

LES ENZYMES IMMOBILISÉES ET LEURS INTÉRÊT

*LES ENZYMES
IMMOBILISÉES ET
LEURS INTÉRÊTS*

AMIROUCHE Adel

02

07/05/2020

Table des matières

Objectifs	4
I - Introduction	5
II - Méthodes d'immobilisation chimiques	6
1. Adsorption	6
2. Fixation covalente	7
2.1. Immobilisation par liaisons covalentes sur support	7
2.2. Immobilisation par réticulation	8
III - Méthodes d'immobilisation physiques	10
1. Inclusion dans un gel	11
2. Encapsulation	12
IV - Avantages des enzymes immobilisées	14
1. Propriétés physico-chimiques	14
2. Propriétés cinétiques	14
V - Réacteurs enzymatiques	16
1. Réacteur à lactose	16
2. Réacteur à acides aminés	17
VI - Bio-capteurs enzymatiques	18
1. Biorécepteurs	18
2. Transducteurs	19
2.1. Transducteurs électrochimiques	19
2.2. Transducteurs thermiques ou calorimétriques	19
2.3. Transducteurs optiques	19
3. Domaines d'application des biocapteurs enzymatiques	20
3.1. Domaine de la santé	20
3.2. Domaine industrie agro-alimentaire	20
3.3. Domaine environnement	20

VII - Activité d'auto-évaluation	21
Solutions des exercices	23
Abréviations	26
Références	27

Objectifs

Objectifs

- Le principal objectif est d'avoir de solides connaissances sur les enzymes immobilisées.
- Décrire les principales caractéristiques des enzymes immobilisées.
- Les différentes méthodes d'immobilisation chimiques et physiques.
- Découvrir des applications modernes de l'enzymologie

Présentation du cours

Le cours présenté ici s'intéresse au rôle majeur de l'immobilisation enzymatique, particulièrement pour des applications analytiques, est un accroissement de la durée de vie de l'enzyme. Le premier chapitre présente les méthodes d'immobilisation chimiques. Le deuxième chapitre traite les méthodes d'immobilisation physiques. Le troisième chapitre de ce cours consiste en la présentation de l'ensemble des avantages des enzymes immobilisées. Les chapitres VI et V respectivement réacteurs enzymatiques et bio-capteurs enzymatiques présentent les applications de l'immobilisation enzymatique.

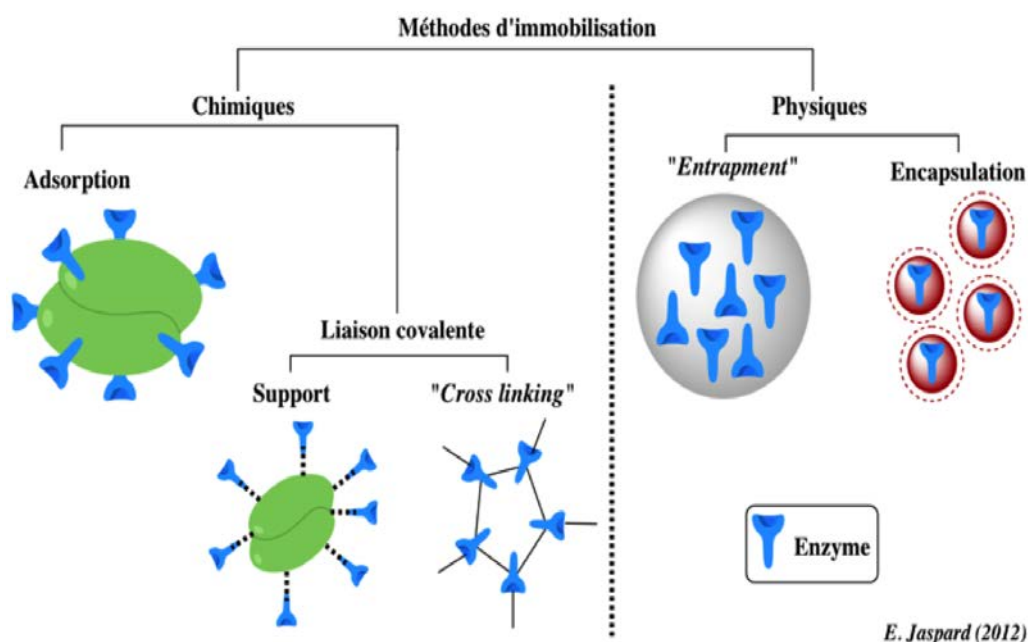
Pré-requis

- Les notions de base de l'enzymologie.
- Connaissance et compréhension des propriétés des enzymes
- Connaître les bases de la biochimie et de la physico-chimie

I Introduction

Le cours présenté ici s'intéresse au rôle majeurs de l'immobilisation enzymatique, particulièrement pour des applications analytiques, est un accroissement de la durée de vie de l'enzyme. Le premier chapitre présente les méthodes d'immobilisation chimiques. Le deuxième chapitre traite les méthodes d'immobilisation physiques. Le troisième chapitre de ce cours consiste en la présentation de l'ensemble des avantages des enzymes immobilisées. Les chapitres VI et V respectivement réacteurs enzymatiques et bio-capteurs enzymatiques présentent les applications de l'immobilisation enzymatique. Dans la pratique, les applications industrielles des enzymes en solution se trouvent parfois considérablement limitées par leur prix de revient et leur relative instabilité du fait de leur nature protéique (sensibles à la température, au pH, aux ions...). En solution, même si l'activité de l'enzyme est suffisante, sa récupération après utilisation nécessite un processus long et coûteux de purification. Par conséquent, ces enzymes sont perdues une fois la réaction effectuée : elles ne sont pas utilisables pour d'autres cycles de production. L'immobilisation des enzymes sur des supports solides, en augmentant leur stabilité opérationnelle et en permettant l'utilisation de réacteurs en flux continu permet de contourner cette difficulté.

Pour compenser les problèmes liés à l'instabilité des enzymes au cours d'extraction ou d'utilisation, il est nécessaire de les immobiliser artificiellement. Ainsi immobilisées sur des supports solubles ou insolubles, ces catalyseurs offrent la possibilité d'une utilisation répétée dans des domaines très variés. Un des buts majeurs de l'immobilisation enzymatique, particulièrement pour des applications analytiques, est *un accroissement de la durée de vie de l'enzyme*. POLAINA MACCABE A.P.^{***}



Méthodes d'immobilisation enzymatique chimiques et physiques

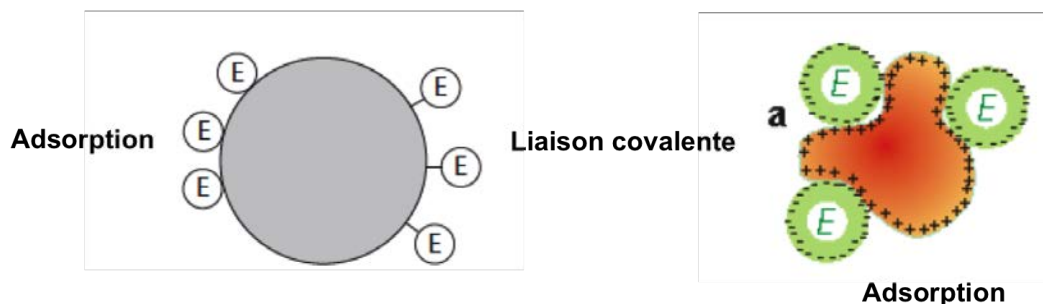
II Méthodes d'immobilisation chimiques

1. Adsorption

certaines enzymes peuvent se fixer de façon assez stable, sans aucune modification chimique particulière, à la surface de certains supports solides, par adsorption. Celle-ci est obtenue par la mise en contact du support et des enzymes actives pendant une période définie.

Cette technique est simple, **peu coûteuse et réversible**, mais la fixation n'est pas spécifique et les risques de désorption sont importants. Un choix judicieux de support ne nécessitant pas d'agent chimique pour l'adsorption permet une immobilisation dans des conditions douces résultant en une stabilité élevée des enzymes retenues.

L'interaction enzyme-support pourra impliquer l'ensemble des liaisons non covalentes ou secondaires de bas niveau énergétique tel que **les liaisons de Vander Waals, les liaisons hydrogène,...**



Méthode d'immobilisation chimique - Adsorption

🔗 Exemple : Les supports les plus utilisés sont les suivants

Alumine, argiles (bentonite, montmorillonite), charbon actif, gel de silice, titane, verre poreux, résines échangeuses d'ions).

Cette technique a été la première application commerciale d'une enzyme immobilisée (***L-aminoacylase***) permettant l'isolement de la L-méthionine à partir d'un mélange racémique, (technique mise au point par la compagnie Tanabe Seiyaku, au Japon, en 1969*).

Avantages

- L'adsorption est facile à mettre en œuvre, il suffit de mettre en contact l'enzyme et le support.

- Possibilité de régénérer les complexes enzyme-support (si l'enzyme perd son activité en cours de son fonctionnement, il est possible de la remplacer par une préparation active)
- Fixation rapide du support et immobilisation simple et non dénaturante

Inconvénients

- La fragilité de la fixation (les enzymes peuvent facilement se désorber sous l'action de variation de pH^* , température...)
- L'orientation de l'enzyme et mauvaise accessibilité au site actif

2. Fixation covalente

Comme il s'agit de protéines, les groupements réactifs disponibles sont de deux types principaux : des groupements acides carboxyliques et des groupements aminés primaires.

D'autres groupements existent (R-SH, R-OH), mais leur utilisation est plus délicate car leur modification se traduit en général par la perte de l'activité enzymatique.

L'immobilisation des enzymes nécessite donc une greffe dans des conditions douces, entre R-COOH ou R-NH₂ de la protéine et certains groupements réactifs du support solide.

Les enzymes sont liées à des supports tels que les polysaccharides, les dextrans de différents poids moléculaires, le DEAE^{*}-Dextran, le DEAE-Séphadex ; ces polymères sont activées à l'aide de différents réactifs chimiques dont l'azide et le CNBr^{*}. ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN.*

Fondamental : Les supports usuels

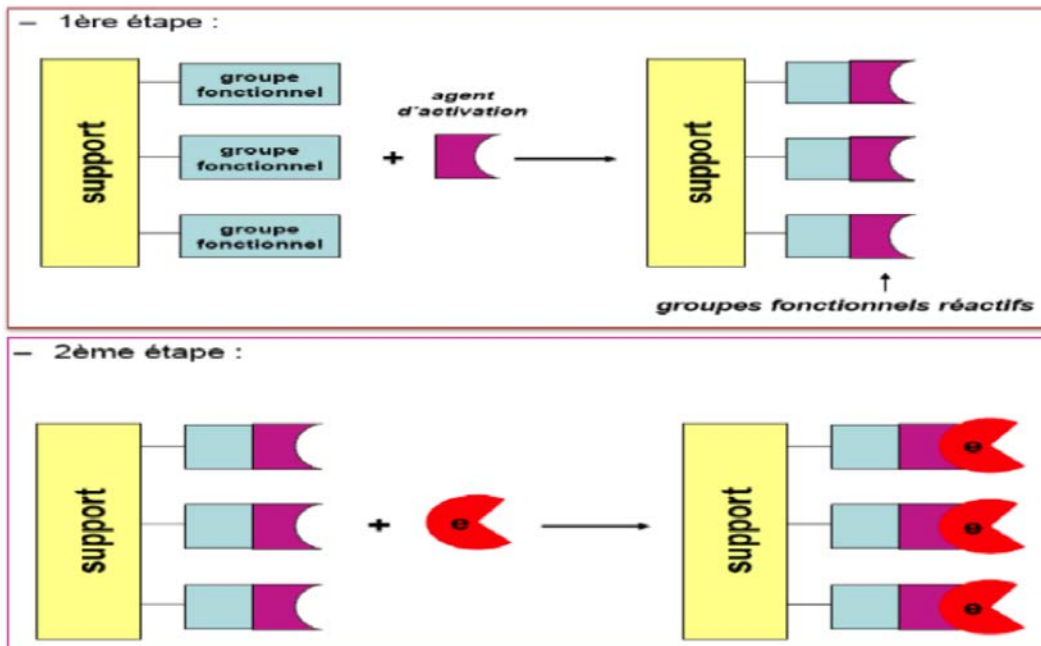
- des supports minéraux : silice, verre poreux, oxydes métalliques,
- des supports organiques : dextrane, agarose, cellulose et dérivés, polystyrène, polyamide, nylon...

Ce procédé d'immobilisation offre l'avantage de pouvoir être utilisé dans une large gamme de pH et de force ionique

2.1. Immobilisation par liaisons covalentes sur support

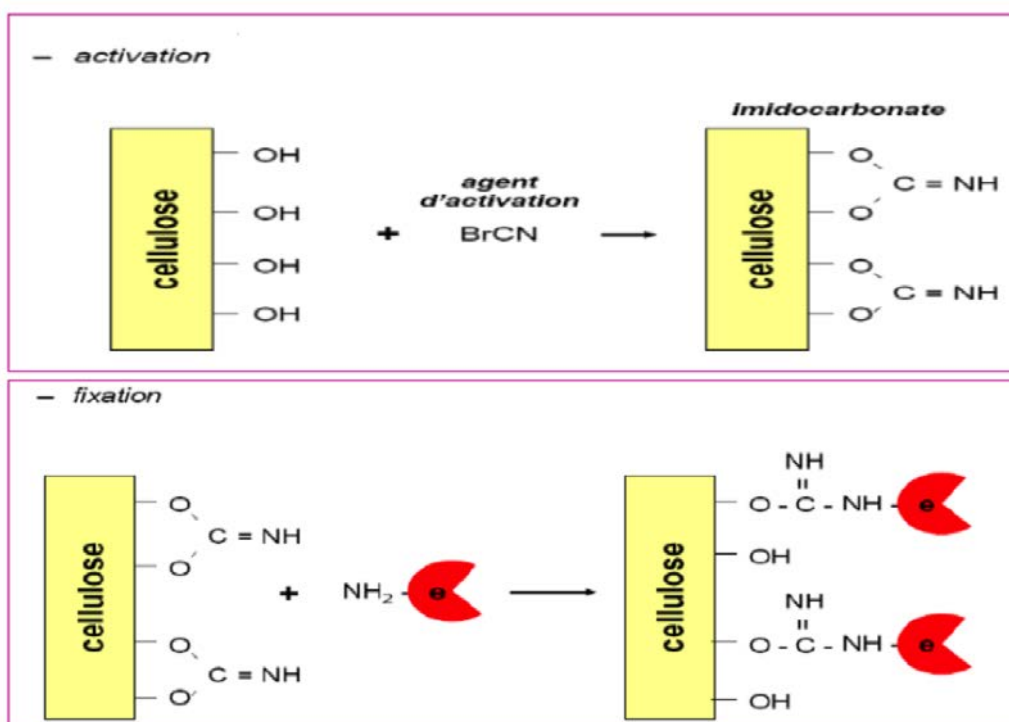
Elle est réalisée par l'intermédiaire de liaisons irréversibles et covalentes entre les groupements fonctionnels de l'enzyme et les groupes réactifs du support. Ces groupes, en général insuffisamment réactif, nécessiteront une activation préalable. Apriori, il faut activer soit l'enzyme, soit le support.

ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN.* L'activation des groupes fonctionnels de l'enzyme peut conduire à la dénaturation de l'enzyme



Fixation d'une enzyme sur un support activé

🔗 Exemple : Fixation d'une enzyme sur un support activé par le bromure de cyanogène



Fixation d'une enzyme sur un support activé par le bromure de cyanogène

2.2. Immobilisation par réticulation

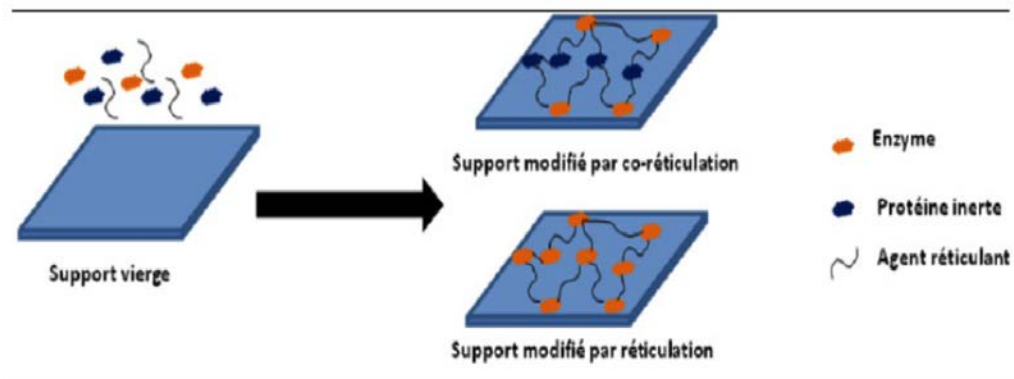
La réticulation repose sur l'utilisation d'agents dit réticulants qui vont permettre de lier les enzymes entre elles par des liaisons chimiques.

Il existe deux méthodes de réticulation, soit les enzymes sont reliées entre elles par des agents réticulant de façon directe,

soit en plus de l'agent réticulant une protéine inerte peut être utilisée afin de faciliter ou améliorer la réticulation, on parle alors de co-réticulation.

Les enzymes, après avoir été adsorbées sur un support, sont mises en contact avec un agent réticulant afin de donner un réseau enzymatique tridimensionnel et qui contrairement à l'enzyme seule est insoluble

Plusieurs réactifs sont utilisés pour la réticulation artificielle des molécules enzymatiques. Le **glutaraldéhyde et les diimidoesters** sont les plus connus. La réaction dépend de la concentration des réactifs, du pH, de la température et du temps de la réaction. ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN.***



Immobilisation par réticulation

Avantages

- Stabilité accrue à cause de la liaison covalente
- Grande variété de support minéraux (verre, silice, céramique...) et organiques (cellulose, polymère synthétiques...).
- Possibilité d'effectuer l'immobilisation en présence de substrat pour éviter l'inactivation (protection du site actif).
- Solidité de la liaison enzyme-substrat.

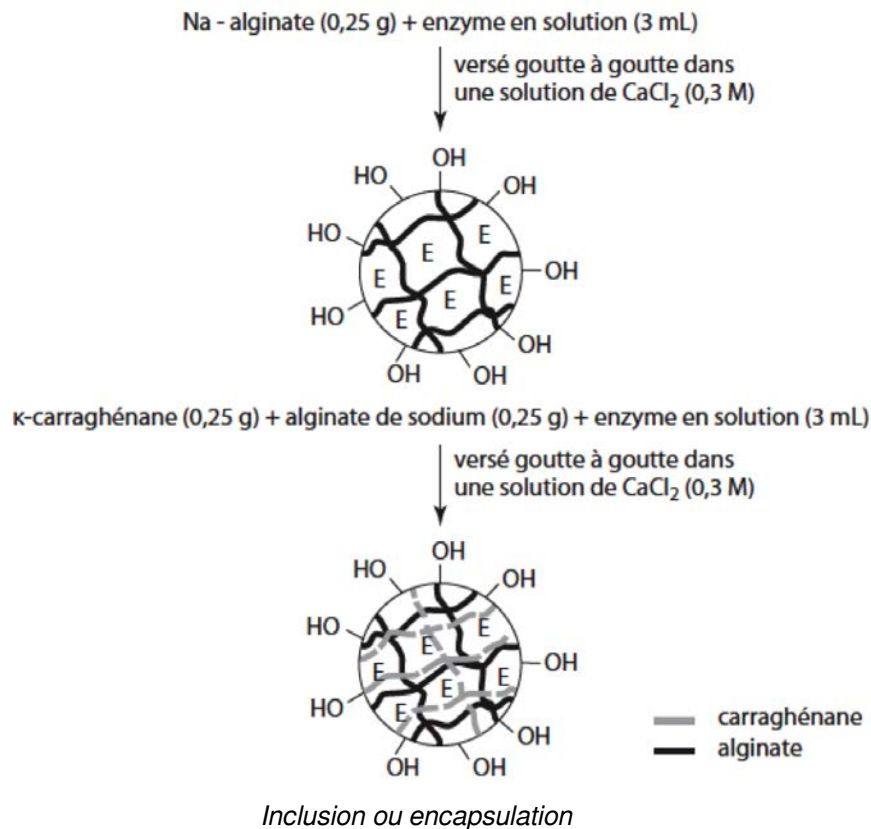
Inconvénients

- Mise en œuvre de réactions chimiques souvent complexes.
- Longueur des expériences (étape de l'activation du support).
- Risques de modifications chimiques de l'enzyme (perte d'activité).
- Nécessité de purifier l'enzyme préalablement.
- Immobilisation plus complexe à réaliser (choix des groupements à activer...).

III Méthodes d'immobilisation physiques

L'inclusion ou l'encapsulation dans les mailles d'un gel de polymères naturels ou synthétiques. Le gel polymérise autour de l'enzyme et l'inclut, tout en permettant, dans une certaine mesure, la circulation des substrats et produits. Cette technique est peu *coûteuse*, mais les problèmes de diffusion constituent un facteur limitant.

Les supports utilisés sont très variés : cellulose ou ses dérivés, *dextranes* (*Sephadex*), amidons, alginates, *carraghénanes*, *polyacrylamide*, fibres de polyester, mousse de *polyuréthane*, nylon.
SAHIN F., DEMIREL G. & TUMTURK H.,*



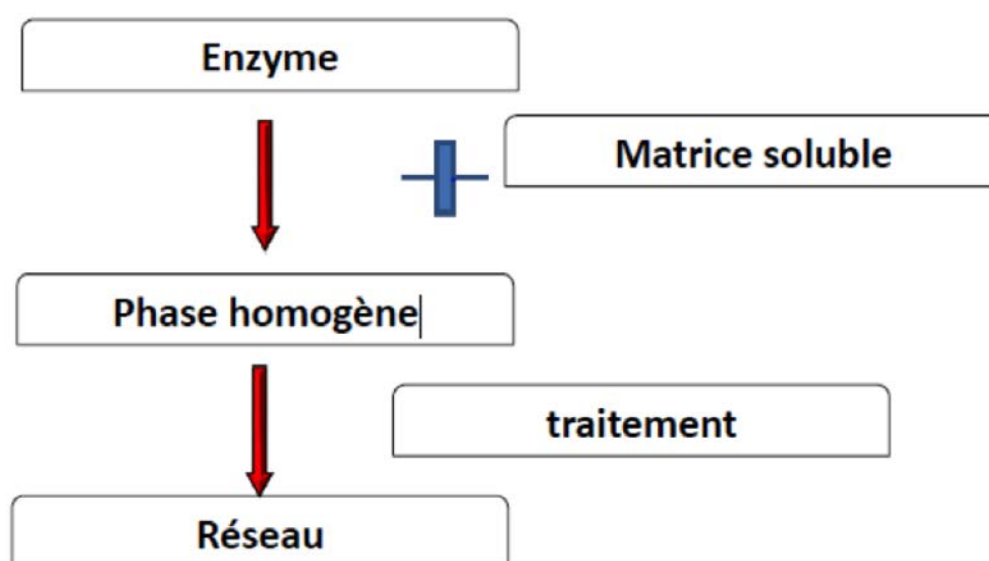
1. Inclusion dans un gel

L'enzyme est incorporée dans un gel insoluble. Ce gel peut être constitué d'une matrice organique (polymère) ou inorganique. La maille de la matrice assure de manière purement physique la rétention de l'enzyme tout en permettant la diffusion du substrat jusqu'au site actif de l'enzyme grâce à une porosité du gel suffisante.

💡 Fondamental

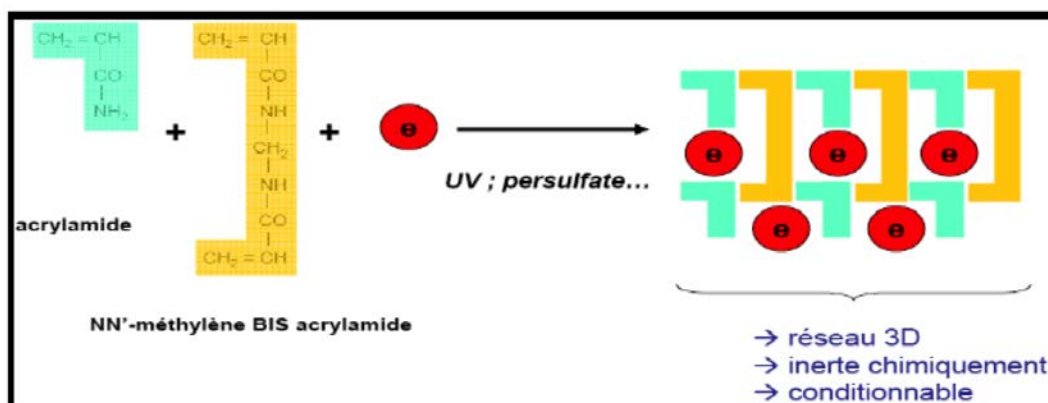
Les matières les plus utilisées sont les gels: de polyacrylamide, d'alginate, d'amidon et les fibres de polyacétate de cellulose.*

⚙️ Méthode : Principe d'inclusion



Principe de formation du gel et l'inclusion

🔍 Exemple



Inclusion par gel acrylamide/bisacrylamide

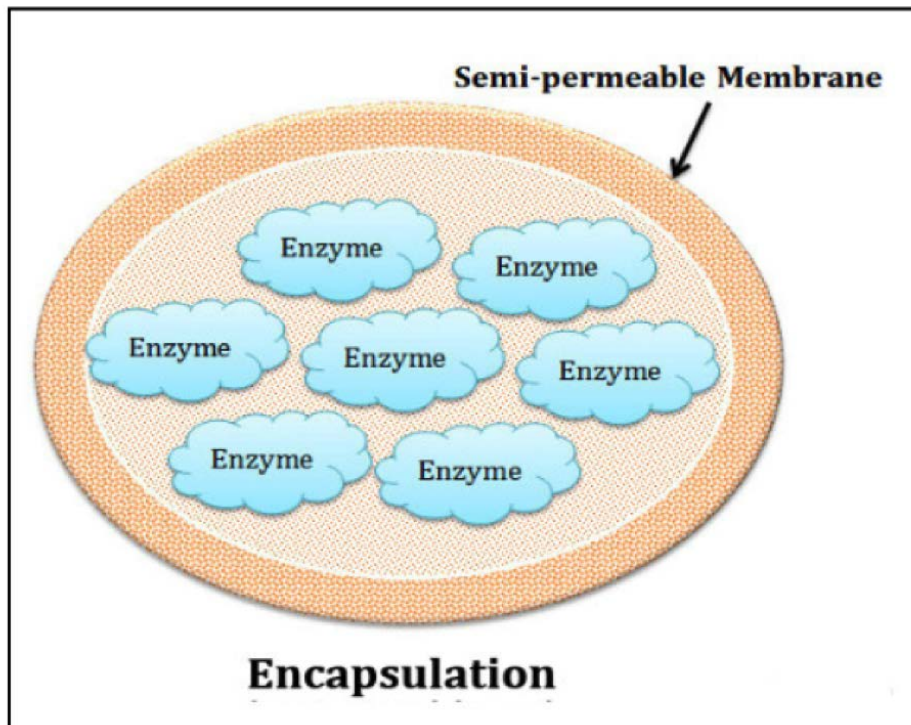
📌 Remarque

Le choix du type de polymères va être dépend de:

- Propriétés mécaniques du gel: compression, forces de cisaillement.
- Propriétés chimiques: toxicité, condition de stabilité en fonction de pH.
- Propriétés physiques: perméabilité du gel.

2. Encapsulation

La méthode consiste à inclure l'enzyme à l'intérieur de la membrane semi-perméable. Le diamètre des microcapsules peut varier de quelques microns à une centaine de microns.



Encapsulation

Les membranes semi-perméables Assurent la rétention des molécules d'enzyme dans un volume déterminé en vue d'une utilisation continue (les hydrolase). Elles sont utilisées dans la dégradation des macromolécules (amidon, protéine). Les produits obtenus après hydrolyse peuvent franchir les membranes, ce que permet de les récupérer dans l'effluent.

L'immobilisation dans ce cas se fait de manière physique et pas de manière chimique contrairement au greffage covalent. La membrane doit permettre la diffusion des petites molécules seulement afin que les enzymes ne puissent pas s'en échapper.

Ces membranes peuvent être inorganiques (gels de silice), organiques (nafion), polymères (polyacrylamide, polyuréthanes) ou composites (pâte de carbone).POLAINA MACCABE A.P.*

- Avantages
- Réaction de polymérisation et de gélification bien connues.
- Réaction chimiques avec l'enzyme limitée (inclusion dans des gels naturels).
- Application à toutes les enzymes (utilisation de mélanges).
- Obtention de supports de forma adaptables (films, billes, fibre...).
- Elle permet en une seule étape d'immobiliser la totalité de l'enzyme.
- Elle ne présente aucun caractère de spécificité et est applicable à n'importe quelle enzyme.

- Elle ne met pas en jeu les groupements actifs de l'enzyme.

Inconvénients

- La localisation de l'enzyme à l'intérieur du polymère pose des problèmes stériques (efficacité limitée par accès délicat du substrat vers l'enzyme et du produit en dehors du polymère).
- Les conditions de polymérisation (ex: pH élevé) peuvent s'avérer dénaturantes pour l'enzyme.
- Certaines polymérisations font appel à des agents dénaturants ou à des radicaux.

IV Avantages des enzymes immobilisées

1. Propriétés physico-chimiques

Une des propriétés importantes et caractéristiques de l'immobilisation est l'amélioration de la stabilité dans le temps et de la résistance vis-à-vis de la dénaturation.

La stabilité de l'enzyme immobilisée dépend beaucoup du micro-environnement imposé par le support. A

2. Propriétés cinétiques

L'immobilisation des enzymes affecte leurs propriétés cinétiques. En effet, à la vitesse de la réaction enzymatique proprement dite, il faut ajouter l'effet du microenvironnement qui conditionne toute l'activité catalytique. Ainsi, les phénomènes de diffusion l'accès du substrat au niveau du site actif. Ceci a pour conséquence une variation de la vitesse maximale V_M et de la constante de **Michaelis KM** de l'enzyme ; cette dernière constante pouvant avoir une valeur 10 fois supérieure. De même, le pH de l'enzyme peut être modifié, en particulier lorsque la réaction enzymatique met en jeu une libération ou une consommation de protons.

🗨 *Conseil : Comparaison de différentes méthodes d'immobilisation*

Caractéristiques	Adsorption	Liaisons ioniques	Liaisons covalentes	"Cross-linking"	Entrapment
Préparation	Facile	Facile	Difficile	Difficile	Difficile
Coût	Faible	Faible	Elevé	Modéré	Faible
Forces des liaisons	Faible	Modérées	Fortes	Fortes	Fortes
Régénération	Oui	Oui	Non	Non	Non
Perte d'enzyme	Oui	-----	Non	-----	Oui
Activité enzymatique	Faible	Elevée	Elevée	Modérée	Elevée
	Etroite	Modérée	Modérée	Etroite	Large

G a m m e d'applications					
Effets de matrice	Oui	-----	Oui	-----	Oui
Protection contre les microbes	Non	-----	Non	-----	Oui

Cf. "Vidéo Immobilization of enzymes"

V Réacteurs enzymatiques

Un réacteur enzymatique est défini comme un dispositif dans lequel une réaction de conversion chimique est catalysée par une enzyme. Principe: Ils ont pour fonction la production, en continu, du ou des produits de conversion du substrat. Le principe de ces réacteurs repose sur le passage lent du substrat (vitesse déterminée par l'expérience) au travers d'une colonne d'enzyme immobilisée. Le choix du réacteur dépend du type de réaction, du support et de l'utilisation désirée. PELMONT J. **

1. Réacteur à lactose

Ce type de réacteur est utilisé pour fabriquer du lait sans lactose. L'hydrolyse de ce dernier en glucose et galactose est catalysée par la β -galactosidase.

Le lait est déposé en continu sur la colonne remplie de l'enzyme immobilisée, le lactose est alors hydrolysé en glucose et galactose. Ainsi, le lait se trouve débarrassé du lactose sans avoir perdu ses propriétés nutritives et en préservant l'ensemble de ses constituants. WHITEHURST R.J. & LAW B.A. Eds, 2002 **

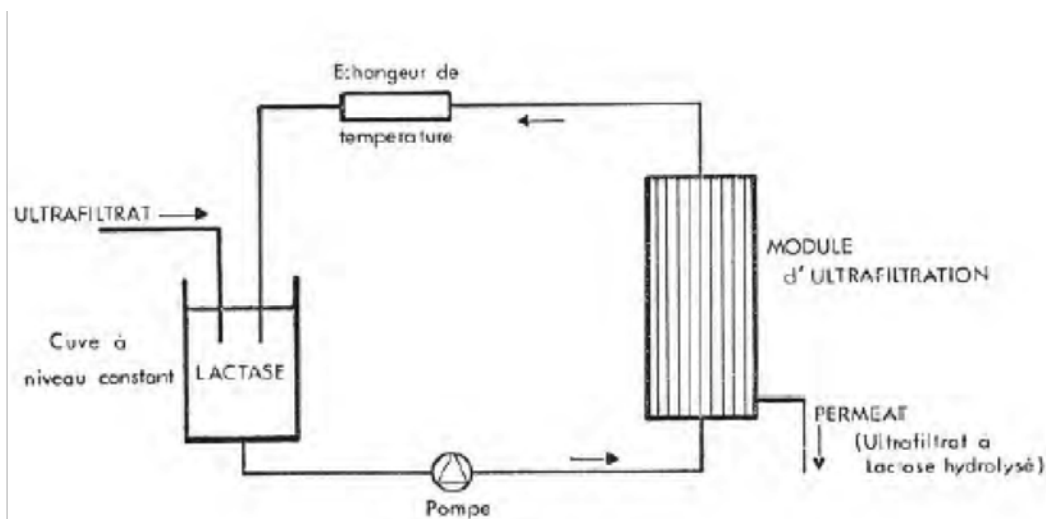


fig.1

Réacteur enzymatique à membrane

Réacteur à lactose

Hydrolyse en continu du lactose par la lactase en réacteur enzymatique

Durée de fonctionnement du réacteur (h)	Pourcentage d'hydrolyse dans le prélèvement	Débit (l/m ²)
2	89	10
4	92	10
8	80	10

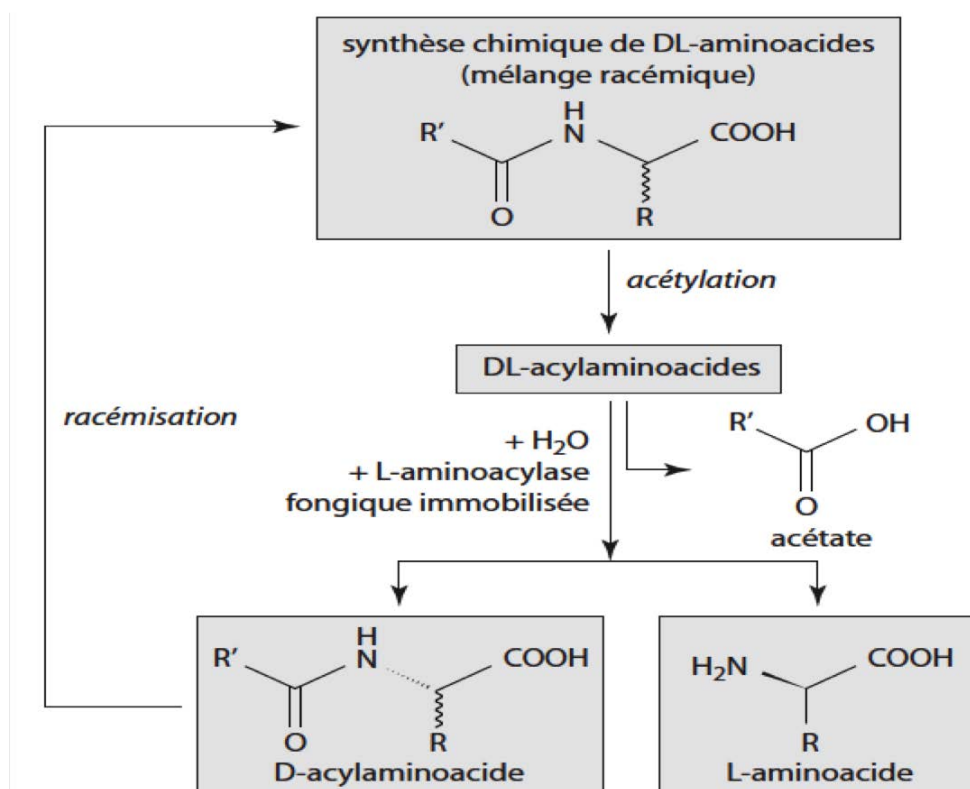
Hydrolyse en continu du lactose

2. Réacteur à acides aminés

Les acides aminés synthétisés chimiquement à des fins alimentaires sont un mélange racémique de composés D- et L-. Seul le composé L- est utilisable en nutrition humaine et animale. Le dédoublement du racémique, difficile par voie chimique, est facilité par l'utilisation d'une aminoacylase fixée.

Le mélange racémique est alors acylé, puis passé sur une colonne contenant l'enzyme immobilisée qui est le plus souvent d'origine fongique (*Aspergillus oryzae*). Le L-aminoacide libéré est aisément séparé du D-acylaminoacide. Ce dernier est chimiquement racémisé, avant de passer à nouveau sur la colonne.

Cette synthèse dite combinée (association de méthodes chimiques et enzymatiques) est très avantageuse pour un grand nombre d'acides aminés. Ce type de bioréacteur permet de produire des quantités importantes (une dizaine de tonnes) de L-aminoacides par mois (ex. L-alanine, L-glutamate, L-méthionine, L-phénylalanine, L-tryptophane, L-valine).



Réacteur à acides aminés

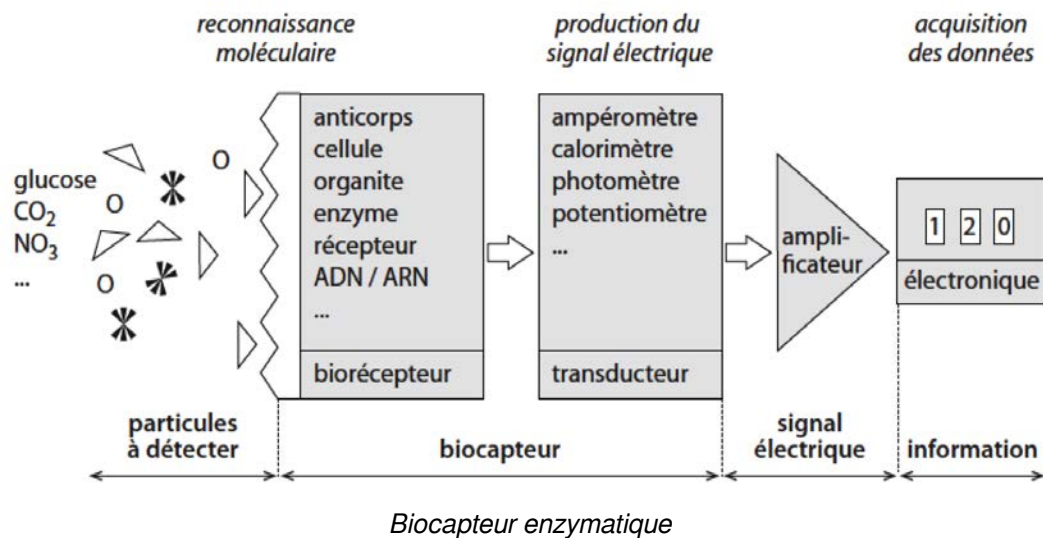
VI Bio-capteurs enzymatiques

D'une manière générale, les **biocapteurs** associent un dispositif de reconnaissance biologiquement sélectif appelé biorécepteur à un semi-conducteur le transducteur.

Le **biorécepteur** représente le premier maillon du **biocapteur**, sa spécificité permet d'identifier la nature du produit recherché.

Le **transducteur** constitue l'autre partie du biocapteur. La grandeur à mesurer, en agissant sur le biorécepteur, génère une énergie (thermique, électronique, rayonnante...) proportionnelle à l'intensité de la réaction.

ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN. ** Cette énergie est convertie par le biorécepteur en un signal électrique aisément mesurable. QUÉRELLOU J. & GUÉZENNEC J. *



1. Biorécepteurs

Ce sont les enzymes purifiées couramment commercialisées qui sont les plus utilisées. L'utilisation de ces enzymes présente de nombreux avantages comme leur grande spécificité par rapport au(x) substrat(s), la reproductibilité des analyses, des caractéristiques et des durées de vie connues, une disponibilité rapide.

Le développement d'électrodes biologiques, dites « électrodes à enzymes » est certainement une des plus importantes innovations dans le domaine des applications industrielles des enzymes. Ces électrodes sont

recouvertes d'une couche constituée d'une enzyme immobilisée sur un support et couplée à un transducteur (généralement ampérométrique) qui traduit sous forme de signal électrique l'activité de cette enzyme.

Dans le domaine de la détermination des pesticides, un biocapteur basé sur l'acétylcholinestérase (AChE), obtenue par manipulation génétique chez *Drosophila melanogaster*, montre une constante d'inhibition pour le methamidophos (insecticide) avec un ordre de grandeur trois fois plus élevé qu'avec les préparations commerciales d'**AChE** d'*Electrophorus electricus* (anguille électrique). Ce même **biocapteur** est sensible à un autre insecticide, l'omethoate, avec une limite de détection de 10–17SAHIN F., DEMIREL G. & TUMTURK H.,**

2. Transducteurs

Le transducteur représente l'élément permettant de mettre en évidence la réaction assurée par le **biorecepteur** auquel il est intimement connecté ou de doser directement et rapidement un composé chimique ou biologique dans un milieu complexe en transformant le signal biologique ou biochimique (modification de charges, de pH, de température, de fluorescence...) en un signal électrique enregistrable. Le choix du transducteur dépendra donc du type de réaction et des substances libérées ou consommées. Il peut s'agir d'une cellule électrochimique, d'une thermistance, d'un photomètre...

2.1. Transducteurs électrochimiques

Dans le cas d'une détection chimique, il existe un grand nombre d'électrodes sensibles au pH, aux cations et aux anions. Ces transducteurs sont de plusieurs types, suivant la nature du signal enregistré :

Conductométriques qui permettent de suivre les modifications de conductivité d'une solution lorsque, au cours d'une réaction, des espèces ioniques sont générées ;

Potentiométriques qui mesurent la ddp* entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence. Selon la loi de Nernst, la ddp est proportionnelle au logarithme de la concentration de l'élément chimique à doser ;

Ampérométriques qui mesurent l'intensité du courant qui traverse une cellule électrochimique. Cette intensité dépend de la concentration des espèces chimiques pouvant être oxydées ou réduites. SANCHEZ-PANIAGUA, LOPEZ-CABARCOS E. & LOPEZ-RUIZ B.**

2.2. Transducteurs thermiques ou calorimétriques

Certains transducteurs sont sensibles à la température. Ils sont basés sur la mesure de la chaleur générée par la catalyse enzymatique. Cette approche a été utilisée pour la détermination de l'activité de la lipase.

2.3. Transducteurs optiques

Il peut s'agir aussi d'une détection à l'aide de fibres optiques d'un changement des conditions optiques du milieu : émission de lumière, de fluorescence, absorption de la lumière, phosphorescence, luminescence.

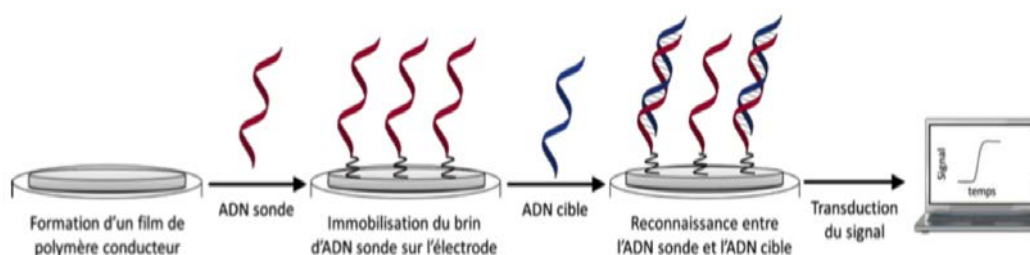
3. Domaines d'application des biocapteurs enzymatiques

3.1. Domaine de la santé

Les biocapteurs ont été développés pour les besoins de l'industrie pharmaceutique et le domaine médical, principalement pour la recherche de stéroïdes tels que le cholestérol, l'androstendione, la testostérone, des antibiotiques tels que la nystatine et d'autres

composés comme des hormones, l'acide urique, la créatinine et le fer. Les biocapteurs les plus utilisés sur le marché sont les biocapteurs à glucose, constitués de la glucose oxydase comme biorécepteur et d'un transducteur électrochimique, pour leur utilisation dans le diagnostic du diabète. ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN.

**



Principe général d'élaboration d'un biocapteur à ADN construit à base de polymère électrogénéré.

3.2. Domaine industrie agro-alimentaire

C'est notamment dans les procédés de fermentation où les applications sont les plus utilisées pour le suivi, en continu, de la concentration de sucres grâce à des biocapteurs à enzymes ou à micro-organismes immobilisés. Un biocapteur à base de tyrosinase est utilisé pour la détermination de polyphénols dans les huiles et aliments. WHITEHURST R.J. & LAW B.A. Eds, 2002 *

3.3. Domaine environnement

Un grand nombre de biocapteurs destinés à la détection des pesticides organophosphorés et des carbamates utilisent des capteurs électrochimiques comme transducteurs et des biorécepteurs à base d'enzymes purifiées et immobilisées (*estérases, acétyl choline estérase*).

Des biocapteurs basés sur l'utilisation de la **tyrosinase** ont été développés pour la détection des phénols, molécules polluantes dont l'usage est très répandu (pesticides, plastiques, surfactants...).

VII Activité d'auto-évaluation

Exercice : Immobilisation par Cross-linking

[solution n°1 p.23]

L'immobilisation par Cross-linking est technique :

- Activités enzymatique très faibles
- Gamme d'applications étroite
- Préparation difficile
- faible coût de préparation

Exercice : Immobilisation par adsorption

[solution n°2 p.23]

Immobilisation par adsorption est une technique

- Préparation facile
- Forces des liaisons fortes
- Activité enzymatique élevée
- Gamme d'applications large

Exercice : L'immobilisation par l'encapsulation

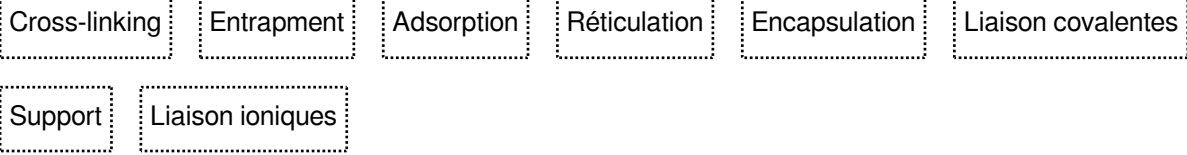
[solution n°3 p.23]

L'immobilisation par l'encapsulation est une technique caractérisée :

- Par une préparation facile
- Par une faible activité enzymatique
- Par une capacité de régénération
- Protection contre les microbes

Exercice : Types d'immobilisation enzymatique

[solution n°4 p.23]



Méthodes d'immobilisation chimiques	Méthodes d'immobilisation physiques
-------------------------------------	-------------------------------------

Exercice : Réacteur enzymatique

[solution n°5 p.24]

Réacteur enzymatique

Un réacteur enzymatique est défini comme un dispositif dans lequel une réaction de conversion chimique est catalysée par une []

Exercice : Le principe des réacteurs

[solution n°6 p.24]

Le principe de ces réacteurs repose sur le passage lent du [] (vitesse déterminée par l'expérience) au travers d'une colonne d'enzyme []. Le choix du réacteur dépend du type de réaction, du support et de l'utilisation désirée.

Exercice : RÉACTEUR À LACTOSE

[solution n°7 p.24]

Ce type de réacteur est utilisé pour fabriquer du lait sans []. L'hydrolyse de ce dernier en glucose et galactose est catalysée par la []. Le lait est déposé en continu sur la colonne remplie de l'enzyme [], le lactose est alors hydrolysé en glucose et galactose. Ainsi, le lait se trouve débarrassé du [] sans avoir perdu ses propriétés [] et en préservant l'ensemble de ses constituants.

Exercice : BIOCAPTEURS ENZYMATIQUES

[solution n°8 p.24]

D'une manière générale, les biocapteurs associent un dispositif de reconnaissance biologiquement sélectif appelé [] à un semi-conducteur le transducteur. Le biorécepteur représente le premier maillon du biocapteur, sa spécificité permet d'identifier la nature du produit recherché. Le transducteur constitue l'autre partie du biocapteur. La grandeur à mesurer, en agissant sur le biorécepteur, génère une [] (thermique, électronique, rayonnante...) proportionnelle à l'intensité de la []. Cette énergie est convertie par le [] en un signal électrique aisément mesurable.

Solutions des exercices

> **Solution n° 1**

Exercice p. 21

L'immobilisation par Cross-linking est technique :

- Activités enzymatique très faibles
- Gamme d'applications étroite
- Préparation difficile
- faible coût de préparation

> **Solution n° 2**

Exercice p. 21

Immobilisation par adsorption est une technique

- Préparation facile
- Forces des liaisons fortes
- Activité enzymatique élevée
- Gamme d'applications large

> **Solution n° 3**

Exercice p. 21

L'immobilisation par l'encapsulation est une technique caractérisée :

- Par une préparation facile
- Par une faible activité enzymatique
- Par une capacité de régénération
- Protection contre les microbes

> **Solution n°4**

Exercice p. 22

Méthodes d'immobilisation chimiques	Méthodes d'immobilisation physiques
Adsorption	Encapsulation
Cross-linking	Entrapment
Liaison covalentes	
Support	
Réticulation	
Liaison ioniques	

> **Solution n°5**

Exercice p. 22

Réacteur enzymatique

Un réacteur enzymatique est défini comme un dispositif dans lequel une réaction de conversion chimique est catalysée par une enzyme

> **Solution n°6**

Exercice p. 22

Le principe de ces réacteurs repose sur le passage lent du substrat (vitesse déterminée par l'expérience) au travers d'une colonne d'enzyme immobilisée. Le choix du réacteur dépend du type de réaction, du support et de l'utilisation désirée.

> **Solution n°7**

Exercice p. 22

Ce type de réacteur est utilisé pour fabriquer du lait sans lactose. L'hydrolyse de ce dernier en glucose et galactose est catalysée par la galactosidase. Le lait est déposé en continu sur la colonne remplie de l'enzyme immobilisée, le lactose est alors hydrolysé en glucose et galactose. Ainsi, le lait se trouve débarrassé du lactose sans avoir perdu ses propriétés nutritives et en préservant l'ensemble de ses constituants.

> **Solution n°8**

Exercice p. 22

D'une manière générale, les biocapteurs associent un dispositif de reconnaissance biologiquement sélectif appelé **biorécepteur** à un semi-conducteur le transducteur. Le biorécepteur représente le premier maillon du biocapteur, sa spécificité permet d'identifier la nature du produit recherché. Le transducteur constitue l'autre partie du biocapteur. La grandeur à mesurer, en agissant sur le biorécepteur, génère une **énergie** (thermique, électronique, rayonnante...) proportionnelle à l'intensité de la **réaction**. Cette énergie est convertie par le **biorécepteur** en un signal électrique aisément mesurable.

Abréviations

AChE : acétylcholinestérase

CNBr : bromure de cyanogène

ddp : différence de potentiel

DEAE : diéthylaminoéthyle

PH : potentiel hydrogène

Références

ABDERRAZAK

MAROUF & GERARD

TREMBLIN.

ABDERRAZAK MAROUF & GERARD TREMBLIN., 2017. Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences, 593p.

PELMONT J.

PELMONT J., 1996. Enzymes : catalyseurs du monde vivant, EDP Sciences, collection Grenoble Sciences, les Ulis, 1040 p.

POLAINA MACCABE A. POLAINA MACCABE A.P. Eds, 2007. Industrial enzymes-structure, function and applications, Springer, Dordrecht, 641 p

QUÉRELLOU J. &

GUÉZENNEC J.

QUÉRELLOU J. & GUÉZENNEC J., 2010. Biotechnologie des extrêmophiles, Ed. Techniques Ingénieur, Bio580, 2-13.

SAHIN F., DEMIREL

G. & TUMTURK H.,

SAHIN F., DEMIREL G. & TUMTURK H., 2005. A novel matrix for the immobilization of acetylcholinesterase, International Journal of Biological Macromolecules 37(3), 148-153.

SANCHEZ-

PANIAGUA, LOPEZ-

CABARCOS E. &

LOPEZ-RUIZ B.

SANCHEZ-PANIAGUA, LOPEZ-CABARCOS E. & LOPEZ-RUIZ B., 2006. Organic phase enzyme electrodes, Biomolecular Engineering 23, 135-147

WHITEHURST R.J. &

LAW B.A. Eds, 2002

WHITEHURST R.J. & LAW B.A. Eds, 2002. Enzymes in food technology, Sheffield Academic Press, Sheffield, 255 p.