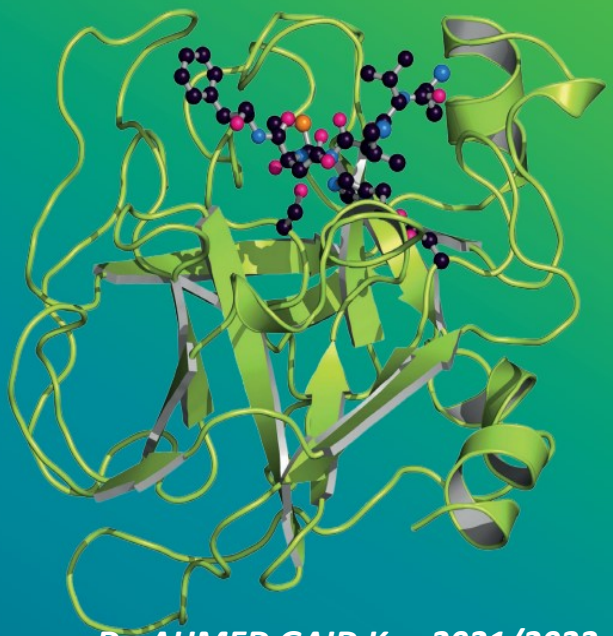
Centre Universitaire A. BOUSSOUF-MILA

Génie Enzymologie



Enzymes d'intérêt industriel

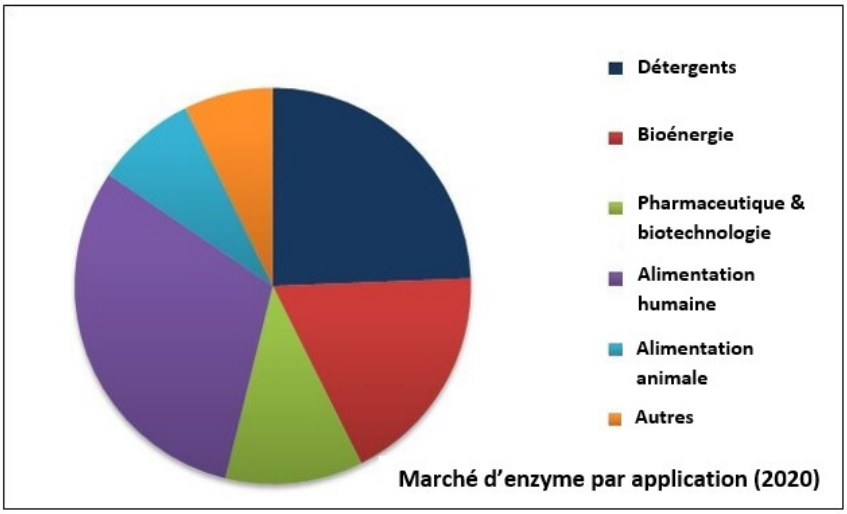
Dr. AHMED GAID K. 2021/2022

1. Enzymes industrielles

Ce 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.

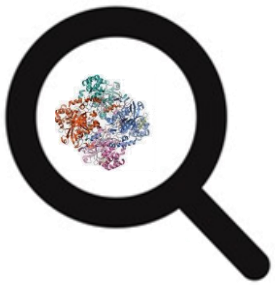
2. Marché mondial d'enzymes



Le marché mondial des enzymes a été estimé à 6429,50 millions de dollars en 2021 et devrait atteindre 9276,34 millions de dollars en 2028, avec un taux de croissance annuel moyen de 6,3 %.

3. Sources d'enzymes

- 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

3. Sources d'enzymes

3.1. Végétale

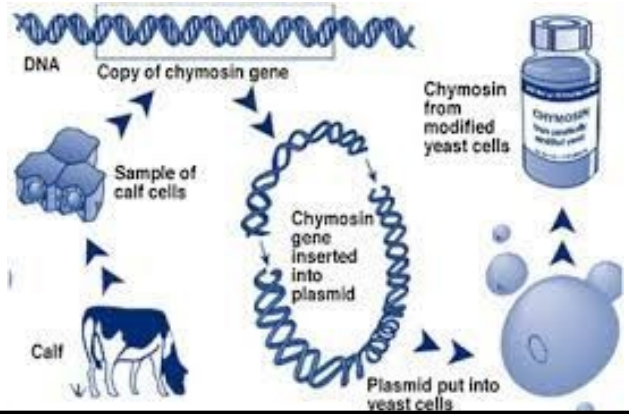
Un bon exemple en est la protéase « papaïne » traditionnellement extraite de la plante de papaye sous une forme très brute.

Les formes pures disponibles aujourd'hui sont utilisées essentiellement dans la transformation de la viande.

3. Sources d'enzymes

3.2. Animale

exemple : 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



3. Sources d'enzymes

3.3. Microbienne

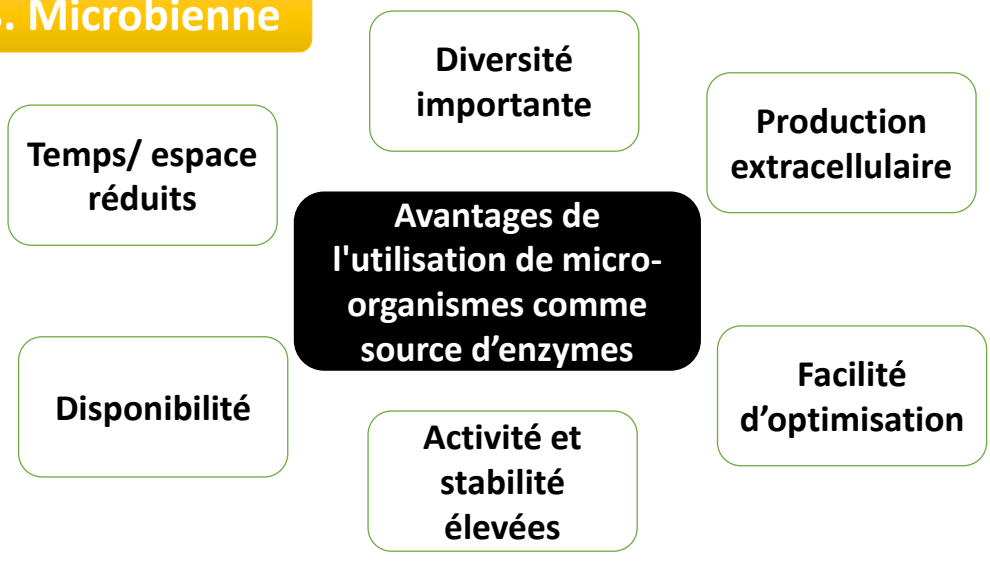
Les microorganismes constituent la source préférée pour la production d'enzymes, et ce, principalement pour des raisons économiques et techniques

Table Most commonly used microorganisms for food enzyme production

Filamentous fungi	*Aspergillus oryzae*	Barbesgaard *et al.*, 1992
	Aspergillus niger	Schuster, 2002
	Fusarium venenatum	Royer *et al.*, 1995
	Trichoderma reesei	Nevalainen *et al.*, 1994
Yeast	*Saccharomyces cerevisiae*	Sleep *et al.*, 2001
	Klyveromyces lactis	van den Berg *et al.*, 1990
Bacteria	*Bacillus licheniformis*	de Boer *et al.*, 1994
	Bacillus subtilis	de Boer and Diderichsen, 1991
	Escherichia coli	Flamm, 1991

3. Sources d'enzymes

3.3. Microbienne

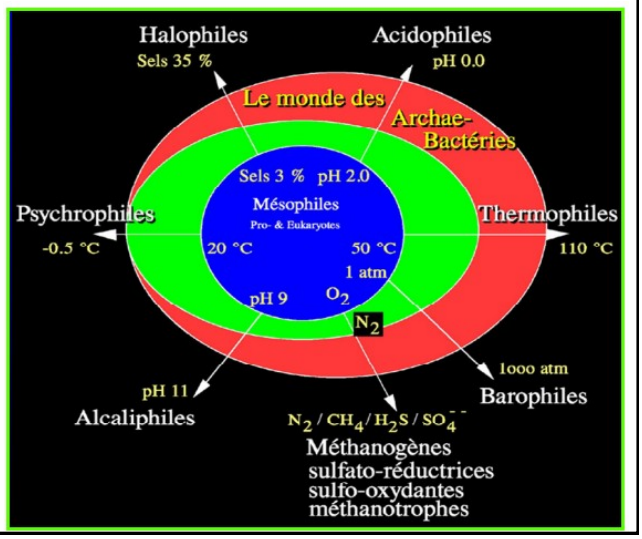


3. Sources d'enzymes

3.3. Microbienne

Les environnements extrêmes

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)…



3. Sources d'enzymes

3.3. Microbienne

Optimisation de l'activité/la production d'enzymes

la production d'une enzyme par un microorganisme donné est facilement soumise à des procédés d'optimisation afin d'augmenter le pouvoir catalytique ou bien le taux de production. Cette optimisation se fait par la modification des conditions et des composants du milieu 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

4. Critères de choix d'une enzyme

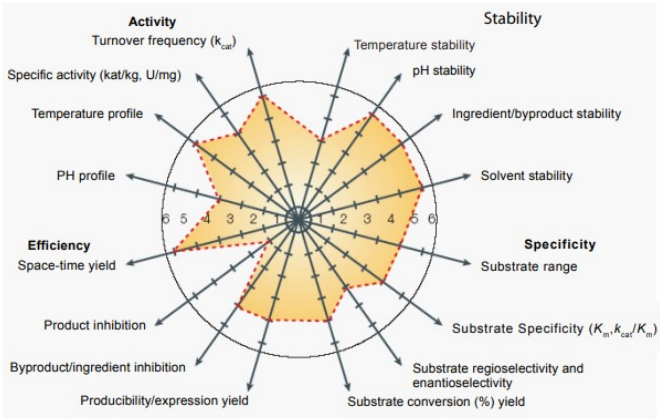
Pour une application industrielle donnée, les critères de choix d'enzyme doivent être bien étudié afin de sélectionner, parmi une gamme d'enzymes industrielles, l'enzyme idéale qui permet un rendement meilleur pour la fin désirée.

Critères à étudier

- **Activité**
- **Efficacité**
- **Spécificité**
- **Stabilité**

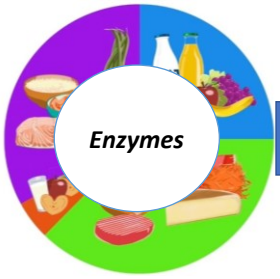
4. Critères de choix d'une enzyme

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.



5. Applications industrielles, analytiques et médicales des enzymes

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

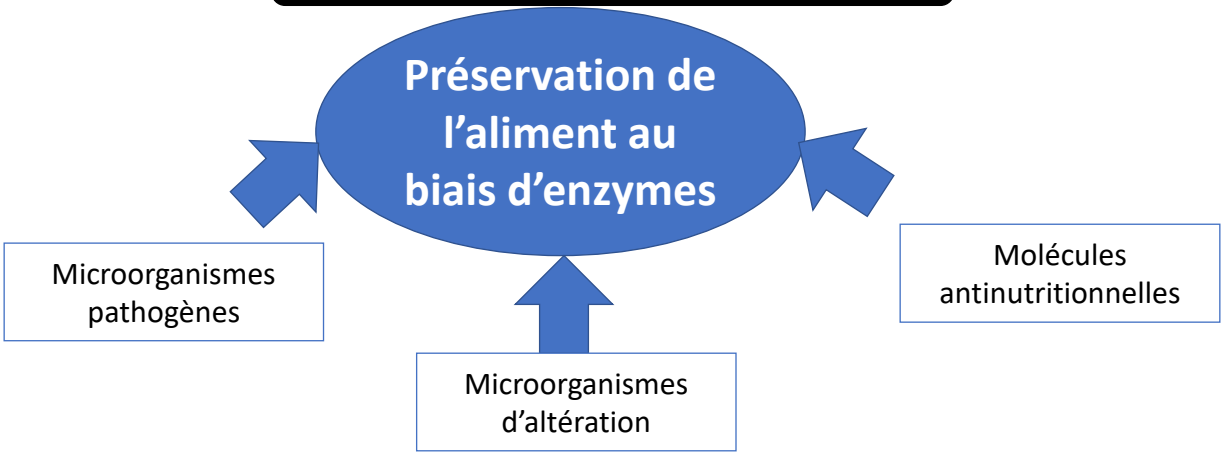


Contribution

- Qualité hygiénique des aliments
- Production de jus
- Produits laitiers

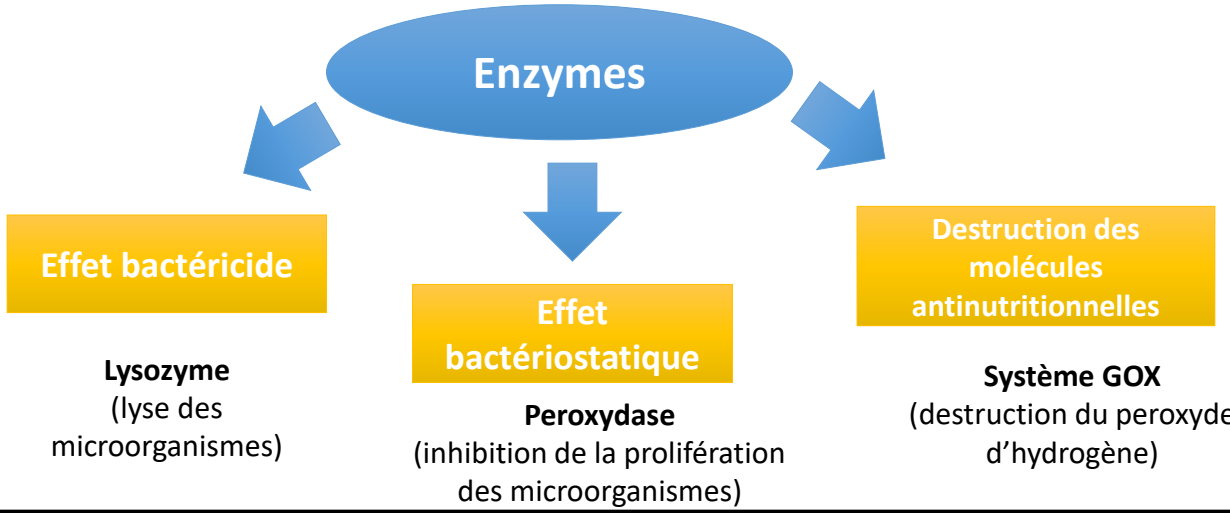
5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1.Qualité hygiénique des aliments



5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1. Qualité hygiénique des aliments

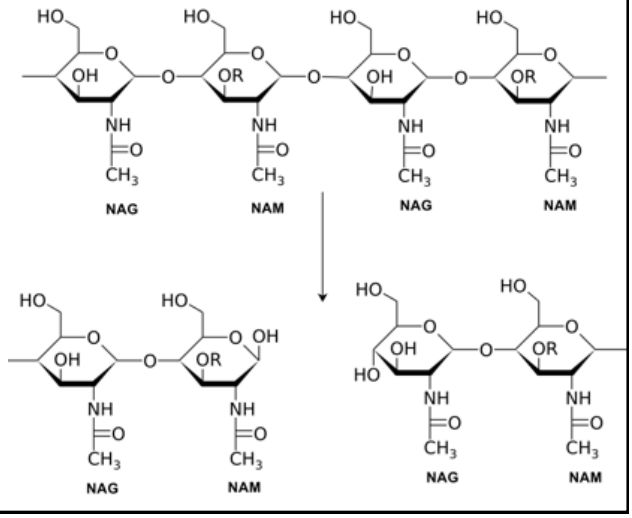


5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1. Qualité hygiénique des aliments

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.



5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1. Qualité hygiénique des aliments

b. Effet bactériostatique: Exemple du système lactoeroxydase

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 dans 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.

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1. Qualité hygiénique des aliments

b. Effet bactériostatique: Exemple du système lactoeroxydase

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

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.1. Qualité hygiénique des aliments

c. Destruction des molécules antinutritionnelles: Exemple du système Glucose oxydase-catalase

Des préparations commerciales de glucose oxydase additionné de catalase sont utilisées surtout pour la préservation des purées de fruits.

Le système glucose oxydase-catalase (GOX) décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.

Il est également capable de réduire la teneur en oxygène et stabilise ainsi les aliments et les boissons contre les problèmes liés à **l'oxydation et le brunissement.**

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

Enzymes

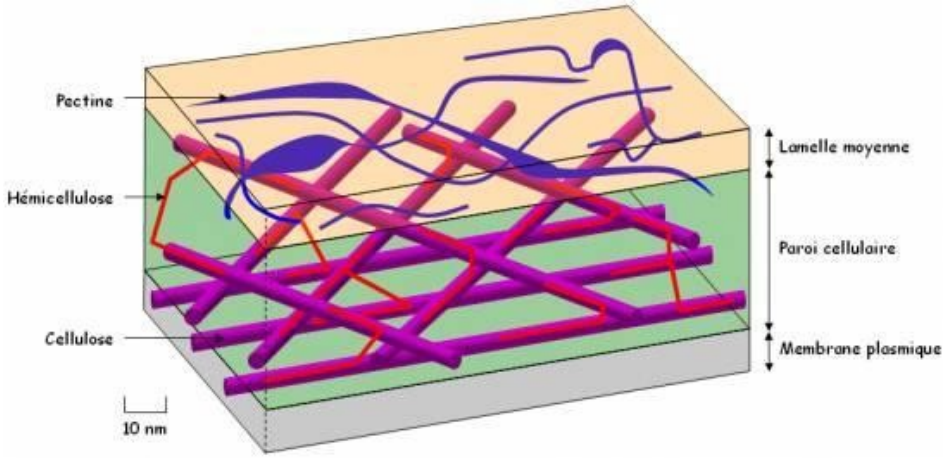
Extraction

Filtration

Clarification

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits



Pectine

Cellulose

Hémicellulose

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

1.Pectinases

- **Rendement réduit**
- **Problème de pulpes**
- **Problème de clarification**

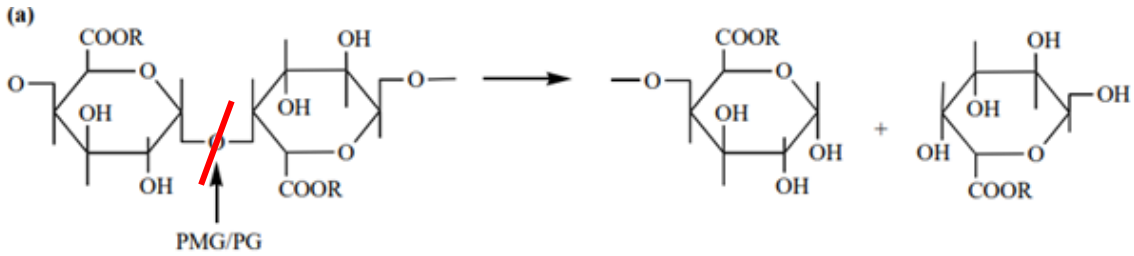
Addition de pectinases

- ✓ Rendement ++++
- ✓ Viscosité réduite
- ✓ Temps de filtration réduit
- ✓ Clarification ++++

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

1.Pectinases



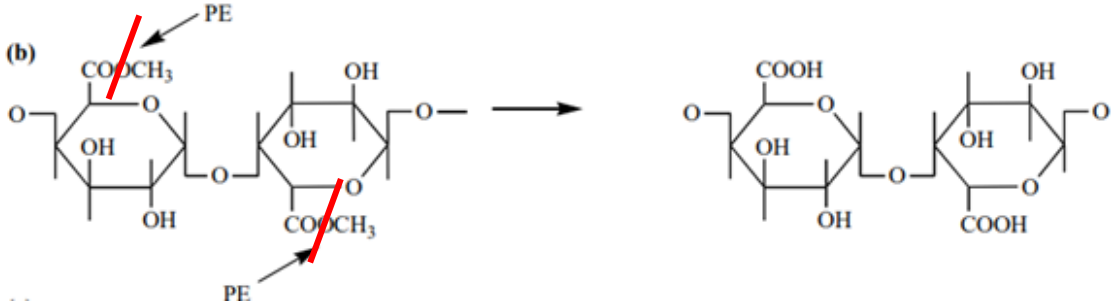
L'action PG (polygalacturonases) et de la PMG (polymethylgalacturonases)

catalysent l'hydrolyse des liaisons α 1-4-glycosidiques

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

1.Pectinases

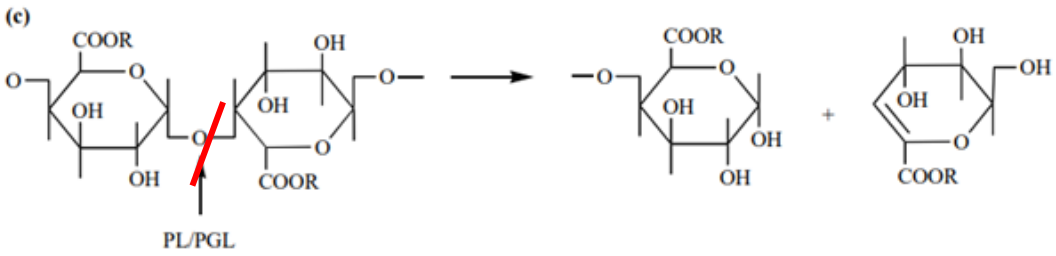


L'action de la PE (pectine estérase) catalyse la désestérification du groupe méthoxyle de la pectine formant l'acide pectique et le méthanol.

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

1.Pectinases



L'action des pectines lyase catalysent le clivage aléatoire de la pectine avec trans-élimination des liaisons glycosidiques

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

2.Cellulases

Polysaccharides cellulosiques qui réduit la clarification et diminue le rendement

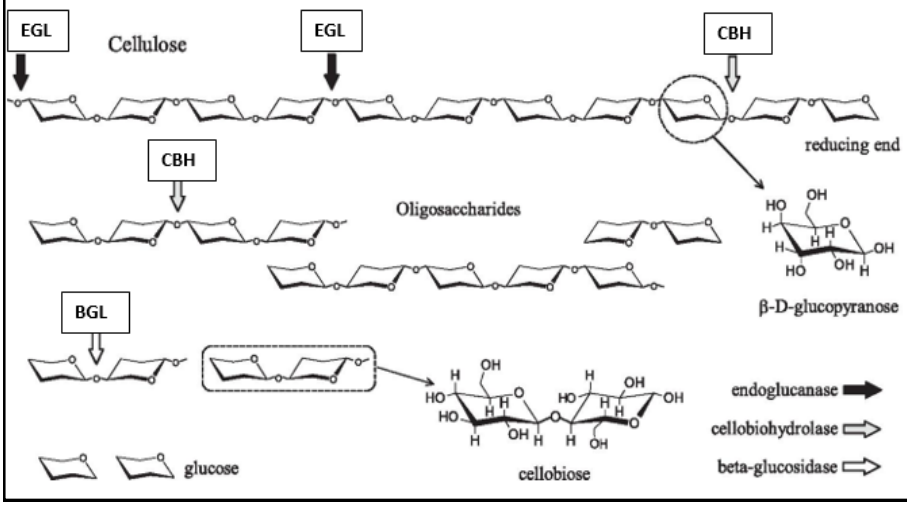
Addition de Cellulases

- Libération des sucres simples :: réduction de l'amertume
- Clarification ++++

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

2.Cellulases



- (**EGL**) : attaquent les fibres de cellulose au milieu de la chaîne.
- (**CBH**) : attaquent les fibres de celluloses aux extrémités et libèrent des tétrasaccharides ou du cellobiose (disaccharide).
- (**BGL**) : hydrolysent le cellobiose ou les tétrasaccharides en résidus de glucose

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

3.Hémicellulases

Structure complexe qui gène le procédé de filtration

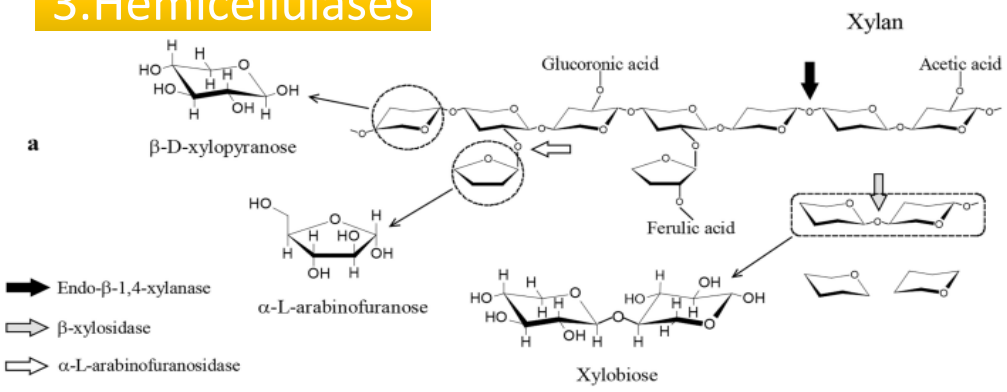
Addition d'hémicellulases

- Amélioration de l'hydrolyse de la cellulose
- Diminution du trouble du jus
- Augmentation du rendement de la production

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.2.Utilisation dans la production des jus de fruits

3.Hémicellulases



La xylane-endoxylanase hydrolyse le xylane pour libérer des xylooligosaccharides plus courts **les bêta-xylosidases** libèrent des monomères de xylose à partir du xylobiose ;

L'α-L-arabinofuranosidase libère le L-arabinose de la chaîne xylane.

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.3. Utilisations dans les produits laitiers

Utilisation de la présure

Dans le lait, la dispersion des micelles de caséine est due à la présence de la caséine κ.

Sa dénaturation est réalisée soit par acidification ou par ajout de la présure

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.3. Utilisations dans les produits laitiers

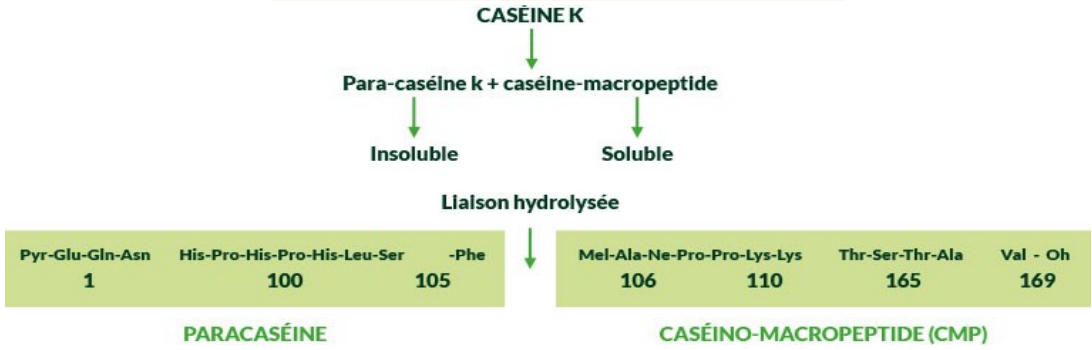
Utilisation de la présure

- La présure est un extrait enzymatique de la caillette des jeunes ruminants
- elle est constituée principalement des protéases chymosine (EC 3.4.23.4) et pepsine (EC 3.4.23.1).

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.3. Utilisations dans les produits laitiers

Utilisation de la présure



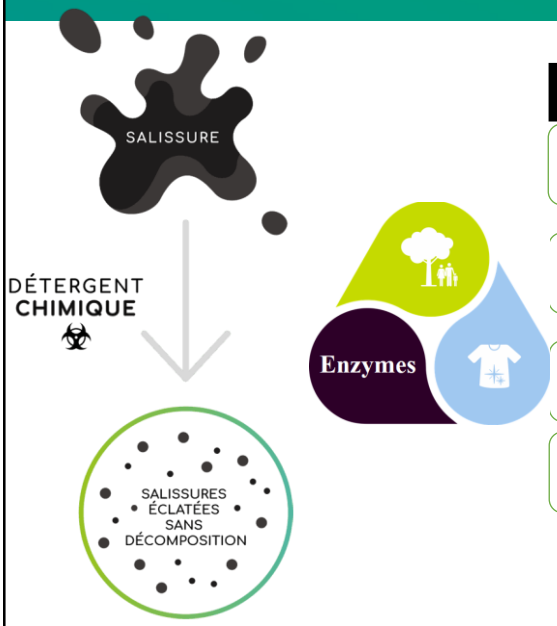
La chymosine permet la coagulation du lait en hydrolysant la caséine κ du lait spécifiquement entre **la phénylalanine 105** et la **méthionine 106**. Ceci conduit à une **perte du caractère amphiphile** de la caséine κ et à la libération d'un peptide **insoluble** dans l'eau: **la paracaséine k**, et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

5.1. Enzymes dans le domaine d'alimentation

5.1.3. Utilisations dans les produits laitiers

Le gène de bovins codant la **chymosine** a été surexprimé en 1980 dans des micro-organismes comme (exemple : *Bacillus* subtilis), ce qui a permis la commercialisation de la chymosine purifiée. Celle-ci est largement utilisée dans l'industrie fromagère.

5.2. Industrie des détergents

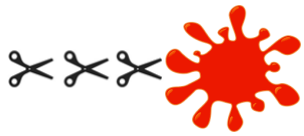


Avantages de l'utilisation des enzymes

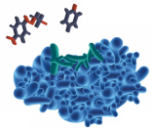
- Spécificité enzyme-substrat (salissure)
- Un profil d'usage « safe »
- Lavage à de températures basses
- Alternative pour remplacer les phosphates

5.2. Industrie des détergents

Enzymes utilisées:

Protéases		**Dégradation des salissures protéiques (sang, œufs…)**
Lipases		**Dégradation des taches de gras (beurre, huile...)**
Amylases		**Décomposition des taches à base d'amidon (pates, pomme de terre..)**
Cellulases		**Elimination des salissures et des fibres de cellulose**

5.2. Industrie des détergents



Formes d'enzymes dans les détergents

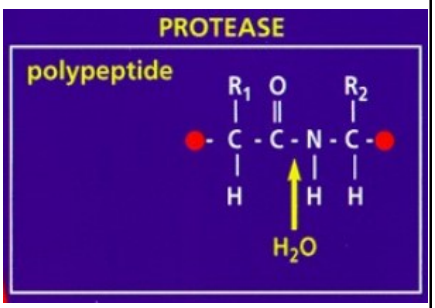
Détergents en poudre: les enzymes sont granulées et encapsulées dans les détergents et restent stables en absence de l'eau.

Détergents liquides: des inhibiteurs de protéase doivent être utilisés pour empêcher « *l'autodigestion* » des enzymes ou la dégradation d'autres enzymes

5.2. Industrie des détergents

Protéases

- Ce sont les enzymes détergentes les plus largement utilisées.
- Les taches protéiques comme le sang, les œufs, l'herbe et la sueur humaine sont éliminées grâce à l'action des protéases
- Elles catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques.



5.2. Industrie des détergents

Protéases

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 ✖

Les métalloprotéases perdent leurs cofacteurs métalliques qui se complexent avec les agents adoucisseurs d'eau ou les ions hydroxyle et donc ne sont pas utilisées ✖

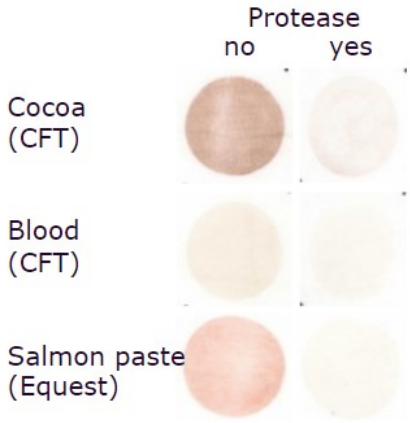
5.2. Industrie des détergents

Augmentent la solubilité des taches

Protéases

favorisent l'émulsification

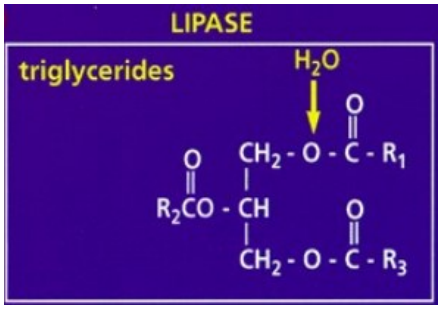
Empêchent la redéposition de la matière protéique dégradée



5.2. Industrie des détergents

Lipases

- Les lipases ciblent les taches à base de graisse
- Ils 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.
- En présence de solvants organiques, les lipases restent stables ou peu affectées.

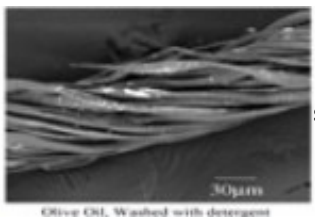


5.2. Industrie des détergents

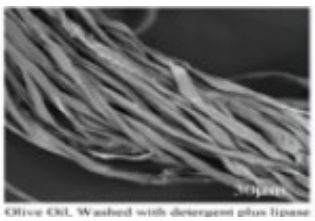
Lipases

- 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 par **sept lavages sans lipase**.

Olive Oil



sans lipase



Avec lipase

5.2. Industrie des détergents

Exemple d'une action couplée de protéases et de lipases

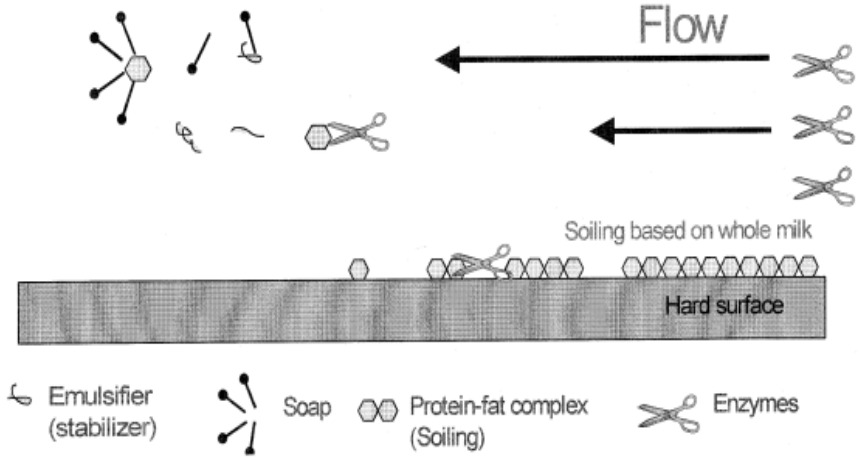
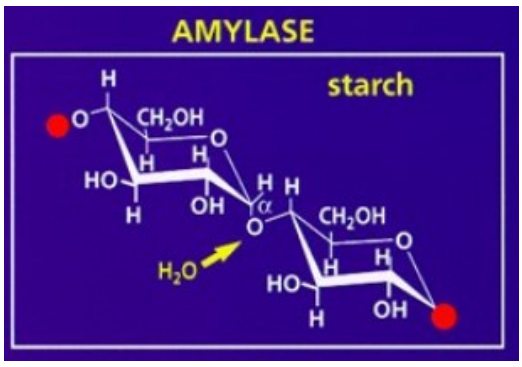
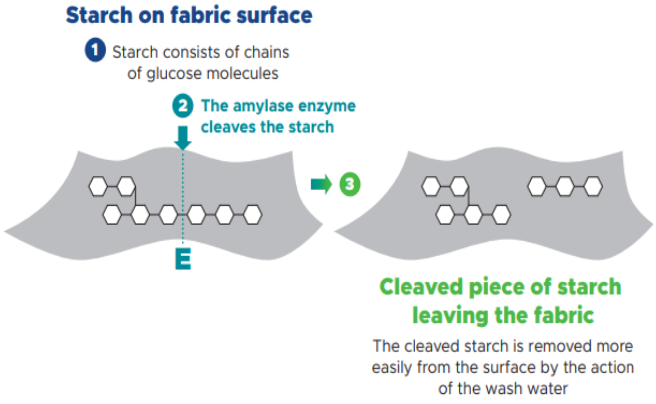


FIG. 1. *In situ* cleaning effects of protease + lipase.

5.2. Industrie des détergents

Amylases





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

5.2. Industrie des détergents

Amylases

- Les α-amylases sont ajoutées aux détergents pour dissoudre l'amidon et digérer les taches féculentes des pâtes, pommes de terre, sauces, spaghettis, crèmes, sauces et chocolat..
- L'α-amylase réduit la viscosité de l'amidon gélatinisé en hydrolysant les liaisons α-1,4 et augmente la solubilité de l'amidon attaché

5.2. Industrie des détergents

Cellulases

Après plusieurs lavages de vêtements faits de coton ou de mélanges de coton, ceux-ci perdent leur aspect lisse et semblent pelucheux, la blancheur se transforme en couleur grisâtre.

5.2. Industrie des détergents

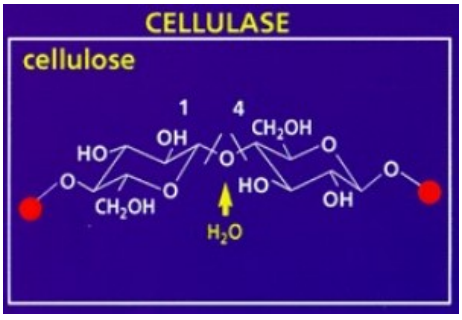
Cellulases

- Les industries des détergents utilisent une préparation contenant les principales cellulases qui, dans la nature, sont capables de dépolymériser complètement la cellulose en glucose :
  - ❑ Endoglucanases (EC 3.2.1.4),
  - ❑ Exoglucanases (EC 3.2.1.91)
  - ❑ β-glucosidase (EC 3.2.1.21).

5.2. Industrie des détergents

Cellulases

- Une cellulase est une enzyme qui hydrolyse les liaisons β-1,4-glucoside de la chaîne cellulosique.
- Les cellulases sont produites par les champignons, les bactéries, les protozoaires, les plantes et les animaux.



5.2. Industrie des détergents

Cellulases

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

Without cellulase

With the care cellulase

5.3. Applications médicale et analytique

La Taq polymérase

La Taq polymérase est une ADN polymérase utilisée pour l'amplification de l'ADN dans la réaction de polymérisation en chaîne ou PCR (polymerase chain reaction). Cette enzyme est extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*, un microorganisme thermophile vivant près de sources chaudes. La Taq polymérase est utilisée dans la PCR car elle résiste à de hautes températures, elle est active à 72°C et résiste à une température de 95°C (dénaturation de l'ADN) .

5.3. Applications médicale et analytique

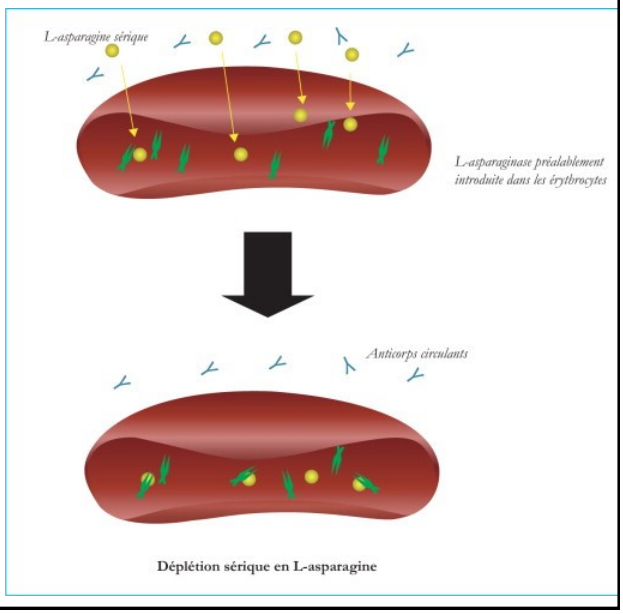
L-Asparaginase

C'est une hydrolase qui catalyse l'hydrolyse de L-asparagine en NH3 et en L-Aspartate

Elle est notamment indiqué contre la leucémie aiguë lymphoblastique

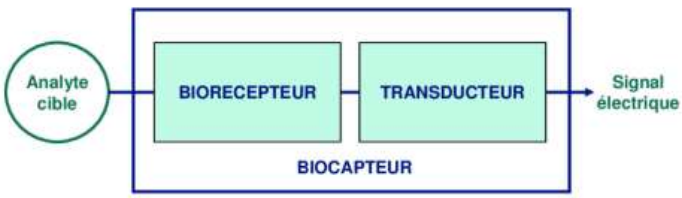
les cellules cancéreuses sont incapables de produire leur propre asparagine et le tirent du milieu extracellulaire, alors que les lymphocytes saines le synthétisent.

L'hydrolyse de l'asparagine extracellulaire grâce à l'asparaginase provoque « une déplétion en L-asparagine » qui induit la mort des cellules cancéreuses



Déplétion sérique en L-asparagine

5.3. Applications médicale et analytique

Biocapteur à urée

- Il est utilisé pour doser l'urée
- Son mécanisme d'action est basé sur la mesure de la variation de pH produite dans un environnement aqueux suite à la réaction enzymatique catalysée par l'uréase.
- L'uréase 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 et mesurable.