



Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département: Sciences biologiques



Applications des enzymes en biotechnologie



Dr Berzou

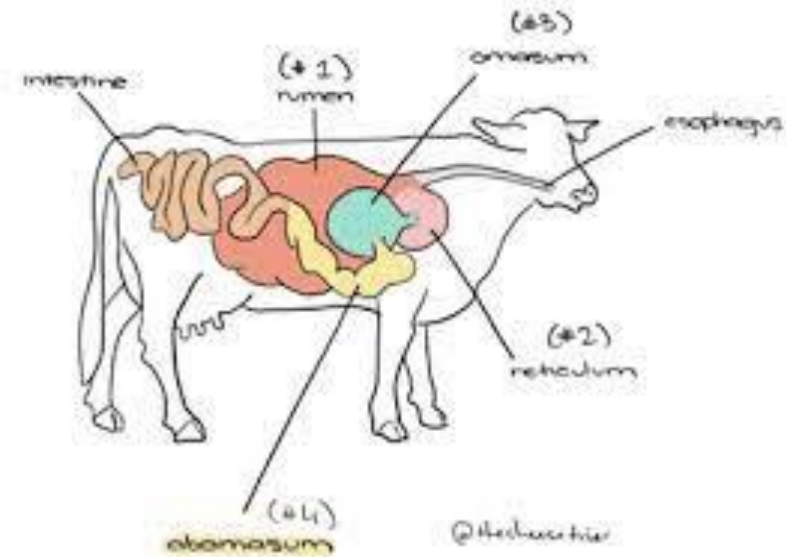
Année universitaire : 2022/2023

Introduction

- Les enzymes sont aujourd'hui des outils importants pour fabriquer, stabiliser ou générer les propriétés de nos aliments ; ce sont des produits alimentaires intermédiaires devenus indispensables dans de nombreuses filières : sucre, boulangerie, produits laitiers, brasserie, vinification, jus de fruits, les détergents. .
- Leur usage industriel systématique pour améliorer les propriétés des aliments date, pour la plupart, de moins d'un demi-siècle.
- C'est à la fin du XIXème siècle que les fondements de la technologie enzymatique moderne sont apparus, principalement grâce aux travaux du chimiste danois C. Hansen, en 1864 qui fût le premier à extraire la Rennet à partir d'estomacs de veaux (chymosine et pepsine) et d'en faire une préparation de pureté encore relative à des fins industrielles.



Préparation du fromage



Présure animale



Fromage traditionnelle



Fromage industriel

- En 1897, **Eduard Buchner**, a montré qu'un extrait cellulaire de levures seul était capable de propriétés catalytiques pour **convertir le glucose en éthanol et dioxyde de carbone**.
- 1900 à 1930 que **naissent** les premiers développements de l'enzymologie appliquée à l'industrie.
- L'industriel allemand **O. Röhm** menant en 1913 au dépôt d'un brevet pour une préparation enzymatique à base **de trypsine** (extraite de glandes pancréatiques) **utilisable dans les détergents**.
- Cette préparation, appliquée seule, s'est révélée efficace pour l'élimination de taches de nature protéique sur les vêtements mais lorsqu'elle fût incorporée au produit détergent complet, l'activité de la trypsine n'était que très limitée, étant donné la forte alcalinité du milieu, une fois le produit dissous.

I. Origine des enzymes industrielles

- Les enzymes industrielles proviennent de source végétale, animale et microbiennes, l'extraction à partir des plantes et des animaux est cependant limité par des paramètres difficiles à contrôler.
- La production industriel des enzymes est effectuer dans milieu aérobie en utilisant un microorganisme produisant en grande quantité une enzyme extracellulaire.
- Les principaux avantages des enzymes de fermentation par rapport aux enzymes d'extraction :
 - Production en grande quantité en fermenteur,
 - Production indépendante des contraintes géographiques et saisonnières,
 - Matière première bon marché,
 - Manipulation génétique facile – mutants hyperproducteurs,
 - Purification plus facile en cas d'enzymes extracellulaires
- Les microorganismes utilisés pour la production d'enzymes peuvent être des eucaryotes tels que les levures et les champignons, ou des procaryotes tels que les gram-positifs ou les gram-négatifs.

- La fermentation en vue de produire une enzyme se fait à très grande échelle.
- Quand l'enzyme est extracellulaire, on peut utiliser un fermenteur jusqu'à 450 m³.
- Dans le cas d'enzymes intracellulaires, la nécessité de traitements pour l'extraction impose une limite du volume jusqu'à 30 m³.



Fermenteur

2. Origine et sources des protéases

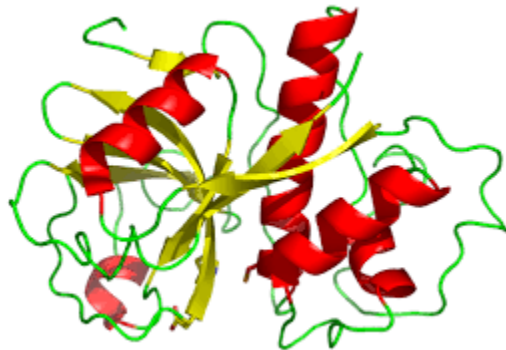
➤ Les protéases sont extraites aussi bien des plantes que des animaux ou des microorganismes.

2.1. Protéases végétales

➤ Les enzymes d'origine végétale est spécialement les protéases sont par ordre décroissante en technologie. La papaïne, la bromélaïne, la kératinases et la ficine représentent quelques-unes des protéases bien connues d'origine végétale.

2.1.1. La papaïne (Mr 25 kDa)

➤ En provenance du latex de fruit *Carica papaya* qui se développe dans les régions subtropicales de l'ouest et le centre d'Afrique, ainsi en Inde. Elle est largement utilisée dans l'industrie pour la préparation des hydrolysats de protéines très solubles et aromatisés.



Papaïne

2.1.2. Bromelaïne

➤ Est extraite à partir de l'ananas (*Ananas comosus*). Elle est moins thermostable que la papaine.



Bromelaïne 400 mg

2.1.3. Kératinases

➤ Sont produites par certains groupes botaniques des plantes pour dégrader les cheveux et la laine.

➤ Cette digestion est importante pour la production d'acides aminés essentiels tels que la lysine et pour la prévention du colmatage des systèmes de traitement des eaux usées.

2.1.4. Ficine

➤ Est issue de la figue (*Ficus glabrata*).

2.2. Protéases animales

➤ La plupart des protéases d'origine animales sont pancréatiques . En effet, elles ont la propriété de dégrader les protéines alimentaires. Elles sont toutes synthétisées sous forme d'un précurseur qui peut s'activer de façon autocatalytique dans des conditions bien déterminés .

2.2.1. Trypsine (Mr 23,3 kDa)

➤ Est une protéase à sérine, elle est la principale enzyme digestive intestinale responsable de l'hydrolyse des protéines alimentaire.

➤ L'application de la trypsine dans l'industrie alimentaire est limitée à cause du goût très amer qu'elle entraîne.

2.2.2. Chymotrypsine (Mr 23,8 kDa)

➤ La chymotrypsine pure est très coûteuse et elle est utilisée uniquement pour les applications de diagnostic et d'analyse.

2.2.3. Pepsine (Mr 34,5 kDa)

➤ Est une protéase acide présente dans l'estomac de presque tous les vertébrés seules les pepsines bovines et porcines présentent un intérêt industriel.

2.2.4. Rénine (Mr 30,7 kDa), Pepsin-like protéase (chymosine ; EC 3.4.23.4)

➤ Est une protéase à aspartate. C'est un constituant majeur de la présure utilisé en industrie laitière comme agent principal de caillage du lait.

➤ Elle a la propriété de couper la liaison Phe-Met dans la κ -caséine pour générer une para- κ -caséine et un glycopeptide C-terminal.

3-Protéases microbiennes

- Les protéases microbiennes sont préférées à celles des autres sources car elles possèdent presque toutes les caractéristiques désirées pour leurs applications industrielles.
- Elles sont produites par une grande variété de bactéries dont, les *actinomycètes*, de moisissures et de levures.

3.1. Protéases des moisissures

- Les protéases constituent les enzymes les plus importantes qui peuvent être produites par plusieurs genres fongiques tels que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Endothia*....etc.
- Ce groupe d'enzymes dispose de possibilités d'applications biotechnologiques très étendues et représentent 40 % du marché mondial des enzymes industrielles.

3.2. Protéases des levures

- Certaines levures produisent aussi des enzymes protéolytiques, il s'agit essentiellement des genres *Rhodotorula*, *Candida*, *Debaryomyces* et *Saccharomyces* ; ce dernier peut produire trois types de protéases ; une **aspartylprotéase**, une **sérine protéase** et une **métalloprotéase**.
- L'activité protéolytique de ces genres est utilisée particulièrement pour l'affinage des fromages.

3.3. Protéases des bactéries

- Il s'agit essentiellement de la subtilisine ou subtilase, une protéase produite par *Bacillus subtilis* et quelques genres apparentés.
- Celle-ci est très stable et résiste bien à l'action des détergents. Les bactéries du lait et en particulier *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida* produisent des **métalloprotéases** utilisées en particulier pour la **coagulation du lait** et pour l'affinage du fromages ainsi que les **protéases extracellulaires** produite par *Streptococcus lactis*.

II. Les enzymes dans les différents secteurs

- L'utilisation des bioconversions à la production industrielle est souvent appelée biotechnologie blanche ("white biotechnology").
- Les bioconversions enzymatiques, représentent une partie de la biotechnologie blanche.
- Elles font aussi partie de ce que l'on appelle la chimie verte.
- Les applications commerciales les plus importantes des enzymes sont: lessive (protéases, lipases et amylases), production de sirop de fructose à partir d'amidon de maïs (8.5x10 tonnes/an aux USA, amylases et glucose isomérase), production d'éthanol (amylase ou cellulase).
- Par contre, il existe de plus en plus d'applications en chimie fine.

2. Grandes classes d'enzymes d'intérêt dans la transformation des aliments

2.1. Hydrolases et lyases actives sur les composants des parois végétales

➤ Ces enzymes sont très largement utilisées pour faciliter la clarification des jus de fruits en améliorant les opérations de filtration ou de décantation. Il peut s'agir de cellulases, pectinases, xylanases

2.1.1 Cellulases

➤ Les cellulases sont des enzymes qui hydrolysent les enchaînements linéaires β -1,4 de glucose. Il peut s'agir de très longues chaînes pouvant atteindre 25 000 résidus glucose. De nombreux champignons filamenteux et bactéries sont capables de produire ces enzymes.

➤ Les *Clostridium* et une large diversité de genres bactériens ont démontré des activités cellulolytiques

2.1.2 Pectinases

➤ Les **pectines** sont des polymères pouvant être gênants dans des procédés d'extraction et de clarification de jus de fruits. Les **pectinases** permettent une **augmentation** des **rendements d'extraction** et facilitent la **clarification des jus**. De même, les pectinases peuvent être mises en œuvre pour faciliter l'**extraction d'huile** à partir de graines ou de fruits oléagineux.

2.1.3 Amylases et pullulanases

➤ L'alpha-amylase (EC 3.2.1.1) est une enzyme de la famille des saccharidases capable de rompre la liaison α -1,4 glycosidique de l'amylose et de l'amylopectine pour donner des molécules de maltose, maltotriose et dextrans.

2.1.4 Hémicellulases

➤ Les hémicelluloses ou **pentosanes** sont des polymères de pentoses qui peuvent gêner le développement de caractéristiques organoleptiques dans les produits de panification ou les viennoiseries.

2.2. Protéases et peptidases

- Sont des enzymes qui hydrolysent la **liaison peptidique** des protéines pour libérer **des peptides** ou **des acides aminés**. On distingue **les endoprotéases**, qui coupent les protéines au milieu de la chaîne (chymosine, pepsine...), **des exopeptidases** (aminopeptidases et carboxypeptidases) qui hydrolysent les acides aminés aux extrémités de la chaîne.
- Certaines protéines ont des propriétés **tensioactives**. Elles peuvent être **responsables de mousses** qui sont parfois gênantes pour les procédés de fabrication.
- D'autres **stabilisent des structures micellaires** (par exemple, la caséine κ du lait) et leur hydrolyse (par la chymosine pour ladite caséine) entraîne la déstabilisation de ces structures micellaires et provoque la formation d'un gel.
- La protéolyse peut aussi avoir un effet sur l'amélioration de la solubilité des protéines, la diminution de la viscosité de gels protéiques.

3. Principales applications des enzymes en industries alimentaires

3.1 Usages dans la fabrication de produits céréaliers

➤ Les enzymes sont largement utilisées en panification, dans l'industrie du malt et de la brasserie.

3.1.1 Panification, viennoiserie et biscuiterie

➤ Elles sont pour la plupart du temps utilisées comme aide technologiques:

➤ Soit pour corriger certaines déficiences de la matière première (grains et farines) dues souvent à une conjonction de facteurs agronomiques, climatiques et technologiques;

➤ Soit pour ajuster les propriétés de la pâte aux contraintes du pétrissage moderne ou aux caractéristiques technologiques (biscuiterie par exemple) ou organoleptiques des produits finis;

3.2 Usages dans les préparations de fruits et légumes

3.2.1 Fabrication des jus et nectars de fruit

- Les opérations de macération, d'extraction et de filtration dans la préparation de jus et de nectars de fruits sont des opérations qui mettent en œuvre systématiquement non seulement les enzymes du tissu de la plante mais aussi des enzymes exogènes et principalement des pectinases, des hémicellulases et des cellulases
- Elles permettent d'améliorer le rendement d'extraction du jus (pressage, liquéfaction), de séparer les cellules lors de la préparation de nectar (macération) et enfin d'obtenir des jus limpides (clarification).

3.2.2 Vinification

- L'usage des enzymes en vinification a tendance à se développer. En vinification en blanc, les pectinases peuvent favoriser le débourbage statique des moûts avant le démarrage de la fermentation.

3.4. Usages dans les produits laitiers

➤ Les présures sont des extraits enzymatiques de la caillette des jeunes ruminants. Cette préparation est constituée principalement des protéases chymosine (EC 3.4.23.4) et pepsine (EC 3.4.23.1).

➤ La chymosine permet la coagulation du lait en hydrolysant la caséine du lait spécifiquement entre la phénylalanine 105 et la méthionine 106.

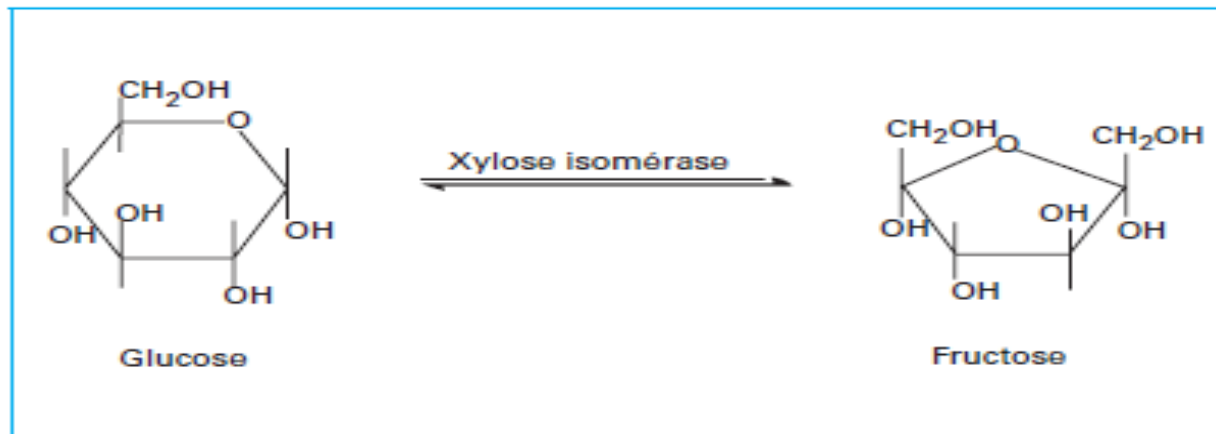
➤ Les présures contiennent d'autres enzymes en proportions variables et en particulier des lipases.

➤ Les activités lipasiques sont en quantité non négligeable dans la présure d'agneau et elles contribuent à l'hydrolyse des matières grasses des fromages fabriqués. Ces activités peuvent favoriser l'élaboration des arômes de certains fromages italiens comme le Parmigiano Reggiano, les Grana ou les fromages fabriqués avec du lait de brebis comme le Roquefort ou l'Ossau Iraty. Dans certaines fabrications, ces activités lipasiques sont ajoutées au lait pour augmenter le caractère piquant de ces fromages.

3.5. Usages dans la fabrication de produits alimentaires intermédiaires (arômes, additifs...)

3.5.1 Sucres et édulcorants intenses

➤ Dans les procédés industriels de synthèse d'édulcorants intenses comme l'**aspartame** ou le **sucralose**, des étapes enzymatiques sont mises en oeuvre pour bénéficier de leur sélectivité. Le pouvoir sucrant du glucose issu de l'hydrolyse de l'amidon peut être augmenté par la mise en oeuvre de la xylose isomérase.



Xylose isomérase (EC 5.3.1.5)

➤ Issue de **Bacillus coagulans** ou **Streptomyces rubiginosus** et largement utilisée pour convertir le glucose en fructose pour augmenter le pouvoir sucrant d'hydrolysats d'amidon

3.5.2. Production d'arômes et préparations aromatisantes

➤ Les lipases peuvent être utilisées non seulement pour **hydrolyser les fonctions ester** de **triglycérides** en présence d'eau mais aussi en milieu anhydre ou à faible activité de l'eau. Ces esters ont droit au label « **arôme naturel** ».

3.5. Industrie Des détergents & production d'agents tensioactifs

➤ L'industrie des détergents utilise le plus gros volume d'enzymes, c'est-à-dire 45 % du total du marché.

➤ Les enzymes utilisées dans ce secteur sont **les protéases, bactériennes** (ont des propriétés nettoyantes) et **fongiques, les amylases, les cellulases** et **les lipases**.

➤ Les lipases peut être utilisée pour produire des **sucroesters**, des **monoglycérides** qui sont des tensioactifs puissants. **Les phospholipides** peuvent aussi être des tensioactifs efficaces.

3.6 .Applications médicales et pharmaceutiques

- La grande diversité des protéases est un avantage qui permet à ces enzymes d'être utilisées dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques.
- Exp : **protéases d'*Aspergillus oryzae*** sont utilisées comme aide à la **digestion** chez certains individus souffrant **de déficits** en **enzymes lytiques** au niveau du système digestif.
- **Collagénases** provenant de ***Clostridium sp.*** ou des **subtilisines** sont utilisées en combinaison avec **des antibiotiques** dans le traitement de **brûlures et de plaies**.
- Une **élastotérase** provenant de ***B. subtilis*** peut être utilisée pour le traitement **de furoncles, d'abcès** et **de plaies profondes**.
- Enfin, **une asparaginase** provenant de ***E. coli*** est utilisée pour éliminer l'asparagine dans la circulation sanguine de certains patients atteints de certaines formes de leucémie.