

Enzymes Immobilisées : Principes méthodes d'immobilisation

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 s'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.

Enzyme immobilisée: Une enzyme immobilisée est une enzyme liée par des moyens physico-chimiques en surface ou à l'intérieur d'un support solide

On cherche généralement à conserver son activité enzymatique, qui a tendance:

- à diminuer après immobilisation du fait de possibles gênes stériques et de limitations dans l'accessibilité au site actif.
- à augmenter sa stabilité dans le temps.

Principales méthodes d'immobilisation des enzymes sont:

- l'adsorption sur support inerte
- piégeage physique dans des gels ou dans des micro-encapsulations
- la réticulation avec des réactifs bi ou multivalents la liaison covalente entre un porteur et des groupes fonctionnels de l'enzyme

6-1. Immobilisation par adsorption

C'est la méthode la plus simple et la plus rentable. Il s'agit de retenir l'enzyme à la surface d'un support insoluble, par interaction faible (intermédiaire ou secondaire) entre les groupes fonctionnels de l'enzyme et du support.

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

Les matières utilisées sont organiques (collagène, échangeurs d'ions: cellulose, albumine, chitine, dextrane, amidon) ou minérales (argiles, verre et silice poreux...).

❖ *Les supports utilisés :*

Les supports organiques

Comprennent les polysides comme l'acétate de cellulose, nitrate de cellulose, dextrane, agarose, alginate et les polymères comme le polystyrène, le polyéthylène

Les supports inorganiques (support minéraux)

Sont généralement plus stables, résistent aux agents chimiques et aux bactéries. Les matériaux actifs peuvent être des: *Les argiles, *Verre poreux et silice poreuse

Les paramètres qui influencent l'adsorption

- ✓ Composition du milieu
- ✓ Le temps de contact
- ✓ La concentration de l'enzyme
- ✓ La température

6-2. Immobilisation d'enzyme par inclusion

Les molécules d'enzyme sont retenues dans le réseau tridimensionnel d'un polymère insoluble dans l'eau « réseau tridimensionnel d'une matrice », ou emprisonnées dans des microcapsules délimité par une membrane semi perméable dont les pores sont suffisamment larges pour permettre le passage des molécules du substrat ou des produits de la réaction.

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.

Les matières les plus utilisées sont les gels : de polyacrylamide, d'alginate, d'amidon et les fibres de poly-acétate de cellulose.

6-3 Immobilisation par liaison covalente

On peut diviser les méthodes d'immobilisation d'enzymes par liaison covalente en deux groupes:

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, il faut activer soit l'enzyme, soit le support.
- l'activation des groupes fonctionnels de l'enzyme peut conduire à la dénaturation de l'enzyme.