

MEDJOUDJ Hacènemicrobiologie appliquée/Semestre 2/Techniques enzymatiques/groupe1						
Matricule	Nom	Prénom	Note	Absent	Absence Justifiée	Observation
212134007098	ABDELLI/عبدالي	Achraf/أشرف	11.5			
212134002871	BENSIZERARA/بن سي زرارة	Salsabil/سلسبيل	0.0	OUI		
212134004454	BOUMAZA/بومعزة	Ishak/اسحاق	10.34			
222234018504	CHEBBOUT/شبوط	Loubna/لبنى	13.3			
212134003340	CHEKAOUI/شكاوي	Salsabil soundous/سلسبيل سندس	9.54			
222234016517	DAGHBOUCHE/دغبوش	Aya/آية	13.72			
222234030505	DEROUICHE/درويش	Ouaâd/وعد	10.49			
222234048514	FORTAS/فرطاس	Nour el yakine/نور اليقين	14.19			
222234036703	GAOUZ/قاوز	Rihame/ريهام	16.64			
222234037001	GUELLIF/قليف	Chahd/شهد	16.52			
222234027309	HADJAZE/حجاز	Ikram/إكرام	15.6			
222234016419	HAMDI/حمدي	Inas-fatima-zohra/إيناس فاطمه الزهراء	11.8			
222234017110	HOCINI/حسيني	Rahma/رحمة	10.41			
222234017320	KHELAIFIA/خلايفية	Sarra/سارة	10.84			
222234005918	KHENFOUF/خنفوف	Aya/آية	13.62			
25114000811	louaar/louaar	safia/safia	0.0	OUI		
222234018402	MANAA/مانع	Farah amina/فرح آمنة	16.1			
222234019119	MANSOURI/منصوري	Nedjoua/نجوى	10.68			
222234065414	MERRAKCHI/مراكشي	Malak/ملاك	11.55			
222234016303	MESSAOUDI/مسعودي	Isrâa/إسراء	12.29			
222234018916	MOHAMMEDI/محمدي	Meryem rayane/مريم ريان	11.43			
212134005800	MOKRANE/مقران	Aya/آية	12.54			
222234019307	NASRI/ناصر	Nour el hoda/نور الهدى	12.09			
222234045818	OTMANI/عثماني	Hadjar/هاجر	11.66			
222234035711	OUKKAF/وقاف	Aya/آية	13.77			
222234008118	RAMOUL/رمول	Maissa/ميساء	11.86			
222234018404	SEDRATI/سدراي	Ferial/فريال	10.74			
222234027511	SELLAY/سلاي	Bouchra/بشرى	12.69			
222234016106	ZID/زيد	Omayma/أميمة	11.61			

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--	--	--	--	--

Section	Groupe
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--

MEDJOU DJ Hacènemicrobiologie appliquée/Semestre 2/Techniques enzymatiques/groupe1						
Matricule	Nom	Prénom	Note	Absent	Absence Justifiée	Observation
212134007098	ABDELLI/عبدالي	Achraf/أشرف	13.25			
212134002871	BENSIZERARA/بن سي زارة	Salsabil/سلسبيل	0.0	OUI		
212134004454	BOUMAZA/بومعزة	Ishak/اسحاق	15.0			
222234018504	CHEBBOUT/شبوط	Loubna/لبنى	14.0			
212134003340	CHEKAOUI/شكاوي	Salsabil soundous/سلسبيل سندس	14.0			
222234016517	DAGHBOUCHE/دغبوش	Aya/آية	15.25			
222234030505	DEROUICHE/درويش	Ouaâd/وعد	15.5			
222234048514	FORTAS/فرطاس	Nour el yakine/نور اليقين	13.5			
222234036703	GAOUZ/قاوز	Rihame/ريهام	17.37			
222234037001	GUELLIF/قليف	Chahd/شهد	16.75			
222234027309	HADJAZE/حجاز	Ikram/إكرام	15.87			
222234016419	HAMDI/حمدي	Inas-fatima-zohra/إيناس فاطمه الزهراء	13.0			
222234017110	HOCINI/حسيني	Rahma/رحمه	14.87			
222234017320	KHELAIFIA/خلايفية	Sarra/سارة	14.0			
222234005918	KHENFOUF/خنفوف	Aya/آية	16.87			
25114000811	louaar/louaar	safia/safia	0.0			
222234018402	MANAA/مانع	Farah amina/فرح آمنة	16.0			
222234019119	MANSOURI/منصوري	Nedjoua/نجوى	14.5			
222234065414	MERRAKCHI/مراكشي	Malak/ملاك	15.87			
222234016303	MESSAOUDI/مسعودي	Isrâa/إسراء	14.0			
222234018916	MOHAMMEDI/محمدي	Meryem rayane/مريم ريان	13.0			
212134005800	MOKRANE/مقران	Aya/آية	13.75			
222234019307	NASRI/ناصر	Nour el houda/نور الهدى	14.87			
222234045818	OTMANI/عثماني	Hadjar/هاجر	14.0			
222234035711	OUKKAF/وقاف	Aya/آية	17.25			
222234008118	RAMOUL/رمول	Maissa/ميساء	16.75			
222234018404	SEDRATI/سدراي	Ferial/فريال	14.62			
222234027511	SELLAY/سلاي	Bouchra/بشرى	13.5			
222234016106	ZID/زيد	Omayma/أميمة	15.0			

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--	--	--	--	--

Section	Groupe
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1
section1	groupe1

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--

MEDJOUDJ Hacène/microbiologie appliquée/Semestre 2/Techniques enzymatiques/section1						
Matricule	Nom	Prénom	Note	Absent	Absence Justifiée	Observation
212134007098	ABDELLI/عبدالي	Achraf/أشرف	6.75			
212134002871	BENSIZERARA/بن سي زرارة	Salsabil/سلسبيل	0.0	OUI		
212134004454	BOUMAZA/بومعزة	Ishak/اسحاق	12.5			
222234018504	CHEBBOUT/شبوط	Loubna/لبنى	8.25			
212134003340	CHEKAOUI/شكاوي	Salsabil soundous/سلسبيل سندس	7.75			
222234016517	DAGHBOUCHE/دغبوش	Aya/آية	9.5			
222234030505	DEROUICHE/درويش	Ouaâd/وعد	7.0			
222234048514	FORTAS/فرطاس	Nour el yakine/نور اليقين	10.25			
222234036703	GAOUZ/قاوز	Rihame/ريهام	12.0			
222234037001	GUELLIF/قليف	Chahd/شهد	11.25			
222234027309	HADJAZE/حجاز	Ikram/إكرام	9.25			
222234016419	HAMDI/حمدي	Inas-fatima-zohra/إيناس فاطمه الزهراء	4.0			
222234017110	HOCINI/حسيني	Rahma/رحمه	6.5			
222234017320	KHELAIFIA/خلايفية	Sarra/سارة	4.75			
222234005918	KHENFOUF/خنفوف	Aya/آية	10.5			
222234018402	MANAA/مانع	Farah amina/فرح أمينة	14.25			
222234019119	MANSOURI/منصوري	Nedjoua/نجوى	7.0			
222234065414	MERRAKCHI/مراكشي	Malak/ملاك	7.25			
222234016303	MESSAOUDI/مسعودي	Isrâa/إسراء	10.0			
222234018916	MOHAMMEDI/محمدي	Meryem rayane/مريم ريان	6.25			
212134005800	MOKRANE/مقران	Aya/آية	8.0			
222234019307	NASRI/ناصري	Nour el houda/نور الهدى	8.0			
222234045818	OTMANI/عثماني	Hadjar/هاجر	6.5			
222234035711	OUKKAF/وقاف	Aya/آية	6.25			
222234008118	RAMOUL/رمول	Maissa/ميساء	7.25			
222234018404	SEDRATI/سدراي	Ferial/فريال	2.5			
222234027511	SELLAY/سلاي	Bouchra/بشرى	11.0			
222234016106	ZID/زيد	Omayma/أميمة	7.75			
25114000811	louaar/louaar	safia/safia	0.0	OUI		
222234041608	ALLAG/علاق	Wissal/وصال	8.0			
222234036701	AMEZIAN/أمزيان	Rym/ريم	8.5			

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--	--	--	--	--

Section	Groupe	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe1	
	section1/groupe2	
	section1/groupe2	

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--	--	--	--	--

Section	Groupe
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--	--	--	--	--	--

Section	Groupe
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2
section1	groupe2

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

--	--

Corrigé-type de la Matière : Technologie Enzymatique

le 12/05/2026

1/Définir cofacteur et coenzyme ? Donnez s'il y a des différences entre eux ou non ? (2,0pts)

R1/Le cofacteur est un corps chimique (ion ou petite molécule minérale) qui intervient obligatoirement dans une réaction enzymatique. Exp. Fe²⁺ pour la catalase, Zn²⁺ pour la carboxypeptidase, Mg²⁺ pour la phosphotransférase.

• **Corps chimique intervenant obligatoirement dans une réaction enzymatique :**

- Pour transformer ou compléter un substrat ;
- Pour accepter un produit ;
- Comme participant à la structure de l'enzyme.

✓ Sur le plan de la **structure**, l'enzyme possède deux sites :

- ✓ le **site de fixation** qui reconnaît la structure du substrat et détermine l'affinité et
- ✓ le **site catalytique** qui permet la transformation du substrat en produit, et détermine la vitesse de la réaction.

✓ Les enzymes présentent une spécificité pour leur substrat et pour la réaction qu'elles catalysent. Une classe d'enzyme ne reconnaît qu'un type de substrat et la réaction enzymatique est unique.

- ✓ • **Les cofacteurs peuvent être des ions comme l'atome de Zinc de l'anhydrase carbonique ou de petites molécules minérales habituellement présentes dans les milieux biologiques, à commencer bien sûr par la molécule d'eau.**
- ✓ • **Certains cofacteurs sont des molécules plus complexes synthétisées par les cellules : nous les appellerons coenzymes.**

COENZYME :

• Molécule biologique intervenant comme cofacteur indispensable dans la catalyse enzymatique d'une réaction

• Les coenzymes sont des molécules biologiques,

o c'est-à-dire que leur synthèse naturelle ne peut être faite que par des cellules vivantes.

o Lorsque cette synthèse n'est pas inscrite dans le patrimoine génétique d'une espèce, **alors tout ou partie de la molécule du coenzyme doit être apportée à cette espèce par son alimentation : cet aliment indispensable s'appelle une vitamine.**

o Les coenzymes sont des cofacteurs, donc des **molécules indispensables à la catalyse enzymatique.**

• Les coenzymes **libres** interviennent dans la réaction stœchiométrique ;

• Lorsque les coenzymes sont liés à l'enzyme par des liaisons de type électrostatique ou plus faiblement encore, cette liaison est renouvelée à chaque réaction effectuée : en effet, l'énergie mise en jeu par la liaison enzyme-coenzyme est du même ordre de grandeur que l'énergie mise en jeu dans la liaison enzyme-substrat ; dans ce cas, **la concentration des coenzymes doit être du même ordre de grandeur que celle du substrat (on dit stœchiométrique).**

Ces coenzymes sont appelés **coenzymes libres** parce qu'ils se dissocient de l'enzyme à chaque réaction catalysée.

• Les coenzymes **liés** interviennent dans la réaction de manière catalytique

• Lorsque au contraire les coenzymes sont liés aux enzymes par des liaisons fortes de type covalentiel, **leur concentration est nécessairement la même que celle de l'enzyme, c'est-à-dire très petite (on dit catalytique).**

Ces coenzymes sont appelés **coenzymes liés** parce qu'ils ne se dissocient pas de l'enzyme.

2/ Parmi les classes d'enzymes, combien de classes y a-t-il ? Donner la signification des lettres et chiffres affectés aux enzymes EC X1.X2.X3.X4 ? (1,5 pts), donner le nom de 4 d'entre elles, avec le type de réaction catalysée ? (2,0pts)

R2/EC (sigle de l'Enzyme Commission), soit (EC X1.X2.X3.X4). Un article publié en 2022 rapporte le nombre de 7 classes d'enzymes. L'union internationale de biochimie et de biologie moléculaire qui répertorie sept familles principales d'enzymes en fonction de la réaction catalysée et selon les codes de la Commission Enzyme (code EC) :

A chaque enzyme est associé un "numéro" de classification appelé "EC number". Il est construit ainsi : [numéro de la classe], [numéro de la sous-classe], [numéro de la sous-sous-classe].[numéro individuel de série dans la sous-sous classe] ;

Associé au classement et au "EC number", la nomenclature des noms systématiques :

- Le nom systématique de chaque enzyme classé utilise le groupe de classement et la nature des substrats physiologiques standards
- **Le nom systématique est formé par [le(s) nom(s) du(es) substrats] [le nom de la nature de la réaction] puis le suffixe ase ;**

Associé au classement, au "EC number" et au nom systématique, **des noms "communs" possibles.**

Parmi les classes d'enzymes, donner le nom de 4 d'entre elles, avec le type de réaction catalysée ?

Classification	Type de réaction catalysée
1. Oxydoréductases	Oxydo-réduction
2. Transférases	Transferts de groupements fonctionnels
3. Hydrolases	Hydrolyse
4. Lyases	Élimination de groupements et formation de doubles liaisons ; Clivage de liaison chimique autre qu'hydrolyse ou oxydation
5. Isomérases	Isomérisation (de position de groupe ou de fonction)
6. Ligases	Formation de liaisons couplées à l'hydrolyse de l'ATP, Condensation de deux molécules
7. Translocases	

3/ En nomenclature et classification des enzymes, il y a la nomenclature fonctionnelle qui explique comment on peut appeler une enzyme et sur quelle base lui donner un nom. Expliquez comment on procède en illustrant votre réponse par des exemples de noms d'enzymes ? (2,5pts)

R3/Nomenclature fonctionnelle

Elle est très utilisée. Elle prend en compte le nom du substrat de l'enzyme et le type de réaction catalysée. Pour désigner une enzyme on indique :

- D'abord le **nom du substrat**
- Puis le **type de réaction catalysée**

Par exemple : **On ajoute enfin le suffixe ase**

- Glucose -6- phosphate isomérase
- Isocitrate lyase
- Pyruvate carboxylase

Lorsque l'enzyme utilise deux substrats on les désigne tous les deux en indiquant :

- Le **substrat donneur de radicaux**
- Puis le **substrat accepteur du radical libéré**
- Le **radical échangé**
- Le **type de réaction**
- On ajoute **enfin ase**

Exemple :

- ATP- glucose- phosphotransférase
- UDP – glucose – fructose glycosyltransférase
- Glutamate pyruvate aminotransférase

Dans le cas d'une réaction équilibrée réversible, on peut former les noms à partir des substrats ou des produits.

4/ Soit la réaction suivante : $ATP + X + Y \longrightarrow ADP + P_i + X-Y$. De quel type de catalyse s'agit-il ? Expliquez ce qui s'est passé dans cette réaction ? (1,5pt)

R4/Elles catalysent la condensation (jonction) de deux molécules (« ligation » ou « coller entre elles ») par de nouvelles liaisons covalentes avec hydrolyse concomitante de l'ATP ou d'autres molécules similaires (GTP). Elles forment des liaisons C-C, CN, C-S, CO-O-P grâce à l'utilisation de l'énergie formée par l'hydrolyse concomitante d'un groupement phosphate ou pyrophosphate de l'ATP.

On parle parfois également de « synthétase » pour désigner cette protéine, parce qu'elle agit sur la synthèse des nouvelles molécules.

De nombreuses **ligases** sont connues sous le nom de « **synthases** » ou « **synthétases** » car elles synthétisent de nouvelles molécules .

5/ Quelles sont les applications industrielles des enzymes ? Donnez un exemple d'enzyme de 4 applications ? (2pts)

R5/ Les enzymes sont largement utilisées dans différents secteurs industriels.

Industrie pharmaceutique : Les enzymes sont utilisées pour la production de médicaments et dans les diagnostics médicaux.

Industrie textile : Les enzymes comme les cellulases sont utilisées pour améliorer la qualité des tissus et éliminer les impuretés.

Industrie des détergents : Les protéases, lipases et amylases sont utilisées dans les détergents pour éliminer les taches de protéines, de graisses et d'amidon.

Biocarburants : Les enzymes telles que les cellulases sont utilisées pour convertir la biomasse en bioéthanol.

- ❖ Industrie alimentaire
- ❖ Fabrication du fromage (chymosine)
- ❖ Production de sirop de glucose
- ❖ Clarification des jus de fruits

Amylase produite par *Bacillus licheniformis* (enzyme thermostable), *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*

* Il s'agit généralement d'une enzyme extracellulaire, ce qui facilite son extraction.

Protéase produite par: *Bacillus subtilis* (protéases alcalines) ; *Aspergillus oryzae*.

Lipase par *Candida rugosa* ; *Pseudomonas aeruginosa*.

Cellulase par *Trichoderma reesei* ; *Aspergillus niger*

Chaque enzyme possède :

- une température optimale
- un pH optimal

Toute variation entraîne :

- dénaturation
- perte d'activité enzymatique

Pendant l'extraction :

- travailler toujours à 4°C
- utiliser des solutions tampons pour stabiliser le pH

6/Parmi les méthodes de production d'enzymes microbiennes, expliquez le procédé de fermentation en état solide ? En citant les techniques de purification qui peuvent être utilisées ? (2pts)

R6/Fermentation En milieu solide (SSF):

Principe : Le substrat est placé dans le fermenteur, puis on ajoute l'inoculum microbien. De l'air est injecté pour fournir l'oxygène, tout en contrôlant la température et l'humidité, car l'activité microbienne produit de la chaleur.

Principaux composants :

- Entrée et sortie d'air
- Couvercle pour contrôler les conditions
- Orifice pour l'inoculum
- Supports internes
- Système de refroidissement
- Système d'entrée/sortie d'eau pour régulation thermique

La fermentation en milieu solide **utilise un** substrat solide humide sans phase liquide libre, avec une humidité de 40 à 70 %, afin de reproduire des conditions naturelles.. Cette **méthode est souvent utilisée pour la production d'enzymes par des champignons** et peut offrir un rendement plus élevé pour certains types d'enzymes.

Les substrats utilisés sont généralement des résidus agricoles tels que : le son de blé, les résidus de maïs, les balles de riz.

Avantages de cette méthode :

- _ faible cout de production.
- _ faible consommation d'énergie.
- _ utilisation de déchets agricoles.

Exemple : cellulases, pectinases, xylanases.

La production industrielle des enzymes comprend plusieurs étapes principales :

- 1. Sélection du microorganisme producteur** On sélectionne des souches capables de produire l'enzyme désirée avec un rendement élevé.
- 2. Préparation du milieu de culture** Le milieu contient des sources de carbone, d'azote, des sels minéraux et d'autres nutriments nécessaires à la croissance microbienne.
- 3. Fermentation** Les micro-organismes sont cultivés dans des bioréacteurs où les paramètres comme la température, le pH et l'aération sont contrôlés afin d'optimiser la production enzymatique.
- 4. Récupération de l'enzyme** Après la fermentation, l'enzyme est récupérée à partir du milieu de culture par filtration ou centrifugation.
- 5. Purification** Les enzymes peuvent être purifiées par différentes techniques telles que :
 - ❖ Précipitation
 - ❖ chromatographie
 - ❖ ultrafiltration

Ces étapes permettent d'obtenir un produit enzymatique stable et utilisable dans l'industrie.

Exemple : AMYLASE

- _ Micro-organisme producteur : Bacillus subtilis
- _ température optimale de production : environ 37 °C
- _ pH optimal : entre 6 et 7

1) Enzymes extracellulaires

Les enzymes extracellulaires sont sécrétées directement dans le milieu de culture par les micro-organismes.

Méthodes d'extraction :

Centrifugation : permet de séparer les cellules (culot) du surnageant contenant l'enzyme.

Filtration : utilisée pour éliminer les cellules et récupérer un filtrat riche en enzymes.

2) Enzymes intracellulaires

Les enzymes intracellulaires sont localisées à l'intérieur des cellules, ce qui nécessite une étape de lyse cellulaire pour les extraire.

Méthodes de rupture cellulaire

a) Méthodes mécaniques

Ces méthodes utilisent des forces physiques pour casser les cellules :

Broyeur à billes (Bead mill)

Ultrasons

Haute pression

Ces techniques sont rapides et efficaces, mais peuvent générer de la chaleur susceptible d'altérer les enzymes.

b) Méthodes non mécaniques

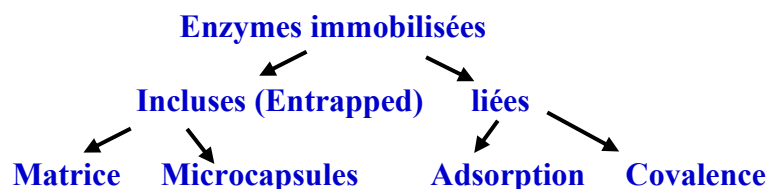
Elles reposent sur des procédés chimiques ou biologiques :

Choc osmotique : variation brutale de la concentration en solutés provoquant la lyse cellulaire.

Enzymes lytiques : telles que le lysozyme, qui dégradent la paroi cellulaire.

7/L'immobilisation des enzymes est divisée en 2 types de méthodes ; citez et classez ces méthodes ? Donner des exemples d'enzymes utilisées par immobilisation par adsorption en donnant les avantages de cette méthode ? (2,5pts)

R7/Classification des enzymes immobilisées



Adsorption : L'immobilisation par adsorption consiste à assurer la rétention de la molécule enzymatique à la surface insoluble par l'interaction de type secondaire entre les groupes fonctionnels de l'enzyme et du support. Il s'agit donc de phénomène de partage des molécules d'enzymes entre la phase liquide et la phase solide.

Types d'interactions

L'interaction enzyme-support pourra impliquer de manière plus ou moins complexe l'ensemble des liaisons de bas niveau énergétiques. Les types d'interactions seront les suivants :

1- Réaction de Vander Waals : Interaction électrostatique entre atome et molécule résultants des variations de densité électronique sur les orbitales.

2- Liaison Hydrogène : Elle résulte de la polarisation entre un atome d'hydrogène et un atome plus électronégatif.

3- Transfert de charge : Ces interactions se font par transfert plus ou moins marqué de doublets d'électrons d'une molécule à une autre.

4- Echange d'ions : Les enzymes portent par leur résidus d'AA acides et basiques des charges ioniques, elles pourront donc se prêter au phénomène d'échange d'ions. Ces interactions seront très dépendantes du pH du milieu en raison du caractère amphotère des résidus d'acides aminés. Ces liaisons de type ionique jouent un rôle prépondérant dans l'adsorption des enzymes.

Il est certain que toute adsorption n'est pas liée à un seul type d'interaction mais à l'intervention de l'ensemble ou d'une partie seulement de ces différentes forces.

Les principaux facteurs influents sur l'adsorption

a- **Concentration en Protéines** : On peut dire d'une manière générale que la masse liée aux supports augmente avec la concentration de l'espèce à adsorber jusqu'à ce que l'adsorbant soit saturé.

b- **Temps de contact** : Dans des conditions habituelles d'adsorption, les temps nécessaires pour obtenir l'immobilisation d'une préparation enzymatique sont généralement courts et n'excèdent pas quelques heures.

c- **Le pH** : Les modifications du pH interagissent essentiellement avec les liaisons de type ionique, de même qu'elle est déterminante pour l'immobilisation des enzymes. La valeur du pH sera pour leur stabilité : De brusques variations provoqueront une désorption importante de l'enzymes.

Le pH a un double rôle : L'immobilisation et la stabilité.

d- La température.

Avantages et Inconvénients des méthodes d'Adsorptions

1- La **préparation des complexes est des plus faciles**, il suffit de **mettre en contact support et enzyme** à un **pH**, une **force ionique** et une **température convenable**, de laver ensuite le complexe formé pour éliminer l'enzyme facilement retenue.

2- Lorsque le support a perdu une partie de son activité, il est facile de le régénérer.

3- Toute enzyme est adsorbable, ce qui n'implique pas toujours une possibilité d'application en raison de l'affinité très variable enzyme- support.

4- La **molécule d'enzyme n'est pas modifiée**, mais l'activité des complexes n'est pas directement proportionnelle à la masse d'enzymes fixées. En effet l'adsorption s'effectue par couches successives, le substrat pouvant atteindre difficilement les couches internes.

5- L'emploi de cette méthode est exclu lorsqu'il est impératif d'éviter une libération de l'enzyme dans le milieu de réaction.

Quelques supports susceptibles déjà utilisés : l'amidon, certains gels tels que les séphadex.

8/ Donnez quatre exemples de production d'enzymes microbiennes avec leurs sources microbiennes d'extraction et les différentes étapes jusqu'à l'obtention de l'enzyme pure ? (2pts)

R8/ *Bacillus* produisent des enzymes comme les amylases et les protéases ;

des champignons filamenteux comme *Aspergillus* ou *Trichoderma* sont utilisés pour produire des cellulases et des xylanases.

Les micro-organismes (bactéries, champignons, levures, microalgues) représentent une source principale d'enzymes, en raison de leur croissance rapide, la facilité de leur culture et la possibilité de modification génétique pour améliorer la production à faible coût.

Les enzymes microbiennes sont largement utilisées dans plusieurs domaines, notamment l'agroalimentaire, la pharmacie, les détergents, le traitement des eaux et les biocarburants. Elles peuvent être extracellulaires ou intracellulaires, et peuvent être adaptées pour fonctionner dans des conditions extrêmes (température, pH).

Amylase : L'amylase est produite par :

- *Bacillus licheniformis* (enzyme thermostable)
- *Bacillus subtilis*
- *Aspergillus niger*

* Il s'agit généralement d'une enzyme extracellulaire, ce qui facilite son extraction.

Fermentation Le milieu de culture contient de l'amidon (inducteur).

Séparation (Centrifugation)

Précipitation (Sulfate d'ammonium) Saturation : 60–80% ; "Salting out" → précipitation des protéines

Purification Chromatographie (échange d'ions, filtration sur gel)

Protéase: est produite par

- *Bacillus subtilis* (protéases alcalines)
- *Aspergillus oryzae*

Fermentation : Milieu riche en protéines (ex : caséine)

Extraction : Enzyme extracellulaire ; directement du milieu

Enzyme intracellulaire : lyse cellulaire, (sonication, lysozyme)

Précipitation et purification

Lipase: Source microbienne

- *Candida rugosa*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Fermentation: Milieu contenant des lipides

Séparation: Centrifugation

Purification : Solvants organiques ou sulfate d'ammonium

Cellulase: Source microbienne

- *Trichoderma reesei*
- *Aspergillus niger*

Fermentation : Milieu contenant de la cellulose

Séparation

Purification

9/ Donner 4 groupes fonctionnels des acides aminés, qui sont susceptibles de réagir lors de l'immobilisation des enzymes ? (2pts)

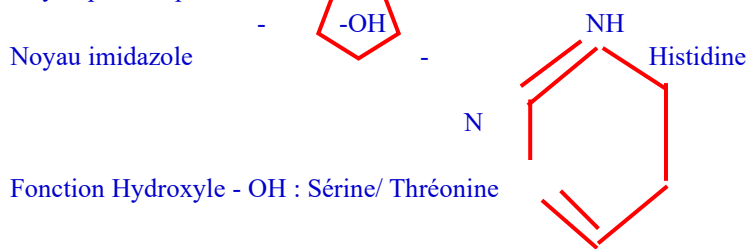
R9/Les groupes fonctionnels des enzymes susceptibles de réagir :

Fonction amine – NH₂ : NH₂ de la lysine

Fonction carboxylique – COOH : Acide Aspartique / Acide Glutamique

Fonction thiol –SH : Cystéine

Noyau phénolique -



Bon courage/ Le responsable de la matière : Dr. MEDJOUDJ Hacène (MCA)