

Procédé d'utilisation des enzymes Immobilisation

Les enzymes peuvent être utilisées dans les industries d'une manière directe ce qui peut entraîner une solubilisation des enzymes et par conséquent leur perte, recyclage difficile voire impossible, la réaction catalytique est lente, la maîtrise des réactions est difficile, le rendement est faible et le coût est élevé.

Pour compenser ces difficultés liées à l'instabilité des enzymes au cours de leurs utilisations, les industriels procèdent à ce qu'on appelle immobilisation (utilisation directe) pour pallier ces inconvénients.

1). Définition

Une enzyme immobilisée est une enzyme liée par des moyens physico-chimiques à la surface d'un support solide ou emprisonnée dans un gel, la radant inerte et insoluble sur lequel un substrat est adapté et transformé en produit.

2). Méthodes d'immobilisation

Les enzymes peuvent être immobilisées soit par rétention physique, soit par liaison chimique

2.1). Rétention physique

Exploite la grande différence de taille entre l'enzyme et le substrat, le support peut être un réseau ou capsule.

2.1.1). Inclusion dans une matrice

L'enzyme est dispersée dans une solution homogène de monomère ou d'émulsion. La polymérisation du monomère conduit à la formation d'un réseau au sein duquel l'enzyme est emprisonnée d'une manière purement physique (figure1 a).

2.1.2). Micro encapsulation

Cette technique consiste à enfermer des enzymes dans une membrane semi-perméable. Obtenue en Co polymérisant un monomère hydrophobe et un monomère hydrophile (figure1 b).

2.1.3) Choix et types de polymères

Le choix dépend des : propriétés chimiques (non toxicité), propriétés mécanique du gel (compression) et les propriétés physique (perméabilité du gel)

On utilise généralement : Gel polyacrylamide, gel d'amidon, d'alginate, fibres d'acétates....

1.1.2). Avantages et inconvénients

Avantages

- Réactions connus et bien maîtrisés
- Disponibilité des produits et non onéreux
- Immobilisation de la totalité de la masse enzymatique et pas de lien ne s'établit entre les deux
- Applicables à tout type d'enzymes

Inconvénients

- Réseau formé est presque toujours trop lâche pour retenir complètement l'enzyme.
- Problèmes de diffusion au travers des gels
- Le substrat doit avoir une taille non volumineuse.

Procédé d'utilisation des enzymes Immobilisation

2.2). Liaison chimique

La liaison chimique entre l'enzyme se réalise soit par simple interaction non covalente soit par création d'une vraie liaison covalente.

2.2.1). Adsorption

Cette méthode est extrêmement simple à mettre en œuvre puisqu'il suffit de laisser en contact l'enzyme et le support à un pH, une force ionique et une température convenable. Les différents types de liaisons intervenant dans l'adsorption figure 2.

2.2.1.1) Paramètres influençant le phénomène d'adsorption

- pH
- température
- concentration de l'enzyme
- temps de contact

2.2.1.2) Types de supports Peuvent être minéraux ou organiques

Minéraux

- Sels aluminosilicates (argiles)
- Verres poreux, silice poreuse

Organiques

Echangeurs d'ions (phosphate de cellulose)
Collagène, cellulose

2.2.1.3) Exemple d'adoption par support minéral (figure 3)

2.2.1.4) Avantages et inconvénient

- Très grande facilité de mise en œuvre
- Possibilité de régénérer le support par désorption et remplacement de l'enzyme.
- Fixation rapide
- Disponibilité des matériels

Pour les inconvénients

- Fragilité du complexe (support enzyme)
- Mauvaise orientation de l'enzyme : perte d'activité (liens directes avec le support)

2.2.1.5) Types d'orientation de l'enzyme (figure 4)

2.2.2). Liaison covalente

Ce sont des liaisons qui s'établissent soit avec un support ou sans support avec un agent activateur (activation de groupement soit de l'enzyme ou du support). Cette réaction se fait en deux étapes (activation puis fixation) figure 5

2.2.2.1) Réticulation ou glutaraldéhyde (sans support)

La réticulation repose sur l'utilisation d'agents dit réticulants qui vont permettre de lier les enzymes entre elles par des liaisons chimiques.

Procédé d'utilisation des enzymes Immobilisation

2.2.2.2) Immobilisation par liaisons covalentes sur support

Le principe de cette méthode d'immobilisation est de faire réagir un groupement fonctionnel libre de l'enzyme avec un groupement fonctionnel du réactif (figure). En général, les groupements fonctionnels du réactif sont des fonctions carboxyliques, thiols, hydroxyles ou encore amines.

2.2.6) Supports

Les supports inorganiques (verre poreux, silice, métalliques, alumino-silicates, etc.)

Les supports organiques (cellulose, l'amidon, l'agarose)

Pour les groupements fonctionnels liées aux supports (bromure de cyanogène BrCN qui active les supports à savoir la cellulose, on trouve aussi chlorures d'acyles

Exemple de liaison covalente par support organique (cellulose) (figure 3)

2.2.2) Avantages et inconvénients

- Très grande solidité de la liaison enzyme-support
- Grande variété de supports et de méthodes
- Rigidification de la structure tridimensionnelle
- meilleure stabilité

Pour les inconvénients

- Complexité de la méthode.
- Modification de la structure de l'enzyme : perte d'activité
- Supports présentant de mauvaises propriétés mécaniques

3) Propriétés des enzymes immobilisées

Stabilité de la réaction au cours du temps ; résistance à la dénaturation, activité catalytique préservée ; fixation solide aux supports ; possibilité de régénération,

4) Domaine d'application

- Thérapeutique
- Agroalimentaire
- Analytique