

SYLLABUS

1. Fiche d'identification

Rubrique	Description
Intitulé de l'UE	Enzymologie
Niveau / parcours	Licence 2 – Sciences agroalimentaires
Nature	UE fondamentale obligatoire
Volume horaire présentiel	30 h : Cours magistral (CM) 24 h – Travaux dirigés (TD) 6 h
Travail personnel de l'étudiant	≈ 30 h recommandées (lecture du polycopié, préparation des TD, devoir maison, révisions)
Crédits	2 crédits (1 crédit = 15 h)
Langue d'enseignement	Français
Prérequis	Biochimie structurale (acides aminés, structure des protéines, glucides, lipides), notions de chimie des solutions (pH, concentrations), fonctions mathématiques simples (droite, hyperbole, logarithme)
UE en aval	Biochimie alimentaire, microbiologie alimentaire, technologies des industries agroalimentaires (laiterie, céréales, boissons, fruits et légumes), biotechnologies, contrôle qualité
Enseignant responsable	MBAILASSEM Bégoto (begoto.fils3@gmail.com)

2. Présentation et justification du cours

Les **enzymes** sont les catalyseurs biologiques : sans elles, les réactions du vivant seraient beaucoup trop lentes pour entretenir la vie. Pour un technologue de l'agroalimentaire, elles ont une double importance : elles sont à la fois des **outils de transformation** (fabrication du fromage, de la bière de mil, des jus de fruits, des sirops de glucose, attendrissement des viandes) et des **causes d'altération** (brunissement des fruits coupés, rancissement, ramollissement) qu'il faut savoir maîtriser.

Le cours part des notions fondamentales (nature et fonctionnement des enzymes), établit les lois de la **cinétique enzymatique**, étudie les **facteurs** qui modifient l'activité (température, pH, inhibiteurs) et se termine par les **applications et la maîtrise des enzymes dans les industries agroalimentaires**. Les exemples sont pris autant que possible dans les produits et les pratiques locales : lait caillé et fromage, bière de sorgho, manioc, mangue, papaye, bissap.

3. Objectifs d'apprentissage

3.1 Objectif général

À l'issue de l'UE, l'étudiant sera capable d'**expliquer le fonctionnement des enzymes, d'analyser leur cinétique et l'effet des facteurs du milieu, et d'appliquer ces connaissances à l'utilisation et à la maîtrise des enzymes dans la transformation et la conservation des aliments**.

3.2 Objectifs spécifiques

À la fin du cours, l'étudiant doit être capable de :

1. **Définir** une enzyme, **décrire** son site actif et ses cofacteurs, et **expliquer** comment elle accélère une réaction (connaître, comprendre).

2. **Nommer et classer** une enzyme selon la nomenclature internationale (classes EC) (connaître, appliquer).
3. **Exprimer** une activité enzymatique (unité internationale, katal, activité spécifique) (appliquer).
4. **Établir et utiliser** l'équation de Michaelis-Menten ; **déterminer** K_m et V_{max} graphiquement ; **calculer** k_{cat} et l'efficacité catalytique (appliquer, analyser).
5. **Expliquer** l'effet de la température, du pH et de la concentration en enzyme sur l'activité (comprendre).
6. **Identifier** le type d'une inhibition à partir de données expérimentales et **calculer** une constante d'inhibition (analyser).
7. **Décrire** les principaux modes de régulation de l'activité enzymatique (comprendre).
8. **Choisir** une enzyme adaptée à une opération agroalimentaire et **proposer** des moyens de maîtriser les enzymes indésirables (appliquer, évaluer).

4. Compétences visées

Type de compétence	Compétences développées
Disciplinaires	Maîtriser les bases de l'enzymologie ; relier structure, fonction et conditions d'activité des enzymes.
Méthodologiques	Traiter des données cinétiques (tableaux, représentations graphiques, régressions linéaires) ; effectuer des calculs d'activité et de dosage d'enzyme dans un procédé.
Professionnelles	Choisir les conditions d'emploi d'une enzyme technologique ; maîtriser le brunissement enzymatique ; contrôler l'efficacité d'un traitement thermique par un test enzymatique (blanchiment, pasteurisation).
Transversales	Rédiger une courte étude de cas ; rechercher une information technique fiable (fiches techniques d'enzymes commerciales).

5. Contenu synthétique et répartition horaire

Chapitre	Intitulé	CM	TD
1	Généralités sur les enzymes	4 h	–
2	Cinétique enzymatique	6 h	2 h
3	Facteurs de l'activité, inhibition et régulation	6 h	2 h
4	Les enzymes dans les industries agroalimentaires	8 h	2 h
	Total	24 h	6 h

6. Progression pédagogique (calendrier indicatif sur 12 semaines)

Sem.	Cours magistral (2 h)	TD (2 h)
1	CM1 – Introduction ; historique ; nature des enzymes ; cofacteurs et coenzymes	
2	CM2 – Site actif, spécificité, mécanisme d'action ; nomenclature et classification ; unités d'activité	
3	CM3 – Cinétique chimique ; vitesse initiale ; effet de la concentration en substrat	
4	CM4 – Équation de Michaelis-Menten ; signification de K_m , V_{max} , k_{cat}	
5	CM5 – Représentations linéaires ; enzymes allostériques	TD1 – Cinétique enzymatique

Sem.	Cours magistral (2 h)	TD (2 h)
6	CM6 – Effet de la température, du pH et de la concentration en enzyme	
7	CM7 – Inhibitions réversibles et irréversibles	
8	CM8 – Régulation de l'activité enzymatique	TD2 – Facteurs et inhibition (+ test court n° 1)
9	CM9 – Sources, production, formes commerciales et immobilisation des enzymes	
10	CM10 – Enzymes des glucides : amidon, sucres, fruits (amylases, invertase, lactase, pectinases)	
11	CM11 – Enzymes des protéines et des lipides : fromagerie, viandes, boulangerie, arômes	
12	CM12 – Enzymes indésirables et leur maîtrise ; enzymes indicatrices ; dosages enzymatiques ; synthèse	TD3 – Applications agroalimentaires (+ test court n° 2)

Semaines 13-14 : remise du devoir maison, révisions et examen terminal.

7. Méthodes pédagogiques

- **Cours magistral interactif** : exposé structuré, schémas et graphiques construits au tableau, exemples tirés de produits alimentaires connus des étudiants, questions flash de rappel, synthèse « À retenir » et questions d'auto-évaluation par chapitre.
- **Travaux dirigés** : exercices de calcul et d'interprétation de courbes, préparés à la maison, discutés en petits groupes puis corrigés collectivement.
- **Devoir maison (étude de cas)** : chaque binôme choisit un produit alimentaire local et décrit en 2 à 3 pages le rôle des enzymes dans sa fabrication ou son altération.
- **Supports** : ce polycopié, diaporamas, fiches de TD, fiches techniques d'enzymes commerciales.

8. Modalités d'évaluation

Composante	Nature	Poids
Tests courts	2 tests de 20 min en début de TD2 et TD3 (QCM, calculs simples)	20 %
Devoir maison	Étude de cas en binôme (2 à 3 pages) sur les enzymes d'un produit alimentaire local	20 %
Examen terminal	Épreuve écrite de 1 h 30 : QCM, exercice de cinétique, question d'application agroalimentaire	60 %

- **Note finale** = $0,2 \times \text{tests} + 0,2 \times \text{devoir} + 0,6 \times \text{examen}$; UE validée si la note est $\geq 10/20$ (ou selon le règlement des études en vigueur).
- Session de rattrapage : examen écrit de 1 h 30 ; les notes de contrôle continu sont conservées.

9. Alignement objectifs – activités – évaluations

Objectif spécifique	Activités d'apprentissage	Évaluation
1-3 (généralités, classification, unités)	CM1-2, TD1 (ex. d'unités)	Test 1, examen (QCM)
4 (cinétique)	CM3-5, TD1	Test 1, examen (exercice)

Objectif spécifique	Activités d'apprentissage	Évaluation
5-7 (facteurs, inhibition, régulation)	CM6-8, TD2	Test 2, examen
8 (applications agroalimentaires)	CM9-12, TD3, devoir maison	Devoir, examen (question d'application)

10. Bibliographie recommandée

- Pelmont J. – *Enzymes : catalyseurs du monde vivant*, EDP Sciences / Presses universitaires de Grenoble.
- Nelson D.L., Cox M.M. – *Principes de biochimie de Lehninger* (chapitre sur les enzymes), dernière édition française.
- Berg J.M. et al. – *Biochimie* (Stryer), Lavoisier Médecine Sciences, chapitres sur les enzymes.
- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G. – *Science des aliments*, Lavoisier Tec & Doc.
- Base de données de nomenclature des enzymes : ExplorEnz (www.enzyme-database.org) ; données cinétiques : BRENDA (www.brenda-enzymes.org).

Chapitre 1 – Généralités sur les enzymes

Objectifs du chapitre (4 h de CM)

- Définir une enzyme et rappeler les grandes étapes de leur découverte.
- Décrire la nature des enzymes, leurs cofacteurs, le site actif et la spécificité.
- Expliquer comment une enzyme accélère une réaction.
- Nommer et classer une enzyme ; exprimer une activité enzymatique.

1.1 Définition et historique

Une **enzyme** est un **catalyseur biologique**, le plus souvent de nature protéique, qui accélère une réaction chimique spécifique sans être consommé et sans modifier l'équilibre de la réaction. La molécule transformée est le **substrat** ; la molécule formée est le **produit**.

Date	Découverte
1833	Payen et Persoz isolent de l'orge germée (malt) une substance qui liquéfie l'amidon : la « diastase » (une amylase). C'est la première enzyme décrite, et elle est d'emblée liée à une technologie alimentaire : la brasserie.
1877	Kühne propose le terme « enzyme » (du grec <i>en zymê</i> , « dans le levain »).
1894	Emil Fischer propose le modèle « clé-serrure » pour expliquer la spécificité.
1897	Eduard Büchner montre qu'un extrait de levure sans cellules vivantes fait fermenter le sucre en alcool.
1913	Leonor Michaelis et Maud Menten publient l'équation fondamentale de la cinétique enzymatique.
1926	James Sumner cristallise l'uréase et démontre la nature protéique des enzymes.
années 1980	Découverte des ribozymes (ARN à activité catalytique) par Thomas Cech et Sidney Altman.

1.2 Nature des enzymes : apoenzyme et cofacteurs

Presque toutes les enzymes sont des **protéines globulaires**. Leur activité dépend de leur structure tridimensionnelle : toute dénaturation (chaleur, pH extrême) entraîne une perte d'activité. Beaucoup ont besoin d'une partie non protéique pour être actives :

Holoenzyme (active) = Apoenzyme (partie protéique, inactive seule) + Cofacteur

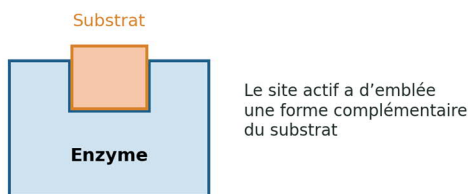
- **Ions métalliques** : Mg^{2+} (kinases), Zn^{2+} (anhydrase carbonique, carboxypeptidase), Fe^{2+}/Fe^{3+} (catalase, peroxydase), Cu^{2+} (polyphénol oxydase), Ca^{2+} (α -amylase).

- **Coenzymes** : petites molécules organiques, souvent dérivées de **vitamines du groupe B** : NAD⁺ (niacine), FAD (riboflavine), coenzyme A (acide pantothénique), phosphate de pyridoxal (B6), biotine. Un coenzyme solidement lié à l'enzyme est appelé **groupement prosthétique** (FAD de la glucose oxydase, hème de la catalase).

1.3 Le site actif et la spécificité

Le **site actif** est une petite région de l'enzyme, souvent une cavité, où se fixe le substrat et où a lieu la réaction. Il comprend un **site de fixation** (reconnaissance du substrat par des liaisons faibles) et un **site catalytique** (acides aminés qui participent à la réaction, par exemple Ser, His, Asp, Cys).

Modèle « clé-serrure » (Fischer, 1894)



Modèle de l'ajustement induit (Koshland, 1958)

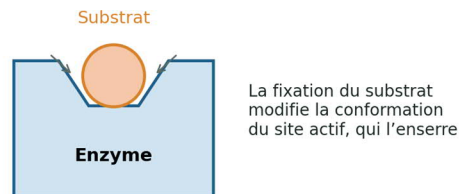


Figure 1. Deux modèles d'interaction entre l'enzyme et son substrat.

La **spécificité** est une propriété majeure des enzymes :

- **spécificité de substrat** : absolue (l'uréase n'hydrolyse que l'urée) ou relative à un type de liaison (les lipases hydrolysent les esters de nombreux triglycérides) ;
- **spécificité de réaction** : une enzyme catalyse un seul type de réaction ;
- **stéréospécificité** : distinction entre isomères (la lactase hydrolyse les liaisons β -galactosidiques mais pas les liaisons α ; l'amylase coupe les liaisons $\alpha(1 \rightarrow 4)$ de l'amidon mais pas les liaisons $\beta(1 \rightarrow 4)$ de la cellulose).

1.4 Comment une enzyme accélère-t-elle une réaction ?

Pour réagir, les molécules doivent franchir une barrière d'énergie, l'**énergie d'activation** (E_a), qui correspond à l'**état de transition**. L'enzyme forme avec le substrat un **complexe enzyme-substrat** (ES) qui stabilise l'état de transition et **abaisse l'énergie d'activation** :



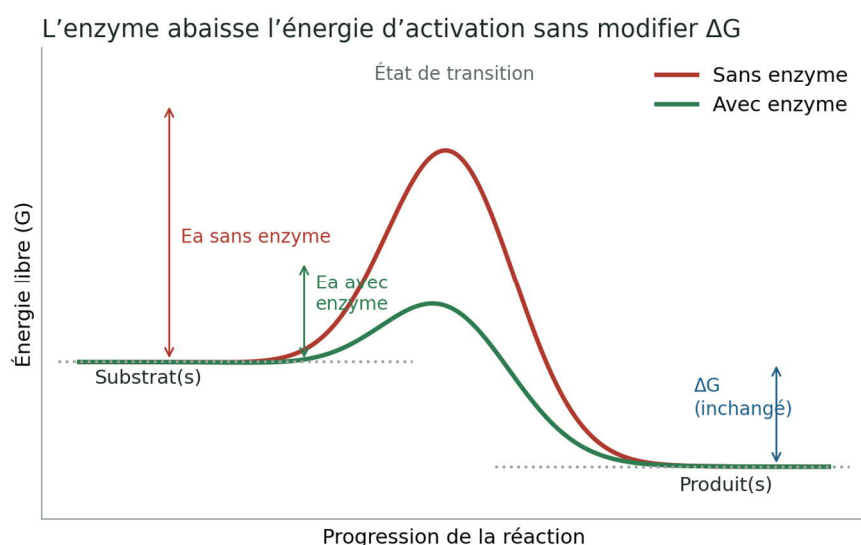


Figure 2. Profil énergétique d'une réaction avec et sans enzyme.

- L'enzyme augmente la vitesse d'un facteur considérable (souvent 10^6 à 10^{12} fois).
- Elle **ne modifie pas** ΔG ni la constante d'équilibre : elle permet seulement d'atteindre l'équilibre plus vite.
- Elle est retrouvée intacte à la fin de la réaction et agit à très faible concentration.
- Mécanismes : rapprochement et orientation des substrats, catalyse acide-base, catalyse covalente, catalyse par les ions métalliques, contrainte exercée sur le substrat.

1.5 Nomenclature et classification

Le nom usuel d'une enzyme se forme en général en ajoutant le suffixe **-ase** au nom du substrat (lactase, amylase, uréase) ou de la réaction (déshydrogénase, isomérase). Certains noms anciens ne suivent pas cette règle (pepsine, trypsine, présure). L'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (IUBMB) attribue à chaque enzyme un **numéro EC** à quatre nombres (EC a.b.c.d), dont le premier indique la classe :

Classe EC	Type de réaction	Exemples en agroalimentaire
1. Oxydoréductases	Transfert d'électrons (oxydation / réduction)	Glucose oxydase (EC 1.1.3.4), catalase, polyphénol oxydase, peroxydase, lipoxygénase
2. Transférases	Transfert d'un groupement d'une molécule à une autre	Transglutaminase (liaison des protéines : surimi, produits carnés restructurés)

Classe EC	Type de réaction	Exemples en agroalimentaire
3. Hydrolases	Coupure d'une liaison par l'eau	α -amylase (EC 3.2.1.1), lactase ou β -galactosidase (EC 3.2.1.23), invertase, pectinases, protéases (chymosine, papaïne), lipases
4. Lyases	Coupure d'une liaison sans eau ni oxydation, ou formation de doubles liaisons	Pectate lyase, alliinase (arôme de l'ail et de l'oignon)
5. Isomérases	Réarrangement intramoléculaire	Glucose (xylose) isomérase (EC 5.3.1.5) : glucose $\rightarrow$ fructose
6. Ligases	Union de deux molécules couplée à l'hydrolyse de l'ATP	ADN ligase (biotechnologies)
7. Translocases	Transport d'ions ou de molécules à travers une membrane	ATPases membranaires (classe ajoutée en 2018)

Les **hydrolases** représentent la grande majorité des enzymes utilisées en industrie agroalimentaire, car elles ne nécessitent pas de coenzyme et fonctionnent dans l'eau.

1.6 Mesure de l'activité enzymatique

On ne mesure pas la « quantité » d'enzyme en grammes mais son **activité**, c'est-à-dire la quantité de substrat transformé (ou de produit formé) par unité de temps, dans des conditions définies (température, pH, concentration en substrat saturante).

- **Unité internationale (UI ou U)** : quantité d'enzyme qui transforme **1 μmol de substrat par minute** dans des conditions définies.
- **Katal (kat)** : unité du Système international, quantité d'enzyme qui transforme **1 mol de substrat par seconde**. $1 \text{ UI} = 1/60 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \approx 16,67 \text{ nkat}$.
- **Activité spécifique** : activité rapportée à la masse de protéines ($\text{UI} \cdot \text{mg}^{-1}$) ; elle augmente au cours de la purification d'une enzyme et mesure sa pureté.
- **Activité volumique** : activité par volume de solution ($\text{UI} \cdot \text{mL}^{-1}$), utilisée pour les préparations commerciales.

L'activité se mesure par la disparition du substrat ou l'apparition du produit, le plus souvent par **spectrophotométrie** (exemple : apparition du NADH à 340 nm ; libération de p-nitrophénol jaune à 405 nm à partir d'un substrat synthétique).

Chapitre 2 : Cinétique enzymatique

Objectifs du chapitre (6 h de CM)

- Définir la vitesse initiale et décrire l'effet de la concentration en substrat.
- Établir et interpréter l'équation de Michaelis-Menten ; définir K_m , V_{max} , k_{cat} et k_{cat}/K_m .
- Déterminer K_m et V_{max} à l'aide des représentations linéaires.
- Distinguer la cinétique michaelienne de la cinétique des enzymes allostériques.

2.1 La vitesse initiale

Au cours d'une réaction enzymatique, la quantité de produit augmente d'abord linéairement avec le temps, puis de plus en plus lentement (épuisement du substrat, accumulation du produit, perte d'activité). On mesure donc la **vitesse initiale** (v_0), pente de la tangente à l'origine de la courbe $[P] = f(t)$, pendant la période où moins de 10 % environ du substrat a été transformé. À concentration de substrat saturante, v_0 est **proportionnelle à la concentration en enzyme** : c'est le principe du dosage d'une enzyme.

2.2 Effet de la concentration en substrat : le modèle de Michaelis-Menten

Quand on mesure v_0 pour des concentrations croissantes de substrat, à concentration d'enzyme constante, on obtient une **hyperbole** : v_0 augmente d'abord proportionnellement à $[S]$ (cinétique d'**ordre 1**), puis tend vers une valeur maximale, **V_{max}** , lorsque toutes les molécules d'enzyme sont occupées par le substrat (**saturation**, cinétique d'**ordre 0**).

Le modèle repose sur le schéma : $E + S \rightleftharpoons ES$ (constantes k_1 et k_{-1}) puis $ES \rightarrow E + P$ (constante k_2 , aussi notée k_{cat}), et sur deux hypothèses : on mesure la vitesse initiale (la réaction inverse $P \rightarrow S$ est négligeable) et la concentration du complexe ES reste constante (**état stationnaire**, Briggs et Haldane, 1925). On obtient :

$$v_0 = V_{max} [S] / (K_m + [S])$$

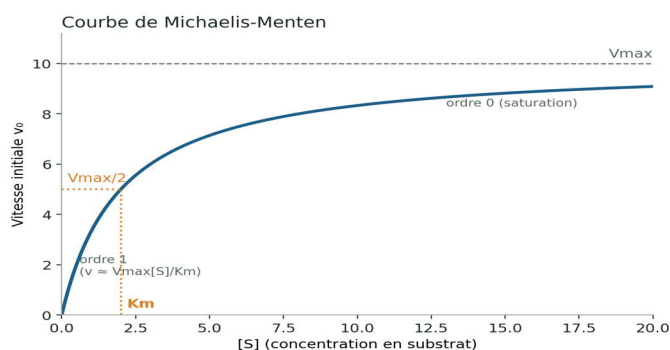


Figure 3. Courbe de Michaelis-Menten : vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat.

Signification des paramètres

- **V_{max}** : vitesse maximale, atteinte lorsque l'enzyme est saturée ; $V_{\max} = k_{\text{cat}} \times [E]_t$ (concentration totale d'enzyme).
- **K_m** (constante de Michaelis) = $(k_{-1} + k_2)/k_1$: c'est la **concentration en substrat pour laquelle $v_0 = V_{\max}/2$** . Elle s'exprime en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Elle est caractéristique d'un couple enzyme-substrat, dans des conditions données (pH, température), et **indépendante de la concentration en enzyme**. Un K_m faible traduit une **forte affinité apparente** de l'enzyme pour son substrat.
- **k_{cat}** (constante catalytique ou « nombre de turnover ») = $V_{\max}/[E]_t$: nombre de molécules de substrat transformées par seconde par une molécule d'enzyme saturée (de moins de 1 s^{-1} à environ 10^7 s^{-1} pour la catalase).
- **k_{cat}/K_m** (efficacité catalytique) : permet de comparer des enzymes ou des substrats ; sa limite supérieure (10^8 à $10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) correspond à la vitesse de diffusion des molécules.

Cas limites utiles : si $[S] \ll K_m$, $v_0 \approx (V_{\max}/K_m) \times [S]$ (proportionnelle à $[S]$) ; si $[S] = K_m$, $v_0 = V_{\max}/2$; si $[S] \gg K_m$ (en pratique $[S] > 10 K_m$), $v_0 \approx V_{\max}$.

2.3 Détermination de K_m et V_{max} : les représentations linéaires

L'hyperbole ne permet pas une lecture précise de $V_{\max}$. On utilise des transformations linéaires de l'équation :

Représentation	Axes	Équation	Lecture
Lineweaver-Burk (doubles inverses)	$1/v_0$ en fonction de $1/[S]$	$1/v_0 = (K_m/V_{\max})(1/[S]) + 1/V_{\max}$	Ordonnée à l'origine = $1/V_{\max}$; abscisse à l'origine = $-1/K_m$; pente = $K_m/V_{\max}$
Eadie-Hofstee	v_0 en fonction de $v_0/[S]$	$v_0 = -K_m(v_0/[S]) + V_{\max}$	Ordonnée à l'origine = $V_{\max}$; pente = $-K_m$
Hanes-Woolf	$[S]/v_0$ en fonction de $[S]$	$[S]/v_0 = (1/V_{\max})[S] + K_m/V_{\max}$	Pente = $1/V_{\max}$; abscisse à l'origine = $-K_m$

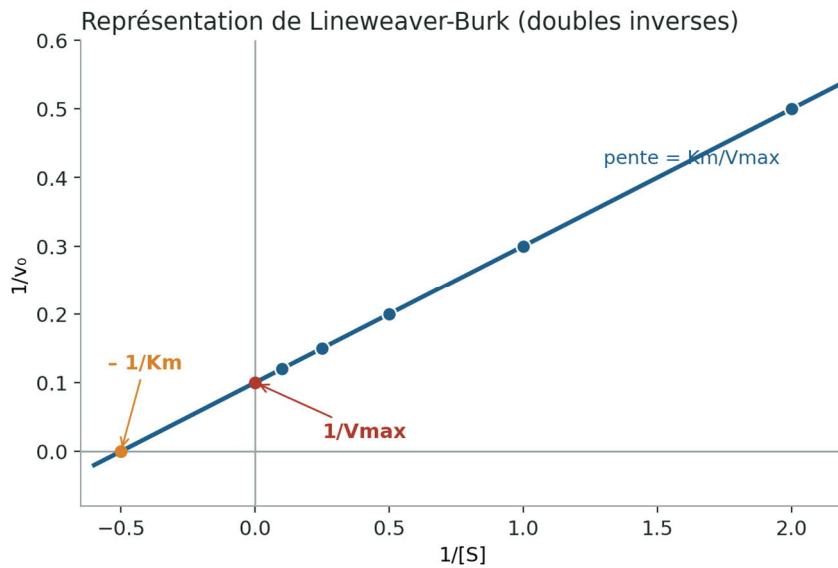


Figure 4. Détermination graphique de K_m et V_{max} par la représentation de Lineweaver-Burk. La représentation de Lineweaver-Burk est la plus utilisée pour son côté visuel (notamment pour identifier les inhibitions), mais elle donne un poids excessif aux mesures faites aux faibles concentrations de substrat, qui sont les moins précises. Aujourd'hui, K_m et V_{max} sont de préférence calculés par **régression non linéaire** à l'aide d'un logiciel.

2.4 Les enzymes allostériques

Certaines enzymes, souvent formées de plusieurs sous-unités et placées aux points de contrôle des voies métaboliques, ne suivent pas le modèle de Michaelis-Menten. Leur courbe $v_0 = f([S])$ est **sigmoïde** : la fixation d'une molécule de substrat facilite la fixation des suivantes (**coopérativité positive**). Leur activité est modulée par des **effecteurs allostériques** qui se fixent sur un site distinct du site actif : les **activateurs** déplacent la courbe vers la gauche, les **inhibiteurs** vers la droite. Exemple : la phosphofructokinase-1, enzyme clé de la glycolyse, inhibée par l'ATP et activée par l'AMP. Pour ces enzymes on définit un $[S]_{0,5}$ (concentration donnant la demi-vitesse maximale) au lieu d'un K_m , et un coefficient de Hill (n) qui mesure la coopérativité.

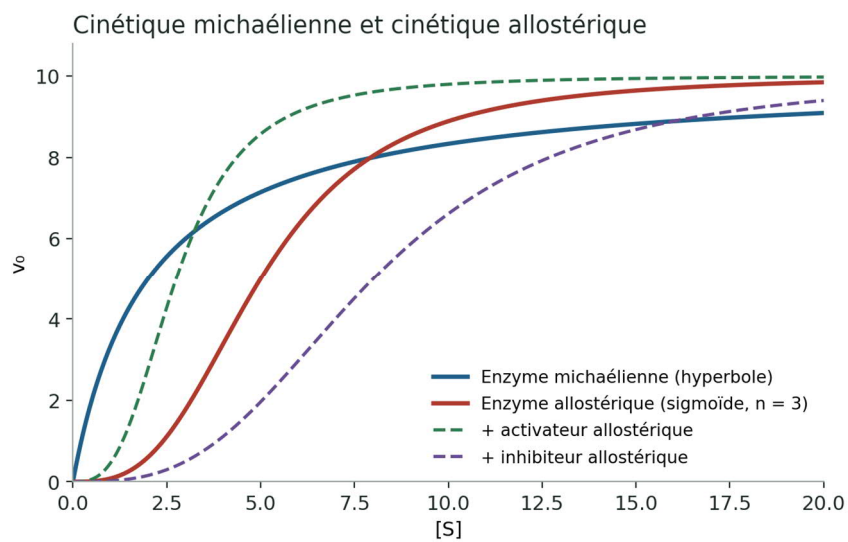


Figure 5. Comparaison d'une cinétique michaelienne et d'une cinétique allostérique.

Chapitre 3 : Facteurs de l'activité, inhibition et régulation

Objectifs du chapitre (6 h de CM)

- Expliquer l'effet de la température, du pH, de la concentration en enzyme, des activateurs et de l'activité de l'eau.
- Distinguer les inhibitions réversibles (compétitive, non compétitive, incompétitive) et irréversibles ; les identifier graphiquement.
- Décrire les principaux modes de régulation de l'activité enzymatique.

3.1 Effet de la température

Deux phénomènes opposés s'additionnent :

- **Activation thermique** : comme pour toute réaction chimique, la vitesse augmente avec la température ; elle double environ pour une élévation de 10 °C (**coefficient $Q_{10} \approx 2$**).
- **Dénaturation thermique** : au-delà d'un certain seuil, la structure tridimensionnelle se défait et l'activité chute, souvent de manière irréversible.

Il en résulte une **température optimale** apparente, qui dépend de la durée de l'essai (plus l'incubation est longue, plus la dénaturation pèse). Elle est d'environ 37 à 40 °C pour de nombreuses enzymes animales, mais peut dépasser 90 °C pour les enzymes de micro-organismes **thermophiles** (α -amylase de *Bacillus licheniformis* utilisée pour liquéfier l'amidon ; ADN polymérase Taq de la PCR). Le froid **ralentit** les enzymes sans les détruire : un aliment congelé puis décongelé retrouve son activité enzymatique.

Applications : le **blanchiment** (traitement thermique bref à 85 – 100 °C) des légumes avant congélation ou séchage détruit les enzymes d'altération ; la **pasteurisation** du lait inactive notamment la phosphatase alcaline ; la **réfrigération** ralentit le mûrissement et l'altération.

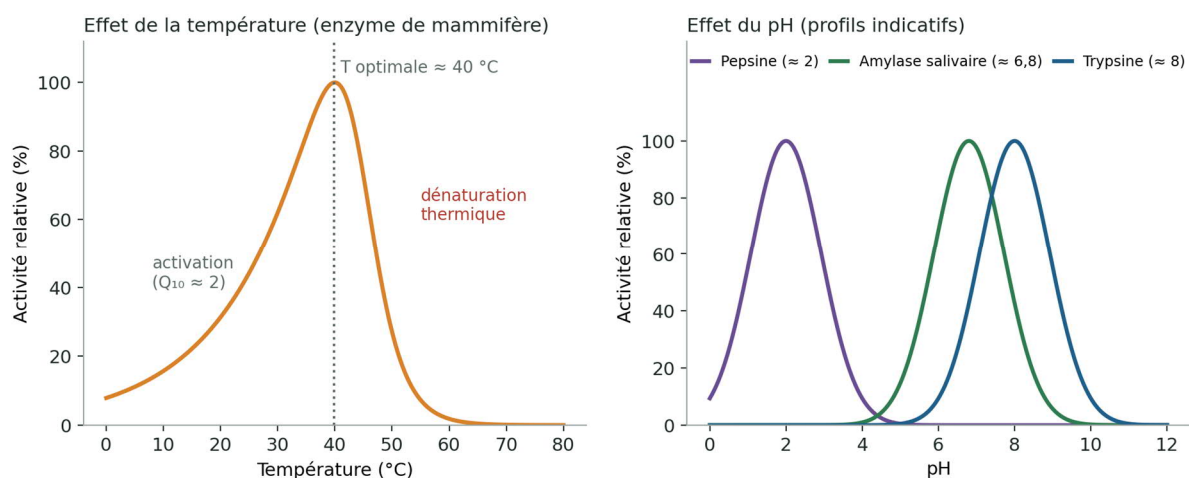


Figure 6. Effet de la température et du pH sur l'activité enzymatique (courbes indicatives).

3.2 Effet du pH

Le pH modifie l'**état d'ionisation** des acides aminés du site actif et du substrat ; des pH extrêmes dénaturent l'enzyme. Chaque enzyme présente un **pH optimal** : pepsine ≈ 2 (estomac), amylase salivaire $\approx 6,8$, trypsine ≈ 8 (intestin), phosphatase alcaline ≈ 10 . En technologie, on ajuste le pH pour favoriser l'enzyme souhaitée ou, au contraire, pour bloquer une enzyme indésirable : l'**acidification** des fruits coupés (jus de citron) freine leur brunissement.

3.3 Autres facteurs

- **Concentration en enzyme** : à substrat en excès, la vitesse initiale est proportionnelle à la quantité d'enzyme (base du dosage d'activité et du calcul de la dose d'enzyme dans un procédé).
- **Activateurs** : ions métalliques (Ca^{2+} stabilise l' α -amylase ; Cl^- active l'amylase salivaire), agents réducteurs pour les enzymes à cystéine (papaïne).
- **Activité de l'eau (a_w)** : les enzymes ont besoin d'eau libre ; leur activité diminue fortement dans les aliments secs (farines, céréales, poissons séchés), mais certaines lipases restent actives à faible a_w et provoquent un rancissement lent.
- **Pression, sel, solvants** : les fortes concentrations en sel ou en sucre et les hautes pressions peuvent aussi inhiber ou dénaturer les enzymes.

3.4 Les inhibitions

Un **inhibiteur** est une substance qui diminue la vitesse d'une réaction enzymatique. On distingue les inhibitions **réversibles**, où l'inhibiteur se fixe par des liaisons faibles et peut être éliminé (par dialyse ou dilution), et les inhibitions **irréversibles**, où l'inhibiteur se lie de façon covalente et détruit définitivement l'activité.

3.4.1 Inhibitions réversibles

Type	Mécanisme	Effet sur K_m et V_{max}	Lineweaver-Burk
Compétitive	L'inhibiteur, analogue structural du substrat, se fixe sur le site actif ; il entre en compétition avec le substrat. Un excès de substrat lève l'inhibition.	K_m apparent augmente : $K_m \times (1 + [I]/K_i)$; V_{max} inchangée	Droites sécantes sur l'axe des ordonnées

Type	Mécanisme	Effet sur K_m et V_{max}	Lineweaver-Burk
Non compétitive (pure)	L'inhibiteur se fixe sur un site distinct, aussi bien sur E que sur ES ; il ne gêne pas la fixation du substrat mais bloque la catalyse.	K_m inchangé ; V_{max} apparente diminue : $V_{max} / (1 + [I]/K_i)$	Droites sécantes sur l'axe des abscisses
Incompétitive	L'inhibiteur ne se fixe que sur le complexe ES.	K_m et V_{max} apparents diminuent du même facteur	Droites parallèles
Mixte	Fixation sur E et sur ES avec des affinités différentes.	K_m modifié et V_{max} diminuée	Droites sécantes hors des axes

K_i (constante d'inhibition) est la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur : plus K_i est faible, plus l'inhibiteur est puissant. Exemple classique d'inhibition compétitive : le malonate inhibe la succinate déshydrogénase car il ressemble au succinate.

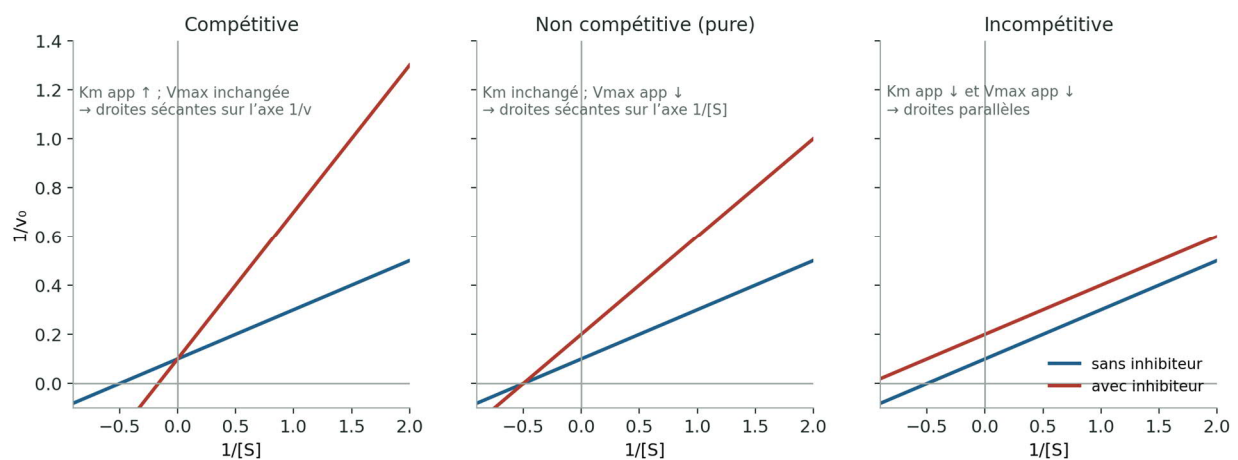


Figure 7. Allure des droites de Lineweaver-Burk pour les trois types d'inhibition réversible.

3.4.2 Inhibitions irréversibles

- **Organophosphorés** (insecticides, gaz de combat) : bloquent irréversiblement l'acétylcholinestérase en se fixant sur une sérine du site actif ; d'où leur grande toxicité pour l'Homme et le bétail (intoxications agricoles).
- **Pénicilline** : bloque la transpeptidase qui construit la paroi bactérienne.
- **Aspirine** : acétyle la cyclo-oxygénase (effet anti-inflammatoire et antiagrégant plaquettaire).
- **Métaux lourds** (Hg^{2+} , Pb^{2+}) : se fixent sur les groupements $-SH$ des cystéines.

En agroalimentaire : de nombreuses graines contiennent des **inhibiteurs naturels de protéases** (inhibiteurs de la trypsine du soja, du niébé, de l'arachide crue) et d'amylases. Ils diminuent la digestibilité des protéines et la croissance des animaux ; la **cuisson** ou le traitement thermique les détruit, ce qui explique en partie pourquoi les légumineuses doivent être cuites avant d'être consommées ou distribuées au bétail.

3.5 La régulation de l'activité enzymatique dans la cellule

- **Rétro-inhibition** : le produit final d'une voie inhibe l'enzyme de la première étape engagée.
- **Régulation allostérique** : effecteurs activateurs ou inhibiteurs (voir chapitre 2).
- **Modification covalente** : phosphorylation / déphosphorylation sous le contrôle d'hormones (glycogène phosphorylase activée par phosphorylation).
- **Activation protéolytique des zymogènes** : certaines enzymes sont synthétisées sous une forme inactive, activée par coupure d'une partie de la chaîne : pepsinogène → pepsine, trypsinogène → trypsine, prochymosine → chymosine. Cela protège les cellules qui les produisent.
- **Contrôle de la quantité d'enzyme** : induction ou répression de la synthèse (exemple : la β -galactosidase d'*Escherichia coli* n'est produite qu'en présence de lactose).
- **Compartimentation** : séparation des enzymes et de leurs substrats dans des compartiments différents. Dans le fruit intact, la polyphénol oxydase et les phénols sont séparés ; la découpe ou le broyage les met en contact, d'où le brunissement.

Chapitre 4 : Les enzymes dans les industries agroalimentaires

Objectifs du chapitre (8 h de CM)

- Connaître les sources, la production et les formes commerciales des enzymes, et le principe de l'immobilisation.
- Décrire les principales applications des enzymes dans la transformation des glucides, des protéines et des lipides.
- Expliquer les altérations dues aux enzymes endogènes et proposer des moyens de les maîtriser.
- Citer des utilisations des enzymes comme indicateurs de traitement thermique et comme outils d'analyse.

4.1 Sources, production et mise en œuvre des enzymes

- **Sources** : végétales (papaïne du latex de papaye, bromélaïne de l'ananas, amylases du malt de sorgho ou d'orge), animales (présure de caillotte de veau, lysozyme du blanc d'œuf, lipases prégastriques) et surtout **microbiennes** (*Aspergillus*, *Bacillus*, levures), qui représentent aujourd'hui l'essentiel du marché : production abondante et bon marché par fermentation, conditions d'emploi variées, possibilité de production par des micro-organismes génétiquement modifiés (chymosine recombinante).
- **Formes commerciales** : liquides ou poudres standardisées, caractérisées par leur activité ($\text{UI}\cdot\text{g}^{-1}$ ou $\text{UI}\cdot\text{mL}^{-1}$), leur température et leur pH optimaux ; elles doivent être de qualité alimentaire et utilisées aux doses réglementées.
- **Enzymes libres** : ajoutées au produit, elles y restent et sont généralement inactivées par la cuisson ou la pasteurisation.
- **Enzymes immobilisées** : fixées sur un support insoluble par adsorption, liaison covalente, inclusion dans un gel (alginate de calcium) ou réticulation. Avantages : **réutilisation**, fonctionnement en **continu** (colonnes), meilleure stabilité, absence d'enzyme dans le produit fini. Exemple majeur : la **glucose isomérase immobilisée** pour la production de sirops de fructose.

4.2 Enzymes de transformation des glucides

4.2.1 Amylases et industrie de l'amidon

- **α -amylase** (endo-enzyme) : coupe au hasard les liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ internes de l'amidon ; elle fluidifie rapidement l'empois (liquéfaction) en libérant des **dextrines**.
- **β -amylase** (exo-enzyme, abondante dans le malt) : libère du **maltose** à partir des extrémités non réductrices.

- **Glucoamylase** (amyloglucosidase, d'*Aspergillus*) : libère du **glucose** à partir des extrémités, en coupant aussi les liaisons $\alpha(1\rightarrow6)$.
- **Pullulanase** : enzyme débranchante qui coupe spécifiquement les liaisons $\alpha(1\rightarrow6)$.

Transformation enzymatique de l'amidon en sirops (conditions indicatives)

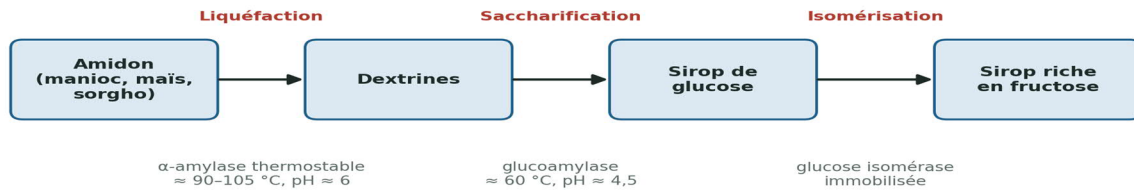


Figure 8. Production industrielle de sirops de glucose et de fructose à partir de l'amidon.

Brasserie : lors du **maltage**, les grains de sorgho, de mil ou d'orge germent et synthétisent leurs amylases ; au **brassage**, ces enzymes transforment l'amidon en sucres fermentescibles que les levures convertissent en éthanol (bière de sorgho traditionnelle ou bili-bili, bière industrielle). Le malt de sorgho est plus pauvre en β -amylase que celui de l'orge : on complète parfois par des enzymes commerciales. **Boulangerie** : les amylases ajoutées à la farine fournissent des sucres aux levures (meilleure levée, croûte plus colorée) et retardent le rassissement.

4.2.2 Autres enzymes des glucides

Enzyme	Réaction	Applications
Invertase (β -fructofuranosidase)	Saccharose $\rightarrow$ glucose + fructose (sucre inverti)	Confiserie (centres liquides de chocolats), sirops, miel artificiel ; évite la cristallisation
Lactase (β -galactosidase)	Lactose $\rightarrow$ glucose + galactose	Lait et produits laitiers dé lactosés pour les personnes intolérantes au lactose ; augmentation du pouvoir sucrant
Pectinases (polygalacturonases, pectine méthylestérases, pectate lyases)	Dégradation des pectines	Extraction et clarification des jus de fruits (mangue, goyave, ananas), macération, diminution de la viscosité des purées et des extraits de bissap
Cellulases, hémicellulases	Dégradation des parois végétales	Extraction des jus et des huiles, amélioration de la digestibilité des aliments du bétail, rouissage

Enzyme	Réaction	Applications
Glucose oxydase + catalase	Glucose + O ₂ → acide gluconique + H ₂ O ₂ ; H ₂ O ₂ → H ₂ O + ½ O ₂	Élimination du glucose des ovoproduits (évite le brunissement non enzymatique) ; élimination de l'oxygène des boissons et emballages

4.3 Enzymes de transformation des protéines et des lipides

4.3.1 Protéases

- **Fromagerie** : la **présure**, extraite de la caillette des jeunes ruminants, contient la **chymosine**, protéase très spécifique qui coupe la **caséine κ** au niveau de la liaison Phe105-Met106. Les micelles de caséine, déstabilisées, s'agrègent en présence de Ca²⁺ : c'est la **coagulation** du lait. On utilise aussi des coagulants microbiens et de la chymosine recombinante. En Afrique de l'Ouest, des coagulants végétaux sont employés de façon traditionnelle, par exemple le latex de *Calotropis procera* pour le fromage peul (wagashi).
- **Attendrissement des viandes** : **papaïne** (papaye), **bromélaïne** (ananas) et ficine (figuier) hydrolysent les protéines du tissu conjonctif et des fibres musculaires. L'usage traditionnel des feuilles ou du fruit vert de papaye pour attendrir la viande repose sur ce principe. La maturation naturelle de la viande est due aux protéases endogènes (calpaïnes, cathepsines).
- **Hydrolysats de protéines** : production d'hydrolysats de poisson, de soja ou de lait (aliments infantiles hypoallergéniques, exhausteurs de goût, aliments pour animaux).
- **Boulangerie et brasserie** : les protéases modifient le gluten (pâtes plus extensibles) et limitent le trouble protéique des bières.

4.3.2 Lipases et autres enzymes

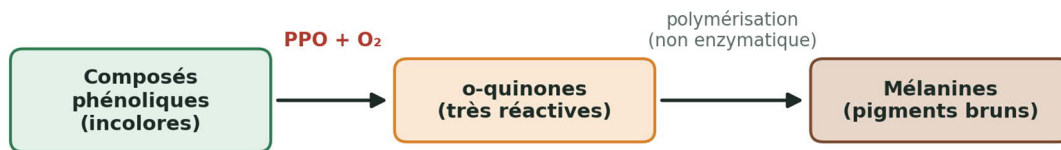
- **Lipases** : développement des arômes des fromages, interestérification des matières grasses (modification des points de fusion pour les margarines), mais aussi **rancissement hydrolytique** indésirable (libération d'acides gras à odeur désagréable dans le beurre, le lait, les farines et les huiles de palme ou de karité mal conservées).
- **Transglutaminase** : crée des liaisons entre protéines ; texture des surimis, des produits carnés restructurés et des yaourts.
- **Lysozyme** (blanc d'œuf) : hydrolyse la paroi de certaines bactéries Gram positif ; utilisé comme conservateur dans certains fromages.

4.4 Les enzymes indésirables et leur maîtrise

4.4.1 Le brunissement enzymatique

La **polyphénol oxydase (PPO)**, enzyme à cuivre, oxyde en présence d'oxygène les composés phénoliques des fruits et légumes en **quinones**, qui se polymérisent en pigments bruns (**mélanines**). Il se manifeste dès que les tissus sont coupés, pelés ou meurtris : banane, pomme, avocat, igname, pomme de terre, aubergine. Il est recherché dans quelques cas (fermentation du thé noir, du cacao, maturation des dattes).

Le brunissement enzymatique des fruits et légumes coupés (PPO = polyphénol oxydase)



Moyens de prévention :

- Blanchiment (inactivation thermique de la PPO)
- Acidification (citron, acide citrique : pH < 4)
- Acide ascorbique (réduit les quinones en phénols)
- Exclusion de l'oxygène (immersion, sous-vide)
- Froid

Figure 9. Mécanisme et prévention du brunissement enzymatique.

Chaque moyen de prévention agit sur un élément de la réaction : l'**enzyme** (blanchiment, acidification, chélateurs du cuivre comme l'acide citrique, froid), l'**oxygène** (immersion dans l'eau, emballage sous vide ou sous atmosphère modifiée) ou les **produits** (l'acide ascorbique réduit les quinones en phénols avant leur polymérisation). Les sulfites, très efficaces, sont limités en raison de leurs effets allergiques.

4.4.2 Autres altérations enzymatiques

- **Lipoxygénase** : oxydation des acides gras insaturés ; goût « de haricot » du soja, altération des légumes congelés non blanchis.
- **Pectinases endogènes** : ramollissement excessif des fruits mûrs ; déstabilisation du trouble des jus.
- **Lipases endogènes** : rancissement des farines de mil ou de sorgho complètes et des amandes de karité mal séchées.
- **Protéases** : ramollissement du poisson, amertume de certains produits laitiers.
- **Myrosinase** (choux, moutarde) et **alliinase** (ail, oignon) : formation de composés soufrés piquants ou d'arôme à la découpe ; ici, l'effet est souvent recherché.

4.5 Les enzymes indicatrices et analytiques

- **Test de la peroxydase** : la peroxydase est l'une des enzymes végétales les plus thermorésistantes. Si elle est détruite après blanchiment (absence de coloration brune avec le gaïacol et l'eau oxygénée), les autres enzymes d'altération le sont aussi : c'est l'**indicateur d'efficacité du blanchiment**.
- **Test de la phosphatase alcaline** du lait : cette enzyme naturelle du lait est détruite par une pasteurisation correcte. Sa présence (libération d'un produit coloré à partir d'un substrat comme le p-nitrophénylphosphate) révèle un lait **mal pasteurisé** ou mélangé à du lait cru.
- **Dosages enzymatiques** : les enzymes servent de réactifs très spécifiques pour doser les constituants des aliments et des liquides biologiques. Exemple : le dosage du glucose par la méthode **glucose oxydase – peroxydase** (GOD-POD) ; dosage de l'éthanol, du lactose, de l'amidon avec des kits enzymatiques.