

Transformation des produits alimentaires par les enzymes

par **Guy LINDEN**

Docteur ès sciences

Professeur à l'université Henri-Poincaré (Nancy 1)

1. Maîtrise et amélioration des propriétés technofonctionnelles ...	F 3 700 - 2
1.1 Maîtrise des qualités organoleptiques des aliments.....	— 2
1.2 Amélioration de propriétés technofonctionnelles	— 3
1.2.1 Enzymes de dépolymérisation	— 4
1.2.2 Enzymes de polymérisation	— 4
1.2.3 Oxydoréductases.....	— 4
1.2.4 Enzymes de modification de chaînes latérales de macromolécules	— 4
1.3 Applications dans les filières agroalimentaires	— 5
1.3.1 Filière laitière	— 5
1.3.2 Produits carnés	— 5
1.3.3 Produits de la mer	— 6
1.3.4 Industries végétales	— 7
2. Biodisponibilité et acceptabilité des aliments	— 8
2.1 Hydrolyse du lactose.....	— 8
2.2 Digestibilité des lipides	— 8
2.3 Réduction de l'allergénicité des protéines et préparation d'hydrolysats	— 9
3. Maîtrise de la qualité hygiénique.....	— 9
3.1 Action bactériostatique et bactéricide	— 9
3.2 Destruction de constituants bactériostatiques.....	— 10
4. Utilisation des enzymes dans l'industrie des PAI	— 10
4.1 Utilisation dans les procédés d'extraction	— 10
4.1.1 Procédés de solubilisation	— 10
4.1.2 Procédés de précipitation	— 11
4.2 Utilisation pour la production de molécules sapides ou odorantes	— 11
4.2.1 Utilisation des hydrolases	— 11
4.2.2 Utilisation des oxydases	— 11
4.2.3 Enzymes catalysant des synthèses	— 11
4.2.4 Enzymes de réaction d'isomérisation	— 11
4.2.5 Conclusion	— 11
5. Applications industrielles futures	— 11
5.1 Activités déstructurantes	— 11
5.2 Activités structurantes	— 12
5.3 Activités synthétisantes	— 12
5.3.1 Molécules synthétisées par inversion de l'activité naturelle de certaines enzymes.....	— 12
5.3.2 Mise en œuvre d'une chaîne d'enzymes	— 13
Références bibliographiques	— 13
Pour en savoir plus	Doc. F 3 700

Premier secteur industriel où l'homme a exploité la catalyse enzymatique, le domaine agroalimentaire offre de multiples et diverses raisons d'utiliser les enzymes. Elles sont essentiellement soit d'**ordre technologique** : accélération ou régularisation de phénomènes enzymatiques, amélioration des qualités technofonctionnelles du produit fabriqué, mise au point de produits nouveaux, valorisation de sous-produits, soit d'**ordre économique** : amélioration des conditions de travail ou de la productivité, régularisation des prix sur le marché.

Les utilisations des enzymes dans le secteur agroalimentaire représentent près de 65 % du chiffre d'affaires du marché des enzymes industrielles et seule une quarantaine d'entre elles est utilisée dans cette industrie.

Selon une étude d'un cabinet conseil (Frost & Sullivan), le revenu total pour les enzymes industrielles en Europe était estimé en 1995 à, au moins, 455 millions de dollars et devrait atteindre 906 millions de dollars en 2003. La diminution des prix est la principale donnée qui affecte les marchés. Celle-ci est imputable à l'augmentation de la production d'enzymes par ingénierie génétique et devrait se poursuivre d'ici la fin du millénaire.

Les enzymes les plus importantes en termes de revenus sont encore les protéases qui couvraient 34,4 % du marché en 1995 et, à l'horizon 2003, elles risquent d'être détrônées par les lipases (38,5 % du marché prévu) qui sont suivies par les glycosidases (30,5 %).

Les principaux acteurs économiques du développement industriel de ces catalyseurs biologiques dans le secteur agro-industriel sont, d'une part, les transformateurs de la production agricole, d'autre part, les concepteurs et réalisateurs de préparations enzymatiques utilisées à l'échelle industrielle. Les gros consommateurs d'enzymes sont l'industrie des détergents, la fromagerie, l'amidonnerie et d'autres industries alimentaires d'origines végétales (secteurs des boissons, boulangerie-pâtisserie, confiserie...).

L'industrie des enzymes qui se caractérise par un chiffre d'affaires assez modeste, pèse peu sur l'évolution technologique des filières où l'on fait appel à elle. Par contre, comme les principales sources d'enzymes à usage industriel sont d'origine microbienne, elle a grandement contribué au développement des industries de fermentation.

Étant donné, précisément, ces conditions de production, il reste à ces biocatalyseurs de nombreuses possibilités de développement : augmentation des rendements de production, modification de leurs activités, de leurs spécificités ou de leurs stabilités. Mais ce secteur industriel possède-t-il les moyens pour réaliser les travaux de recherche-développement propres à assurer aux enzymes le futur brillant qu'on s'accorde généralement à leur reconnaître ?

Vue d'ensemble sur les applications industrielles

1. Maîtrise et amélioration des propriétés technofonctionnelles

1.1 Maîtrise des qualités organoleptiques des aliments

Depuis longtemps les enzymes jouent un rôle important dans les caractéristiques des aliments. Elles agissent :

- soit en étant présentes naturellement dans les matières premières animales (lipase et protéase du lait et de la viande) ou végétales (protéase, oxydase et lipase dans les graines) ;
- soit en provenant de micro-organismes contaminants ou ajoutés sous forme de levain (amylase de levure, lipase et protéase de champignon ou bactérie intervenant dans l'affinage des fromages) ; ces micro-organismes produisent souvent plusieurs enzymes capables de catalyser une séquence de réactions (par exemple, c'est le cas des préparations de souches aromatisantes) ;
- soit sous forme de préparation purifiée ajoutée à l'aliment ; c'est le cas pour la chymosine, enzyme responsable de la coagulation du lait, pour les pectinases, enzymes permettant de réduire la viscosité des jus de fruits.

Beaucoup d'autres enzymes sont utilisées en technologie alimentaire pour modifier la texture (protéases, amylases...), l'arôme (lipase) ou la saveur (protéase).

Dans de nombreux cas, les modifications sensorielles engendrées par les enzymes sont indésirables soit par la simple présence des produits de la réaction, soit par une quantité excessive de ceux-ci si la réaction est trop prononcée. La maîtrise des propriétés sensorielles passe nécessairement par l'inhibition de certaines activités (traitement thermique de végétaux nécessaire pour détruire les oxydases responsables de brunissement et de défauts de goût) ou par des pratiques technologiques ne favorisant pas les activités enzymatiques indésirables.

1.2 Amélioration de propriétés technofonctionnelles

Les enzymes sont utilisées pour maîtriser et/ou pour améliorer les propriétés technofonctionnelles des aliments. Dans le tableau 1 sont résumés les effets principaux des activités enzymatiques sur les propriétés fonctionnelles des produits alimentaires.

Tableau 1 – Effets des activités enzymatiques sur les propriétés fonctionnelles [20]

Enzymes	Ingrédients	Effets sur les propriétés fonctionnelles
Hydrolyse des protéines		
Protéases – endocellulaires – exocellulaires microbiennes	Protéines de muscle (viande, poisson)	Attendrissement, solubilisation Préparation aromatique
Protéases – digestives – microbiennes – végétales	Concentrés protéiques, lactosérum Caséine native (micelles) Caséinates Globine du cruor Gluten	Solubilisation. Propriétés tensioactives accrues Coagulation préure Propriétés tensioactives accrues Solubilisation et décoloration Solubilisation. Propriétés tensioactives
Protéase en milieu peu hydraté ou avec cosolvant	Caséine, ovalbumine	Réaction « plastéine » → gélification
Phosphatases (microbienne acide et alcaline)	Caséine native	Perte de structure compacte Accroissement de la protéolyse (coagulation)
Phosphatase végétale	Caséine Phosvitine	Baisse de sensibilité au Ca ⁺⁺ et aux cations divalents
Hydrolyse des glycannes		
β-Galactosidase	Lactose → glucose + galactose	Accroissement de la solubilité et du pouvoir sucrant
Invertase	Saccharose → glucose + fructose	Accroissement de la solubilité et du pouvoir sucrant
α et β-Glucosidase	Glycoprotéines du blanc d'œuf	Diminution du pouvoir moussant
Amylases et enzymes débranchantes +	Amidons (maïs, pomme de terre) → maltodextrines, glucose	Baisse de viscosité. Solubilisation → sirops Pouvoir sucrant accru
α-Glucosidase	Concentrés protéiques de légumineuses (féverole)	Élimination de l'amidon Élimination d'α-galactosides
Pectinases Polyméthylestérases + Polygalacturonases microbiennes	Pectines	Déméthylation → accroissement de la dépendance de la gélification vis-à-vis du pH Hydrolyse de liaisons osidiques → baisse de viscosité
Hydrolyse des lipides		
Lipases microbiennes	Triacylglycérols en émulsion	Libération de mono et diacylglycérols tensioactifs Libération d'acides gras volatils (arômes)
	Triacylglycérols en cosolvant	Estérification → changement de point de fusion Synthèse de triacylglycérols
Oxydoréductases		
Glucose oxydase	Blanc d'œuf (élimination du glucose)	Poudre insensible aux réactions de Maillard
	Acide linoléique	Composés odorants (aldéhydes, lactones)
	Concentrés protéiques contaminés par lipides insaturés	Perte de solubilité
Enzymes de synthèse		
Phosphokinase	Caséines et protéines diverses	Gélification en présence de Ca ⁺⁺
Transglutaminase	Protéines → polymérisats	Gélification
Cyclodextrineglucanotransférase	Maltodextrines → cyclodextrines	Encapsulats de molécules hydrophobes

1.2.1 Enzymes de dépolymérisation

La **protéolyse** limitée permet en général :
 — une amélioration de la solubilité des protéines ;
 — une diminution de la viscosité et de la fermeté de gels protéiques ;
 — un accroissement des propriétés tensioactives des protéines de masse moléculaire élevée pour des degrés d'hydrolyse faibles mais, au contraire, une perte de la capacité stabilisante d'émulsion pour des degrés d'hydrolyse élevés.

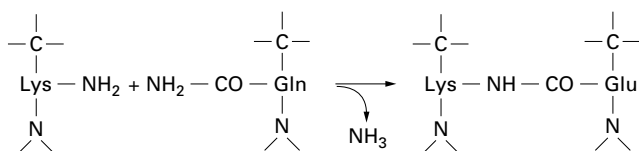
L'**hydrolyse** limitée des glycanes (amidon, pectines...) a les effets suivants :

- baisse de rétention d'eau et de viscosité ;
- baisse de fermeté des gels.

Quant à la **lipolyse**, elle permet, grâce à la libération d'acides gras, d'améliorer les propriétés liantes et émulsifiantes des ingrédients lipidiques.

1.2.2 Enzymes de polymérisation

La transglutaminase (E.C.2.3.2.13) a été utilisée pour former des ponts covalents entre groupes amides de l'asparagine et la glutamine et groupe ε lysyle :



Cette réaction, mise en œuvre dans les cellules vivantes et dans une étape terminale de la coagulation sanguine, peut conduire à d'énormes édifices polypeptidiques qui sont aptes à fixer beaucoup d'eau et à inclure des petites molécules. Selon le degré de réticulation, on obtient un accroissement de la viscosité et même une gélification de solutions. C'est ainsi que les protéines de soja, de blé, les caséines, la myosine sont utilisées pour former des films, des gels et stabiliser des émulsions [12].

1.2.3 Oxydoréductases

Ces enzymes ont fait l'objet de publications récentes [22], [29]. Elles jouent un rôle essentiel dans les industries de cuisson des céréales. La figure 1 représente précisément les principaux systèmes d'oxydoréduction intervenant en agroalimentaire. Leur action peut se résumer en quelques lignes.

Par la production de radicaux libres, l'oxydation des lipides insaturés ou d'autres substrats oxydables (polyphénols, par exemple) provoque généralement des réactions de polymérisation des protéines (formation de ponts disulfure ou de ponts carbonylamine) avec une perte de solubilité et d'une grande partie des propriétés tensioactives.

1.2.4 Enzymes de modification de chaînes latérales de macromolécules

Les pectinéméthylestérases (E.C.3.1.1.11) associées aux pectinases hydrolysent les fonctions esters des pectines dont elles modifient le degré de méthylation ; cette réaction aboutit en général à des degrés de méthylation compris entre 10 et 30 % et modifient ainsi le phénomène de gélification et les conditions optimales de pH et de composition minérale (Ca⁺⁺) qui y sont reliées.

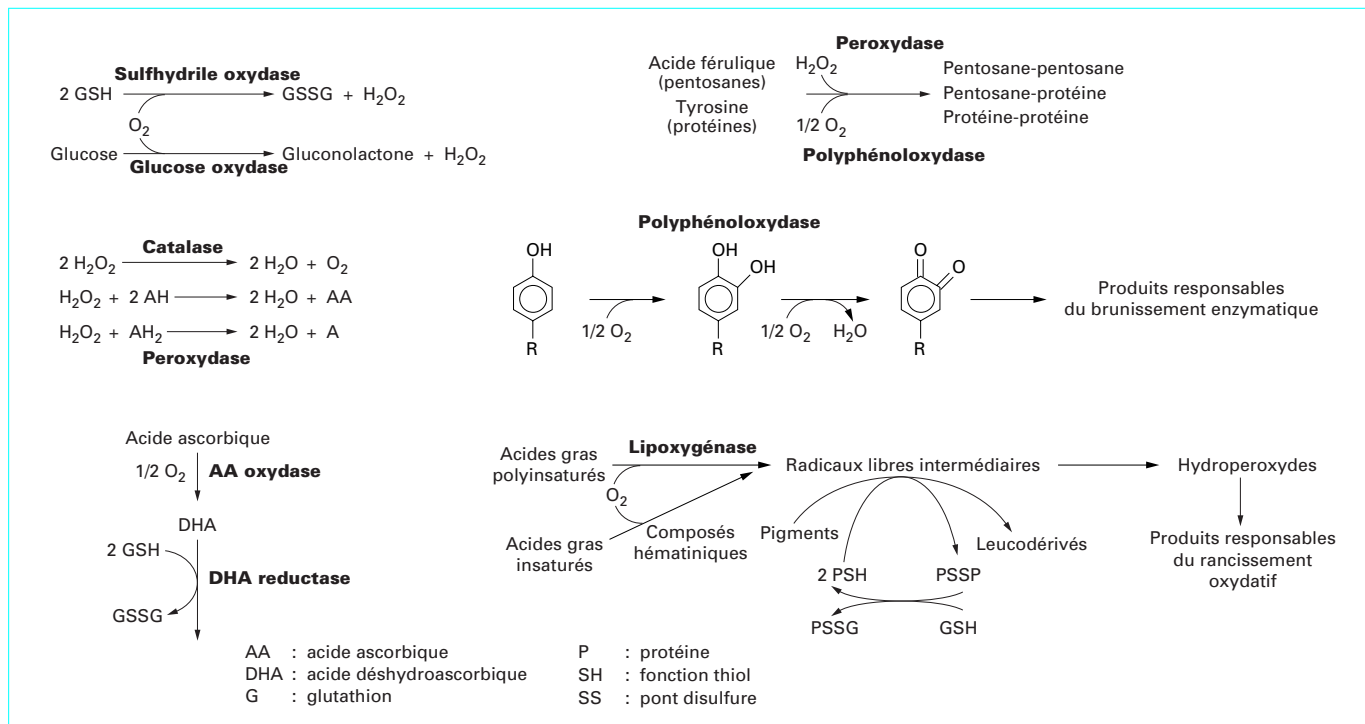


Figure 1 – Schéma des principaux systèmes d'oxydoréduction intervenant en agroalimentaire [22]

La phosphorylation et la glycosylation enzymatiques sont applicables aux protéines alimentaires mais la spécificité des conditions réactionnelles est si stricte qu'elle limite leur rôle.

La déphosphorylation des caséines par des phosphatases acides ou alcalines augmente fortement la stabilité d'émulsion sans différence significative de viscosité. De plus, au cours de l'affinage des fromages, des phosphatases pourraient intervenir dans la déphosphorylation des caséines les rendant ainsi plus hydrolysables par les enzymes protéolytiques.

Les protéases telles que la papaïne peuvent avoir une activité acylante en introduisant des groupements thiol dans les protéines de soja ; il en résulte une modification des propriétés fonctionnelles [20].

1.3 Applications dans les filières agroalimentaires

Les enzymes endogènes et/ou exogènes peuvent contribuer à l'élaboration de la texture (coagulation du lait) ou à son évolution dans le processus de maturation (viande, poisson, fruits, légumes), d'affinage (fromage, saucissons secs...).

Les produits des réactions enzymatiques peuvent intervenir directement ou indirectement par apport de précurseurs sur la saveur et l'arôme des produits finis.

1.3.1 Filière laitière

La première étape de la transformation du lait en fromage est la coagulation. Quand elle s'effectue par la voie enzymatique, elle résulte d'une déstabilisation de la fraction caséinique par hydrolyse spécifique de la caséine κ (liaison Phe¹⁰⁵Met¹⁰⁶) sous l'action de la chymosine (E.C.3.4.23.4). Dans la présure extraite de la caillotte de veau nourri au lait, cette enzyme se trouve en compagnie d'une autre protéase coagulante : la pepsine (E.C.3.4.23.1-2).

Pour pallier aux déséquilibres de l'offre et de la demande en matière de présure de veau, différentes solutions ont été proposées : à savoir, la mise en œuvre de protéases d'origine animale (pepsine bovine, pepsine porcine), d'origine végétale (*Cynara cardunculus*), d'origine microbienne (*Endothia parasitica*, *Mucor pusillus*, *Mucor miehei*) ou l'utilisation de chymosine recombinante [5]. Cette protéase produite chez *Kluyveromyces lactis*, *Escherichia coli* ou *Aspergillus niger* est autorisée en remplacement de la présure de veau dans certains pays.

La mise en œuvre de substituts de chymosine a des répercussions à la fois sur la texture, le rendement fromager et l'affinage. Leurs spécificités enzymatiques sont, en effet, différentes de celles de la chymosine ; de plus, leur rétention dans le caillé lors de l'égouttage est inférieure à celle de la chymosine. Par contre, la chymosine recombinante a des caractéristiques physico-chimiques et des propriétés coagulantes identiques à celle du veau [30].

Le choix de l'enzyme coagulante est une décision importante qui appartient au fromager. La sélectivité de la coupure de la caséine K assure en effet l'intégrité des protéines pendant cette transition délicate du lait liquide au coagulum. Une enzyme trop peu sélective risque de continuer à hydrolyser les caséines pendant la phase de coagulation. On risque alors de perdre des fractions azotées dans le lactosérum.

Ce risque est majeur : il détermine le rendement fromager, c'est-à-dire le nombre de kilogrammes de fromages que l'on obtient pour 100 kilogrammes de lait mis en œuvre. C'est un critère principal de la réussite économique de la transformation fromagère. En perdant un pour cent de rendement, on remet en cause la rentabilité globale du processus de transformation du lait en fromage. Cela justifie le

fait que l'on juge d'abord les enzymes coagulantes sur leur aptitude à préserver les rendements [17].

La texture, la saveur et l'arôme du fromage sont la résultante de modifications physico-chimiques des fractions protéiques et lipidiques consécutives à l'action des enzymes et des micro-organismes. Les protéases et les lipases impliquées dans le déroulement de l'affinage sont :

- présentes dans le lait : plasmine (E.C.3.4.21.7) ;
- apportées par les agents coagulants : chymosine, lipases ;
- sécrétées ou libérées par les micro-organismes : levain, flore secondaire.

En ce qui concerne la chymosine, dans les fromages à pâte cuite, de type emmental, comté, beaufort, grana, parmesan..., l'enzyme coagulante n'intervient pas ou de façon marginale dans la protéolyse pendant l'affinage. Le chauffage du caillé en cuve autour de 53 °C inactive, en effet, en très grande partie cette enzyme. Pour les autres fromages (par exemple, type pâte pressée : gouda, cheddar...), la chymosine coupe la caséine α_{s1} dans la première phase de la protéolyse pendant l'affinage. Cette activité protéolytique jouera un rôle majeur sur la formation de la texture et du goût du fromage prêt à la consommation.

L'ensemble des enzymes susceptibles de jouer un rôle dans le déroulement de l'affinage est de mieux en mieux connu. De nombreuses études ont été réalisées pour tenter d'accélérer le déroulement de l'affinage, pour en réduire les coûts, notamment dans le cas de pâtes pressées [9].

Plusieurs voies sont envisagées :

- addition directe d'enzymes (protéases et lipases) dans le lait ou le caillé sous forme libre ou encapsulée (liposomes) ;
- lyse des micro-organismes du fromage (lysozyme-lysine phagique) pour libérer leur contenu enzymatique ;
- surexpression des activités protéolytiques-peptidasiques des micro-organismes (levains).

Les effets les plus marquants de cette addition d'enzymes sont obtenus avec les lipases. L'hydrolyse des acylglycérols conduit en effet à des acides gras qui ont une action importante sur les caractéristiques olfactives de certains fromages – et notamment les pâtes persillées (roquefort, bleu des Causses, bleu d'Auvergne...) – par suite de leur transformation en cétoacides, méthylcétones, lactones.

De même, l'addition de lipases à du lait de vache peut générer des saveurs proches de celles obtenues à partir de lait de chèvre et de brebis. Celles-ci sont utilisées en fabrication de féta, manchego et romano à partir de lait de vache. La note de fromage bleu peut être également renforcée par certaines lipases. Dans le cas de certains fromages (ras-kopanište), l'apport de lipases à du lait pasteurisé permet d'obtenir des saveurs proches de celles obtenues à partir du lait cru.

En résumé, l'importance des acides gras libres dans la saveur caractéristique de différents produits laitiers n'a cessé de croître. Certains acides gras, comme les acides caproïque (C₆:0), caprylique (C₈:0) et caprique (C₁₀:0) donnent un goût piquant, poivré au fromage. Les lipases actives dans les fromages « italiens » (provolone, romano...) sont traditionnellement dérivées de caillettes des jeunes veaux ou d'agneaux.

1.3.2 Produits carnés

Les enzymes protéolytiques musculaires jouent un rôle très important dans le processus d'attendrissement des viandes. Elles sont en effet responsables des altérations structurales et biochimiques des muscles conduisant à une fragilisation de ce tissu et, par voie de conséquence, à l'amélioration de sa tendreté, qualité la plus recherchée par le consommateur. La variabilité importante de cette qualité, qui a pour origine une grande diversité des matières premières, a conduit les industriels à s'intéresser aux technologies d'attendrissement « artificiel » des viandes et, plus particulièrement, à celles qui

font appel à des enzymes exogènes comme la papaïne (E.C.3.4.22.2), la ficine (E.C.3.4.22.3) ou les collagénases (E.C.3.4.24.3). Selon le but recherché (attendrissage de muscles plus ou moins riches en collagène, amélioration de morceaux susceptibles d'être ensuite consommés en steak ou bouillis, uniformisation de la tendreté de viandes à griller...), l'une ou l'autre ou un mélange adapté de ces protéases sera utilisé [23].

En plus des mécanismes physico-chimiques de maturation des viandes, des réactions enzymatiques agissent de façon synergique. Trois systèmes protéolytiques ont été identifiés au niveau du tissu musculaire :

- les protéases neutres calcium dépendantes appelées calpaïnes (E.C.3.4.22.17) actives à pH neutre ;
- les protéases lysosomales désignées sous le nom de cathepsines (B, D, L et H) actives entre pH 4,0 et 6,0 ;
- le complexe multicatalytique appelé protéasome.

Une majorité des modifications qui ont lieu au niveau de la structure myofibrillaire est due à l'action synergique des calpaïnes et des cathepsines, chacun des deux types de protéases étant incapable d'engendrer séparément toutes ces variations.

La maturation des viandes est fortement dépendante de la température. Ainsi, entre 0 et 40 °C, le coefficient de température ou Q_{10} est très élevé et voisin de 2,5. Cela signifie que chaque fois que la température est abaissée de 10 °C, la vitesse d'attendrissage est divisée par 2,5. En fait, cette relation n'est pas aussi simple puisque non linéaire sur toute la plage de température.

L'attendrissage artificiel n'offre d'intérêt que pour la viande bovine car les viandes de porc, d'agneau ou de volaille sont généralement suffisamment tendres du fait de l'âge d'abattage de ces animaux qui est physiologiquement très bas.

L'attendrissage enzymatique de la viande grâce à l'action de protéases exogènes d'origines diverses est interdit en France au niveau industriel. Seule l'utilisation de sels attendrisseurs est autorisée et cette autorisation ne concerne que la papaïne, enzyme extraite de la papaye.

Le sel attendrisseur à base de papaïne est exclusivement réservé à la consommation domestique avec une proportion de papaïne comprise entre 20 et 30g/kg de sel de cuisine. Par contre, l'utilisation d'extraits de fruits (papaye, ananas) est autorisée. L'effet attendrisseur de ces extraits bruts est réel mais la maîtrise du degré d'attendrissage est délicate, voire impossible.

Compte tenu que la viande est généralement stockée à basse température, ces protéases ne seront pleinement actives que lors de la cuisson et leur efficacité sera bien entendu d'autant plus grande que la montée en température sera lente. Pour la papaïne, l'optimum d'efficacité est atteint aux environs de 40-50 °C et son activité ne cessera qu'après dénaturation de l'enzyme elle-même par la chaleur, dénaturation qui intervient aux environs de 75-80 °C. Pour cette raison, les sels attendrisseurs sont ajoutés à la viande juste avant cuisson.

Bref, l'attendrissage enzymatique des viandes présente un intérêt sur le plan industriel et le seul facteur limitant au développement de cette technologie reste la législation. Cette dernière est d'ailleurs en cours de renégociation au niveau européen. L'état actuel de la réglementation fait que très peu de travaux de recherches sont actuellement réalisés dans ce domaine aussi bien en France qu'en Europe. Les principaux résultats ont été obtenus aux États-Unis où la réglementation est beaucoup plus souple.

1.3.3 Produits de la mer

Les produits de la mer (poissons, crustacés, mollusques et algues) ont été transformés depuis des siècles en utilisant les activités d'enzymes endogènes ou exogènes. Comme la chair de poisson constitue une source de protéines de haute valeur nutritive, les « faux-poissons », les farines brutes ainsi que les sous-produits

constituent donc une réserve importante de protéines susceptibles d'être consommées après transformation par hydrolyse enzymatique. Dans les hydrolysats qui constituent aujourd'hui, au niveau commercial, le plus important procédé enzymatique de transformation du poisson, il convient de distinguer, d'une part, les produits traditionnels (autolysats ou hétérolysats) et, d'autre part, les hétérolysats industriels dont la finalité est de modifier les matières protéiques disponibles afin de leur apporter une valeur ajoutée nutritionnelle et économique [10].

Une revue récente a recensé l'abondante littérature qui décrit les techniques de production des différents produits traditionnels fermentés ou maturés [26]. Toutes ces préparations obéissent au besoin impératif de contrôler la prolifération bactérienne en additionnant du sel et/ou du saccharose, en jouant sur le pH, la force ionique et le potentiel rédox ; il en résulte une faible vitesse de l'autolyse et une durée longue des procédés (généralement 6 mois).

Dans les procédés traditionnels, la majeure partie de la transformation est due aux enzymes endogènes, essentiellement les protéases digestives. Afin d'abaisser les coûts de production, l'utilisation d'enzymes végétales (bromélaïne, papaïne et ficine) a été préconisée pour la fabrication d'une sauce de poisson de faible goût pouvant être ajoutée à la sauce traditionnelle (nam-pla). C'est la bromélaïne qui (concentration 0,8 % en masse ; cofacteur cystéine 0,025M, 33 °C) donne les meilleurs résultats et permet d'obtenir en 21 jours un produit de qualité satisfaisante au goût amer peu prononcé [10].

Au cours du procédé d'anchoitage (préparation d'un anchois salé et mûré), la forte teneur en sel du milieu, les faibles valeurs de l'activité de l'eau (0,7-0,8) et du pH (autour de 5) inhibent la croissance de bactéries d'altération. L'hydrolyse des tissus est due quasi exclusivement aux protéases endogènes et les composés volatils caractéristiques sont des cétones et des alcools produits par l'activité de ces biocatalyseurs endogènes et des dérivés d'aldéhydes auto-oxydés [31].

Les pulpes, les farines et les concentrés protéiques de poisson sont couramment employés en nutrition animale ; ils sont peu solubles et possèdent de faibles propriétés nutritionnelles. La production d'hydrolysats protéiques de poisson permet de mieux valoriser ces produits en les destinant à l'alimentation humaine (arômes, compléments protéiques). L'hydrolyse est effectuée par ajout au produit à transformer de protéases exogènes, essentiellement d'origine microbienne et il faut éviter la formation de petits peptides amers.

L'ensilage de poisson peut être une alternative à la production de farine de poisson car la séparation de l'huile est effectuée après hydrolyse enzymatique et/ou chimique au lieu d'un procédé thermique et mécanique. Les ensilages sont préparés à partir de poissons broyés qui sont hydrolysés après acidification du milieu (pH égal à environ 4,5) et par inoculation de bactéries lactiques. La bonne qualité nutritionnelle et l'effet probiotique des ensilages permettraient leur utilisation pour l'élevage de porcs [7].

Les enzymes mises en jeu lors de la préparation des hydrolysats sont soit d'origine endogène, soit produites par les bactéries présentes dans le milieu, soit d'origine commerciale.

Certaines enzymes endogènes digestives présentent des propriétés originales (par exemple, une activité importante à 4 °C). La publication de Haard [14] contient un inventaire de ces caractéristiques particulières. De même, les bactéries présentes dans les sauces de poisson orientales croissent jusqu'à des concentrations de NaCl de 4M et présentent des activités enzymatiques de type lipase, gélatinase et caséinase [26]. En général, les protéases issues des bactéries halophiles sont actives à des concentrations en NaCl élevées mais sont dénaturées à des concentrations en sel inférieures à 2 ou 3M.

Répétons que la cinétique d'autolyse des produits de la mer est un processus lent et l'addition de protéases exogènes permet de réduire le temps de maturation et donc les coûts de production. Dans cette filière comme dans les autres, la spécificité de substrat peut être considérée comme le premier critère de choix d'une

enzyme, à côté d'autres facteurs comme le pH_o, la thermostabilité, la présence d'activateurs et d'inhibiteurs, le prix et la disponibilité du catalyseur.

Exemple : les protéases les plus couramment utilisées sont extraites à partir de sources essentiellement microbiennes (monozygote, pronase...), mais aussi animales (pepsine) et végétales (papaïne, ficine, bromélaïne).

1.3.4 Industries végétales

Étant donné la prépondérance et la diversité des macromolécules végétales dans le monde vivant, les possibilités d'applications des enzymes pour transformer et modeler les matières premières végétales sont innombrables. Mais il existe quelques limites dans la mise en œuvre des enzymes sur des substrats végétaux.

■ L'utilisation de différentes enzymes permet d'améliorer la qualité des produits de **boulangerie** et de **pâtisserie**.

- En premier lieu, l'apport d' α - et β -amylase à la farine de blé permet d'accroître un peu la teneur en oses libres fermentescibles (en moyenne de 1 à 2 % dans la plupart des farines). Cet apport permet une **meilleure fermentation** avec production de gaz et un bon gonflement de la pâte boulangère : on obtient des pains bien lacunaires, non collants. De plus, on peut déterminer la proportion de dextrines produite en réglant le rapport α/β des amylases de la farine. On limite ainsi la réaction de Maillard (cf. article F 3 400 *Modifications biochimiques des constituants alimentaires* dans ce traité) à la cuisson et on obtient des croûtes ni trop épaisses, ni trop colorées.

- La maîtrise du **rassissement** du pain peut être acquise également par un apport enzymatique. Rappelons que le rassissement est dû à la rétrogradation de l'amyllose et de l'amylopectine de la forme soluble hydratée en des formes cristallines pauvres en eau : le pain devient dur et cassant et perd toute qualité. Une solution classique consiste à ajouter des tensioactifs empêchant ce phénomène sur l'amyllose ; l'emploi d'un monoacylglycérol (ou un analogue structural) qui occupe le centre de l'hélice de cette fraction de l'amidon retarde le rassissement. Mais un apport d' α -amylase raccourcit les chaînes d'amylopectine les ramenant de 19-21 unités à 12-15 unités glucose. Ce changement de taille diminue la tendance à la rétrogradation et surtout la taille de cristaux qui peuvent se former. La durée de vie du pain s'en trouve prolongée. Une publication récente résume les propriétés et les rôles en panification des amylases [32].

- L'hydrolyse partielle des constituants du gluten par un apport de protéases bactériennes avant la formation de la pâte coupe certaines liaisons endopeptidiques, ce qui **réduit l'élasticité et améliore l'extensibilité** de la pâte ; en conséquence, le pétrissage mécanique devient plus efficace car la déchirure de la pâte ne se produit plus. Cette technologie est utilisée dans l'industrie des *crackers*. De même, avec certaines exopeptidases fongiques, on accroît la libération d'acides aminés, modulant ainsi la réaction de Maillard, donc ses conséquences sur la saveur du pain, la consistance et la couleur de la croûte.

- En **panification**, l'emploi des hémicellulases s'est largement répandu ces dernières années. Précisons tout d'abord que le terme « hémicellulase » est une appellation générique qui recouvre une grande diversité d'enzymes dégradant des polysaccharides de la paroi cellulaire des végétaux. En pratique, les hémicellulases jouant un rôle en panification ont essentiellement comme substrat les pentosanes des farines. Les farines de blé contiennent en effet entre 2 et 3 % de pentosanes constitués principalement de D-xylose et de L-arabinose. En conséquence, les enzymes efficaces sont principalement des endoxygénases (E.C.3.2.1.32). Ajoutées à une dose optimale aux farines (entre 50 et 100 ppm), ces biocatalyseurs convertissent en partie les pentosanes insolubles, à caractère défavorable pour la qualité boulangère, en pentosanes solubles qui sont eux bénéfiques. Cela se traduit par une amélioration des caractéristiques de pâte (extensibilité, élasticité, collant) et de pain (volume, aspect, mie) [25]. En cas d'addition excessive, une trop forte propor-

tion de pentosanes est dégradée ce qui rend les pâtes molles et collantes.

Les systèmes d'oxydoréduction intervenant en panification sont schématiquement dans la figure 1 [24]. La lipoxygénase (E.C. 1.13.11.12), qui catalyse l'oxydation moléculaire des acides gras non estérifiés, joue un rôle majeur, quoique indirect, dans les modifications conformationnelles des micelles lipoprotéiques assurant l'agrégation des protéines entre elles pour former le gluten. L'activité de cette enzyme est faible dans la farine de blé, elle est considérablement plus élevée dans les farines de légumineuses [18]. À noter également que cette enzyme ne figure pas sur la liste des enzymes autorisées en industrie alimentaire.

La farine contient également une acide ascorbique oxydase (E.C. 1.10.3.3.). Elle catalyse l'oxydation par l'oxygène moléculaire de l'acide L-ascorbique – additif couramment utilisé en panification – en acide L-déshydroascorbique. Ce dernier oxyde le glutathion en présence de glutathion déshydrogénase (E.C. 1.8.5.1). Le glutathion oxydé devient alors indisponible pour participer aux réactions d'échange de ponts disulfures avec les protéines ; il en résulte un raffermissement de la pâte.

Parmi les autres oxydoréductases présentes dans la pâte, il convient de mentionner :

- les polyphénoloxydases (E.C. 1.10.3.1, 1.10.3.2 et 1.14.18.1) qui oxydent les composés phénoliques pour former des quinones, lesquelles, après une série de réactions, conduisent à des polymères colorés en brun ;

- la glucose oxydase (E.C. 1.1.3.4.) qui catalyse l'oxydation du glucose en D-gluconolactone et eau oxygénée. Cette enzyme n'existe pas dans la farine mais l'utilisation de préparations fongiques de glucose oxydase a été préconisée dans le but de raffermir les pâtes ;

- la sulphydryle oxydase (E.C. 1.8.3.2) qui provoque l'oxydation du glutathion réduit en glutathion oxydé tout en produisant de l'eau oxygénée. En outre, des oxydoréductases comme la catalase (E.C. 1.11.1.6) et la peroxydase (E.C. 1.11.1.7) décomposent ce peroxyde d'hydrogène.

- Dans la fabrication de la **bière**, les enzymes utilisées ont pour finalité :

- de suppléer ou de remplacer les enzymes des matières premières (malt, orge cru, grits de maïs, brisure de riz, etc.) en ajoutant généralement un mélange d' α -amylase ou amyloglucosidase + β -glucanase + protéase neutre ;

- d'améliorer et de régulariser le procédé et la qualité de la bière ; par exemple, l'addition de préparations commerciales contenant des activités β -glucanasiques (extraites de *Penicillium emersonii* car encore actives à 80 °C), seules ou associées à des activités pentosanases, xylanases, arabinases secondaires, permet d'améliorer la filtration de la mûsche et de la bière ;

- de produire de nouvelles bières ; ainsi l'addition de glucoamylase permet d'obtenir des bières contenant moins d'oligosaccharides résiduels [3].

- L'irruption des enzymes en technologie des **jus** de fruits et de légumes a profondément modifié les techniques de fabrication dans ce secteur industriel. Et pourtant, des enzymes exogènes sont utilisées dans l'industrie des fruits et légumes depuis plus d'un demi-siècle.

- Les enzymes de **macération** sont caractérisées par leur forte activité polygalacturonase (E.C.3.2.1.15.) et l'absence presque totale de pectine méthylestérase (E.C.3.1.1.11). L'action de ces biocatalyseurs se limite à une hydrolyse partielle des pectines de la lamelle moyenne, suffisante pour dissocier les cellules tout en les conservant intactes en suspension dans un jus rendu visqueux par la présence de pectines solubilisées. Du reste, la charge des pectines solubilisées et dégradées est importante pour la stabilité et la qualité des produits obtenus.

Malgré les nombreuses études effectuées sur la macération enzymatique, elle est encore, pour l'heure, peu pratiquée au stade indus-

triel. En effet, comme la vitesse de la macération décroît au cours du temps, il est presque impossible d'obtenir une macération complète du tissu dans un temps et avec une concentration en enzyme compatibles avec les contraintes de la production industrielle [2].

- Bien évidemment, dans le cas de la **liquéfaction** de tissus végétaux, l'hydrolyse de la paroi cellulaire doit être plus importante que lors de la macération. Il s'agit non seulement de désorganiser les tissus, mais également de favoriser l'écoulement du cytoplasme et du contenu vacuolaire.

Exemple : pour certains fruits mous (fraises, framboises...) une destruction partielle de la pectine facilite le pressurage et augmente la teneur et la quantité de jus ainsi que la présence de pigments anthocyaniques.

Par conséquent, la liquéfaction la plus performante est obtenue par l'action simultanée des enzymes pectinolytiques et cellulolytiques. Cependant, le rapport entre les différentes activités et la présence d'hémicellulases contaminantes influent sur le rendement de la liquéfaction et sur la composition en polyosides du jus. De plus, l'oxydation des composés phénoliques entraîne la formation de complexes entre pigments et polysaccharides limitant leur dégradabilité. Ce problème a été résolu soit par addition de polyvinylpyrrolidone insoluble, soit par oxydation-aération (condensation en pigments noirs insolubles).

Exemple : dans le cas du jus de pomme, la baisse de viscosité est obtenue par une activité combinée de la pectine estérase et de l'endopolygalacturonase sur des pectines hautement estérifiées en solution ; la clarification du jus de pomme est possible avec la pectine lyase (E.C.4.2.2.10), mais cette enzyme est moins efficace dans la clarification du jus de raisin qui contient seulement entre 45 et 60 % de pectines estérifiées. Il faut une concentration préalable (à 45-50 °C) pour arriver à une clarification et dépectinisation complètes.

Bref, l'enzymage avant pressurage entraîne une baisse de viscosité qui améliore la filtrabilité des jus. Il permet de réduire le temps de filtration lors de la clarification des moûts, ainsi que le temps et l'énergie nécessaires à l'évaporation des jus limpides pour la fabrication des concentrés.

- Les enzymes pectinolytiques sont également utilisées pour valoriser des coproduits dans l'**industrie des fruits**. Ainsi, dans le traitement du citron, les pulpes sont lavées à contre-courant et les pectinases sont ajoutées pour obtenir le maximum de « *solides solubles* » et la viscosité la plus faible de façon à pouvoir concentrer le produit final. C'est la même démarche qui est utilisée pour produire des quantités importantes de substances capables de donner un trouble dans les boissons produites à partir de différents agrumes.

Ainsi, dans la fabrication des nectars, qui sont des boissons pulpeuses dans lesquelles le jus visqueux maintient une quantité importante de matières en suspension, la meilleure stabilité a été obtenue dans le cas de fruits tropicaux avec la préparation commerciale la plus riche en pectine méthylestérase, endopolygalacturonase et pectine lyase [1].

- En résumé, les **préparations enzymatiques commerciales** contenant plus ou moins les activités évoquées ci-dessus sont utilisées pour le **traitement de la pulpe ou du jus**. Elles trouvent leurs applications dans des productions telles que boissons sucrées non alcoolisées à base de fruits ou de légumes, vinification ou cidrerie. Mais l'optimisation de la liquéfaction de fruits ou de légumes à l'aide de préparations enzymatiques commerciales reste empirique pour une large part. De nombreuses publications et fiches techniques rapportent les meilleures conditions pour la liquéfaction de divers végétaux. En outre, la généralisation de l'utilisation d'enzymes exogènes comme éléments de procédés ne doit pas occulter la présence d'enzymes endogènes.

2. Biodisponibilité et acceptabilité des aliments

L'acceptabilité de certains produits alimentaires peut être limitée par le sous-équipement enzymatique de certains individus (lactase) ou par la présence de facteurs antinutritionnels (antiprotéases) ou encore par l'allergénicité de certains constituants (protéines du lait, de l'œuf...). Un traitement enzymatique peut améliorer la valeur biologique de ces produits.

2.1 Hydrolyse du lactose

Le lait et les dérivés laitiers à lactose hydrolysé présentent un intérêt nutritionnel pour les nourrissons alactasiques ou déficients en lactase, pour les vieillards souffrant de troubles digestifs résultant d'une diminution de la sécrétion de lactase ainsi que pour les enfants de certaines ethnies chez qui le caractère adaptatif de la sécrétion de lactase n'existe pas.

L'hydrolyse du lactose présente des avantages technologiques et économiques :

- amélioration du pouvoir sucrant ;
- aptitude accrue au brunissement non enzymatique ;
- solubilité des produits d'hydrolyse beaucoup plus élevée que celle du lactose en évitant les phénomènes de cristallisation observés en milieu concentré (on peut envisager de concentrer les lactosérums jusqu'à 70 à 80 % de matière sèche, ce qui permet une bonne conservation).

C'est donc une des voies de valorisation du lactosérum. L'hydrolyse du lactose offre à l'industrie laitière de nouveaux créneaux de commercialisation, notamment dans le secteur des industries de seconde transformation (chocolaterie, biscuiterie, confiserie...).

Toutes les β -galactosidases (E.C.3.2.1.23) utilisées dans le secteur industriel sont d'origine microbienne. Certaines enzymes ont un pH optimal d'activité voisin de la neutralité (*Kluyveromyces lactis* ou *K.fragilis*), d'autres présentent une activité maximale vers un pH de 4,5 (*Aspergillus niger* ou *A.oryzae*). Ces préparations doivent être exemptes de protéases contaminantes, car ces activités pourraient être responsables de l'apparition d'une certaine amertume dans le produit laitier final.

L'hydrolyse peut être réalisée en bain (batch) à 37 °C ou à basse température, l'enzyme étant ensuite inactivée par traitement thermique du lait ou du lactosérum. Pour obtenir des pourcentages élevés de conversion du lactose (jusqu'à 80 %), des temps de contact de plusieurs heures sont exigés, et le pH ne doit jamais descendre à des valeurs inférieures à pH 5,5 avec les lactases de *Kluyveromyces*.

Différents procédés continus ont été développés, mettant en œuvre soit des réacteurs à membrane, soit des réacteurs à enzymes immobilisées, ces derniers fonctionnant ou en réacteur agité, ou en réacteur piston.

2.2 Digestibilité des lipides

Les lipases font partie de la classe des hydrolases d'esters carboxyliques (E.C.3.1.1.3.). D'origine (bactérienne, fongique, pancréatique, hépatique, gastrique) et de propriétés diverses, elles peuvent catalyser l'hydrolyse d'un grand nombre d'esters carboxyliques, mais montrent une forte spécificité envers les substrats glycériques. Les triacylglycérols naturels étant insolubles dans l'eau, les lipases hydrolysent dans les conditions physiologiques les liaisons esters

carboxyliques à l'interface de la phase aqueuse dans laquelle l'enzyme est en général initialement soluble.

La spécificité des lipases par rapport aux triacylglycérols peut être subdivisée en trois catégories [8] :

- la typosélectivité par rapport à un type d'acide gras donné ;
- la régiosélectivité : le pouvoir d'hydrolyser préférentiellement les liaisons esters carboxyliques en position externes sn-1 et sn-3 (esters primaires) vis-à-vis de la position interne sn-2 (esters secondaires) ;
- la stéréosélectivité : la capacité de discrimination entre deux énantiomères dans le cas d'un substrat racémique et la capacité de discrimination entre deux groupements stéréohétérotopiques mais homomorphiques (énantiotopiques) dans le cas des acylglycérols prochiraux (position sn-1 contre sn-3).

Nota : sn : abréviation internationale de l'expression (en anglais) numérotation stéréospécifique.

La digestibilité des lipides peut être améliorée soit en réalisant des hydrolyses partielles, soit en accroissant l'interface entre la phase lipidique et la phase aqueuse pour augmenter la surface réactionnelle.

La mise en œuvre de lipases associée à des traitements d'homogénéisation permet d'y parvenir ; l'hydrolyse doit être partielle, d'une part, pour éviter l'apparition de flaveurs indésirables et, d'autre part, pour accroître le taux de mono- et de diacylglycérols qui, par leur caractère amphiphile, réduisent la tension interfaciale et permettent d'accroître la surface interphasique.

2.3 Réduction de l'allergénicité des protéines et préparation d'hydrolysats

L'allergénicité des protéines peut être réduite par hydrolyse enzymatique [19]. L'inconvénient de cette protéolyse réside – surtout dans le cas de protéines animales – dans la formation possible de peptides amers. Par exemple, l'hydrolyse de la β -lactoglobuline est effectuée lors de la préparation de certains produits laitiers à usage diététique ou thérapeutique (maternisation des laits, alimentations entérales).

À noter, d'une part, que la présence d'exopeptidases dans les préparations enzymatiques peut réduire l'amertume et, d'autre part, que ces hydrolysats protéiques doivent être thermiquement stables car il est indispensable d'inactiver les enzymes mises en œuvre.

Toujours pour la même finalité **diététique** et **médicale**, des hydrolyses de protéines sont réalisées pour libérer des peptides biologiquement actifs.

Exemple : préparation à l'échelle industrielle de phosphopeptides transporteurs de minéraux par hydrolyse pancréatique d'une solution de caséinate ajustée à pH 8,0 en réacteur enzymatique à membrane.

Mais les hydrolysats de protéines peuvent également être utilisés à **usage alimentaire** (fabrication de soupes, de sauces...). Ils peuvent servir d'exhausteurs de goût en les additionnant, par exemple, à des produits texturés, afin de les rendre plus savoureux : surimi ou faux crabe, steak structuré... Les enzymes les plus fréquemment employées sont la papaïne, les protéases alcalines de *Bacillus subtilis*.

Dans la même optique de finalité, à savoir l'amélioration de l'acceptabilité des aliments, il convient de mentionner l'utilisation de la phytase végétale (E.C.3.1.3.26) obtenue à partir d'*Aspergillus niger* après recombinaison génétique. Cette enzyme libère les phosphates à partir du phytate des farines céréalières ; cela permet d'améliorer la qualité nutritionnelle des aliments pour animaux (environ la moitié des aliments destinés aux élevages porcins sont désormais soumis à ce traitement). Dans le futur, la technologie peut évoluer vers la supplémentation des rations par des graines de

colza transgénique dans lequel on a transféré et fait exprimer le gène d'une phytase.

3. Maîtrise de la qualité hygiénique

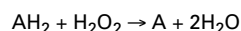
Des produits agricoles – et, en particulier, ceux d'origine animale comme l'œuf et le lait – contiennent des protéines qui ont un pouvoir bactéricide ou bactériostatique. Ces biomolécules sont soit lytiques (lysozyme E.C.3.2.1.17), soit inhibitrices de micro-organismes (peroxydase E.C.1.11.1.7). Ces propriétés sont exploitées pour maîtriser la qualité hygiénique des aliments. Par ailleurs, certaines enzymes comme la catalase (E.C.1.11.1.6) ou la β -lactamase (E.C.3.5.2.6) peuvent détruire des molécules qui ont été introduites dans le milieu (peroxyde d'hydrogène, antibiotique) ; d'autres biocatalyseurs (par exemple, la glucose oxydase E.C.1.1.3.4) génèrent dans le milieu des produits inhibiteurs [6].

3.1 Action bactériostatique et bactéricide

Le lysozyme ou muramidase présent dans de nombreuses sécrétions (salive, larmes, lait, œuf...) coupe des liaisons glucosidiques entre l'acide *N*-acétylmuramique et la *N*-acétylglucosamine ; la sensibilité des bactéries au lysozyme dépend de l'accessibilité du substrat. Les gram⁺ sont en général plus sensibles. Cette enzyme est parfois ajoutée au lait de fromagerie destiné à la fabrication de pâtes pressées pour limiter la fermentation butyrique due au développement de *C. tyrobutyricum*. Ce biocatalyseur peut également être ajouté à tout un ensemble de produits alimentaires (sauces, poissons et viandes restructurées). Cet antibactérien naturel, qui présente une bonne stabilité thermique aux pH acides et dont l'activité est préservée en présence de sels et de glucides, est très largement utilisé dans de nombreux pays (USA, Japon...)

Le lysozyme est utilisé au Japon pour améliorer la conservation des produits marins congelés comme les huîtres ou les crevettes. Des travaux récents ont, par ailleurs, montré que l'utilisation du lysozyme permettait d'inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* à une température de 5 °C [15].

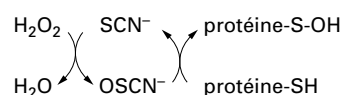
La peroxydase, métalloenzyme avec un noyau hème, catalyse en présence d'un accepteur (A) la réaction :



C'est donc une enzyme d'oxydation indirecte ; elle libère l'oxygène atomique de peroxydes comme l'eau oxygénée et cet oxygène est accepté par une substance présente dans le milieu.

La peroxydase, par elle-même, n'a pas d'effet bactériostatique ou bactéricide. Elle catalyse l'oxydation du thiocyanate (SCN⁻) par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les produits obtenus en fin de réaction (sulfate, cyanate...) sont sans effet, mais les intermédiaires de réaction ont une action puissante.

L'ion hypothiocyanate (OSCN⁻) est le principe actif selon le mécanisme suivant :



L'effet antibactérien de la peroxydase est donc réversible en présence d'agents réducteurs comme la cystéine et on a observé l'oxydation de groupements sulfhydryles en acides sulféniques correspondants (-S-OH).

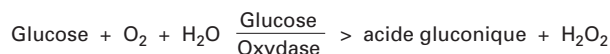
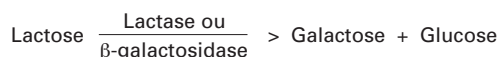
Dans le lait se trouve une lactoperoxydase (LP) en quantités appréciables et le système LP/SCN/H₂O₂ peut être optimisé.

Comme la concentration en enzyme n'est pas un facteur limitant du système et que le taux de thiocyanate varie de 0,02 à 0,25 mM selon l'alimentation de l'animal, seule l'eau oxygénée fait défaut ; la réaction ne peut donc se produire que s'il y a un apport extérieur.

L'activation idéale du système peut être obtenue en ajustant le taux de SCN⁻ entre 0,20-0,25 mM (12-15 ppm) et en générant une quantité équimoléculaire de peroxyde d'hydrogène par un système enzymatique.

La mise en œuvre de ce système de protection sur le lait en tank à la ferme comporte deux stades. Dans un premier temps, environ 10 % du lactose est hydrolysé par addition d'une lactase pour produire *in situ* du glucose. Ensuite, le glucose est oxydé par une glucose oxydase que l'on rajoute à la première traite, le plus tôt possible.

L'équation simplifiée de ces réactions est la suivante :



À la fin du traitement, l'addition de catalase permet de décomposer le peroxyde d'hydrogène en excès.

Ce traitement peut également être appliqué à l'aide d'un réacteur enzymatique où se trouvent coimmobilisées la β -galactosidase et la glucose oxydase.

L'hypothiocyanate a un effet chaotropique sur la membrane des bactéries, puisqu'après quelques minutes de contact le potassium et les acides aminés sont libérés dans le milieu. Les composants cellulaires les plus souvent oxydés sont les groupes sulfhydryles et les nicotinamides nucléotides (NADH, NADPH).

Nota : NADH : nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

NADPH : phosphate de nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

Le système peroxydase a un effet bactéricide sur de nombreux germes pathogènes et un effet bactériostatique sur certains gram⁺ tels les streptocoques lactiques et les lactobacilles thermophiles. Cette différence de sensibilité semble dépendante de la structure et de la composition de la membrane cellulaire. L'observation de la résistance de certains streptocoques démontre l'importance de ce système vis-à-vis de la régulation du système écologique de la flore orale et intestinale.

Un des intérêts industriels de ce système antibactérien réside dans la conservation du lait cru, du poisson frais. Ainsi, ce traitement combiné à un stockage à basse température permet, par exemple, d'éviter sur une longue période la prolifération de la flore psychotrophe.

Un système peroxydase actif existe dans différents « sites ». Les peroxydases salivaire, lacrymale, utérine présentent, en effet, de fortes similitudes sur le plan biochimique et immunologique avec la lactoperoxydase.

Aussi, en plus de la stabilisation du lait et de divers produits alimentaires, d'autres applications du système peroxydase sont développées :

— protection des jeunes animaux comme anti-infectieux intestinal, anti-diarrhéique ;

— agent de lutte contre la carie et la plaque dentaire ;
— protection des muqueuses (dermatologie).

3.2 Destruction de constituants bactériostatiques

La glucose oxydase, par oxydation du glucose en acide gluconique (cf. équation de réaction précédente) génère dans le milieu du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui a des propriétés bactéricides ; cette enzyme, utilisée dans le blanc d'œuf pour réduire la teneur en glucose, permet simultanément d'améliorer la qualité hygiénique.

La glucose oxydase a également été proposée comme antioxydant pour les produits riches en matière grasse, comme le beurre, la poudre de lait ou la mayonnaise. Elle ne semble pas beaucoup utilisée dans ce domaine, vraisemblablement par la concurrence des antioxydants chimiques autorisés, nettement moins chers, ou par l'utilisation de gaz inerte dans les poudres de lait.

De même, la présence de pénicilline dans le lait consécutive à des traitements des animaux pose parfois des difficultés technologiques même à faible teneur. Il a été proposé de détruire cet antibiotique par de la β -lactamase.

4. Utilisation des enzymes dans l'industrie des PAI

À partir de matières premières agricoles et en mettant en œuvre des procédés qui s'appuient sur une bonne connaissance des caractéristiques physico-chimiques des constituants, on peut isoler des fractions aux qualités nutritionnelles et fonctionnelles bien définies et spécifiques de leur utilisation.

L'industrie alimentaire peut ainsi élaborer des agents de texture, des émulsifiants, des arômes, des colorants, des édulcorants..., **produits alimentaires intermédiaires (PAI)** qui ne sont autres que les « *pièces détachées* » que les industries agroalimentaires et la restauration collective utilisent de plus en plus dans la formation des aliments par assemblage d'ingrédients [19].

Dans la confection des ingrédients (extraction, fractionnement ou synthèse, modifications souhaitées des propriétés technofonctionnelles), les enzymes – en particulier les hydrolases – jouent un rôle essentiel [16].

Les enzymes sont largement utilisées dans les techniques d'extraction des PAI à partir de matières premières et dans des réactions de synthèse d'ingrédients [20].

4.1 Utilisation dans les procédés d'extraction

4.1.1 Procédés de solubilisation

Il s'agit de méthodes assez coûteuses pour solubiliser par des protéases des protéines très insolubles (poisson, viande) ou insérées dans des complexes insolubles (protéines végétales).

En réalité, cette technique n'est valable que si la protéolyse est limitée et si on inactive totalement les protéases après action ; de plus, de petits peptides au goût amer peuvent apparaître. Des hydrolysats très aromatiques sont ainsi obtenus à partir de poisson (nuoc-mam), de protéines myofibrillaires de diverses espèces (poulet, bœuf...) ou de protéines de soja.

De même, l'action de différentes enzymes (protéases, lipases) sur des concentrés protéiques et lipidiques d'origine laitière conduit à la préparation de bases fromagères utilisées comme ingrédients alimentaires destinés à la préparation de sauces, salades, *snacks*, potages... Ces EMC (*Enzyme Modified Cheese*) apportent des pré-curseurs d'arômes voir des arômes. La teneur en acides gras volatils peut être dix fois supérieure à celle d'un fromage jeune.

Cette technique de solubilisation peut être utilisée pour éliminer des constituants indésirables par leur goût ou leur toxicité ; dans les extraits protéiques de légumineuses, on est parfois amené à éliminer ainsi les α -galactosides par des α -glycosidases.

Notons également le procédé de décoloration du cruor du sang bovin qui utilise des protéases pour rendre extractible l'hème de l'hémoglobine ; dans ce cas on obtient des peptides de petite taille et non pas la globine proprement dite.

4.1.2 Procédés de précipitation

La coagulation du lait par la chymosine de la présure est une étape d'extraction de caséine sous forme de caillé de fromagerie avec élimination dans la phase liquide qui exsude des autres protéines. La coagulation du fibrinogène du sang par la thrombine est également une séparation spontanée des hématies du sérum liquide par formation d'un réseau de fibrine.

La précipitation des protéines par des protéases coagulantes (végétale ou animale) est possible également pour extraire les protéines de soja.

4.2 Utilisation pour la production de molécules sapides ou odorantes

4.2.1 Utilisation des hydrolases

Des hydrolases d'origines diverses permettent de dépolymériser des macromolécules ; parmi les exemples les plus connus citons la production de maltodextrines et de glucose par l'action d'amylases et d' α -glucosidases sur l'amidon de maïs, la production de peptides et d'acides aminés amers, sucrés ou acides, par action de protéases sur les caséines, la production d'acides gras volatils par l'action de lipases sur la matière grasse laitière.

4.2.2 Utilisation des oxydases

Les lipoxygénases participent par oxydation d'acides gras insaturés (acide linoléique principalement) à l'élaboration de composés carbonyles très odorants (voir § 1.3.4). L'utilisation de pré-curseurs très différents permet d'obtenir des composés de nature chimique variée tels que les lactones avec des rendements supérieurs.

4.2.3 Enzymes catalysant des synthèses

Les protéases et lipases en milieu peu hydraté en milieu « cosolvant » catalysent des synthèses de « pseudo » peptides ou protéines (plastéines) et surtout de nouveaux triacylglycérols ou phospholipides.

Certaines transférases comme les cyclodextrines glucanotransférases ont la propriété de cycliser les chaînes linéaires de maltodextrines en α , β ou γ -cyclodextrines à respectivement 6, 7 et 8 unités glucose reliées par des liaisons α 1 \rightarrow 4.

4.2.4 Enzymes de réaction d'isomérisation

La réaction la plus utilisée comporte l'isomérisation du glucose en fructose par la glucose isomérase avec obtention de sirops à pouvoir sucrant élevé.

4.2.5 Conclusion

Il apparaît que les procédés enzymatiques ouvrent de nouvelles voies pour la production de PAI aux propriétés fonctionnelles bien maîtrisées. Si certaines préparations enzymatiques sont déjà très largement utilisées à l'échelle industrielle (protéases, lipases, amylases, pectinases) pour modifier des propriétés de texture des ingrédients, d'autres restent encore limitées en raison du coût de purification des enzymes et en raison également de la présence de techniques physiques ou chimiques concurrentes plus adaptées. Rappelons enfin que les méthodes enzymatiques conservent aux produits obtenus toute leur valeur nutritionnelle.

5. Applications industrielles futures

Un certain nombre d'enzymes ont fait l'objet de nombreux travaux et leurs utilisations en technologie alimentaire en sont au stade pilote ou préindustriel. Eu égard aux substrats employés, ces activités enzymatiques peuvent être destructurantes, structurantes ou synthétisantes de molécules bio- ou technofonctionnelles.

5.1 Activités destructurantes

À l'image des applications industrielles confirmées, il s'agit de nouvelles enzymes de la famille des hydrolases ou des lyases qui assurent la déstructuration de macromolécules.

La rhamnogalacturonase d'*Aspergillus aculeatus* a pour substrat préférentiel la zone ramifiée riche en rhamnose des pectines qui est la fraction du matériel pariétal résistant à la dégradation par des enzymes pectinolytiques, hémicellulolytiques et cellulolytiques [28]. Cette enzyme n'est active que sur le substrat dont les unités galacturoniques sont méthoxylées et déacétylées. Dégradant les fractions pectiques résiduelles des jus de fruits ou de légumes, elle permet une meilleure filtrabilité des moûts.

Dans la même filière industrielle, les protopectinases sont également intéressantes pour favoriser la liquéfaction de tissus. Ces enzymes catalysent en effet la solubilisation de pectines de masse moléculaire élevée à partir de protopectine [27].

Nota : la protopectine est définie comme la fraction de pectine qui ne peut être extraite de la paroi par l'eau, les tampons ou les chélateurs d'ions divalents.

Chaque constituant de la protopectine est susceptible d'être dégradé par une protopectinase spécifique. Ainsi, les enzymes de type A agissent sur les zones homogalacturoniques, celles de type B ont une activité sur les chaînes latérales ou la zone rhamnogalacturonique.

En résumé, ces enzymes présentent une activité endogalacturonase mais elles diffèrent de ces dernières par leur activité beaucoup plus importante sur les substrats insolubles que sur le pectate solubilisé.

De même, parmi les enzymes destructurantes aux nombreuses applications industrielles potentielles, citons les alginases. Ces enzymes isolées à partir de bactéries, de mollusques marins ou d'algues, sont toutes de type alginatelyase (E.C.4.2.2.3.), c'est-à-dire

qu'elles dépolymérisent l'alginate (polymères linéaires constitués d'acides uroniques) par une réaction de β -élimination. Ces biocatalyseurs pourraient donc servir pour l'élimination d'alginate ou pour la fabrication d'extraits, ou encore pour la production d'oligosaccharides.

Enfin, dans ce paragraphe sur les activités enzymatiques déstructurantes, la mention des études entreprises depuis maintenant de nombreuses années sur l'**extraction des huiles** assistée par les enzymes (cellulases, hémicellulases, pectinases, protéases, amylases...) s'impose [11]. Cette nouvelle stratégie en huilerie présente de nombreux avantages socio-économiques (qualité des produits finaux, coût de revient, respect de l'environnement...) mais, à notre connaissance, les conditions expérimentales n'ont été pour l'heure optimisées qu'au stade du laboratoire pour des matières premières comme la noix de coco.

5.2 Activités structurantes

Ce type de fonctions a conduit à de belles réussites technologiques mais quelques perspectives intéressantes sont en train d'apparaître, notamment dans le domaine de la lipochimie.

Ainsi, le biofaçonnement des lipides fait l'objet de gros programmes de recherche dans l'industrie agroalimentaire. Les lipases dont la spécificité des activités estérasiques, comme nous l'avons vu dans un paragraphe précédent, porte sur la longueur des chaînes, sur le degré d'insaturation et sur la position des acides gras, sont évidemment les auxiliaires technologiques de ce remodelage des matières grasses.

En incubant un ou plusieurs triacylglycérols (triglycérides) et un ou plusieurs acides gras en présence d'une lipase, il se produit un échange entre les acides gras libres jusqu'à l'obtention d'un équilibre, la répartition du ou des acides gras libres se faisant au hasard sur le glycérol. Toutefois, avec une lipase spécifique (1-3), seules les positions 1 et 3 sont modifiées. C'est la transestérification.

Il est possible d'incuber un mélange de triacylglycérols différents en présence d'une lipase, les acides gras s'échangent d'un triglycéride à l'autre jusqu'à l'obtention de l'équilibre. C'est l'interestérification. Là encore, une lipase spécifique permet de choisir les triglycérides que l'on veut faire apparaître. De plus, les produits annexes de la réaction sont beaucoup moins nombreux que dans le cas de la catalyse chimique, ce qui facilitera la purification.

Des recherches sont en cours pour valoriser des huiles végétales par interestérification interhuiles, par exemple pour valoriser la fraction solide, très riche en acide stéarique, de l'huile de palme. Cette fraction trouve des applications en oléochimie mais la demande d'huile de palme fluide alimentaire augmentant, il devient de plus en plus difficile de la placer. On recherche donc sa valorisation conjointe avec de l'huile de colza pour obtenir des huiles sur mesure correspondant aux besoins technologiques et nutritionnels sans recourir à l'hydrogénation.

L'interestérification permet de modifier la structure physique des huiles tout en conservant leur composition en acides gras.

Pour souligner l'intérêt de cette opération technologique, il faut prendre le cas d'une huile dont le pourcentage de solide à une température donnée aurait changé après interestérification ; à 35 °C (température de la bouche), l'huile interestérifiée serait agréable à consommer alors que celle avant interestérification laisserait des grumeaux dans la bouche. Cette technologie est envisagée pour fluidifier les huiles de palme, de palmiste ou de coco afin de les commercialiser en bouteille plastique ou encore réaliser des margarines sans utilisation de l'hydrogénation.

D'autres travaux ont porté sur l'inter- et la transestérification des corps gras d'animaux, du suif en particulier, dont la valorisation est difficile, si l'on ne s'écarte pas de ses applications classiques (alimentation animale, savonnerie, oléochimie). La lipase utilisée est

une lipase de *Rhizobium*. Ces recherches ont pour but de redistribuer les acides gras dans les triacylglycérols du suif, non plus au hasard comme dans les procédés chimiques, mais de façon contrôlée afin de mieux adapter cette matière première aux contraintes industrielles de la biscuiterie, de la pâtisserie, de la friture.

En résumé, les améliorations des qualités bio- et technofonctionnelles des produits de l'industrie des corps gras, la valorisation de coproduits de cette industrie sont un facteur très stimulant d'exploitation de cette famille d'enzymes.

Les applications des lipases – tout comme d'autres hydrolases – sont également envisagées dans la synthèse de nouvelles molécules par inversion de leur activité naturelle. Cela nous conduit naturellement à évoquer les activités synthétisantes.

5.3 Activités synthétisantes

De nombreux travaux ont trait à l'exploitation des fonctions synthétisantes de molécules par les enzymes. Les exemples qui suivent, ont été choisis en fonction de leur innovation sur le plan méthodologique et/ou par le rapport, l'architecture, la fonction des molécules biocatalysées.

5.3.1 Molécules synthétisées par inversion de l'activité naturelle de certaines enzymes

Ce sont naturellement les hydrolases : lipases, protéases, glycosidases, qui ont été les plus employées pour cette finalité.

La synthèse d'esters ou d'éthers de glucides simples s'effectue à une échelle industrielle. Les investigations se poursuivent et ont pour double objectif d'élargir la gamme de ce type de molécules et d'optimiser les conditions expérimentales et le rendement des réactions.

Un procédé de synthèse sans solvant d'esters de fructose a été mis au point [13].

Ces molécules peuvent être utilisées comme émulsifiant en galénique, pharmaceutique et cosmétique, mais également pour la composition de nutraceutiques ou comme émulsifiants alimentaires.

Nota : De Felice a introduit le néologisme *nutraceutique* il y a environ 30 ans pour désigner les aliments qui peuvent prétendre à une allégation santé.

Autres termes synonymes : aliment, aliment-santé, aliment fonctionnel.

Les lipases sont utilisées pour la synthèse de molécules amphiphiles ; ce sont, rappelons-le, des molécules possédant une partie hydrophile et une partie lipophile. Dans les solutions aqueuses en contact avec l'air, ces molécules amphiphiles se rassemblent à la surface de la solution et forment un film, ce qui provoque un abaissement de la tension superficielle d'où leur appellation tensioactifs ou agents de surface. Leurs applications à l'échelle industrielle sont nombreuses car ils possèdent une grande variété de fonctions : pouvoir émulsifiant et moussant, mouillage, solubilisation, réduction de la viscosité...

La synthèse de tensioactifs d'origine naturelle est un champ de recherche prioritaire pour de multiples raisons : biodégradabilité, valorisation de sous-produits actuellement considérés comme des déchets, applications dans le domaine pharmaceutique et cosmétique...

L'utilisation d'enzymes pour la synthèse organique suscite un intérêt grandissant au fil des années de la part du monde industriel. Il convient d'ajouter que les progrès enregistrés ces dernières années résultent du fait que les catalyseurs biologiques sont aptes à catalyser des réactions *in vitro* qui n'ont plus rien à voir avec les réactions pour lesquelles ils étaient programmés *in vivo* ; de même les conditions de mise en œuvre s'écartent très souvent radicalement de celles *in vivo* : les enzymes sont utilisées en fait comme de

simples catalyseurs de la chimie organique, à la différence fondamentale près que les catalyseurs biologiques sont très souvent spécifiques, régiosélectifs ou énantiosélectifs pour des réactions pour lesquelles ils n'interviennent pas *in vivo*.

Pour l'heure, les synthèses suivantes ont été réalisées au niveau du laboratoire [21] :

- catalyse de la formation d'une liaison amide entre une amine grasse et un acide gras par des lipases en milieu organique ;
- acylation des aminopropanols à l'aide d'acyltransférases ;
- synthèse d'acides hydroxamiques gras catalysée par la lipase de *Mucor miehei* ;
- synthèse de lipopeptides par la mise en œuvre d'acyltransférases d'origine microbienne (lipases, peptidases, protéases, amidases).

5.3.2 Mise en œuvre d'une chaîne d'enzymes

Cette technologie confère aux produits obtenus une forte valeur ajoutée. Ainsi, dans un premier temps, on synthétise des α -glucosides d'alcools variés (C_1 à C_6) par alcoololyse d'amidon, de maltodextrines ou de maltose. Le procédé peut être complété par la fabrication d'esters d'acides gras (C_8 à C_{16}) des α -glucosides produits.

Les enzymes mises en œuvre sont une α -amylase fongique (endoamylase) qui va libérer des dextrines, une α -transglucosidase également fongique (*A.niger*) sans trace de β -glucosidase. La transglucosylation est α -spécifique et la réaction se déroule dans l'alcool qui joue à la fois le rôle de milieu et de substrat. Les lipases doivent être régiospécifiques pour la position 6 de l'estérification du reste glucosyle ; elles peuvent provenir de *Mucor miehei* ou de *Candida*.

Ces α -alkylglucosides et leurs esters sont bien entendu biodégradables et auront des applications en pharmacie, en cosmétologie, mais également dans l'industrie des plastiques et des caoutchoucs ou comme détergents, moussants, lubrifiants, émulsifiants (alkyles jusqu'à C_{12}) ou hydratants.

Cette association d'enzymes a également été testée pour la transformation du gluten. La première phase consiste en la préparation de peptides d'une masse moléculaire comprise entre 3 000 et 5 000 Da grâce à l'emploi de protéases acides ou alcalines (subtilisine, papaïne...).

Nota : 1 Da (dalton) = 1 unité de masse atomique (u) (masse atomique de l'hydrogène divisée par le nombre d'Avogadro).

Dans un deuxième temps, la synthèse d'esters de peptides par alcoololyse enzymatique en milieu non aqueux (alcool) a lieu comme évoquée précédemment. Les propriétés fonctionnelles de ces produits peuvent être mises à profit comme additifs en industrie alimentaire ou en cosmétologie.

En final de ce paragraphe, citons quelques applications qui ont suscité un intérêt dans différentes filières de l'industrie alimentaire.

L'épimérisation enzymatique a été envisagée pour moduler les propriétés gélifiantes d'un biopolymère.

Exemple : une épimérase transformant les séquences polymannuronique en polyguluronique de l'alginate modifie les propriétés rhéologiques de cet additif alimentaire [4].

Des fruits comme le citron, l'orange, le pamplemousse contiennent des flavonoïdes responsables de l'amertume des jus extraits. Si l'on soumet la naringine présente dans la pelure à l'action d'une α -L-rhamnosidase, on obtient la prunine qui est moins amère. L'action d'une β -D-glucosidase sur ce flavonoïde permet d'obtenir la naringénine, composé non amer. L' α -L-rhamnosidase peut également agir sur les grandes quantités d'héspéridine pour donner du déhydrochalcone héspéridine glucoside, substance à la saveur douce pouvant être utilisée comme édulcorant.

En résumé, il apparaît clairement que l'enzymologie moderne a fait de gros progrès et qu'elle offre de nombreuses applications potentielles. **Mais le passage du laboratoire à l'industrie n'est pas qu'une simple transposition.**

Références bibliographiques

- [1] ASKAR (A.), GIERSCHNER (K.H.), SILLHA (H.) et EL-ZOGHBI (M.). – *Polysaccharides and cloud stability of tropical nectars*. *Fluess. Obst.* 1991, 58, p. 248-251.
- [2] BIEKMAN (E.S.A.), KROESEHOEDEMAN (H.I.) et VANDIJK (C.). – *Study of the enzymatic maceration kinetics of potatoes in a rotating perforated drum reactor*. *Food Biotechnology* 1993, 7, p. 127-141.
- [3] BOIVIN (P.). – *Les enzymes en brasserie* dans : *Enzymes en agroalimentaire* 380 p. 1997. Éd. Tec et Doc (p. 138-165).
- [4] COSTES (C.). – *Réflexions sur l'utilisation des enzymes dans les industries végétales* (Reflexion on utilization of enzymes in industrial transformations of plants products) dans : *les Enzymes dans l'Industrie alimentaire (Enzymes for food)* 250 p. 1995-Séminaire européen-CBB développement (p. 41-55)
- [5] DESMAZEAUD (M.) et SPINNLER (E.). – *Les enzymes dans la fabrication des aliments* dans : *Enzymes en agroalimentaire* - 380 p. 1997. Éd. Tec et Doc (p. 48-76).
- [6] DUCASTAING (A.) et ADRIAN (J.). – *Les enzymes en technologie alimentaire (Enzymes in food technology)*. *Sci. Alim.* 1990, 10, (2), p. 231-254.
- [7] DURAND (P.). – *Les biotechnologies marines : avenir des sciences marines ?* Equinoxe 1989, 25, p. 4-12.
- [8] EGLOFF (M.P.), RANSAC (S.), MARGUET (F.), ROGALSKA (E.), van TILBEURGH (H.), BUONO (G.), CAMBILLAU (C.) et VERGER (R.). – *Les lipases : cinétiques, spécificités et aspects structuraux*. OCL, 1995, 2 (n° 1) p. 52-67.
- [9] FOX (P.F.) et GRUFFERTY (M.B.). – *Exogenous enzymes in dairy technology* dans : *Food enzymology* 1991, vol. 1, Fox (P.F.) éd. p. 219-269. Elsevier Applied Science (Londres et New York).
- [10] GILDBERG (A.). – *Enzymic processing of marine raw materials*. *Process Biochem.* 1993, 28, p. 1-15.
- [11] GRAILLE (J.). – *Les enzymes en lipotechnie* dans : *Enzymes en agro-alimentaire* - 380 p. 1997, Ed. Tec et Doc (p. 246-257)
- [12] GUEGUEN (J.), LARRÉ (C.) et MICHON (T.). – *Cross linking of plant proteins by enzymes* (Réticulation de protéines végétales par voie enzymatique) dans : *Les enzymes dans l'industrie alimentaire (Enzymes for food)* 227 p. 1997-Séminaire Européen CBB développement (p. 86-93).
- [13] GUILLARDEAU (L.), MONTET (D.), KHALED (N.), PINA (M.) et GRAILLE (J.). – *Fructose caprylate biosynthesis in a solvent free medium*. *Tenside Surf. Det.*, 1992, 29, p. 342-344.
- [14] HAARD (N.F.). – *A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry*. *J. Aquat. Food Product. Technol.* 1992, 1, p. 17-35.
- [15] HUSS (H.H.), JEPPESEN (V.F.), JOHANSEN (C.) et GRAM (L.). – *Biopreservation of fish products. A review of recent approaches and results*. *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 1995, 4, p. 5-26.
- [16] IUNG (C.) et LINDEN (G.). – *Procédés enzymatiques de modification des propriétés fonctionnelles des macromolécules alimentaires* dans : *Cahiers ENSBANA*, 1988, n°6, P. 199-223
- [17] KERJEAN (R.). – *Les enzymes coagulantes en fromagerie* (Milk clotting enzymes in cheesemaking) dans : *Les enzymes dans l'industrie alimentaire (Enzymes for food)* 250 p. 1995. Séminaire européen CBB développement (p. 13-20).
- [18] LARRETA-GARDE (V.). – *La lipoxygénase en panification et biscuiterie*. OCL, 1995, 2 (n° 5) p. 363-365.
- [19] LINDEN (G.) et LORIENT (D.). – *Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole*. 367 p. 1994 Ed. Masson.

- [20] LORIENT (D.) et LINDEN (G.). – *Place des produits alimentaires intermédiaires dans l'industrie alimentaire* (Place of food ingredients in the agro-food industries) dans : Les enzymes dans l'industrie alimentaire (Enzymes for food) 250 p. 1995-Séminaire Européen CBB développement (p. 67-77).
- [21] MONTET (D.). – *Quelques applications des enzymes dans le domaine des lipides* (Some applications of enzymes in lipid field) dans : Les enzymes dans l'industrie alimentaire (Enzymes for food) 250 p. 1995. Séminaire européen CBB développement (p. 101-121).
- [22] NICOLAS (J.) et POTUS (J.). – *Phénomènes d'oxydation enzymatique et cooxydations*. Sci. Aliments 1994, 14, p. 627-642.
- [23] OUALI (A.) et LARRETA-GARDE (V.). – *Enzymes et produits carnés* dans : Enzymes en agroalimentaire - 380 p. 1997 Éd. Tec et Doc (p. 78-94).
- [24] POTUS (J.) et DRAPON (R.). – *Les enzymes dans les industries de cuisson des céréales* dans : Enzymes en agroalimentaire 380 p. 1997. Éd. Tec et Doc. (p. 122-135).
- [25] ROUAU (X.). – *Les hémicellulases en panification* (The hemicellulases in bread-making technology). Ind. Cereal. 1996 (1), p. 13-19.
- [26] SAISITHI (P.). – *Traditional fermented fish : fish sauce production* dans : Fisheries processing Martin Éd. p. 111-131, 1994. Chapman et Hall, Londres.
- [27] SAKAI (T.), SAKAMOTO (T.), HALLAERT (J.) et VANDAMME (E.J.). – *Pectin, pectinase and protopectinase : production, properties and applications*. Advances in applied microbiology, 1993, 39, 213-294.
- [28] SCHOLS (H.A.) et VORAGEN (A.G.J.). – *Occurrence of pectic hairy regions in various plant cell wall materials and their degradability by rhamnogalacturonase*. Carbohydrate Research, 1994, 256, p. 83-95
- [29] STAUFFER (C.E.). – *Oxydases*, dans : Enzymes and their role in Cereal Technology, Kruger (J.E.), Lineback (D.), Stauffer (C.E.) eds. p. 239-263. Am. Assoc. Cereal Chem., St Paul.
- [30] TEUBER (M.). – *Production of chymosin by microorganisms and its use for cheese making* (Production de chymosine par les microorganismes et son utilisation pour la fabrication de fromages). Bull. FIL-IDF, 1990, 251, p. 3-15.
- [31] TRIQUI (R.) et REINECCIUS (G.A.). – *Flavor development in the ripening of anchovy*. J. Agric. Food Chem. 1995, 43, p. 453-458.
- [32] VAN DAM (H.W.) et HILLE (J.D.R.). – *Yeast and enzymes in bread-making* (Levure et enzymes en panification). Cereal Food World 1993, 37, p. 246-252.

Transformation des produits alimentaires par les enzymes

par **Guy LINDEN**

Docteur ès sciences

Professeur à l'université Henri-Poincaré (Nancy 1)

Bibliographie

Enzyme nomenclature (Nomenclature des enzymes). 862 p. 1992. Academic Press, Inc.

GERHARTZ (W.). – *Enzymes in industry* (Les enzymes dans l'industrie) 321 p. 1990. VCH.

GODFREY (T.) et WEST (S.). – *Industrial Enzymology* (Enzymologie industrielle). 650 p. 1996. Stockton Press.

LARRETA-GARDE (V.). – *Enzymes en agroalimentaire* (Enzymes in food technology). 380 p. 1997, Technique et Documentation Lavoisier.

Séminaire européen (European seminar). – *Les enzymes dans l'industrie alimentaire* (Enzymes for food). 250 p. 1995. CBB développement.

Séminaire européen (European seminar). – *Les enzymes dans l'industrie alimentaire* (Enzymes for food). 227 p. 1997 - CBB développement.

WISEMAN (A.). – *Handbook of enzyme biotechnology* (Manuel d'usage des enzymes en biotechnologie) 457 p. 1995, Ellis Horwood.

Réglementation

Le tableau **A** donne la liste des enzymes autorisées par la réglementation française.

Tableau A – Enzymes autorisées par la réglementation française (1)

Enzymes (2)	Origine	Utilisation	Arrêté
α-Amylases	<i>B. subtilis</i> <i>B. licheniformis</i>	Hydrolyse de l'amidon, biscuiterie, bière Jus de fruits, de légumes, pâtisserie	05.09.89
	<i>A. niger</i> <i>A. oryzae</i>	Hydrolyse de l'amidon Biscuiterie, pâtisserie, bière, panification, jus de fruits, de légumes	05.09.89
	<i>B. subtilis</i>	Panification spéciale	15.06.93
α-Amylases	<i>B. licheniformis</i> (recombinant, homologue) <i>B. licheniformis</i> (<i>B. stearothermophilus</i>)	Hydrolyse de l'amidon Bière, alcool	01.02.94
Amyloglucosidases	<i>A. niger</i> <i>A. oryzae</i>	Hydrolyse de l'amidon Biscuiterie, pâtisserie, bière	05.09.89
	<i>A. niger</i>	Jus de fruits, de légumes	18.08.94
Exo-α-amylase Maltogène	<i>B. subtilis</i> (<i>B. stearothermophilus</i>)	Panification Sirop de maltose	01.02.94
Pullulanases	<i>B. acidopullulyticus</i>	Hydrolyse de l'amidon, bière	05.09.89
		Panification spéciale	27.08.93
	<i>Klebsiella planticola</i>	Hydrolyse de l'amidon, bière	18.08.94
Glucose isomérasés	<i>Streptomyces violaceaniger</i> <i>S. olivochromogenes</i> <i>S. rubiginosus</i> <i>Actinoplanes missouriensis</i> <i>B. coagulens</i>	Sirops de glucose à teneur élevée en fructose	05.09.93
	<i>Streptomyces murinus</i>	Sirops de glucose à teneur élevée en fructose	15.06.93
Invertase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Confiserie	05.09.89
Lactase	<i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>K. fragilis</i> <i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i>	Lactose hydrolysé	20.06.85
Cyclodextrine-glycosyltransférase	<i>B. macerans</i> <i>B. circulans</i>	β-Cyclodextrine	24.03.93
β-Glucanases	<i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i> <i>Disporotrichum dimorphosporum</i>	Bière	05.09.89

Tableau A – Enzymes autorisées par la réglementation française (1) (suite)

Enzymes (2)	Origine	Utilisation	Arrêté
Endoglucanase Pentosanase	<i>Humicola insolens</i>	Panification, bière	18.08.94
Pectinases	<i>A. wenti</i> , <i>A. niger</i>	Fructo-oligosaccharides	05.09.93
Cellulase	<i>Trichoderma reesei</i>	Fructo-oligosaccharides	15.06.93
Complexe cellulase-cellobiase Hémicellulase-β-glucanase	<i>A. niger</i>	Fructo-oligosaccharides	15.06.93
Inulinase	<i>A. niger</i>	Fructo-oligosaccharides	15.06.93
β-Fructofuranosidase	<i>A. niger</i>	Fructo-oligosaccharides	27.08.93
Hémicellulase	<i>A. niger</i>	Biscuiterie, pâtisserie, panification	18.08.94
α-Acétolactate décarboxylase	<i>B. subtilis</i> (<i>B. brevis</i>)	Bière, alcool	01.02.94
Phospholipase A2	Pancréas de porc	Sauces émulsionnées	15.08.94
Papaïne	<i>Cacica papaya</i>	Bière, hydrolysats de protéines	05.09.89
Protéases	<i>B. subtilis</i> <i>A. oryzae</i> , <i>A. wentii</i>	Biscuiterie, pâtisserie Jus de fruits, de légumes	05.09.89
	<i>B. licheniformis</i>	Hydrolysats de protéines	05.09.89
Protéases acides	<i>Endothia parasitica</i> <i>Mucor pusillus</i> , <i>M. miehei</i>	Fromagerie	05.09.89
Protéase	<i>Micrococcus caseolyticus</i>	Fromagerie	05.09.89
Pepsine, trypsine, chymotrypsine Extraits pancréatiques, de muqueuses Chymosine, présure	Pancréas Muqueuses de mammifères	Hydrolysats de protéines destinés à une alimentation spéciale	21.12.88
Papaïne	Papaye		
Protéases à sérine	<i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> <i>A. oryzae</i> , <i>A. wentii</i>		
Métalloprotéases	<i>B. subtilis</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. wentii</i>		
Protéases acides	<i>A. oryzae</i> , <i>A. wentii</i> <i>Mucor miehei</i> , <i>M. pusillus</i> <i>Endothia parasitica</i>		

(1) Liste mise à jour jusqu'au 31 décembre 1997.

(2) Les enzymes d'origine animale utilisées en fromagerie (pepsine, présure...) ne relèvent pas de l'arrêté du 5.09.89, ni des arrêtés modificatifs. Les enzymes utilisées en œnologie ou dans l'industrie des jus de fruits relèvent d'un règlement communautaire.

Producteurs

L'industrie des producteurs d'enzymes compte un nombre limité d'entreprises. En Europe, les leaders sont incontestablement Novo Nordisk et Gist Brocades ; aux USA, c'est le groupe Miles ; quant au Japon, il y a profusion d'entreprises de tailles assez variables : Amano Pharmaceutical Co, Ueda Chemical Industry Co, Kansai Enzyme Co, Nagase Biochemicals Ltd... Enfin, il ne

faut pas oublier de mentionner les industries alimentaires ou les agro-industries qui préparent pour leur propre compte les enzymes mises au point pour leur exploitation propre. Citons en Europe Unilever dans le domaine des lipases, Roquette en France et, au Japon, Ajinomoto Co, Yakult Honsha Co, Asahi Breweries Co ou Kikko Man.

Principaux membres européens de l'AMFEP (The Association of Microbial Enzymes Producers)

ABM Chemicals	Mile Kali Chemie
Boehringer Ingelheim GmbH	Novo Industri A/S
Gist-Brocades NV	Röhm GmbH Chemische Fabrik
Grindsted Products TS A/S	Sturge Enzymes

Producteurs d'enzymes adhérents du Syndicat National des Producteurs d'Additifs Alimentaires (SYNPA)

Alltech France Sarl	Novo Nordisk Bioindustrie
BASF France	Produits Roche
Gist Brocades Biospecialities Division	Rhône-Poulenc Animal Nutrition
Hoechst Roussel Vet SA	Sanofi
Lesaffre (Sté)	

Transformation des produits alimentaires par les enzymes

Bibliographie

- Enzyme nomenclature* (Nomenclature des enzymes). 862 p. 1992. Academic Press, Inc.
- GERHARTZ (W.). – *Enzymes in industry* (Les enzymes dans l'industrie) 321 p. 1990. VCH.
- GODFREY (T.) et WEST (S.). – *Industrial Enzymology* (Enzymologie industrielle). 650 p. 1996. Stockton Press.
- LARRETA-GARDE (V.). – *Enzymes en agroalimentaire* (Enzymes in food technology). 380 p. 1997, Technique et Documentation Lavoisier.
- Séminaire européen (European seminar). – *Les enzymes dans l'industrie alimentaire* (Enzymes for food). 227 p. 1997 - CBB développement.
- WISEMAN (A.). – *Handbook of enzyme biotechnology* (Manuel d'usage des enzymes en biotechnologie) 457 p. 1995, Ellis Horwood.