Chapitre II : Enzymes d'intérêt industriel

I. Introduction

Au cours des dernières décennies, l'exploitation des enzymes en industrie a connu une grande expansion. Elles présentent des avantages recherchés en industrie tel que la spécificité, le faible besoin énergétique, le fonctionnement dans des conditions douces et extrêmes et l'usage « *safe* » : ne causant aucun problème de toxicité environnementale ou physiologique.

Les enzymes industrielles : sont des enzymes bien étudiées, à activité importante, stables et adaptées à l'application dans un large éventail de contextes industriels. Leur comportement cinétique doit être déterminé par une modélisation mathématique appropriée.

Le terme « enzyme industrielle » est apparu à la fin du 19ème et le début du 20ème siècle, les premières enzymes isolées et produites à l'échelle industrielle étaient l'invertase et l'amylase.

II. Sources

Les enzymes sélectionnées pour avoir un intérêt industriel peuvent avoir plusieurs sources : végétale, animale ou microbienne. Les enzymes industrielles sont produites à **50 %** par des champignons, **35 %** par des bactéries et **15 %** par des sources animales et végétales.

II.1. Source végétale

Des enzymes ont été extraites de matières végétales sous une forme plus ou moins brute.

Un bon exemple en est la protéase « papaïne » traditionnellement extraite de la plante de papaye sous une forme très brute. Les formes pures disponibles aujourd'hui sont utilisées essentiellement dans la transformation de la viande.

II.2. Source animale

Un exemple de ceci est la chymosine bovine extraite pour la transformation des produits laitiers. Celle-ci a été traditionnellement extraite de l'estomac de veau sous une forme brute. Le développement de l'ingénierie génétique et agroalimentaire a permis sa production industrielle par des microorganismes.

II.3. Source microbienne

Les microorganismes constituent la source préférée pour la production d'enzymes, et ce, principalement pour des raisons économiques et techniques :

Avantages de l'utilisation de micro-organismes comme source d'enzymes

a. **La production extracellulaire d'enzymes** (le plus souvent), ce qui simplifie l'extraction et la purification. Même lorsque la production de l'enzyme est intracellulaire, l'extraction à partir de cellules microbiennes est plus facile que celle à partir d'autres sources.
b. **La diversité** : la disponibilité d'un nombre très important de souches microbiennes dont les enzymes sont dotées de pouvoir catalytiques très diversifiées qui nous permet de « choisir » des enzymes avec les propriétés dont on a besoin.
c. **Temps / espace réduits** : la production d'enzymes microbiennes nécessite peu de temps et elle est réalisée dans de petites installations, ce qui entraîne une réduction du coût, du temps et d'espace. Pour les sources animales et végétales, les animaux et les plantes doivent être transportés vers des installations d'extraction, la purification est difficile et la production en générale est relativement lente.
d. **La disponibilité** : la disponibilité de la source productrice qui est la souche microbienne permet d'avoir des rendements de production élevés. Par contre, la disponibilité des enzymes d'origine animale et végétale dépend également de la quantité, de la période de l'année… ce qui réduit le rendement total et limite la capacité de production continue.
e. **Stabilité élevée** : Par exemple, les enzymes obtenues à partir de microorganismes thermophiles présentant une tolérance à de hautes températures.
f. **Facilité de d'optimisation** :
   L'activité d'une enzyme produite par un microorganisme donné est facilement soumise à des procédés d'optimisation afin d'augmenter le pouvoir catalytique de l'enzyme. Cette optimisation se fait par la modification des conditions et des composants du milieu de culture utilisé pour atteindre le niveau maximal de production/activité enzymatique à des couts réduits.

Des enzymes issues de microorganismes génétiquement modifiés sont conçues afin d'améliorer les propriétés de l'enzyme. Par contre, les modifications génétiques des animaux et des plantes sont techniquement plus difficiles, et éthiquement plus sensibles.

NB : Les enzymes extraites des microorganismes vivant dans des environnements extrêmes (extrêmophiles) sont très intéressants en industrie, elles peuvent tolérer de très hautes/basses températures, des teneurs en sel très élevées (5 à 30 %), pH très acide ou bien très alcalin (pH 0–3 ou 10–12)…

III. Critères de choix d'une enzyme industrielle

Pour une application industrielle donnée, les critères de choix d'enzyme doivent être bien étudiées afin de sélectionner, parmi une gamme d'enzymes industrielles, l'enzyme idéale qui permet un rendement meilleur pour la fin désirée. Les critères incluent l'activité enzymatique, l'efficacité, la spécificité et la stabilité. Ceux-ci sont étudiés selon une matrice appelée : « matrice de décision » qui montre les points de force et de faiblesse de chaque enzyme candidate.

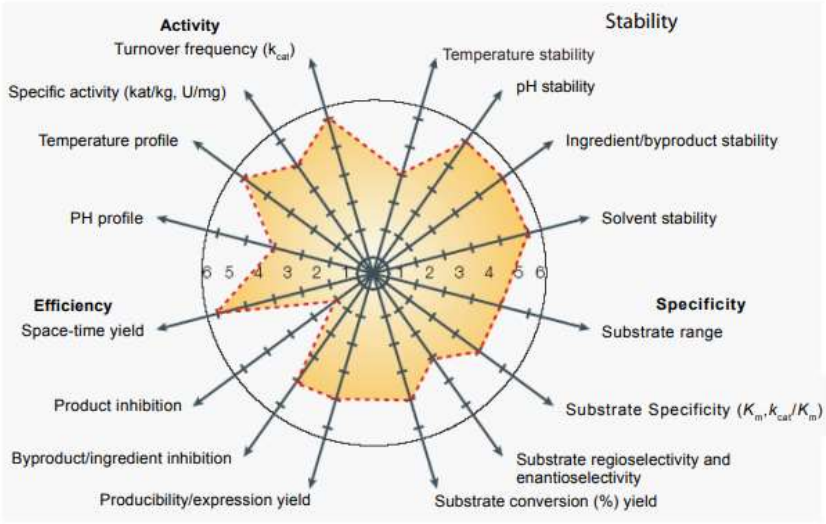


Fig1. Construction d'une matrice de décision pour une sélection efficace d'enzymes

- **L'Activité :**

Elle comprend l'activité spécifique de l'enzyme, la fréquence de son renouvellement, les profil pH et température de l'activité enzymatique.

- **L'efficacité :**

Le rendement obtenu par rapport à l'espace utilisé ainsi que le temps écoulé

La possibilité d'inhibition par le produit ou bien par les composants du milieu de production

Le rendement de la production

- **La stabilité :**

La stabilité de température et de pH

Stabilité en présence de composants/sous-produits

La stabilité dans le solvant

- **La spécificité :**

Gamme de substrat visée

Régioselectivité et énantiosélectivité

Rendement de conversion du substrat.

IV. Applications industrielles, analytiques et thérapeutiques des enzymes

IV. 1. Applications des enzymes dans le domaine alimentaire

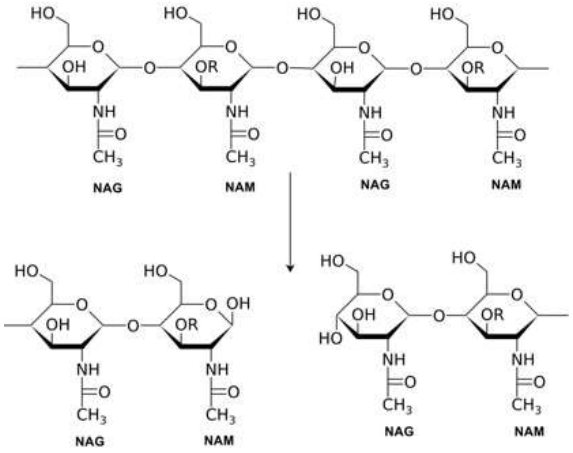
Les enzymes sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire pour la transformation et la persévération des aliments

IV.1.1. Préservation de la qualité hygiénique des aliments

Les effets bactéricide et bactériostatique de quelques enzymes contre les microorganismes pathogènes/d'altération sont exploitées en industrie :

a- Effet bactéricide : exemple des lysozymes

Les lysozymes attaquent les parois cellulaires des bactéries en hydrolysant les liaisons β-(1,4) glycosidiques entre l'acide N-acétylmuramique (NAM) et le N-acétylglucosamine (NAG) des chaînes de peptidoglycane, ce qui mène à la lyse des cellules bactériennes.



b- Effet bactériostatique : exemple du système Lactoperoxydase

Le système LPS (Lactoperoxydase/ thiocyanate /peroxyde d'hydrogène) est un système antibactérien naturellement trouvé dans le lait et la salive humaine. Il est actuellement utilisé industriellement pour la préservation de plusieurs aliments (viande, poisson, légumes et produits laitiers).

La lactoperoxydase catalyse l'oxydation du thiocyanate par le peroxyde d'hydrogène, produisant des produits d'oxydation **de courte durée de vie**, principalement l'ion hypothiocyanate.

L'ion hypothiocyanate agit sur les membranes bactériennes et altèrent la fonction des enzymes métaboliques, exerçant ainsi un effet inhibiteur sur la prolifération bactérienne.

Les bactéries à Gram positif et catalase négative, telles que les streptocoques et les lactobacilles, sont généralement **inhibées mais non tuées** par le LPS.

IV.1.2. Transformation des aliments

Exemple : utilisation de la présure

La présure est un extrait enzymatique de la caillette des jeunes ruminants constituée principalement des protéases chymosine (EC 3.4.23.4) et pepsine (EC 3.4.23.1) utilisé pour la coagulation du lait.

La chymosine permet la coagulation par hydrolyse de la caséine κ du lait spécifiquement entre **la phénylalanine 105** et la **méthionine 106**. Ceci conduit à la perte du caractère amphiphile de la caséine κ et à la libération d'un peptide insoluble dans l'eau : **la paracaséine** κ, et un deuxième hydrophile: **caséino-macropeptide** qui est soluble dans le lactosérum.

Le gène de bovins codant pour la **chymosine** a été surexprimé en 1980 dans des micro-organismes, ce qui a permis la commercialisation de la chymosine purifiée largement utilisée dans l'industrie fromagère.

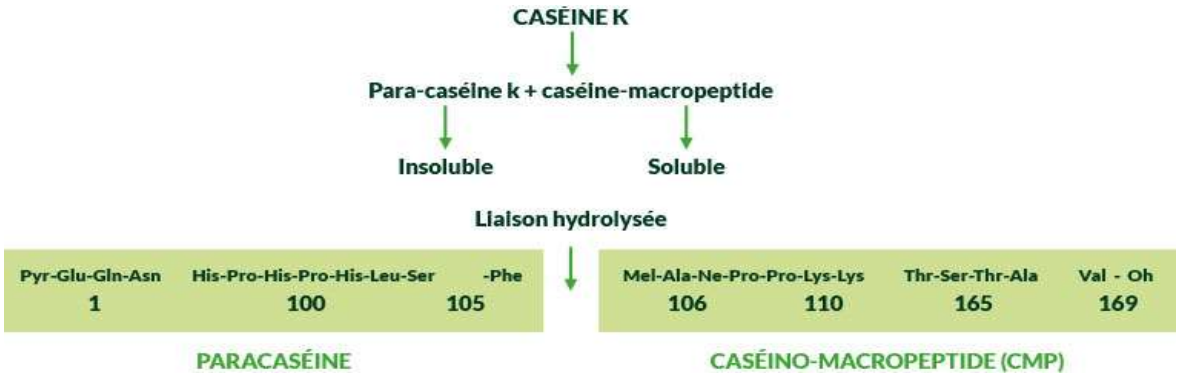
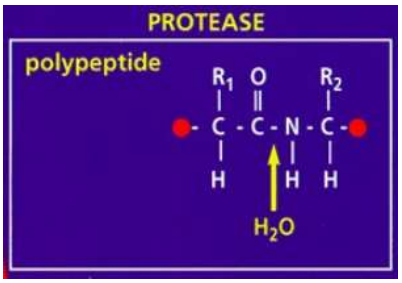


Fig. 2 : Action de la chymosine sur la caséine κ

IV. 2. Utilisation des enzymes dans l'industrie des détergents

Les enzymes sont utilisés dans la formulation des détergents en raison de leur pouvoir catalytique puissant qui vise spécifiquement la salissure à nettoyer, elles présentent également l'avantage d'un usage « *safe* » qui ne génère pas de problèmes de toxicité. Les enzymes les plus utilisés dans cette industrie sont les protéases, les lipases, les cellulases et les amylases.

IV. 2.1. Les protéases :

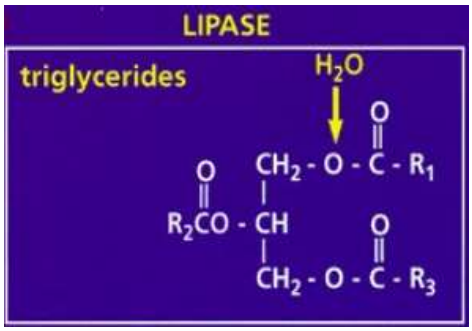


Ce sont les enzymes détergentes les plus utilisées, elles attaquent les taches protéiques comme le sang, les œufs et la sueur humaine en catalysant l'hydrolyse des liaisons peptidiques.

Les protéases sont divisées en quatre groupes principaux : sérine, thiol, aspartique et métalloprotéases.

Les protéases à sérine alcaline est le groupe le plus important et le plus utilisé dans les formulations des détergentes. Les protéases thiol (ou cystéine) sont facilement oxydées par les agents de blanchiment et donc ne sont pas utilisées dans les détergents. De même, les métalloprotéases ne sont pas utilisées dans les détergents car elles perdent leurs cofacteurs métalliques qui se complexent avec les agents adoucisseurs d'eau ou les ions hydroxyle.

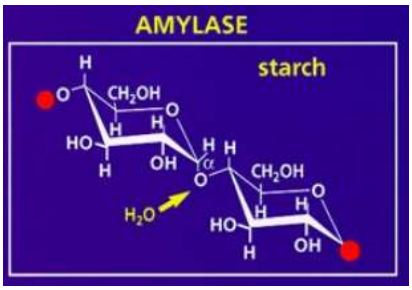
IV. 2.2. Les lipases :



Les lipases ciblent les taches à base de graisse, elles décomposent la liaison ester des triglycérides dans l'interface huile-eau et les hydrolysent en mono- et diglycérides plus hydrophiles, en acides gras libres et en glycérol.

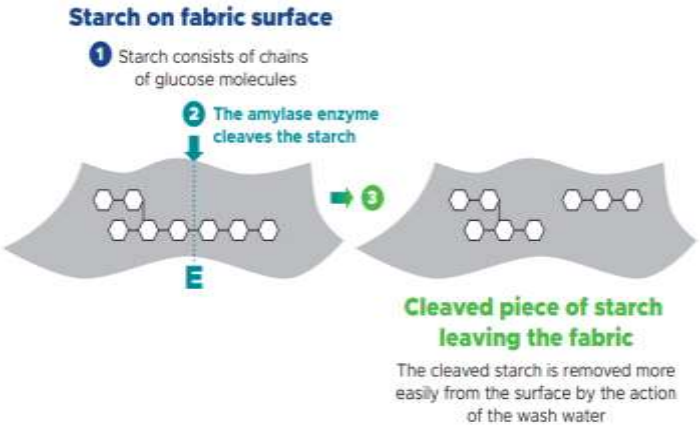
Plusieurs lipases thermostables sont utilisées dans les détergents, leur activité est maximale à environ 25 % d'eau (niveau atteint pendant le processus de séchage). La saleté éliminée après seulement deux lavages avec un détergent contenant de la lipase est égale à celle obtenue apèrs sept lavages sans lipase.

IV. 2.3. Les amylases :



L'α-amylase décompose la liaison glycosidique α-1,4 et hydrolyse l'amidon (amylose et amylopectine) en sucres de faible poids moléculaire.

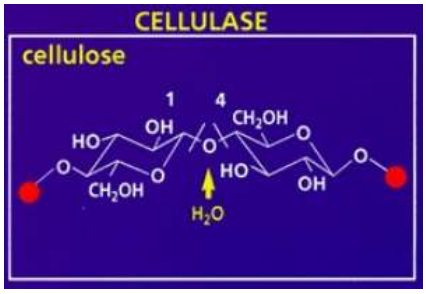
Ces enzymes sont ajoutées aux détergents pour dissoudre l'amidon et digérer les taches féculentes des pâtes, pommes de terre, sauces, spaghettis, crèmes, sauces et chocolat.



Elles réduisent la viscosité de l'amidon gélatinisé en hydrolysant les liaisons α-1,4 et augmentent la solubilité de l'amidon attaché.

IV. 2.4. Les cellulases :

Une cellulase est une enzyme qui hydrolyse les liaisons β-1,4-glucoside de la chaîne cellulosique. Les industries des détergents utilisent généralement une préparation contenant les principales cellulases :



- Endoglucanases (EC 3.2.1.4),
- Exoglucanases (EC 3.2.1.91),
- β-glucosidase (EC 3.2.1.21).

Elles sont capables d'éliminer les peluches de fibres de cellulose qui s'accumulent sur les vêtements en coton. Elles éliminent également la saleté solide et rendent les tissus lisses.

IV. 3. Applications analytiques et thérapeutiques

Les enzymes sont utilisées en médecine, dans les recherches scientifiques et dans l'industrie pharmaceutique.

IV. 3.1. Application dans le domaine de la recherche : exemple de la Taq polymérase

La Taq polymérase est une ADN polymérase utilisée pour l'amplification de l'ADN dans la PCR (polymerase chain reaction). Cette enzyme est extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*, un microorganisme thermophile vivant près des sources chaudes.

La Taq polymérase peut résister à de très hautes températures, elle est utilisée dans la PCR car elle résiste à des températures où l'ADN est dénaturé : 95°C.

IV. 3.2. Application dans le domaine analytique : exemple du dosage de l'urée par un biocapteur enzymatique

Un biocapteur est un outil d'analyse composé d'une association d'un élément biologique (enzyme, anticorps, microorganisme…) et un transducteur physique (électrode, fibre optique…). Le principe est la transduction du signal biologique qui est la reconnaissance de l'analyte, en un signal détectable (électrique ou lumineux).

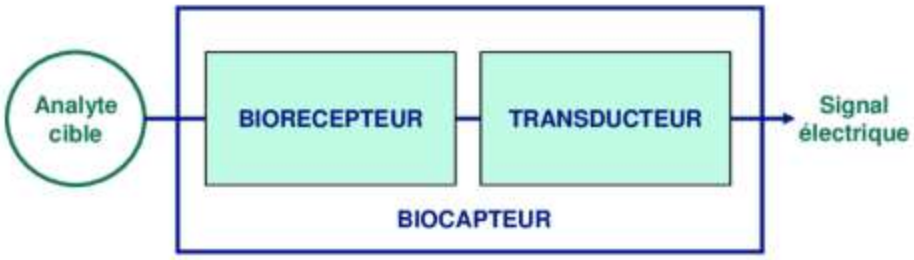


Fig.3. Composants d'un biocapteur

Le biocapteur à urée est très utilisé pour doser l'urée dans des fluides issus des procédures d'hémodialyse. Son mécanisme d'action est basé sur la mesure de la variation de pH produite dans un environnement aqueux qui est due à la génération des produits de la réaction catalysée par l'enzyme utilisé : l'uréase.

L'uréase, l'élément biologique détectant la présence de l'urée, est immobilisée à la surface du biocapteur, elle catalyse la dégradation de l'urée selon la réaction suivante :

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \xrightarrow{urease} 2NH_3 + H_2CO_3$$

Les ions produits causent une variation du pH, celle-ci est détectée par un couple électro actif qui le convertit en un potentiel électrique détectable.

IV. 3.2. Application dans le domaine médicale : exemple de l'utilisation de la L- asparaginase

L'asparaginase est une hydrolase qui catalyse l'hydrolyse de l'asparagine en NH3 et en L-Aspartate. Elle est indiquée dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique.

En effet, les cellules cancéreuses sont incapables de produire leur propre asparagine et le tirent du milieu extracellulaire, alors que les cellules saines le synthétisent. L'utilisation de l'enzyme asparaginase comme traitement est basée sur l'hydrolyse de l'asparagine extracellulaire pour diminuer son taux, ce qui mène à la mort des cellules cancéreuses.