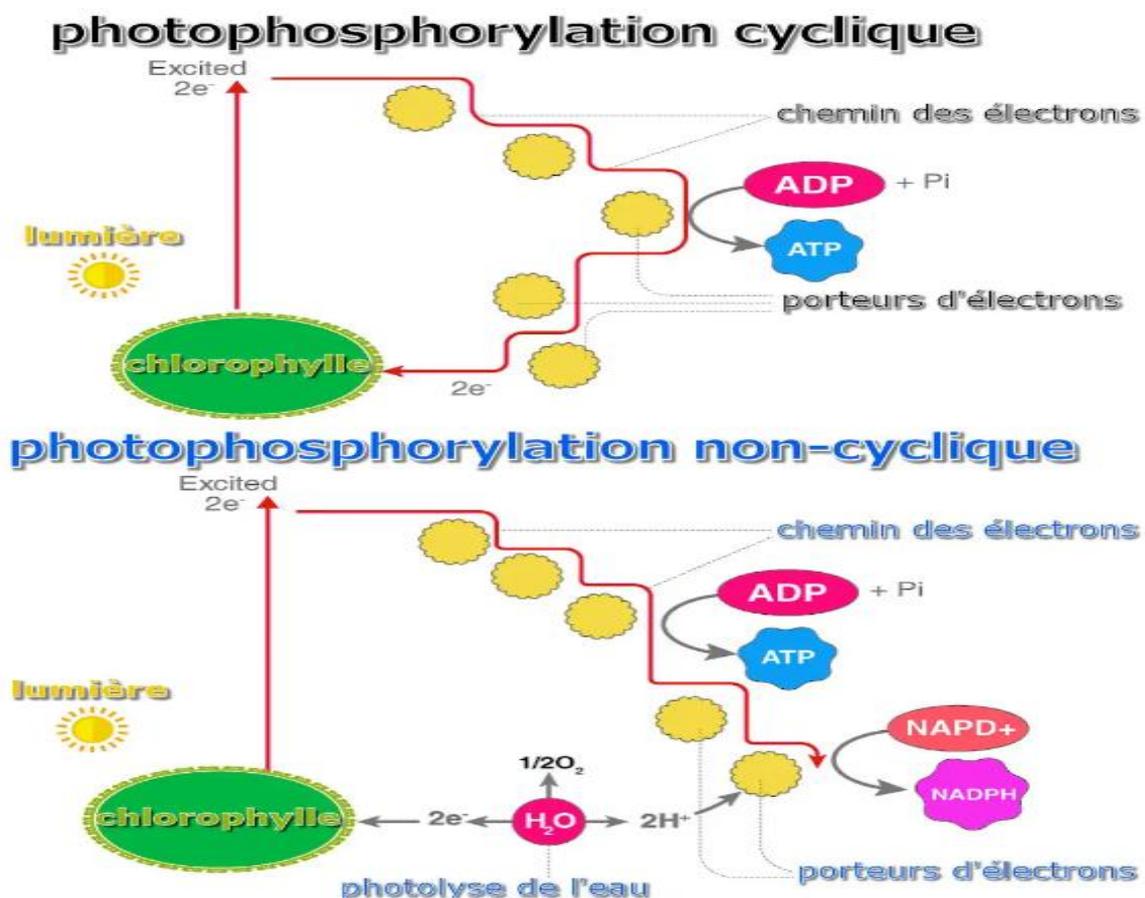


Figure 27 : Phosphorylation cyclique et non cyclique.

2.2.13.2. Photosynthèse anoxygénique

Les bactéries vertes et pourpres diffèrent des Cyanobactéries dans la mesure où la plupart sont des anaérobies stricts et n'utilisent pas l'eau comme source d'électrons. Ces organismes utilisent du H_2 , H_2S et du soufre comme donneur d'électrons et possèdent des pigments photosensibles différents (bactériochlorophylles) qui absorbent la lumière sur de grandes

longueurs d'ondes : bactériochlorophylle a (absorption maximale à 775 nm) et bactériochlorophylle b (79 nm). On pense que ces changements reflètent les longueurs d'ondes disponibles à l'intérieur de leurs niches écologiques. Les deux groupes n'ont pas de PSII, par conséquent, ils ne produisent pas d'oxygène et de NADPH + H par la photosynthèse. Les deux présentent un transport cyclique d'électrons qui peut être utilisé pour générer de l'ATP. Ces organismes sont incapables de synthétiser du NADPH + H directement par le mouvement photosynthétique d'électrons. Les bactéries vertes sulfureuses présentent une forme non cyclique de flux d'électrons pour réduire le NAD. Les bactéries roses ne possèdent pas ce genre de mécanisme; elles génèrent du NADPH + H* soit par le flux inverse d'électrons, soit par la présence de H₂, le NADH + H pouvant être produit directement car le H, a un potentiel de réduction plus négatif que le NAD.

2.2.213.3. Réactions de Dark (Cycle de Calvin)

Si le CO₂ est utilisé comme source de carbone, les Cyanobactéries et les bactéries pourpres utilisent le cycle de Calvin pour la fixation (Fig. 3). La réaction stoechiométrique globale est:



Pour synthétiser du glucose, le cycle doit tourner six fois. Chez les bactéries vertes, le cycle d'acide citrique réducteur est utilisé et le CO₂ est transformé au acétyl CoA

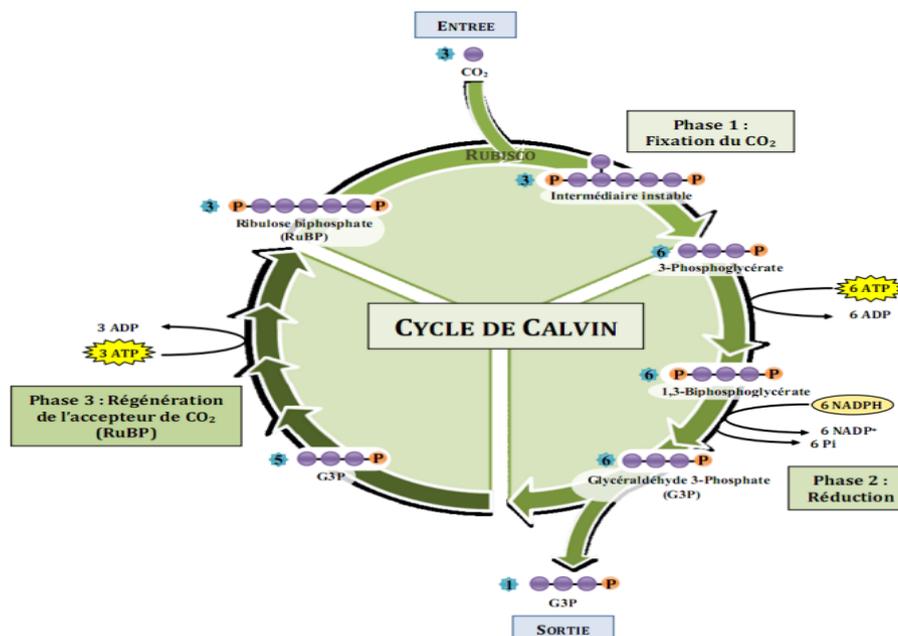


Figure 28 : Cyle de Calvin

2.2.14. Anabolisme**2.2.14.1. Biosynthèse des acides gras**

Les acides gras sont les précurseurs d'une variété d'éléments constitutifs importants tels que les phospholipides, les sphingolipides, les stérols, en tant que métabolites secondaires et molécules de signalisation, ou ils sont attachés aux protéines. Étant donné que la dégradation des acides gras produit une grande quantité d'ATP et d'équivalents réducteurs, ils représentent également un composé de stockage approprié pour l'énergie et le carbone. Les acides gras sont stockés sous forme de Triacylglycérol (TAG) ou d'esters de cire, tandis que le stockage des acides gras hydroxylés sous forme de polyhydroxyalcanoates est limité aux espèces bactériennes.

Dans un premier temps, le malonyl-CoA est formé par carboxylation de l'acétyl-CoA, aux présences de l'ATP. La coenzyme A est ensuite échangée par la protéine porteuse d'acyle (ACP), ce qui donne du malonyl-ACP. L'ACP empêche la dégradation de la chaîne d'acides gras en croissance et son utilisation pour des réactions anabolisantes. Avec le malonyl-ACP, le premier tour du cycle de biosynthèse des acides gras commence par une condensation initiale du malonyl-ACP avec l'acétyl-CoA, produisant de l'acétoacétyl-ACP et de la coenzyme A libre. Ce dernier est ensuite réduit en 3-hydroxybutyryl-ACP, déshydraté en 2-buténoyl-ACP et encore réduit en butyryl-ACP. Le butyryl-ACP entre à nouveau dans le tour suivant du cycle par condensation avec le malonyl-ACP.

La synthèse des acides gras s'arrête lorsqu'une certaine longueur de chaîne est atteinte et l'acyl-ACP est utilisé pour la synthèse membranaire. Les deux étapes de réduction nécessitent deux équivalents de réduction, dérivés du nicotinamide adénine dinucléotide (NADPH). Pour métaboliser les acides gras, ils doivent être activés en esters d'acylCoA. l'acyl-CoA formé est consommé via la β -oxydation. La dégradation des composés acyl-CoA se déroule un cycle qui inverse les étapes de la biosynthèse des acides gras, entraînant la libération d'une unité d'acétyl-CoA dans chaque cycle. La β -cétotiolase catalyse la dernière étape du cycle dans laquelle de l'acétyl-CoA et un acyl-CoA (réduit de deux atomes de carbone) se forment (Figure 29).

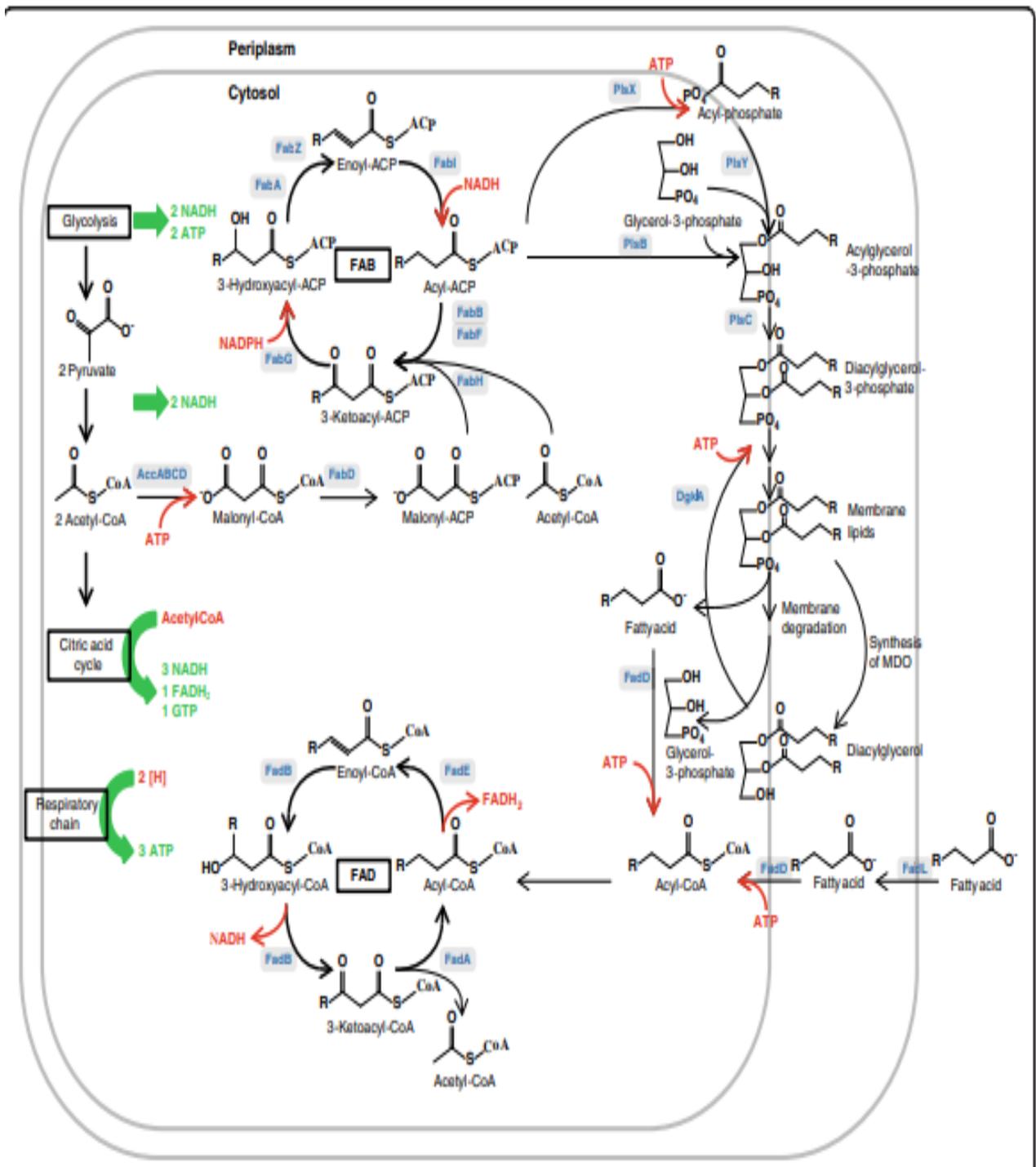


Figure 29 : La dégradation et le métabolisme des acides gras.

2.2.14.2. Biosynthèse des phospholipides

E. coli ne possède que trois espèces majeures de phospholipides dans ses membranes, ce qui en fait c'est l'un des organismes les plus simples à étudier en ce qui concerne la biosynthèse des phospholipides. La phosphatidyléthanolamine constitue la majeure partie des phospholipides (75 %), avec le phosphatidylglycérol et la cardiolipine formant le reste (15-

20 % et 5 à 10 %, respectivement). Le schéma de synthèse des phospholipides membranaires suit la voie Kennedy classique (Figure). The three major phospholipid species in *E. coli* are synthesized by a total of six different enzymatic activities: (1) phosphatidate cytidyltransferase (Cds); (2) phosphatidylserine synthase (Pss); (3) phosphatidylserine décarboxylase (Psd); (4) phosphatidylglycerolphosphate synthase (PgsA); (5) phosphatidylglycerolphosphate phosphatase (PgpA or PgpB); et (6) cardiolipin synthase (Cls).

La biosynthèse des phospholipides est liée à la glycolyse grâce à l'utilisation du phosphate de dihydroxyacétone (DHAP), formé à partir du glycérol-3-phosphate via sa réduction par le NADH, catalysée par le glycérophosphate déshydrogénase (Figure 30).



Figure 30. Synthèse des phospholipides polaires

2.2.14. 3. Anabolisme des acides aminés

Les acides aminés synthétisés dans la cellule sont utilisés, pour la plus grande partie d'entre eux, pour la formation de protéines car de nombreux systèmes de régulation sont présents dans la cellule. Les squelettes des acides aminés sont dérivés de l'acétyl CoA, ainsi que d'intermédiaire du cycle des acides tricarboxyliques, de la glycolyse et du cycle de pentose phosphates. Afin de rendre le processus efficace et économique, les précurseurs de la biosynthèse d'acides aminés proviennent de quelques voies amphiboliques principales. Vingt acides aminés sont nécessaires pour la biosynthèse des protéines, et ils sont formés à partir des précurseurs métaboliques répertoriés dans le tableau III. Il ressort de ce tableau que seuls quelques composés servent de substrats dans la synthèse des acides aminés.

L'utilisation de l'azote moléculaire n'est possible que chez un nombre limité de microorganismes (*Azotobacter*, *Achromobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Actinomyces*, certains *Clostridium*, bactéries photosynthétiques, *Cyanophycées*...), dont certains sont symbiotiques (*Rhizobium*, *Frankia*).

Tableau III Précurseurs utilisés pour la biosynthèse des acides aminés

Précurseur	Acides aminée
Pyruvate	Alanine, valine, leucine
Oxaloacétate	Aspartate, Asparagine, méthionine, lysine, isoleucine, thréonine
α -cétoglutarate	Glutamate, glutamine, arginine, proline
3-phosphoglycerate	Sérine, glycine, cystéine
PEP et érythrose 4 phosphate	Phénylalanine, tyrosine, tryptophane
Ribose 5 phosphate	Histidine