

Chapitre 6 : Enzymologie en milieu non conventionnels

Introduction

L'enzymologie est la science qui étudie les enzymes, leur fonctionnement et leurs applications. Traditionnellement, les enzymes fonctionnent dans des milieux aqueux, où elles catalysent des réactions biochimiques essentielles. Cependant, certaines applications industrielles et biotechnologiques nécessitent des conditions particulières où l'eau n'est pas le solvant principal. C'est dans ce contexte que l'enzymologie en milieux non conventionnels prend tout son intérêt.

L'utilisation des enzymes dans des milieux non conventionnels permet d'améliorer leur stabilité, de modifier leur spécificité et d'optimiser certaines réactions difficiles en milieu aqueux. Ces milieux incluent les solvants organiques, les liquides ioniques, les fluides supercritiques et les micro-émulsions.

2. Intérêt des milieux non conventionnels en enzymologie

Les milieux non conventionnels offrent plusieurs avantages pour l'activité enzymatique :

2.1. Augmentation de la stabilité enzymatique

Dans les solutions aqueuses, les enzymes peuvent subir une autodégradation ou une dénaturation thermique. En présence de solvants organiques ou de liquides ioniques, certaines enzymes sont plus stables et conservent leur activité plus longtemps.

2.2. Modification de la spécificité enzymatique

Certaines enzymes adoptent une sélectivité différente selon le solvant utilisé, ce qui permet d'orienter la réaction vers un produit spécifique. Par exemple, les lipases en milieu organique peuvent catalyser des réactions d'estérification ou de transestérification au lieu de leur activité hydrolytique habituelle en milieu aqueux.

2.3. Solubilisation des substrats hydrophobes

De nombreux substrats organiques ne sont pas solubles dans l'eau.

L'utilisation de solvants non conventionnels permet de mieux dissoudre ces substrats et ainsi d'améliorer la vitesse de réaction.

2.4. Facilité de récupération des enzymes et des produits

Certains milieux permettent une meilleure séparation des enzymes du produit final, facilitant leur récupération et leur réutilisation.

En industrie, cela réduit les coûts et améliore l'efficacité des procédés.

3. Types de milieux non conventionnels

Les milieux non conventionnels utilisés en enzymologie peuvent être classés en plusieurs catégories :

- **Solvants organiques**

Exemples : hexane, toluène, acétone, chloroforme, éthanol

Utilisés principalement pour les réactions d'estérification, de transestérification et d'oxydation. Certains solvants peuvent être toxiques pour l'enzyme, il est donc important de choisir un solvant compatible avec l'activité enzymatique.

On distingue :

Les solvants apolaires (ex. : hexane, toluène) qui limitent la dénaturation des enzymes. Les solvants polaires (ex. : DMSO, acétone) qui peuvent modifier la structure de l'enzyme et parfois réduire son activité.

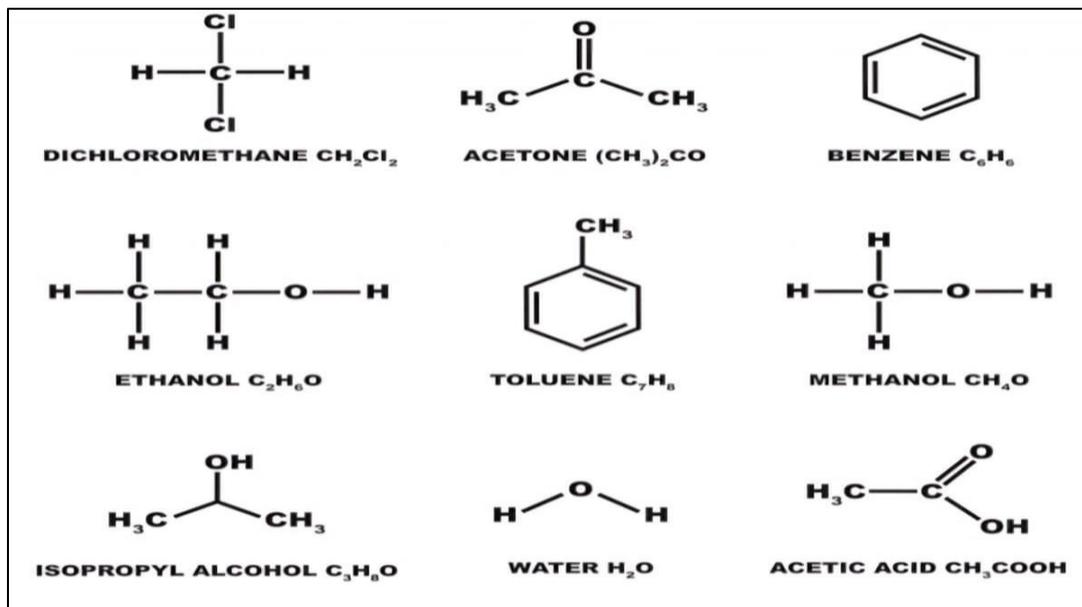


Figure 1. Solvant organique

- **Liquides ioniques (LI)**

Ce sont des sels liquides à température ambiante composés d'anions et de cations. Exemples : [BMIM][PF₆], [EMIM][BF₄]

La liste des liquides ioniques :

- ✓ **Les cations** sont généralement de type **dialkylimidazolium, tétraalkylammonium, tétraalkylephosphonium** ou **alkylpyridium**.
- ✓ **Les anions** sont de type **tétrafluoroborate, hexafluorophosphate, halogénure, mésylate, tosylate, ou triflate**. Ils forment des liquides seulement constitués de cations et d'anions.

Avantages :

Bonne solubilité pour certains substrats.

Faible pression de vapeur, donc non volatils et recyclables

Modification possible des propriétés enzymatiques (sélectivité et stabilité).

Applications : biodiesel, synthèse de polymères, biocatalyse en chimie organique.

- **Fluides supercritiques (SCF – Supercritical Fluids)**

Les fluides supercritiques sont des substances au-dessus de leur point critique, où elles ont des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide. Exemple le plus utilisé : le CO₂ supercritique (scCO₂).

Avantages :

Non toxique, recyclable, et facilement éliminable par simple dépressurisation.

Bonne diffusion des substrats et produits.

Amélioration de la stabilité de certaines enzymes.

Applications : extraction de composés naturels, synthèse pharmaceutique, biocatalyse verte.

- **Systèmes micro-émulsifiés**

- ✓ Ce sont des mélanges d'eau, d'huile et de tensioactifs formant des systèmes colloïdaux transparents et stables.

- ✓ Permettent de solubiliser simultanément des substrats hydrophiles et lipophiles.

- ✓ Exemples d'enzymes utilisées : lipases, protéases.

- ✓ Applications : biodégradation, synthèse organique.

4. Effets des milieux non conventionnels sur l'activité enzymatique

4.1. Effet sur la structure de l'enzyme

Certains solvants dénaturent les enzymes en modifiant leur structure tertiaire. Cependant, des enzymes adaptées aux milieux non conventionnels (ex. : lipases, cellulases) conservent leur activité même en l'absence d'eau.

4.2. Effet sur la cinétique enzymatique

- ✓ La vitesse de réaction peut être modifiée en fonction de la nature du solvant :
- ✓ Milieux organiques visqueux → diminution de la diffusion des substrats et produits → diminution de la vitesse.
- ✓ Milieux supercritiques → meilleure diffusion → augmentation de la vitesse.
- ✓ Les constantes cinétiques et peuvent être influencées par la présence d'un solvant non conventionnel.

4.3. Effet sur la sélectivité enzymatique

Une même enzyme peut catalyser des réactions différentes en fonction du milieu.

Exemple : la lipase de *Candida antarctica* change de sélectivité entre hydrolyse en milieu aqueux et transestérification en milieu organique.

5. Impact des solvant organique sur catalyse enzymatique

Plusieurs recherches ont démontré le rôle de l'eau dans la catalyse enzymatique, un milieu riche en composés organique peut agir sur la réaction et moduler les caractéristiques de l'eau. L'utilisation des composés organiques dans les réactions biochimiques surtout avec des molécules apolaires, **ouvres plusieurs avantages** :

- ✓ Augmentation de la solubilité des molécules apolaires en milieu non aqueux
- ✓ Obtenir de nouvelles réactions par modifications des contraintes thermodynamiques.
- ✓ Augmentation de la thermostabilité d'un catalyseur en absence de l'eau.
- ✓ Récupération des produits par simple évaporation des solvants.
- ✓ Minimisation des risques de la contamination bactérienne.
- ✓ L'utilisation des solvants organiques présente aussi des inconvénients comme la toxicité des solvants organiques vis-vis l'utilisateur et aussi les éléments de la réaction (enzyme, substrat,..).

5.1. Caractéristiques de l'eau

- ✓ La molécule d'eau est très petite, la seule à être sous forme liquide dans les températures entre 0 +100 °C.
- ✓ Elle présente des points de fusion et d'ébullition hauts avec une chaleur de vaporisation haute, ce qui rend l'eau une molécule très organisée surtout avec sa capacité à former quatre liaisons d'hydrogènes avec d'autres molécules.
- ✓ L'eau intervient dans la formation des liaisons faibles comme Van der Waals qui permet de définir l'organisation tridimensionnelle des molécules.
- ✓ L'eau permet de la mobilité des protons et définir le pH des milieux, le proton ne peut exister dans un milieu non aqueux.
- ✓ L'eau joue un rôle important dans la catalyse enzymatique des milieux moins hydratés.

5.2. Les protéines dans le milieu moins hydraté

- ✓ Les expériences sur les lysozymes ont approuvé un rôle important de l'eau dans la capacité calorifique, ainsi l'eau joue un rôle séquentiel, plus les molécules d'eau sont distribuées la chaleur enzymatique augmente. Dans ce sens, l'hydratation d'une protéine se fait d'une façon successive.
- ✓ Le milieu moins hydraté agit sur la structure des enzymes en modifiant les mouvements intramoléculaires et entraînant la rigidification relative des molécules ce qui perturbe le processus catalytique.
- ✓ Les observations cristallographiques ont démontré le rôle de l'eau dans la souplesse moléculaire permettant à la protéine de prendre des conformations spatiales différentes.

6. Applications des enzymes en milieux non conventionnels

Domaine d'application	Exemples de réactions catalysées
Industrie pharmaceutique	Synthèse d'antibiotique
Agroalimentaire	Production d'arômes transformation des lipides
Chimie verte	Réaction de biocatalyse en milieu supercritique pour remplacer des catalyseurs chimiques polluants
Industrie cosmétique	Synthèse de molécules odorantes et bioactives

