

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université–Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biologie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

Recherche et caractérisation d'activités enzymatiques dans les flocons d'*Avena sativa*

Présenté Par

✍ M^{elle} Zara Hamra Abdoulaye

Devant le jury composé de

Dr. Amara Mohamed	(MCA)	UAT.B.B	(Ain Temouchent)	Examineur1
Dr. Abi-Ayad Meryem	(MCB)	UAT.B.B	(Ain Temouchent)	Examineur2
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA	(MCB)	UAT.B.B	(Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Tous d'abord mes remerciements à ALLAH les toutes miséricordes Dieu, le très miséricorde Dieu, seigneur de l'univers, qui ma donner la force et le courage de mener à bien mes études et de l'achever dans des bonnes conditions.

Mon profond remerciement à mon encadrant Mr. Sofiane Mourad BENYAMINA pour sa présence, son assistance, Son esprit scientifique, son enthousiasme et son orientation précieux, qui m'a permis de surmonter toute difficulté rencontrée tout au long de notre travail.

Mes remerciements les plus respectueux vont à Dr. Amara Mohamed (MCA) qui a bien faire l'honneur d'examiner ce travail.

Mes remerciements et reconnaissances vont à Dr Abi-Ayad Meryem (MCB). Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à l'administration et aux professeurs de l'université d'Ain Témouchent pour les moyens qu'ils ont mis à notre disposition tout au long de notre parcours scolaire.

Je souhaite exprimer enfin ma gratitude et mes remerciements à ma famille et mes amis pour leurs soutiens

Dédicaces

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, Je dédie ce modeste travail :

A Mon père (paix a son âme), a ABDOULAYE Abdourassoul, à toi qui m'as comblé d'amour, qui m'a inculqué les valeurs de la vie, qui a fait de moi ce que suis, qu'Allah te fasse miséricorde comme tu l'as toujours été avec moi.

A ma mère, ACHE Mahamat, une mère pleine de grasse et d'amour, je ne saurais t'exprimer ma gratitude pour ton soutien, ton sacrifice et tes encouragements incessants.

A ma grande sœur Khadidja Abdoulaye, ma petite maman, mes profondes reconnaissances et gratitude pour ton orientation et ton amour.

Je dédie spécialement ce travail à mon parrain, mon mentor, à ADOUM Gargoum (paix a son âme), à toi qui as toujours cru en moi, qui m'a donné l'amour d'un père, qui était là pour moi dans les bons et mauvais moments, je te dédie ce modeste travail qu'on a choisi ensemble, je te dédie ce travail qui par la confiance que tu as placé en moi, ma donnée la force d'affronté toute difficulté, qu'Allah te fasse miséricorde comme tu l'as toujours été envers tes proches.

A mes grands frère Abakar Abdoulaye et Abdourassoul Abdoulaye.

A mes grandes cœurs Fanné Zara, Fanné Djiddé et Roukiya Abdoulaye.

A tous mes petits frères.

A mon fils Abdallah Adoum, à toi mon trésor, à toi ma force.

Sommaire

Introduction Générale	10
Synthèse Bibliographique	1
1/ Les enzymes	4
1-1/généralités	4
1-2/Structure des enzymes	5
1-2-1/Présentation liaison enzyme-substrat.....	5
1-2-2/ Structure et fonction de l'enzyme	6
1-2-3/Cofacteur.....	6
1-3/Mécanismes d'action des enzymes	7
1-3-1/Principes de la catalyse enzymatique.....	7
1-3-2/Le Modèle clé-serrure /Le Modèle d'ajustement induit	8
1-4/Classification des enzymes	9
1-5/ L'importance des enzymes chez différent organismes vivant	11
1-5-1/ Importance des enzymes au niveau cellulaire.....	11
1-5-1-1/ Importance des enzymes chez les microorganismes.....	12
1-5-1-2/ Importance des enzymes chez les animaux	12
1-5-1-3-/ Importance des enzymes chez les végétaux	13
1-5-2/ Importance des enzymes au niveau industriel	13
1-5-2-1/Importance des enzymes des microorganismes au niveau industriel.....	14
1-5-2-2/Importance des enzymes des animaux au niveau industriel	14
1-5-2-3/Importance des enzymes des végétaux au niveau industriel.....	15
2/La plante d'avoine (<i>Avena sativa</i>).....	17
2-1/ Généralités	17
2-2/ Caractéristiques morphologiques de l'avoine	17
2-3/ Les différentes propriétés de l'avoine.....	19
2-4/ Les enzymes des plantes d'avoine	20
Matériel Et Méthodes	14
1/Récolte du matériel végétal	22
2/Détermination du pH de l'extrait brut enzymatique	23

3/Recherche et caractérisation des activités lipasiques et amylasiques chez les flocons d'avoine.....	23
4/ Influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique de la poudre des flocons d'avoine.....	25
5/ L'influence du pH sur l'activité lipasique et amylasique de la poudre des flocons d'avoine.....	25
6/ Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases et des amylases de la poudre des flocons d'avoine.....	26
7/ Effet du pH sur la stabilité des lipases et des amylases de la poudre des flocons d'avoine.....	26
Résultats et Discussion	18
1/ Mesure du pH de la solution de la poudre des flocons d'avoine (<i>Avena sativa</i>)	28
2/Caractérisation de l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	28
3/Influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	31
4/Influence de pH sur l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	32
5/ Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	33
6/ Effet du pH sur la stabilité des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	34
7/ Discussion générale.....	36
Conclusion Et Perspectives.....	39
Références Bibliographiques.....	41
Résumé	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de l'Avoine selon Soltner, (2005) et Halima <i>et al.</i> , (2015).	17
Tableau 2: Différentes concentrations utilisées pour la préparation de la courbe étalon de l'amidon25	
Tableau 3: Tableau récapitulatif de la caractérisation des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	37

Listes des figures

Figure 1 : Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme (Rhobinson, 2015).....	6
Figure 2 : Principaux Composants d'enzyme selon Bhatia (2018).....	7
Figure 3 : Modèles d'interaction enzyme-substrat. (A) Le modèle clé-serrure. (B) Le modèle d'ajustement induit (Cooper, 1999).....	9
Figure 4 : Photo de la plante d'avoine (<i>Avena sativa</i>). Photo Schilperoord (2018).	18
Figure 5 : Panicule de l'avoine selon Salgado (2008).	19
Figure 6 : Photo des flocons d'avoine (A) et de la poudre des flocons d'avoine (B),utilisés dans cette étude.	22
Figure 7 : Mesure du pH de la solution de la poudre des flocons d'avoine.....	28
Figure 8 : Courbe étalon de l'amidon	30
Figure 9: Influence de la température sur l'activité lipasique (A) et amylasique (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine	31
Figure 10 : Influence du pH sur l'activité lipasique (A) et amylasique (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.	32
Figure 11 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases (A) et des amylases (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.	34
Figure 12: Effet du traitement pH acide(A) et du traitement pH basique (B) sur la stabilité des amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.....	35

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : Degré Celsius

DO : Densité Optique

EC : classe d'enzyme

g : gramme

h : heure

HCl : Acide Chlorhydrique

IUBMB : Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire

M : Molaire

MCV : maladies cardiovasculaires

MICI : maladies inflammatoires de l'intestin

min : Minute

mL : Millilitre

mM : Millimolaire

NAD⁺ : nicotinamide adénine dinucléotide

NaOH : Hydroxyde de sodium

NC : comité de nomenclature

NSP : polysaccharides non amylacés

pH : Potentiel d'Hydrogène

R : Réactif

tr : tour

v/v: volume/volume

ug : microgramme

Introduction Générale

Introduction générale

Les enzymes sont des biocatalyseurs essentiels à de nombreuses réactions physiologiques et métaboliques (Khosla, 2015). Ces enzymes accélèrent les réactions biochimiques telles que la glycolyse, la réplication, la digestion etc. (Shuang, 2012 ; Karasov et Douglas, 2013 ; ke *et al*, 2015 ; Babiker *et al*, 2016 ; Yu *et al*, 2016) et convertissent des substrats en produits (Broderick *et al*, 2014), essentiels à la fonction cellulaire, à la croissance et à la survie de l'organisme (Sweetlove et Fernie, 2018). Les enzymes sont des molécules de protéines constituées d'acide aminé relié entre eux par des liaisons peptidiques (Combes et Monsan, 2009). On les retrouve, ces biocatalyseurs, chez tous les organismes vivants (les microorganismes, les animaux et les végétaux) (Sharma et Kanwar, 2014).

En plus de leur importance chez les différents organismes vivants, les enzymes sont aussi importantes en industrie et elles sont utilisées de nos jours dans divers secteurs industriels comme dans le secteur agroalimentaire, secteur pharmaceutique, secteur des détergents, du textile et dans le secteur de la santé (Cabrera et Blamey, 2018 ; Combes et Monsan, 2009 ; Fernandes, 2010 ; Gurung *et al*, 2013 ; Jung *et al.*, 2015 ; Morlighem *et al*, 2018).

Selon le comité de nomenclature de l'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (NC-IUBMB), il existe 07 classes d'enzymes (Adharis, 2019 ; de Souza Vandenberghe *et al*, 2020 ; Feehan *et al*, 2021 ; Pradhan *et al*, 2020), la troisième classe (EC3 : hydrolases) représente 75% des enzymes utilisées dans les domaines industriels (Gurung *et al*, 2013 ; Li *et al*, 2012).

Les plantes, comme tout organisme vivant, sont aussi riches en enzyme hydrolytique, on peut citer entre autres, les protéases, les lipases, les amylases et les glycanases (Adamczyk *et al*, 2010 ; Asselin, 1993 ; Fickers *et al*, 2008) qui interviennent dans la production d'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la jeune plante tout en la défendant contre les diverses attaques pathogènes (Adlercreutz *et al.*, 1997 ; Asselin, 1993 ; Fickers *et al*, 2008).

Parmi ces plantes, l'avoine (*Avena sativa* L.) est une plante reconnue dans le monde comme un aliment sain (Sterna *et al*, 2016) de par sa richesse en nutriments et en enzymes (Kim *et al*, 2021).

Pour cela, l'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser 2 hydrolases (lipases et amylases) au niveau des flocons d'avoine.

Synthèse Bibliographique

1/Les enzymes

1-1/généralités

Le mot « enzyme » a été utilisé pour la première fois par un physiologiste allemand Wilhelm Kühne en 1878 et qui signifie en grec en (signifiant “dans”) et zume (signifiant “levure”) après qu’il découvre que les enzymes de la levure permettent la production de l’alcool en présence du sucre (Robinson, 2015).

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques (Furukawa *et al.*, 2020) qui permettent l’accélération des réactions biochimiques se déroulant dans l’environnement interne ou externe aux cellules (Kingsley et Lill, 2015) à des vitesses allant jusqu’à 106 fois plus rapidement, et de manière spécifique et sélective (Agarwal, 2006 ; Richard, 2013 ; Agarwal, 2018 ; Hauer, 2020). Les enzymes sont de nature protéique, elles sont constituées d’une succession d’acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques et leurs activités catalytiques sont dépendantes de leurs structures (Bhatia, 2018).

La relation structure-fonction des enzymes est basée sur leurs séquences en acides aminés, leurs structures tridimensionnelles et leurs conformations spatiales des régions du site actif (Priyadarshini et Singh, 2019).

Les enzymes agissent à faible concentration et restent intacte à la fin de la réaction (Robinson, 2015), assurant ainsi la conversion du substrat en produit (Robinson, 2015 ; Cooper, 1999) selon la réaction suivante :



Elles sont présentes chez les différents organismes vivants (les animaux, les végétaux et chez les microorganismes) (Agarwal, 2006 ; Zhang et Kim, 2010 ; Robinson, 2015 ; Bhatia, 2018), indispensables au maintien de la vie des différents organismes vivants (Gurung *et al.*, 2013) et la vie serait impossible en leurs absences (Cooper, 1999), du fait qu’elles catalysent et coordonnent des réactions cellulaires complexes (Robinson, 2015 ; Bhatia, 2018) telles que la glycolyse comme par exemple l’hexokinase, la lactate deshydrogénase, la phosphoglycérate kinase, la pyruvate kinase (Yu *et al.*, 2016)), le cycle de l’acide tricarboxylique comme par exemples l’ α -cétoglutarate déshydrogénase, la succinyl-CoA synthase, la succinate déshydrogénase, la fumarate hydratase (Ke *et al.*, 2015), la digestion

comme par exemple la trypsine, la chimotrypsine, les lipase, les phospholipases, la maltase (Karasov et Douglas, 2013), le fonctionnement des cellules cardiaques comme par exemple la chymase, la créatinine kinase, la lactate déshydrogénase (Babikerv *et al*, 2016) et des fonctions hépatique comme par exemple l'alanine aminotransférase, l'aspartate aminotransférase, la gamma-glutamyl transférase et la phosphatase alcaline (Contreras-Zentella et Hernández-Muñoz, 2016).

En plus de leur rôle important au niveau cellulaire ces enzymes sont aussi importantes et utilisée dans divers domaines industriels tels que : l'industrie alimentaire (humaine et animale), l'industrie pharmaceutique, l'industrie du papier, du cuir, du textile et du détergent (Bhatia, 2018 ; Nisha *et al.*, 2012)

1-2/Structure des enzymes

1-2-1/Présentation liaison enzyme-substrat

Les enzymes sont des biocatalyseurs protéiques (Kingsley et Lill, 2015) qui se caractérisent par deux propriétés fondamentales (Cooper, 1999) :

- 1- L'augmentation de la vitesse des réactions chimiques sans être eux-mêmes consommés ou modifiés en permanence par la réaction,
- 2- L'augmentation de la vitesse des réactions sans altérer l'équilibre chimique entre les réactifs et les produits.

Les résidus des enzymes varient de moins 100 à plus de 2000 acides aminés et sont disposés en une ou plusieurs chaînes polypeptidiques (Robinson, 2015). L'intégrité de l'enzyme dépend de la stabilité de sa structure (Kingsley et Lill, 2015). Cette structure tridimensionnelle spécifique comporte une petite zone connue sous le nom de site actif (Figure 1) où le substrat se lie réellement (Agarwal, 2018) pour être transformé en produit (Cooper, 1999).

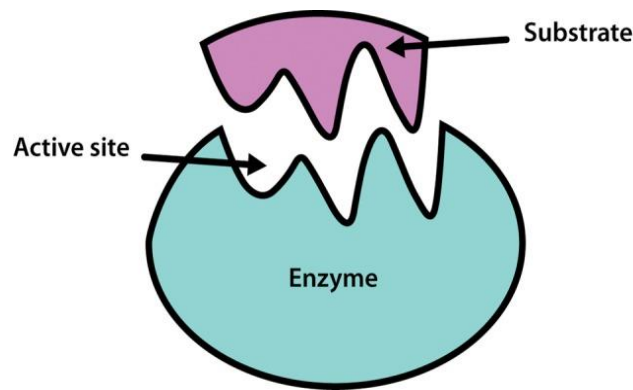


Figure 1 : Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme (Rhobinson, 2015).

1-2-2/ Structure et fonction de l'enzyme

Selon Combes et Monsan (2009) et Bhatia (2018) toute comme les protéines, les enzymes sont constitués d'une structure décrivant quatre étapes :

- Structure primaire : constitué d'une chaîne linéaire de résidus d'acides aminés liés via des liaisons peptidiques, qui constituent une molécule protéique.
- Structure secondaire : résulte de l'établissement des liaisons hydrogène entre les groupements amide (-NH) et carboxyle (-CO) du squelette peptidique.
- Structure tertiaire : c'est le repliement de structure secondaire qui donne une configuration spatiale bien déterminée.
- Structure quaternaire : c'est une agglomération de plusieurs chaînes pliées, formant une protéine oligomérique.

Il existe une relation étroite entre la structure et la fonction d'une enzyme Priyadarshini et Singh (2019). L'organisation structurelle et le site actif des enzymes a un impact sur les capacités catalytiques des protéines (Davidson *et al.*, 2018), et par conséquent la modification de cette structure peut conduire à la modification de la fonction de l'enzyme (Aghajari, 1998 ; Agou, 1995).

1-2-3/Cofacteur

Bien qu'un grand nombre d'enzymes se composent uniquement de protéines, beaucoup contiennent également un composant non protéique, appelé cofacteur, qui est nécessaire à l'activité catalytique de l'enzyme (Agarwal, 2018).

Une enzyme qui est active qu'en présence d'un cofacteur est appelé "Apoenzyme" et l'association d'une apoenzyme a son cofacteur (enzyme active) est appelée "Holoenzyme" (Robinson, 2015).

Il convient de noter que les cofacteurs peuvent être une molécule organique (Bhatia, 2018) comme par exemple : le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺), qui fonctionne comme un transporteur d'électrons dans les réactions d'oxydoréduction (Cooper, 1999).

Les cofacteurs peuvent être aussi une molécule inorganique, typiquement un ion métallique comme par exemple le fer, le manganèse, le cobalt, le cuivre ou le zinc (Bhatia, 2018) (Figure 2).

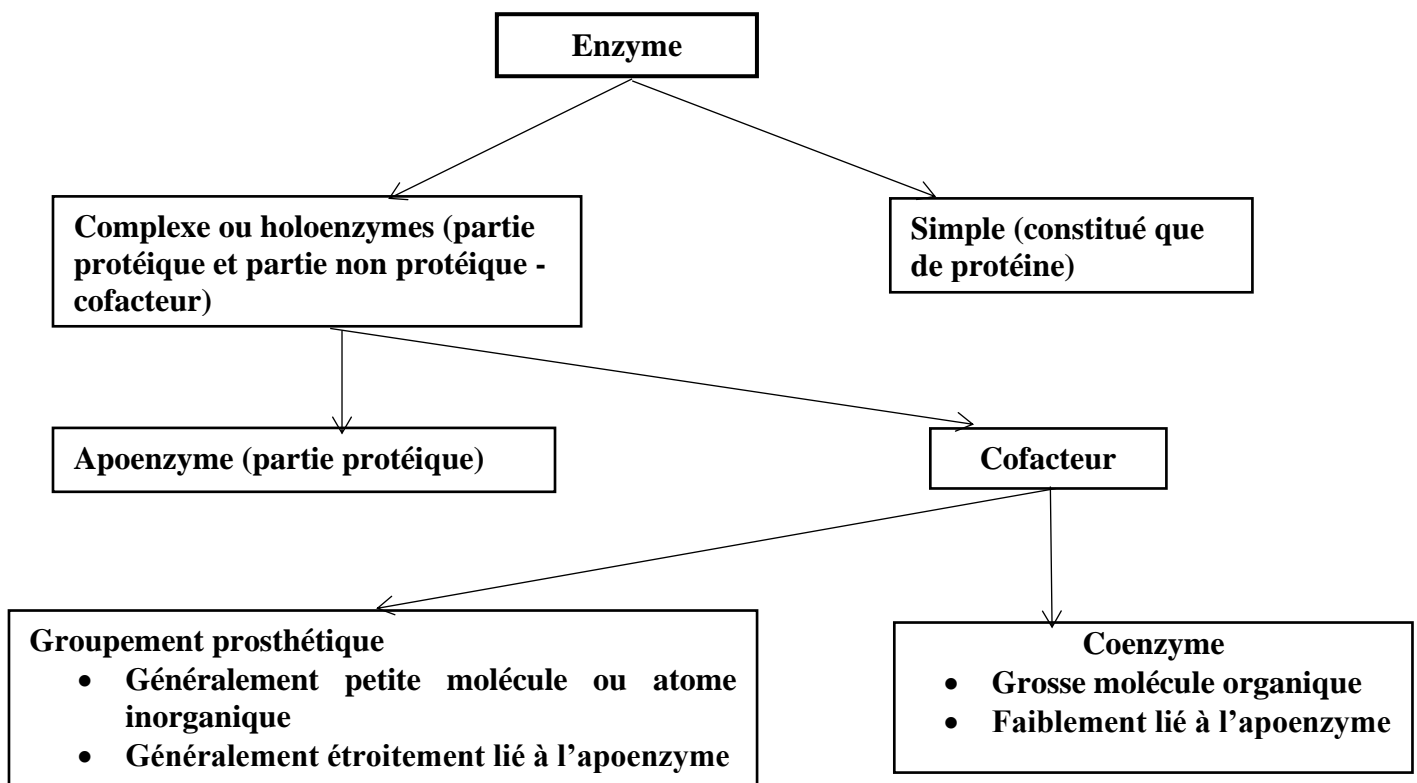


Figure 2 : Principaux Composants d'enzyme selon Bhatia (2018).

1-3/Mécanismes d'action des enzymes

1-3-1/Principes de la catalyse enzymatique

Le mécanisme d'action d'une enzyme pour son substrat est basé sur sa structure et la formation du complexe enzyme-substrat (liaison entre résidus acides aminés au niveau du site

catalytique de l'enzyme et les groupements spécifiques du substrat) (Bhatia, 2018 ; Fried et Boxer, 2017), voir Figure 1.

Le principe de catalyse enzymatique sont illustrés par le fait qu'une molécule appelée substrat [S] sera convertie en un produit (P) lorsqu'une enzyme agit sur elle, en passant par un état de transition (qui est le résultat d'interactions entre l'enzyme et le substrat) (Cooper, 1999) selon la réaction suivante :



La région du site actif fournit à l'environnement une électrostatique optimale pour favoriser la l'abaissement de l'énergie libre de l'état de transition (Neet, 1998). Plusieurs enzymes contiennent des réseaux conservés de résidus qui relient les régions de surface au site actif, Ce qui les permet assurer un couplage thermodynamique lors de la réaction catalytique (Agarwal, 2018).

1-3-2/Le Modèle clé-serrure /Le Modèle d'ajustement induit

La formation du complexe enzyme-substrat est assurée par les propriétés de forme et de charge du site actif qui confère à notre enzyme une spécificité du substrat (Du *et al.*, 2016). Celle-ci est expliquée pour la première fois par le chimiste Emil Fischer en 1894 dont la théorie est basée sur le modèle clé-serrure (Figure 3A), il explique qu'un substrat s'insère comme une clé s'insère dans une serrure. Dans ce modèle le site catalytique de l'enzyme adopte une forme rigide (Mihut *et al.*, 2017 ; Richard, 2019).

En 1958 Daniel Koshland a étendu les idées de Fischer et a présenté le modèle d'ajustement induit (Figure 3B) selon lequel les enzymes ne sont pas des structures rigides et la molécule d'enzyme change légèrement de forme pour s'adapter à la liaison du substrat (Du *et al.*, 2016 ; Schneider, 2015). L'analogie explicative utilisée est le « modèle main dans le gant », où la main et le gant sont de forme largement complémentaire, mais le gant est moulé autour de la main au fur et à mesure de son insertion afin de fournir une correspondance parfaite (Robinson, 2015).

La rigidité et la flexibilité sont des propriétés protéiques complémentaires qui sont nécessaires pour obtenir l'efficacité catalytique de nombreuses enzymes (Richard, 2019).

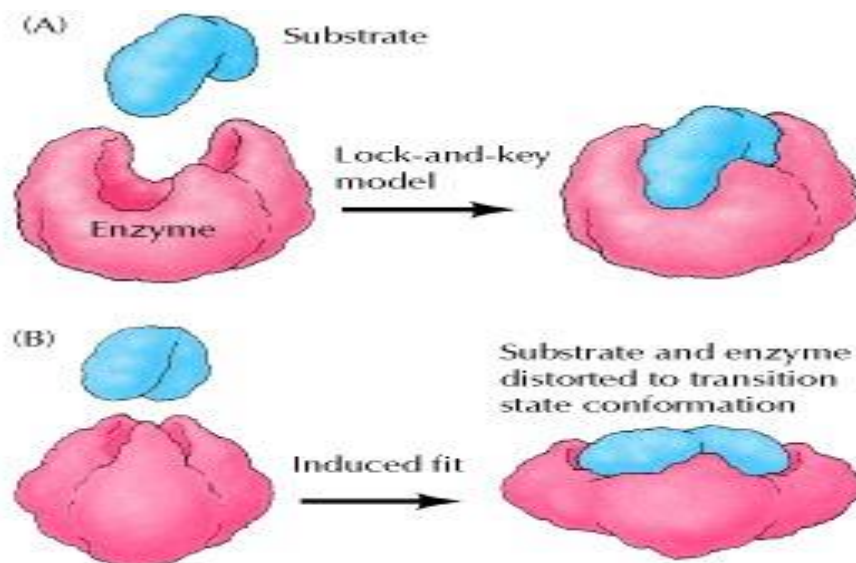


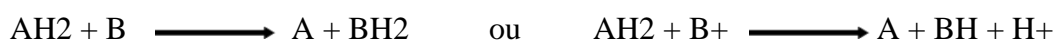
Figure 3 : Modèles d'interaction enzyme-substrat. (A) Le modèle clé-serrure. (B) Le modèle d'ajustement induit (Cooper, 1999).

1-4/Classification des enzymes

Selon le Comité de nomenclature de l'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (NC-IUBMB), les enzymes peuvent être classées, selon les réactions qu'elles catalysent en 7 classes différentes. Le numéro de classification enzymatique (EC) introduit par l'IUBMB, est un système qui permet une classification numérique des enzymes (Concu et Cordeiro, 2019 ; Egelhofer *et al* 2010 ; Dalkiran *et al.*, 2018).

Le schéma de classification permet un accès immédiat aux propriétés fonctionnelles de l'enzyme (Egelhofer *et al.*, 2010). Ainsi l'IUBMB dans un premier temps a classé les enzymes en six groupes selon le type de réaction catalysée (McDonald et Tipton ,2014). Cependant, en août 2018, un nouveau groupe d'enzymes a été ajouté pour décrire les enzymes impliquées dans le mouvement des ions ou molécules à travers les membranes. Ces enzymes sont désormais classées dans la nouvelle classe des translocases (EC 7) (Concu et Cordeiro, 2019). Les enzymes sont classées comme suit :

1/ EC1(Oxydoréductases) ; sont des enzymes qui catalysent les réactions d'oxydo-réduction. (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009) :



Synthèse Bibliographique

Exemple : catalase, glutamate déshydrogénase, carbonyl réductase, l'arsenate réductase (McDonald et Tipton ,2014 ; Egelhofer *et al* 2010).

2/ EC2 (Transférases) ; sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe spécifique d'une molécule à une autre (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009) :



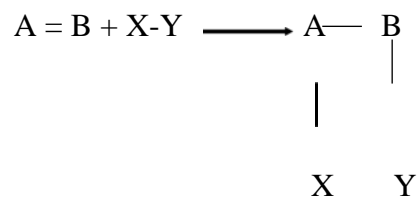
Exemple : méthyltransférases, acyltransférases, glycosyltransférases, adénosinetriphosphatase et myosine ATPase (McDonald et Tipton ,2014 ; Egelhofer *et al* 2010).

3/ EC3 (Hydrolases) ; sont des enzymes qui catalysent la coupure hydrolytique des liaisons C—O, C—N et C—C. (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009) :



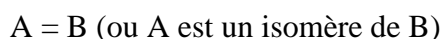
Exemple : kératinases (Qui *et al.*, 2020), l'amylase, exodésoxyribonucléase (McDonald et Tipton ,2014).

4/ EC4 (Lyases) ; sont des enzymes qui coupent les liaisons C—C, C—O et C—N par élimination d'un groupement, en formant des doubles liaisons ou des cycles. (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009) :



Exemple : fructose biphosphate aldolase (McDonald et Tipton ,2014), lyase d'ammoniaque (Boyce et Tipton, 2001).

5/ EC5 (Isoméras) ; enzymes qui catalysent des changements géométriques ou structuraux dans une molécule (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009).



Exemple : racemases, epimerases, isomerases, tautomerases, mutases ou cycloisomerases (Boyce et Tipton, 2001).

6/ EC6 (Ligases) ; sont des enzymes qui catalysent la liaison entre deux molécules, couplée à l'hydrolyse d'une liaison phosphate de l'ATP (ou un autre tri-phosphate). (McDonald et Tipton ,2014 ; Combes et Monsan, 2009) :



Exemple : la cytidine triphosphate synthase, trans-féruoyl-COAsynthase (McDonald et Tipton, 2014), peptide synthases (Boyce et Tipton, 2001), pyruvate carboxylase (Combes et Monsan, 2009).

7/ EC7 (Translocases) ; sont des enzymes catalysant le mouvement des ions ou des molécules à travers les membranes ou leur séparation au sein des membranes (Concu et Cordeiro, 2019).



Exemple : Ubiquinol oxydase, Ascorbate Ferri réductase, Protéine-sécrétante ATPase (Adharis, 2019).

Chacune de ces classes a ensuite été subdivisée, chaque enzyme recevant un code unique à quatre chiffres (Egelhofer *et al* 2010 ; McDonald et Tipton ,2014 ; Dalkiran *et al.*,2018 ;Concu et Cordeiro,2019 ;) tel que: Niveau 0: enzyme ou non-enzyme , Niveau 1: classe principale, Niveau 2: sous-classe, Niveau 3: sous-sous-classe et Niveau 4: classes de substrat (Dalkiran *et al.*,2018).

Exemple d'enzyme de restriction de type II, annotée EC 3.1.21.4, à titre d'exemple, le «3» indique qu'il s'agit d'une hydrolase ; le «1» indique qu'il agit sur les liaisons ester; le «21» montre qu'il s'agit d'une endodésoxyribonucléase produisant des 5-phosphomonoesters; et le «4» indique qu'il s'agit d'une désoxyribonucléase spécifique à un site de Type II (Li *et al.*, 2018).

1-5/ L'importance des enzymes chez différent organismes vivant

1-5-1/ Importance des enzymes au niveau cellulaire

Comme décrit ci haut les enzymes sont des biocatalyseurs essentiels à de nombreuses réactions physiologiques et métaboliques (Furukawa *et al.*, 2020).

Les enzymes sont des molécules présentes et importantes pour tous les organismes vivants (les microorganismes, les animaux et les végétaux) (Zhang et Kim, 2010). Ces

molécules sont indispensables au maintien de la vie de ces différents organismes vivants (Gurung *et al.*, 2013) et assurent une diversité de réactions biochimiques nécessaires à la vie telles que la réplication de l'ADN, la transcription des gènes, la synthèse des protéines, le métabolisme et transduction du signal (Shuang, 2012 ; Karasov et Douglas, 2013 ; ke *et al.*, 2015 ; Babiker *et al.*, 2016 ; Yu *et al.*, 2016).

1-5-1-1/ Importance des enzymes chez les microorganismes

Les microorganismes, comme tous les autres organismes vivants, sont dépendants des enzymes qui sont essentiels à leurs survies (Jackson *et al.*, 2013).

Ces enzymes sont impliquées dans diverses fonctions physiologiques et jouent des rôles importants comme par exemple dans la régulation de la glycolyse avec la glucokinase, la phosphofructokinase, la phosphoglycérate kinase, la pyruvate kinase (Zhou *et al.*, 2013 ; Bräsen *et al.*, 2014), dans la régulation de l'apoptose par les protéases de type caspase chez les levures (Herker *et al.*, 2004 ; Carmona-Gutierrez *et al.*, 2018) ou encore dans la synthèse des phospholipides chez la levure *Saccharomyce cerevisiae* avec la phosphatidylglycérol phosphate synthase, la phosphatidyléthanolamine méthyltransférase (Kuchler *et al.*, 1986). Ces enzymes sont aussi impliqués dans la réplication et la transmission du génome microbien d'une génération à l'autre par l'intervention de l'ADN polymérase (Worning *et al.*, 2006).

1-5-1-2/ Importance des enzymes chez les animaux

Comme chez le cas des autres organismes vivants, les animaux ont aussi une machinerie enzymatique indispensable aux différents métabolismes (Bacou et Vigneron, 1976), comme par exemple l'acide gras synthase une enzyme métabolique clé qui catalyse la synthèse d'acides gras saturés à longue chaîne (Huijin *et al.*, 2016), ou la protéases à cystéine (caspases) dont l'expression dans de nombreuses tumeurs humaines protège contre la mort cellulaire, évitant ainsi une apoptose inappropriée (Evelyne, 1999)

Aussi d'autres enzymes possèdent une grande importance comme par exemple, l'ADN polymérase qui a pour rôle principal de répliquer avec précision et efficacité le génome pour assurer le maintien de l'information génétique et sa transmission fidèle aux générations suivantes (Miguel et catarzina, 2007), ou le fructose diphosphate aldolase qui intervient dans le métabolisme glycolytique, la NADP isocitrate déhydrogénase et la succinate déhydrogénase qui intervient dans la voie oxydative (Bacou et Vigneron, 1976).

1-5-1-3-/ Importance des enzymes chez les végétaux

Les végétaux comme autres êtres vivants, sont aussi riche en enzymes qui participent dans divers métabolismes (Bino *et al.*, 2004 ; Afendi *et al.*, 2012 ; Dale *et al.*, 2010). Les enzymes sont des biocatalyseurs qui conditionnent la croissance cellulaire et celle de la plante (Georges *et al* 1991), c'est l'exemple des lipases qui fournissent l'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la jeune plante (Adlercreutz *et al.*, 1997 ; Fickers *et al.*, 2008) et les protéases qui sont potentiellement important pour la nutrition des plantes en azote (Adamczyk *et al.*, 2010).

Aussi les plantes possèdent une large gamme de substances très variées pour leurs défenses contre les diverses attaques pathogènes (Asselin, 1993)) comme par exemple les enzymes telles que les glycanases qui hydrolysent certains polysaccharides qui appartiennent à la paroi des champignons parasites et défendent la cellule végétale contre l'invasion parasite (Cline et Abersheim, 1981).

Aussi, les études ont montré les interactions entre les plantes et les microorganismes au niveau de la rhizosphère, font intervenir des enzymes qui sont reconnues comme les principaux acteurs de toutes les activités se déroulant dans les environnements de la rhizosphère (Gianfreda, 2015).

1-5-2/ Importance des enzymes au niveau industriel

Les enzymes sont les catalyseurs biologiques beaucoup plus performants que les catalyseurs chimiques (Cabrera et Blamey, 2018). L'industrie des enzymes est l'une des principales industries au monde (Gurung *et al.*, 2013), le nombre d'applications industrielles de ces enzymes a considérablement augmenté ces dernières années (Choi *et al.*, 2015).

Grâce au développement de la technologie recombinante et de l'ingénierie des protéines, les enzymes sont exploités à différentes fins industrielles (Gurung *et al.*, 2013), ce qui leur confère un large avantage sur le plan économique et sur le plan de la qualité des produits (Falch, 1991).

Ce développement a permis l'introduction d'enzymes dans de véritables produits et procédés industriels, comme dans le secteur agroalimentaire (Fernandes.2010), du pharmaceutique (Jung *et al.*, 2015 ; Morlighem *et al.*, 2018), des détergents, du textile (Gurung *et al.*, 2013 ; Cabrera et Blamey, 2018) et dans le secteur de la santé (Combes et Monsan, 2009).

Les enzymes industrielles majoritairement utilisées sont les hydrolases (amylases, lipases et protéases) qui sont utilisées pour la dégradation de diverses substances naturelles (Gurung *et al.*, 2013). Les hydrolases représentent près de 75 % des enzymes industrielles (Li *et al.*, 2012).

1-5-2-1/Importance des enzymes des microorganismes au niveau industriel

La source la plus courante d'enzymes sont les microorganismes (plus de 50%), elles constituent une source idéale d'enzymes industrielles qui pourraient être produites en quantités illimitées (Solaiman *et al.*, 2005 ; Borrelli et Trono, 2015). Les enzymes des microorganismes possèdent une grande diversité biochimique (ce qui permet aux microorganismes l'adaptation à des environnements avec une salinité et une pression élevée, une basse température...), de plus les microorganismes sont faciles à manipuler génétiquement (Zhang et Kim, 2010), ce qui permet d'améliorer l'activité et la diversité catalytique des enzymes (Gurung *et al.*, 2013). Les enzymes microbiennes sont les plus utilisées en industries en raison de leurs thermotolérances et thermostabilités et par conséquent appropriées aux conditions industrielles (Banat *et al.*, 1992 ; Wati *et al.*, 1996 ; wang *et al.*, 2012 ; Poonam, 2013), c'est l'exemple des hydrolases halophiles récupérées de certaines bactéries et archées) qui traitent les déchets des champs pétrolifères dans des conditions de température et salinité élevées (De Lourdes Moreno *et al.*, 2013).

Les enzymes microbiennes permettent de répondre aux besoins de plusieurs industries telles que le biodiesel, les aliments et boissons, le cuir, le textile, les détergents, le papier, les produits pharmaceutiques (Gurung *et al.*, 2013 ; Chandra *et al.*, 2020).

1-5-2-2/Importance des enzymes des animaux au niveau industriel

Les enzymes commercialisées en industrie peuvent être aussi d'origine animale, elles sont omniprésentes chez le règne animal comme par exemple, l'humain, porc, vipère, serpent, rat, murin, abeille, lézard, scorpion et mollusque (Borrelli et Trono, 2015).

Par contre, les enzymes animales présentent une grande variation de rendement et leurs manipulations génétique est techniquement beaucoup plus difficile, coûteuse et fait toujours l'objet de préoccupations éthiques importantes (Robinson, 2015). Néanmoins elles restent des biocatalyseurs efficaces et sont utilisées dans plusieurs domaines industriels tels que la production pharmaceutique, la bioconversion dans l'industrie des énergies renouvelables et des

biopolymères, la chimie verte (Morlighem *et al.*, 2018), l'industrie alimentaire et l'industrie des détergents (Bruno *et al.*, 2019).

1-5-2-3/Importance des enzymes des végétaux au niveau industriel

Tous comme les autres organismes vivants, les végétaux sont dotés d'une large gamme d'enzyme très variées qui sont d'une originalité remarquable (Tusé *et al.*, 2014 ; Xu *et al.*, 2018). L'originalité des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très variées parmi lesquelles un grand nombre d'enzymes (Karam *et al.*, 1997). De plus, les végétaux sont beaucoup plus faciles à manipuler, moins coûteux et plus stables que les animaux (Longoni *et al.*, 2015).

Le métabolisme végétal de par sa variété et sa richesse, en enzymes et autres métabolites, est utilisé dans plusieurs domaines industriels comme dans l'industrie agroalimentaire et l'industrie pharmaceutique (Haddouchi et Benmansour, 2008). En industrie alimentaire, par exemple les enzymes végétales sont utilisées dans le domaine de diversification des produits sucrants utilisés dans les boulangeries-pâtisseries, les confiseries, les conserves des fruits, les industries laitières et les industries de boissons (Pascal et Mounier, 1981), ou en industrie pharmaceutique par exemple dans la production des médicaments anticancéreux tels que le taxol, podophylotoxine et l'étoposide qui sont bénéfiques dans le traitement des cancers réfractaires de l'ovaire, du sein, des poumons et de la prostate (Mukherjee *et al.*, 2001).

Les enzymes des végétaux sont aussi utilisées pour la fabrication des détergents, des biopesticides et des biocarburants (Eid *et al.*, 2021) et peuvent être utilisées, aussi, pour agir sur des polluants récalcitrants spécifiques pour les éliminer par précipitation ou transformation en d'autres produits (Karam *et al.*, 1997).

Plusieurs plantes sont utilisées pour la production de ces enzymes telles que les carottes, les graines de soja, (Sheldon *et al.*, 2020) ; le tabac (Tusé *et al.*, 2014) ; le maïs, le riz, les pommes de terre, la luzerne (Davies, 2010) et l'avoine (Halima *et al.*, 2015 ; Perrelli *et al.*, 2018).

L'avoine est une céréale annuelle (Kim *et al.*, 2021) du genre *Avena*, l'espèce la plus importante sur le plan économique est *Avena sativa* de par sa richesse en nutriments et bioactifs (Chen *et al.*, 2021) reconnue pour la santé (Allwood *et al.*, 2019).

La production actuelle d'avoine est d'environ 23 à 26 millions de tonnes par an (Jokinen *et al.*, 2021). Les plus grands producteurs d'avoine sont l'Union Européenne, suivie du Canada, de la Russie, de l'Australie, des États-Unis et du Brésil (Zhang *et al.*, 2021a). L'*Avena sativa* L. occupe le sixième rang dans la production céréalière possédant des propriétés importantes (Chen *et al.*, 2021 ; Liu *et al.* 2021) telles que des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (Kim *et al.*, 2021).

2/La plante d'avoine (*Avena sativa*)

2-1/ Généralités

L'avoine est une céréale (De Souza *et al.*, 2016 ; Tarazona *et al.*, 2021) qui appartient à la famille des Poacées et est une graminée annuelle (Perrelli *et al.*, 2018), qui serait originaire d'Asie (Liu *et al.*, 2021). Parmi les avoines cultivées, *Avena sativa* L. (avoine commune) est la variété la plus importante (Chen *et al.*, 2021 ; Podyma *et al.*, 2019). L'avoine est reconnue comme une céréale saine depuis le milieu des années 1980 et est maintenant bien utilisée dans le monde (Liu *et al.*, 2021). Le tableau suivant montre la classification taxonomique de l'avoine (*Avena sativa*).

Tableau 1 : Classification de l'Avoine selon Soltner, (2005) et Halima *et al.*, (2015).

Règne	<i>Plantae (plantes)</i>
Division	<i>Magnoliophytae (plantes à graines)</i>
Classe	<i>Liliopsida (monocotylédones)</i>
Ordre	<i>Cyperales</i>
Famille	<i>Poaceae (famille des graminées)</i>
Genre	<i>Avena (avoine)</i>
Espèce	<i>Avena sativa L.</i>

2-2/ Caractéristiques morphologiques de l'avoine

La plante d'avoine (Figure 4) est une plante de grande taille (Salgado *et al.*, 2008), avec une longueur de 30 à 150 centimètres de hauteur (Ibrahim *et al.*, 2018 ; Salgado *et al.*, 2008), elle comporte une tige constituée d'une série de nœuds et d'entre-nœuds (Ibrahim *et al.*, 2018) avec des feuilles d'environ 5 à 20 millimètres de large (Salgado *et al.*, 2008).



Figure 4 : Photo de la plante d'avoine (*Avena sativa*). Photo Schilperoord (2018).

L'avoine annuelle formant un système racinaire fasciculé solide dans les dix premiers centimètres du sol (Amghar, 2019). La panicule d'avoine est munie d'un axe principal qui se termine par un seul épillet (Amghar, 2019 ; Salgado *et al.*, 2008), l'épillet quant à lui renferme une à trois fleurs, dont généralement deux sont fertiles et donne la graine (Salgado *et al.*, 2008). La fleur est entourée de deux bractées ou glumelles, le lemma et le paléa, qui constituent l'enveloppe des grains récoltés (Amghar, 2019) (Figure 5).

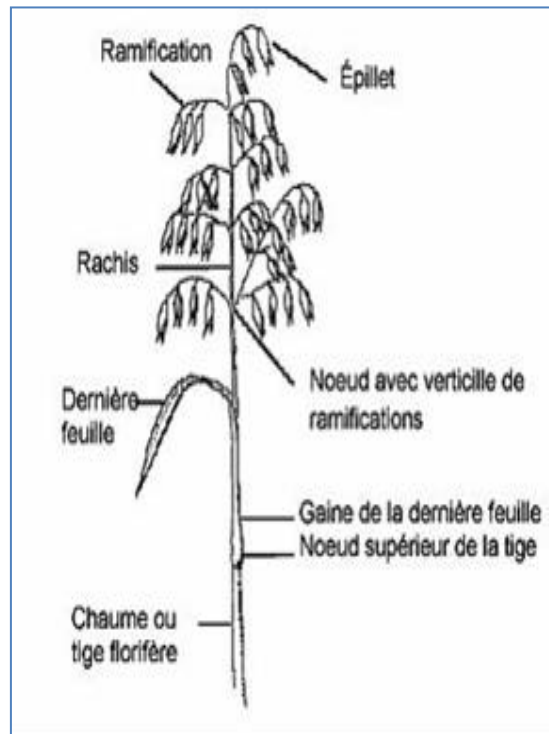


Figure 5 : Panicule de l'avoine selon Salgado (2008).

L'avoine (*Avena sativa* L.) reconnue pour ces caractéristiques multifonctionnelles et nutritionnelles, elle est importante dans la nutrition humaine et animale ainsi que dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique (Butt *et al.*, 2008 ; Żebrowska *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2020). En effet, l'avoine et ses sous-produits sont riches en acides gras insaturés, en fibres solubles, en vitamines, en minéraux, en composés phytochimiques, en β -glucanes, en protéines et en peptides (Liu *et al.*, 2021). Leurs incorporations dans les produits alimentaires améliorent non seulement la nutrition mais aussi une thérapie contre diverses maladies (Butt *et al.*, 2008).

2-3/ Les différentes propriétés de l'avoine

L'avoine (*Avena sativa*) se distingue parmi les autres céréales par ses effets thérapeutiques (Butt *et al.*, 2008), notamment ses effets anti-inflammatoires, antioxydants, anti-démangeaisons, anti-irritantes, sa régulation de la glycémie, sa capacité hypolipidémique, son immunorégulation, etc. (Kim *et al.*, 2021 ; Liu *et al.*, 2021 ; Martín-Diana *et al.*, 2021). Plus le temps passe, plus des composés bioactifs importants d'avoine sont découvertes, tels que les composés phénoliques (des flavonoïdes, des acides phénoliques, des lignanes et des avenanthramides) (Rasane *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2021b), qui sont des antioxydants à effets protecteurs contre le développement de diverses pathologies ((Zhang *et al.*, 2021a), notamment

les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies inflammatoires de l'intestin, le cancer, l'obésité (Perrelli *et al.*, 2018). L'avoine permet aussi le renforcement de la santé digestive en fournissant une source importante de fibres insolubles, qui peuvent aider à prévenir ou à traiter certaines affections liées à la digestion (Lawton *et al.*, 2013 ; Rasane *et al.*, 2015).

2-4/ Les enzymes des plantes d'avoine

L'avoine avec et sans coque sont des céréales riches en activités enzymatiques, en plus de nos jours à partir d'une germination contrôlée, on peut optimiser leur activité enzymatique (Hosseini *et al.*, 2010). C'est dans ce sens que des travaux ont été faits sur des enzymes d'avoine comme par exemple les lipases (Hosseini *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2021a), les amylases (Halima *et al.*, 2015), les protéinases (Hosseini *et al.*, 2010), les chitinases (Halima, 2019 ; Halima *et al.*, 2015), l' α glucosidase ou glucoamylase (Kim *et al.*, 2011), les glucanases (Halima, 2019), l'avenanthramide. Phénoloxydase (Khang *et al.*, 2016) et l'enzyme glutamate décarboxylase (Komatsuzaki in Khang *et al.*, 2016).

Matériel Et Méthodes

Matériel Et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biochimie de l'universitaire Belhadj Bouchaib- Ain Témouchent (UBBAT), durant le second semestre de master 2 de l'année universitaire 2020/2021.

1/Récolte du matériel végétal

Pour la recherche et la caractérisation d'activité lipasique et amylasique, des flocons d'avoines (Figure 6A) achetés au commerce à Ain Témouchent ont été utilisés comme matériel biologique.

Ces flocons d'avoines sont ensuite, broyés et tamisés. La poudre obtenue (Figure 6B) est utilisée pour la récupération de l'extrait brut enzymatique.



(A)



(B)

Figure 6 : Photo des flocons d'avoine (A) et de la poudre des flocons d'avoine (B), utilisés dans cette étude.

La caractérisation des activités lipasique et amylasique a été effectuée en utilisant l'extrait enzymatique d'avoine obtenu par macération, qui consiste à ajouter 2g de poudre d'avoine à 10 mL de tampon phosphate à 0,1M pH 7, après agitation, laissez reposer pendant 2h. La solution est ensuite centrifugée à 6000 trs/min pendant 5 min, le surnageant est récupéré pour être utilisé comme extrait brut enzymatique.

2/Détermination du pH de l'extrait brut enzymatique

Le pH de l'extrait brut enzymatique est mesuré par immersion des bandelettes à l'intérieur de la solution.

3/Recherche et caractérisation des activités lipasiques et amylasiques chez les flocons d'avoine

Les activités enzymatiques recherchées et caractérisées sont celle des hydrolases qui incluent les activités lipasiques et amylasiques.

Cette caractérisation consiste à déterminer l'influence du pH et de la température sur l'activité enzymatique, ainsi que la détermination de l'influence du pH de la température élevée sur la stabilité des enzymes.

La recherche et la caractérisation de l'activité lipasique de la poudre des flocons d'avoine a été effectuée par quantification des acides gras libérés. Pour rappel, les lipases catalysent la réaction suivante :



Le test consiste pipeter les réactifs suivants dans deux béchers, un bécher servira comme contrôle et l'autre comme test. Ces béchers contiennent : 3 mL huile d'olive ; 2,5 mL d'eau distillée et 1mL de tampon phosphate à 0,2 M et pH 7,2.

Ensuite, 1mL de l'extrait brut enzymatique est ajouté seulement au bécher qui sert de bécher test. Les 2 béchers incubé à 37°C pendant 30 min.

Après incubation, 3mL d'éthanol à 95 % (v/v) sont ajoutés dans les deux béchers pour stopper la réaction, puis quatre goutte de phénolphthaléine quant à elles sont ajoutés comme indicateur coloré.

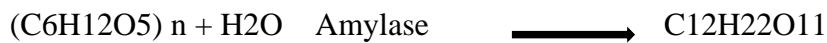
Après que la réaction soit stoppée, 1 mL de l'extrait brut enzymatique est ajouté au bécher contrôle.

La quantité des acides gras libérés sous l'action des lipases est déterminée par titration avec du NaOH à 50 mM, jusqu'au virage de l'indicateur de couleur vers le rose.

Matériel Et Méthodes

La recherche et la caractérisation de l'activité amylasique de la poudre des flocons d'avoine a été effectuée selon la méthode développée par Farkhanda (2017).

L'amylase est une enzyme hydrolytique qui converti l'amidon en maltose, selon l'équation suivante :



$(C_6H_{12}O_5)_n$: l'amidon $C_{12}H_{22}O_{11}$: le maltose

La préparation de la solution d'amidon a été effectuée comme suit :

- Faire bouillir 50 mL d'eau distillée.
- Ajouter 40 mL d'une solution d'amidon à 1% à ces 50 mL d'eau distillée bouillante et laisser refroidir.
- Ensuite, ajout de l'eau distillée pour arriver à un volume final de 100 mL.

De cette solution, un volume est récupéré et dilué 10 fois dans de l'eau distillée, pour être utilisée comme solution mère dans la préparation du courbe étalon et comme substrat pour la recherche d'activité amylasique (Farkhanda ,2017).

Le milieu réactionnel est constitué de

- 0,1 mL de la solution d'amidon préparée.
- 0,750 mL du tampon phosphate à 0,1M de pH 7,2.
- 0,4 mL de la solution de l'extrait d'avoine.

Après incubation à 37 °C pendant 30 min, 0,750 mL de Lugol sont ajoutés au mélange réactionnel, ensuite pour arrêter la réaction, 1,5 mL d'HCl à 10% sont ajoutés à 1 mL du mélange réactionnel. La DO est mesurée à 620 nm (Farkhanda, 2017), contre un blanc qui est constitué des mêmes composantes que le milieu réactionnel à la seule différence que la solution enzymatique des flocons d'avoine est ajoutée après incubation et après que la réaction soit arrêtée par le HCl.

Matériel Et Méthodes

- Courbe d'étalonnage de l'amidon

La courbe étalon $DO=f([\text{amidon}])$ sera établie en utilisant différentes concentrations d'amidon (20 à 100 $\mu\text{g/mL}$) préparées à partir de la solution mère d'amidon (400 $\mu\text{g/mL}$) (voir Tableau 3).

Tableau 2 : Différentes concentrations utilisées pour la préparation de la courbe étalon de l'amidon

Solutions étalons d'amidon ($\mu\text{g/mL}$)	0	20	40	60	80	100
Solution mère d'amidon à 400 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau distillée (mL)	2	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5

4/ Influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique de la poudre des flocons d'avoine

Pour déterminer l'influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique, les mélanges réactionnels décrits précédemment, sont incubés à différentes températures 4°C, 20°C, 37°C et 45°C pendant 30 min.

5/ L'influence du pH sur l'activité lipasique et amylasique de la poudre des flocons d'avoine

Pour déterminer l'influence du pH sur l'activité lipasique et amylasique, le tampon phosphate à pH 7,2 des milieux réactionnels décrits précédemment est remplacé par un tampon phosphate à pH6 (acide) et à pH8,5 (basique).

6/ Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases et des amylases de la poudre des flocons d'avoine

La stabilité thermique est déterminée par le chauffage de la solution d'avoine dans un bain marie à 90°C pendant 30 min et 60 min. Après ce traitement thermique, l'activité résiduelle des lipases et amylases sont mesurées en suivant les mêmes protocoles utilisés précédemment, à la seule différence que la solution de la poudre des flocons d'avoine non-traitée est remplacée par la solution de la poudre des flocons d'avoine traitée.

7/ Effet du pH sur la stabilité des lipases et des amylases de la poudre des flocons d'avoine

Afin de déterminer l'effet des pH sur la stabilité des lipases et des amylases, la solution de la poudre des flocons d'avoine est pré-incubée en présence du HCl (acide) et du NaOH (base) à une concentration finale de 1 M pendant 30 min et 60 min.

Après pré-incubation et traitement pH, l'activité résiduelle des lipases et amylases sont mesurées en suivant les mêmes protocoles utilisés précédemment, à la seule différence que la solution de la poudre des flocons d'avoine non-traitée est remplacée par la solution de la poudre des flocons d'avoine traitée.

Résultats et Discussion

Résultats Et Discussion

Les flocons d'avoine (*Avena sativa*) utilisés, dans cette étude, pour rechercher et caractériser l'activité enzymatique **amylasiques** et **lipasiques** ont été achetés dans le commerce de la ville d'Ain Témouchent.

1/ Mesure du pH de la solution de la poudre des flocons d'avoine (*Avena sativa*)

La mesure du pH d'avoine a été effectuée par utilisation des bandelettes de mesure du pH. Le résultat de cette mesure, montre que notre solution de la poudre des flocons d'avoine à un pH de 6 (Figure 7).



Figure 7 : Mesure du pH de la solution de la poudre des flocons d'avoine

2/Caractérisation de l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

La caractérisation de l'activité lipasique et amylasique est réalisée par détermination de l'influence du pH et de la température sur l'activité des lipases et des amylases de la solution de la poudre des flocons d'avoine.

L'activité lipasique a été recherchée dans les solutions de la poudre des flocons d'avoine par la méthode de dosage par le NaOH qui agit sur l'acide gras libéré par l'action des

Matériel Et Méthodes

lipases selon le principe de neutralisation d'un acide par une base caractérisé par le virage de la couleur vers le rose.

Résultats Et Discussion

Lecalcul de la concentration d'acide gras libéré se fait comme suit : $C_a \cdot V_a = C_b \cdot V_b$, avec : C_a : concentration d'acide gras, V_a : volume du milieu réactionnel, C_b : concentration du NaOH, V_b : volume de NaOH pour atteindre le virage de la couleur.

Les résultats obtenus de ce test de recherche d'activité lipasique (à pH 7,2 et à la température d'incubation de 37°C) montrent la présence d'une activité lipasique dans la solution de la poudre des flocons d'avoine, et cette activité a permis la libération de 18 mM d'acides gras.

L'activité amylasique a été recherchée dans les solutions de la poudre des flocons d'avoine selon la méthode développée par Farkhanda (2017).

Notre étude consiste à déterminer l'action des amylases du solution de la poudre des flocons d'avoine sur le mélange réactionnelle contenant l'amidon, par une diminution de la DO à 620 nm qui signifie l'hydrolyse d'amidon par l'amylase.

Afin de déterminer la quantité d'amidon dégradée par l'avoine et convertir les valeurs des DO obtenues en $\mu\text{g/mL}$, une courbe étalon a été établie (Figure 12).

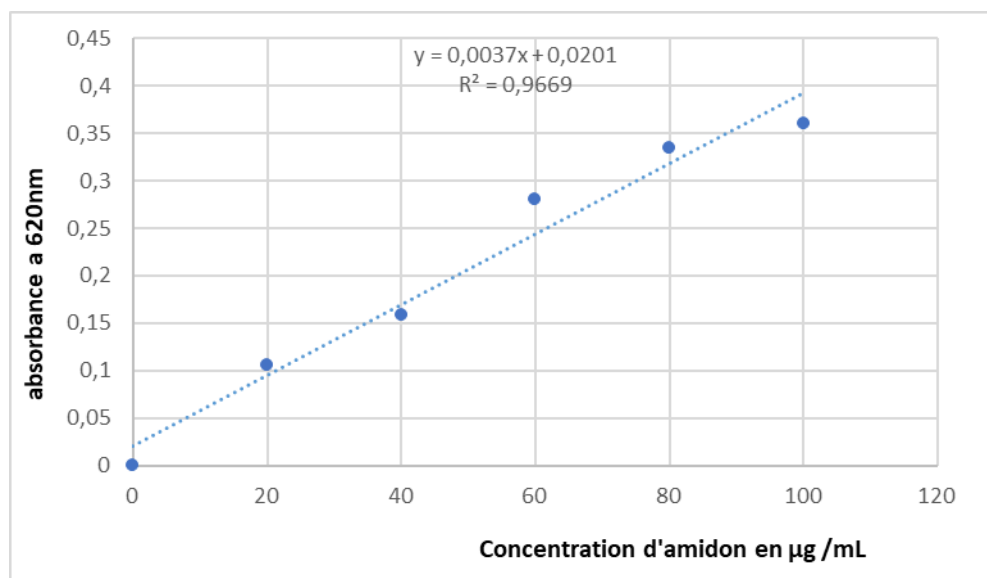


Figure 8 : Courbe étalon de l'amidon

Les résultats obtenus de ce test de recherche d'activité amylasique (à pH7,2 et à la température d'incubation de 37°C) montrent la présence d'une activité amylasique dans la solution de la poudre des flocons d'avoine, et cette activité a permis la dégradation de 193,41 $\mu\text{g/mL}$.

Résultats Et Discussion

Une fois les 2 enzymes, lipases et amylases, ont été détectées dans la solution de la poudre des flocons d'avoine, leur activité et leur stabilité ont été caractérisées en fonction du pH et de la température.

3/Influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

L'influence de la température sur l'activité lipasique et amylasique a été déterminée par incubation du mélange réactionnel, pendant 30 min à 4°C, 20°C, 37°C et 45°C.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous :

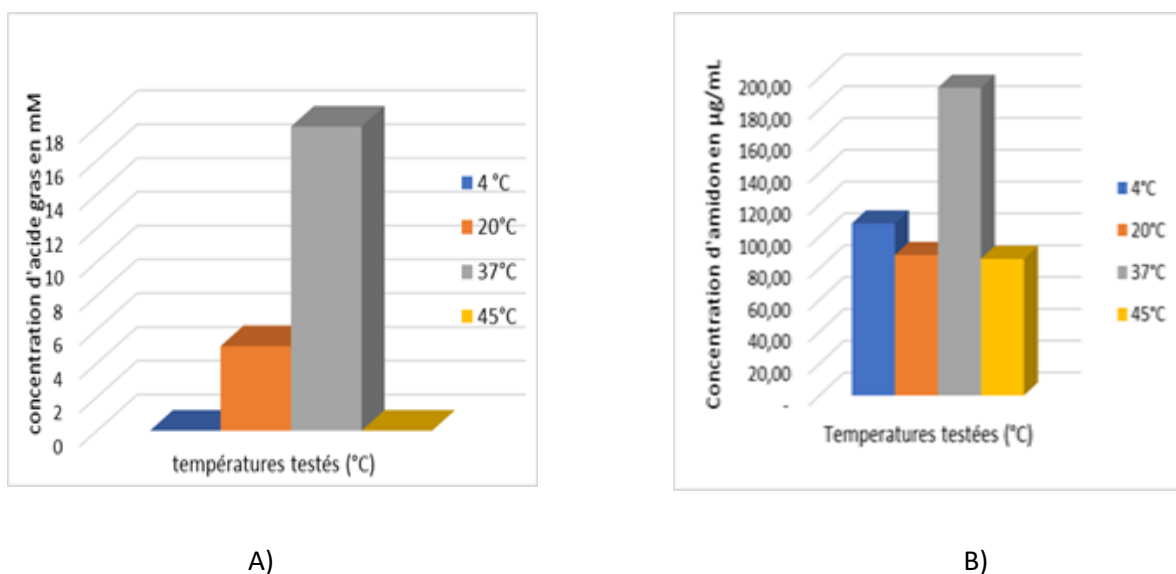


Figure 9 : Influence de la température sur l'activité lipasique (A) et amylasique (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

Les résultats obtenus sur les 2 hydrolases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine (lipases et amylases) en fonction de la température montrent que la température d'incubation influence leurs activités et que les 2 enzymes atteignent leurs optimums d'activité à la température d'incubation de 37°C. Pour les lipases, les études de Martin et Peers (1953) et Ekstrand *et al.*, (1992) sont en accord avec nos résultats, en effet, ces études ont montré que la température optimale de l'activité lipasique de l'avoine est entre 37-38°C. Par contre, pour les amylases, les travaux de Halima *et al.*, (2015) ont montré que la température optimale d'activité amylasique de l'avoine est de 55°C. Les travaux de Li *et al.*, (2019) ont montré que la température optimale de la chitinase de l'avoine est de 40°C

Résultats Et Discussion

Il faut noter qu'aux températures 4°C et 45°C, les lipases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine ne présentent aucune activité contrairement aux amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine, où leur activité est détectée, à ces 2 températures d'incubation. Pour la température d'incubation de 20°C, l'activité des amylases est presque similaire aux activités détectées à 4°C et à 45°C, par contre les lipases présentent une meilleure activité à 20°C qu'aux températures de 4°C et de 45°C. Les travaux de Yi *et al.*, (2005) ont montré la présence d'activité enzymatique de l'avoine à 25°C, en effet, ils ont montré que les lipoxygénases et les peroxydases de l'avoine présentent des profils d'activité similaires avec une température de réaction optimale de 25°C.

Pour l'activité amylasique détectée à 4°C, ceci a été montré pour l'activité chitinasique des poissons qui présentent une activité assez élevée à 2° C (Pérès *et al.*, 1973).

4/Influence de pH sur l'activité lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

L'influence du pH sur l'activité des lipases et des amylases a été testée à pH acide (pH 6), pH neutre (pH 7,2) et pH basique (pH 8,5).

Nous avons obtenu les résultats représentés dans les figures ci-dessous :

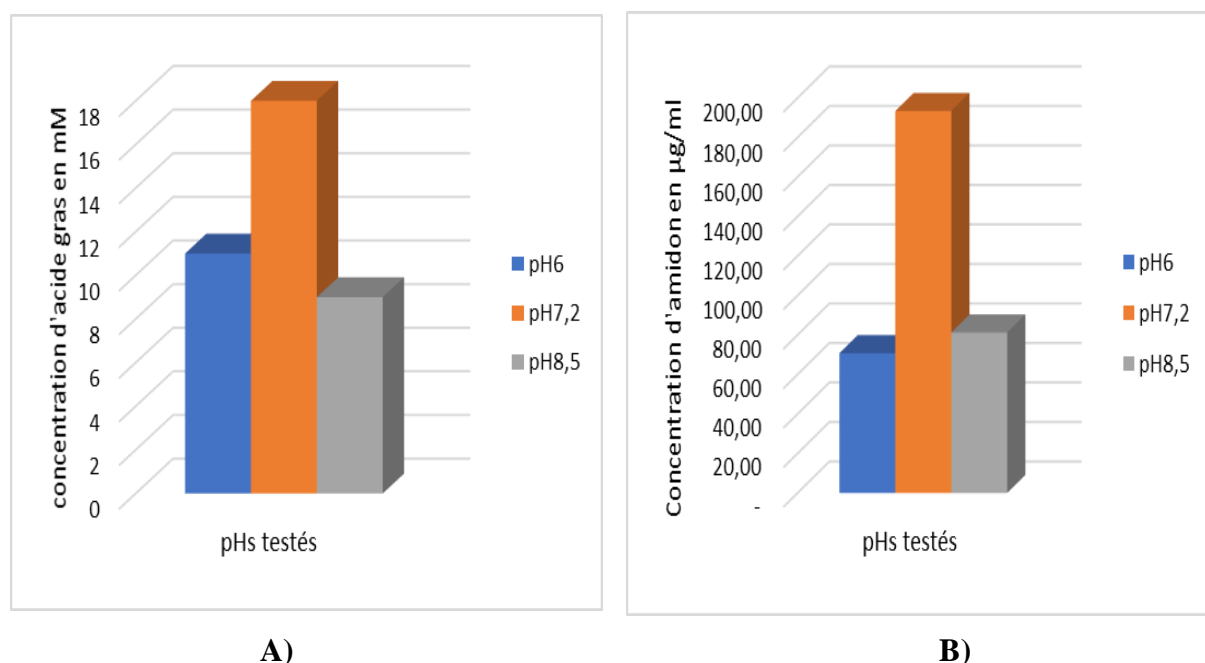


Figure 10 : Influence du pH sur l'activité lipasique (A) et amylasique (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.

Résultats Et Discussion

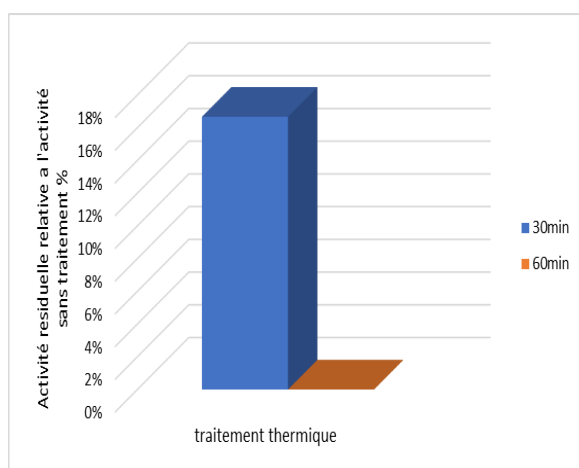
Les résultats obtenus montrent que les activités lipasique et amylasique de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine sont influencées par les pHs.

Les résultats montrent que nos deux hydrolases (lipases et amylases) atteignent leurs optimaux d'activité à pH 7,2. Il faut noter qu'entre le pH acide et le pH basique, l'activité lipasique est plus faible à un pH basique qu'à un pH acide (Figure 10A), alors que l'activité amylasique est plus faible à un pH acide qu'à un pH basique (Figure 10 B).

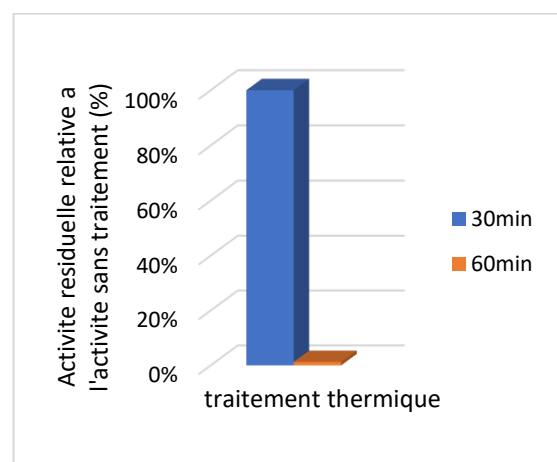
Les travaux de Martin et Peers (1953), sont en accord avec nos résultats qui ont démontré que le pH optimal de l'activité lipasique de l'avoine est de 7,4. Aussi, les travaux d'Ekstrand *et al.*, (1992) ont montré aussi une faible activité lipasique de l'avoine au pH 6 acide par rapport à l'optimum de 7 et cette activité est sévèrement affectée au pH 8,5 alcalin. Par contre pour les amylases, nos résultats ne sont pas en accord avec les travaux de Hosseini *et al.*, (2010) qui ont montré, que chez l'avoine, ces enzymes atteignent leur activité optimale à pH 6. Aussi, les travaux de Halima *et al.*, (2015) ont montré que l'activité maximale des amylases d'avoine est située à un pH 5,6.

5/ Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

La thermo-stabilité des lipases et des amylases de l'extrait brut enzymatique des flocons d'avoine a été testée après un traitement thermique de la solution d'avoine, à 90° C pendant 30 min et 60 min. Les figures ci-dessous représentent les résultats obtenus.



A)



B)

Figure 11 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des lipases (A) et des amylases (B) de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.

Les résultats de ce test montrent que l'activité résiduelle, après traitement thermique à 90°C, des lipases et des amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine, sont différentes. Le traitement thermique affecte la stabilité des 2 hydrolases de manière différente. En effet, après 30 min de traitement à 90°C, les lipases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine ne conservent que 17% de leur activité alors que celle des amylases conservent 100% de leur activité d'origine. Après 60 min de traitement à 90°C, les activités des lipases et des amylases sont sévèrement affectées et perdent, respectivement, 100% et 99% de leurs activités d'origine. Ce qui montre que ces deux hydrolases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine sont thermosensibles au traitement thermique. Des travaux ont montré que les enzymes de l'avoine sont thermosensibles, en effet, selon Zhang *et al* (2021b), le traitement thermique de l'avoine inactive les enzymes. Aussi, Li *et al.*, (2019), ont montré que la chitinase de l'avoine est inactivée à des températures élevées supérieures à 85°C. De plus, il a été montré que les lipases d'origine végétale sont peu thermostables (Fickers *et al.*, 2008), ce qui est en accord avec nos résultats.

Ces résultats de diminution de l'activité peuvent être expliqués par le fait que la température conduit à un affaiblissement des liaisons hydrogène intermoléculaires qui assurent l'intégrité de la structure enzymatique, induisent des modifications conformationnelles différentes et par conséquent l'activité enzymatique résiduelle finale (Cavaillé., 1995).

6/ Effet du pH sur la stabilité des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine

L'influence du pH sur la stabilité des 2 hydrolases de l'extrait brut enzymatique des flocons d'avoine a été testée par pré-incubation de la solution d'avoine pendant 30 min et 60 min dans des solutions de HCl (acide) et de NaOH (basique) à 2 M et à température ambiante. Les figures ci-dessous représentent les résultats de l'activité résiduelle des 2 hydrolases obtenus après ce traitement.

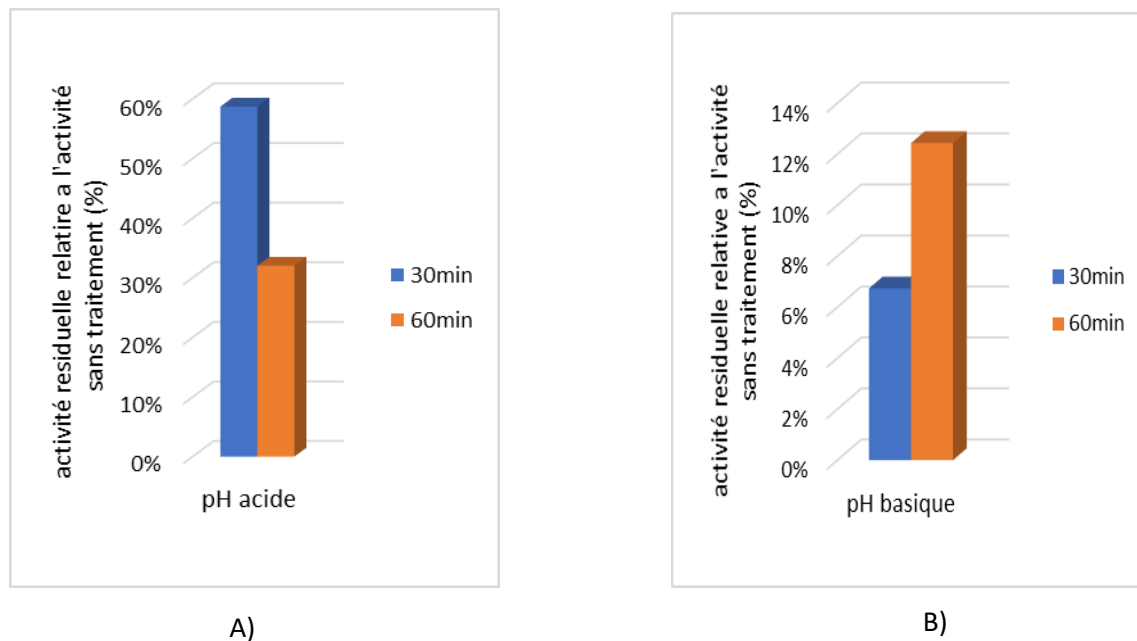


Figure 12 : Effet du traitement pH acide(A) et du traitement pH basique (B) sur la stabilité des amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.

Les résultats de ce test montrent que l'activité résiduelle, après traitement pH, des lipases et des amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine, est différente. Le traitement pH affecte la stabilité des 2 hydrolases de manière différente.

Après traitement à pH acide (Figure 12 A), les lipases d'avoine ne présentent aucune activité, ce qui montre qu'elles sont sensibles à ce traitement, alors que les amylases d'avoine retiennent jusqu'à 59% de leurs activités d'origine après 30 min de traitement et 32% après 60 min de traitement. Ce résultat montre que les amylases qu'on a testées présentent une certaine stabilité comme c'est le cas des amylases de grains de maïs qui conservent 75% de leur activité d'origine à pH 5 (Figueira *et al.*, 2003).

Après traitement à pH basique, les amylases d'avoine perdent presque 90% de leur activité (Figure 12 B). Les travaux de Aljabi, (2016) ont montré que l' α -amylase du blé et du maïs à pH basique (pH9) présente des conditions défavorables à la conservation de leur stabilité (10%), ce qui est similaire à notre résultat.

Ceci montre que le traitement pH basique influence plus sévèrement l'activité amylasique par rapport au traitement acide. Pour le traitement basique des lipases, ce test n'a pas pu être réalisé du fait que le dosage de l'activité se base sur un virage de couleur lorsque le pH est basique et la

Résultats Et Discussion

solution à doser se trouve en condition d'alcalinité avant même le dosage en raison de la présence du NaOH qui permis le traitement (virage de couleur avant la titration).

Ces résultats de diminution de l'activité peuvent être expliqué par le fait que le pH extrême influence sur la stabilité de l'enzyme par la variation des charges de ces acides aminés, aussi il y'aura interruption des interactions électrostatiques et des liaisons hydrogène qui ont un rôle direct sur la stabilisation de la structure tridimensionnelle de l'enzyme (Antonini et Ascenzi., 1981).

7/ Discussion générale

Les lipases et les amylases sont des enzymes très polyvalentes obtenue à partir de diverses sources vivantes (animales, végétales et microbiennes) (Chandra *et al.*, 2020 ; Rodríguez-Viera *et al.*, 2016). Les lipases et les amylases sont des enzymes hydrolytiques qui sont indispensables des industries mondiales (Lahmar *et al.*, 2017). Ces ont attiré l'attention sur leur importance dans plusieurs processus industriels (Kumari *et al.*, 2019) de par leurs avantages comme leurs activité et stabilité accrues, solubilité plus élevée du substrat, facilité de récupération des produits (Sharma et Kanwar, 2014), ce qui les rend indispensables dans les industries alimentaires, des détergents, du cuir, du textile, du cosmétique, et les industries pharmaceutique (Okino-Delgado *et al.*, 2017 ; Sharma et Kanwar, 2014). Cependant, les conditions extrêmes requises pour de nombreuses opérations industrielles limitent l'applicabilité de la plupart des hydrolases présentes dans la nature (Gómez-Villegas *et al.*, 2021) ; La caractérisation biochimique détaillée des leurs activités et leurs stabilités en fonction de la température et le pH est donc indispensable pour leurs utilisations industrielle (Li *et al.*, 2007 ; Da Lage, 2018).

De nos jours beaucoup de recherche sur des lipases et amylases des différentes parties de plante ont été réalisé afin de sélectionner des nouvelles propriétés adaptables aux conditions utilisées dans les processus industriels (Azad *et al.*, 2009 ; Figueira *et al.*, 2003 ; Khemakhem *et al.*, 2013 ; Lahmar *et al.*, 2017 ; Rajan *et al.*, 2020 ; Sankar et Ponnuraj, 2020 ; Shah, 2005).

L'objectif de notre étude était de caractériser l'activité et la stabilité des lipases et des amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine selon les variations de pH et de la température, selon les résultats obtenus (Tableau 4) il en ressort que :

Les lipases et les amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine ont un optimum d'activité à pH 7,2 et à une température de 37 °C.

Résultats Et Discussion

Pour le test de stabilité thermique, le traitement à 90°C les lipases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine n'ont gardé que 17% de leur activité d'origine après 30min de traitement alors que les amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine retiennent jusqu'à 100% de leurs activités d'origine après 30 min de traitement. Par contre après 60 min de traitement a sévèrement affecté les 2 enzymes, en effet, les lipases et les amylases ont perdu, respectivement, 100% et 99% de leur l'activité.

Pour le test de stabilité à différents pH, le traitement au pH acide et pH basique ont affecté la stabilité des lipases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine, en effet, aucune activité n'a été détectée. Concernant les amylases, elles sont plus affectées par le traitement basique que le traitement acide, ces amylases ont perdu presque 90% de leur activité après 60 min de traitement basique. Ce qui montre que les 2 hydrolases testées sont sensibles au traitement pH, néanmoins, les amylases sont moins sensibles aux traitements extrêmes par rapport aux lipases.

Tableau 3 : Tableau récapitulatif de la caractérisation des lipases et amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine.

	Lipase de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine (<i>Avena sativa</i>)		Amylases de l'extrait brut enzymatique de la poudre des flocons d'avoine (<i>Avena sativa</i>)	
Activité	pH optimal	7,2	pH optimal	7,2
	Température optimale	37°C	Température optimale	37°C
Stabilité	Stabilité thermique à 90°C (Activité résiduelle)	Faible (17% pour 30 min) (0% pour 60 min)	Stabilité thermique à 90°C	Moyenne (100% pour 30 min) (1% pour 60 min)
	Stabilité aux pHs extrêmes (activité résiduelle)	Faible Car aucune activité	Stabilité aux pHs extrêmes	Moyenne

Résultats Et Discussion

				Acide (59% pour 30 min et 32% pour 60 min) Basique (7% pour 30 min et 12% pour 60 min)
--	--	--	--	---

Conclusion Et Perspectives

Conclusion et perspectives

Notre étude consistait à rechercher et à caractériser l'activité et la stabilité des deux hydrolases (lipases et amylases) des flocons d'avoine (*Avena sativa*) en fonction des variations de température et du pH.

Les résultats de l'influence de température et du pH sur l'activité de ces 2 hydrolases, montrent que l'activité de ces dernières atteint son optimum à une température de 37°C et à un pH 7,2.

Concernant les tests de stabilité des 2 hydrolases aux conditions extrêmes, les résultats du traitement thermique montrent qu'après 60 min de traitement à 90°C, les deux hydrolases sont thermosensibles et perdent la totalité de leur activité (aucune activité résiduelle détectée).

Pour le traitement pH, les résultats montrent que les 2 hydrolases sont sensibles à ce traitement, les amylases sont sévèrement affectées au pH basique et ne retiennent que 32% de leur activité suite au traitement acide. Pour les lipases, elles ont perdu la totalité de leur activité suite au traitement acide, le traitement basique n'a pu être testé par ce protocole comme expliqué précédemment.

D'après les résultats de notre étude ; il est nécessaire de mieux caractériser nos enzymes d'avoine en recherchant d'autre facteur impliqué dans la catalyse enzymatique tel que leur séquence en acides aminés, de leur structure et conformation tridimensionnelle etc.

Cela permettra d'apporter des modifications génétiques des gènes codants ces enzymes afin de les rendre adaptables et utilisables aux conditions industrielles extrêmes.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Adamczyk, B., Smolander, A., Kitunen, V., & Godlewski, M. (2010). Proteins as nitrogen source for plants: a short story about exudation of proteases by plant roots. *Plant signaling & behavior*, 5(7), 817-819.
2. Afendi, F. M., Okada, T., Yamazaki, M., Hirai-Morita, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., ... & Kanaya, S. (2012). KNApSAcK family databases: integrated metabolite–plant species databases for multifaceted plant research. *Plant and Cell Physiology*, 53(2), e1-e1.
3. Agarwal, P. K. (2006). Enzymes: An integrated view of structure, dynamics and function. *Microbial cell factories*, 5(1), 1-12.
4. Agarwal, P. K. (2018). A biophysical perspective on enzyme catalysis. *Biochemistry*, 58(6), 438-449.
5. Aljabi, H. R. (2016). Characterization of α -amylase in wheat and maize.
6. Amghar, D. (2019). *Contribution à l'étude de l'influence d'un herbicide, le Glyphosate et d'un fongicide, le Mancozèbe, sur la germination, la croissance et la physiologie de deux céréales: Hordeum vulgare L. et Avena sativa L* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
7. Allwood, J. W., Xu, Y., Martinez-Martin, P., Palau, R., Cowan, A., Goodacre, R., ... & Howarth, C. (2019). Rapid UHPLC-MS metabolite profiling and phenotypic assays reveal genotypic impacts of nitrogen supplementation in oats. *Metabolomics*, 15(3), 1-19.
8. Antonini, E., & Ascenzi, P. (1981). The mechanism of trypsin catalysis at low pH. Proposal for a structural model. *Journal of Biological Chemistry*, 256(23), 12449-12455.
9. Asselin, A. (1993). Quelques enzymes végétales à potentiel antimicrobien. *Phytoprotection*, 74(1), 3-18.
10. Azad, M. A. K., Bae, J. H., Kim, J. S., Lim, J. K., Song, K. S., Shin, B. S., & Kim, H. R. (2009). Isolation and characterization of a novel thermostable α -amylase from Korean pine seeds. *New Biotechnology*, 26(3-4), 143-149.
11. Babiker, F., Al-Jarallah, A., & Joseph, S. (2016). The interplay between the renin-angiotensin system and pacing postconditioning induced cardiac protection. *PloS one*, 11(11), e0165777.

12. Bacou, F., & Vigneron, P. (1976). Evolution périnatale des voies métaboliques glycolytique et oxydative de divers types de muscles squelettiques du lapin et du poulet. In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* (Vol. 16, No. 5, pp. 675-686). EDP Sciences.
13. Banat, I. M., Nigam, P., & Marchant, R. (1992). Isolation of thermotolerant, fermentative yeasts growing at 52 C and producing ethanol at 45 C and 50 C. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8(3), 259-263.
14. Bhatia, S. (2018). Introduction to Pharmaceutical Biotechnology, Volume 2; Enzymes, proteins and bioinformatics. *Introduction to Pharmaceutical Biotechnology*.
15. Bino, R. J., Hall, R. D., Fiehn, O., Kopka, J., Saito, K., Draper, J., ... & Sumner, L. W. (2004). Potential of metabolomics as a functional genomics tool. *Trends in plant science*, 9(9), 418-425.
16. Borrelli, G. M., & Trono, D. (2015). Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. *International journal of molecular sciences*, 16(9), 20774-20840.
17. Boyce, S., & Tipton, K. F. (2001). Enzyme classification and nomenclature. *e LS*.
18. Bräsen, C., Esser, D., Rauch, B., & Siebers, B. (2014). Carbohydrate metabolism in Archaea: current insights into unusual enzymes and pathways and their regulation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(1), 89-175.
19. Butt, M. S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R., & Butt, M. S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European journal of nutrition*, 47(2), 68-79.
20. Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M. (2018). Biotechnological applications of archaeal enzymes from extreme environments. *Biological research*, 51.
21. Carmona-Gutierrez, D., Bauer, M. A., Zimmermann, A., Aguilera, A., Austriaco, N., Ayscough, K., ... & Madeo, F. (2018). Guidelines and recommendations on yeast cell death nomenclature. *Microbial Cell*, 5(1), 4.
22. Chandra, P., Singh, R., & Arora, P. K. (2020). Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-42.
23. Cavaillé, D. (1995). *Influence de la pression et de la température sur la dynamique des milieux de solvation et de la stabilité des enzymes* (Doctoral dissertation, Toulouse).

Références bibliographiques

24. Chen, O., Mah, E., Dioum, E., Marwaha, A., Shanmugam, S., Malleshi, N., ... & Chu, Y. (2021). The Role of Oat Nutrients in the Immune System: A Narrative Review. *Nutrients*, 13(4), 1048.
25. Choi, J. M., Han, S. S., & Kim, H. S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology advances*, 33(7), 1443-1454.
26. Cline, K., & Albersheim, P. (1981). Host-Pathogen Interactions: XVII. Hydrolysis of Biologically Active Fungal Glucans by Enzymes Isolated from Soybean Cells. *Plant physiology*, 68(1), 221-228.
27. COMBES, D., & MONSAN, P. (2009). Biocatalyse ou catalyse enzymatique. *Techniques de l'ingénieur. Bioprocédés*, (BIO590).
28. Concu, R., & Cordeiro, M. N. D. S. (2019). Alignment-free method to predict enzyme classes and subclasses. *International journal of molecular sciences*, 20(21), 5389.
29. Contreras-Zentella, M. L., & Hernández-Muñoz, R. (2016). Is liver enzyme release really associated with cell necrosis induced by oxidant stress?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
30. Cooper, G. M. (1999). *La cellule: une approche moléculaire*. De Boeck Supérieur.
31. Da Lage, J. L. (2018). The amylases of insects. *International journal of insect science*, 10, 1179543318804783.
32. Dale, J. M., Popescu, L., & Karp, P. D. (2010). Machine learning methods for metabolic pathway prediction. *BMC bioinformatics*, 11(1), 1-14.
33. Dalkiran, A., Rifaioglu, A. S., Martin, M. J., Cetin-Atalay, R., Atalay, V., & Doğan, T. (2018). ECPred: a tool for the prediction of the enzymatic functions of protein sequences based on the EC nomenclature. *BMC bioinformatics*, 19(1), 1-13.
34. Daniell, H., Singh, N. D., Mason, H., & Streatfield, S. J. (2009). Plant-made vaccine antigens and biopharmaceuticals. *Trends in plant science*, 14(12), 669-679.
35. Davidson, R., Baas, B. J., Akiva, E., Holliday, G. L., Polacco, B. J., LeVieux, J. A., ... & Babbitt, P. C. (2018). A global view of structure–function relationships in the tautomerase superfamily. *Journal of Biological Chemistry*, 293(7), 2342-2357.
36. Davies, H. M. (2010). Commercialization of whole-plant systems for biomanufacturing of protein products: evolution and prospects. *Plant biotechnology journal*, 8(8), 845-861.

Références bibliographiques

37. De Lourdes Moreno, M., Pérez, D., García, M. T., & Mellado, E. (2013). Halophilic bacteria as a source of novel hydrolytic enzymes. *Life*, 3(1), 38-51. Di Li, J. R., Du, Q., Liu, P., & Li, Y. (2021). The anti-hypoxic effects of oat (*Avena sativa* L.) oligopeptides in mice. *American Journal of Translational Research*, 13(3), 1657.
38. De Souza, M. C. P., Deschenes, M. E., Laurencelle, S., Godet, P., Roy, C. C., & Djilali-Saiah, I. (2016). Pure oats as part of the canadian gluten-free diet in celiac disease: The need to revisit the issue. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2016.
39. Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., ... & Liu, S. Q. (2016). Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International journal of molecular sciences*, 17(2), 144.
40. Egelhofer, V., Schomburg, I., & Schomburg, D. (2010). Automatic assignment of EC numbers. *PLoS Comput Biol*, 6(1), e1000661.
41. Eid, A. M., Fouda, A., Abdel-Rahman, M. A., Salem, S. S., Elsaied, A., Oelmüller, R., ... & Hassan, S. E. D. (2021). Harnessing Bacterial Endophytes for Promotion of Plant Growth and Biotechnological Applications: An Overview. *Plants*, 10(5), 935.
42. Ekstrand, B., Gangby, I., & Akesson, G. (1992). Lipase activity in oats—distribution, pH dependence and heat inactivation. *Cereal chemistry*, 69(4), 379-381.
43. Falch, E. A. (1991). Industrial enzymes—developments in production and application. *Biotechnology advances*, 9(4), 643-658.
44. Fan, H., Liang, Y., Jiang, B., Li, X., Xun, H., Sun, J., ... & Ma, X. (2016). Curcumin inhibits intracellular fatty acid synthase and induces apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Oncology reports*, 35(5), 2651-2656.
45. Farkhanda, F. Khan, Z. Nazia, D et Mular, S. (2017). Determination of amylase activity from germinated *Syzygiumcumini* seed (jamun). *International Journal of Applied Research* , 3(1), 573-575
46. Fernandes, P. (2010). Enzymes in food processing: a condensed overview on strategies for better biocatalysts. *Enzyme research*, 2010.
47. Fickers, P., Destain, J., & Thonart, P. (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques: principales caractéristiques et applications. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 12(2), 119-130.

Références bibliographiques

48. Figueira, E. L., Hirooka, E. Y., Mendiola-Olaya, E., & Blanco-Labra, A. (2003). Characterization of a hydrophobic amylase inhibitor from corn (*Zea mays*) seeds with activity against amylase from *Fusarium verticillioides*. *Phytopathology*, *93*(8), 917-922.
49. Fried, S. D., & Boxer, S. G. (2017). Electric fields and enzyme catalysis. *Annual review of biochemistry*, *86*, 387-415.
50. Furukawa, R., Toma, W., Yamazaki, K., & Akanuma, S. (2020). Ancestral sequence reconstruction produces thermally stable enzymes with mesophilic enzyme-like catalytic properties. *Scientific reports*, *10*(1), 1-13.
51. Gianfreda, L. (2015). Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Journal of soil science and plant nutrition*, *15*(2), 283-306.
52. Gómez-Villegas, P., Vígara, J., Romero, L., Gotor, C., Raposo, S., Gonçalves, B., & León, R. (2021). Biochemical Characterization of the Amylase Activity from the New Haloarchaeal Strain *Haloarcula* sp. HS Isolated in the Odiel Marshlands. *Biology*, *10*(4), 337.
53. Gurung, N., Ray, S., Bose, S., & Rai, V. (2013). A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed research international*, *2013*.
54. H. Karasov, W., & Douglas, A. E. (2013). Comparative digestive physiology. *Comprehensive Physiology*, *3*(2), 741-783.
55. HADDOUCHI, F., & BENMANSOUR, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, *3*(8).
56. Halima, N. B. (2019). Analysis of glycoside hydrolases from oat (*Avena sativa*) seedling extract. *Bioinformation*, *15*(9), 678.
57. Halima, N. B., Borchani, M., Fendri, I., Khemakhem, B., Gosset, D., Baril, P., ... & Abdelkafi, S. (2015). Optimised amylases extraction from oat seeds and its impact on bread properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *72*, 1213-1221.
58. Halima, N. B., Saad, R. B., Khemakhem, B., Fendri, I., & Abdelkafi, S. (2015). Oat (*Avena sativa* L.): oil and nutriment compounds valorization for potential use in industrial applications. *Journal of oleo science*, ess15074.
59. Hauer, B. (2020). Embracing Nature's Catalysts: A Viewpoint on the Future of Biocatalysis. *ACS Catalysis*, *10*(15), 8418-8427.

Références bibliographiques

60. Herker, E., Jungwirth, H., Lehmann, K. A., Maldener, C., Fröhlich, K. U., Wissing, S., ... & Madeo, F. (2004). Chronological aging leads to apoptosis in yeast. *The Journal of cell biology*, 164(4), 501-507.
61. Hosseini, E., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2010). Optimization of enzymatic activities in malting of oat. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 4(7), 452-457.
62. Ibrahim, K. M., Dube, S., Peterson, P. M., & Hosni, H. A. (2018). *Grasses of Mali*. Washington DC: Smithsonian Institution Scholarly Press.
63. Jackson, C. R., Tyler, H. L., & Millar, J. J. (2013). Determination of microbial extracellular enzyme activity in waters, soils, and sediments using high throughput microplate assays. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (80).
64. Jokinen, I., Pihlava, J. M., Pughan, A., Sontag-Strohm, T., Linderborg, K. M., Holopainen-Mantila, U., ... & Nordlund, E. (2021). Predicting the Properties of Industrially Produced Oat Flours by the Characteristics of Native Oat Grains or Non-Heat-Treated Groats. *Foods*, 10(7), 1552.
65. Karam, J., & Nicell, J. A. (1997). Potential applications of enzymes in waste treatment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental AND Clean Technology*, 69(2), 141-153.
66. Ke, H., Lewis, I. A., Morrissey, J. M., McLean, K. J., Ganesan, S. M., Painter, H. J., ... & Vaidya, A. B. (2015). Genetic investigation of tricarboxylic acid metabolism during the Plasmodium falciparum life cycle. *Cell reports*, 11(1), 164-174.
67. Khemakhem, B., Fendri, I., Dahech, I., Belghuith, K., Kammoun, R., & Mejdoub, H. (2013). Purification and characterization of a maltogenic amylase from Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds using the Box Benken Design (BBD). *Industrial Crops and Products*, 43, 334-339.
68. Kim, J. S., Yang, J., & Kim, M. J. (2011). Alpha glucosidase inhibitory effect, antimicrobial activity and UPLC analysis of *Rhus verniciflua* under various extract conditions. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5), 778-783.
69. Kim, S., Kim, T. H., Jeong, Y. J., Park, S. H., Park, S. C., Lee, J., ... & Kim, C. Y. (2021). Synergistic Effect of Methyl Jasmonate and Abscisic Acid Co-Treatment on Avenanthramide Production in Germinating Oats. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4779.

Références bibliographiques

70. Kingsley, L. J., & Lill, M. A. (2015). Substrate tunnels in enzymes: structure–function relationships and computational methodology. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 83(4), 599-611.
71. Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N., & Kimura, T. (2007). Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *Journal of food engineering*, 78(2), 556-560.
72. Kuchler, K., Daum, G., & Paltauf, F. (1986). Subcellular and submitochondrial localization of phospholipid-synthesizing enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bacteriology*, 165(3), 901-910.
73. Kumari, U., Singh, R., Ray, T., Rana, S., Saha, P., Malhotra, K., & Daniell, H. (2019). Validation of leaf enzymes in the detergent and textile industries: launching of a new platform technology. *Plant biotechnology journal*, 17(6), 1167-1182.
74. Lahmar, I., El Abed, H., Khemakhem, B., Belghith, H., Ben Abdallah, F., & Belghith, K. (2017). Optimization, Purification, and Starch Stain Wash Application of Two New α -Amylases Extracted from Leaves and Stems of *Pergularia tomentosa*. *BioMed research international*, 2017.
75. Lawton, C. L., Walton, J., Hoyland, A., Howarth, E., Allan, P., Chesters, D., & Dye, L. (2013). Short term (14 days) consumption of insoluble wheat bran fibre-containing breakfast cereals improves subjective digestive feelings, general wellbeing and bowel function in a dose dependent manner. *Nutrients*, 5(4), 1436-1455.
76. Li, C., Li, X., Bai, C., Zhang, Y., & Wang, Z. (2019). A chitinase with antifungal activity from naked oat (*Avena chinensis*) seeds. *Journal of food biochemistry*, 43(2), e12713.
77. Li, H., Chi, Z., Wang, X., & Ma, C. (2007). Amylase production by the marine yeast *Aureobasidium pullulans* N13d. *Journal of Ocean University of China*, 6(1), 60-65.
78. Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M., & Wang, X. (2012). Technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. *Computational and structural biotechnology journal*, 2(3), e201209017.
79. Li, Y., Wang, S., Umarov, R., Xie, B., Fan, M., Li, L., & Gao, X. (2018). DEEPRe: sequence-based enzyme EC number prediction by deep learning. *Bioinformatics*, 34(5), 760-769.

Références bibliographiques

80. Liu, X., Feng, Y., Lai, X., Deng, T., Liu, X., Lyu, M., & Wang, S. (2020). Virgibacillus lusalodenitrificans ST-1 for fermentation of shrimp paste and hydrolysates of its protease. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5352-5361.
81. Liu, T., Liu, X., Zhou, R., Chen, H., Zhang, H., & Zhang, B. (2021). De novo Transcriptome Assembly and Comparative Analysis Highlight the Primary Mechanism Regulating the Response to Selenium Stimuli in Oats (*Avena sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 12, 1220.
82. Longoni, P., Leelavathi, S., Doria, E., Reddy, V. S., & Cella, R. (2015). Production by tobacco transplastomic plants of recombinant fungal and bacterial cell-wall degrading enzymes to be used for cellulosic biomass saccharification. *BioMedresearchinternational*, 2015.
83. Martin, H. F., & Peers, F. G. (1953). Oatlipase. *Biochemical Journal*, 55(3), 523-529.
84. Martín-Diana, A. B., García-Casas, M. J., Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Peñas, E., & Rico, D. (2021). Wheat and Oat Brans as Sources of Polyphenol Compounds for Development of Antioxidant Nutraceutical Ingredients. *Foods*, 10(1), 115.
85. Mc Donald, A. G., & Tipton, K. F. (2014). Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *The FEBS journal*, 281(2), 583-592.
86. Mihut, A. M., Stenqvist, B., Lund, M., Schurtenberger, P., & Crassous, J. J. (2017). Assembling oppositely charged lock and key responsive colloids: A mesoscale analog of adaptive chemistry. *Science advances*, 3(9), e1700321.
87. Mukherjee, A. K., Basu, S., Sarkar, N., & Ghosh, A. C. (2001). Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Current medicinal chemistry*, 8(12), 1467-1486.
88. Neet, K. E. (1998). Enzyme catalytic power minireview series. *Journal of Biological Chemistry*, 273(40), 25527-25528.
89. Nisha, S., Karthick, S. A., & Gobi, N. (2012). A review on methods, application and properties of immobilized enzyme. *Chemical Science Review and Letters*, 1(3), 148-155.
90. Okino-Delgado, C. H., Prado, D. Z. D., Facanali, R., Marques, M. M. O., Nascimento, A. S., Fernandes, C. J. D. C., ... & Fleuri, L. F. (2017). Bioremediation of cooking oil waste using lipases from wastes. *PLoS One*, 12(10), e0186246.
91. Pérès, G., Bogé, G., Colin, D., & Rigal, A. (1973). Effets. jde la température sur les processus digestifs des Poissons activités enzymatiques et absorption intestinale.

Références bibliographiques

92. Perrelli, A., Goitre, L., Salzano, A. M., Moglia, A., Scaloni, A., & Retta, S. F. (2018). Biological activities, health benefits, and therapeutic properties of avenanthramides: from skin protection to prevention and treatment of cerebrovascular diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
93. Podyma, W., Bolc, P., Nocen, J., Puchta, M., Włodarczyk, S., Lapinski, B., & Boczkowska, M. (2019). A multilevel exploration of *Avena strigosa* diversity as a prelude to promote alternative crop. *BMC plant biology*, 19(1), 1-19.
94. Priyadarshini, P., & Singh, B. (2019). Computational resources and techniques in enzyme research. In *Advances in Enzyme Technology* (pp. 453-468). Elsevier.
95. Rajan, L., Palaniswamy, D., & Mohankumar, S. K. (2020). Targeting obesity with plant-derived pancreatic lipase inhibitors: a comprehensive review. *Pharmacological research*, 155, 104681.
96. Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., & Unnikrishnan, V. S. (2015). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods-a review. *Journal of food science and technology*, 52(2), 662-675.
97. Richard, J. P. (2013). Enzymatic rate enhancements: a review and perspective. *Biochemistry*, 52(12), 2009-2011.
98. Richard, J. P. (2019). Protein flexibility and stiffness enable efficient enzymatic catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 141(8), 3320-3331.
99. RL Morlighem, J. É., Huang, C., Liao, Q., Braga Gomes, P., Daniel Pérez, C., De Brandão Prieto-da-Silva, Á., ... & Radis-Baptista, G. (2018). The holo-transcriptome of the zoantharian protopalpythoa *variabilis* (cnidaria: Anthozoa): A plentiful source of enzymes for potential application in green chemistry, industrial and pharmaceutical biotechnology. *Marine drugs*, 16(6), 207.
100. Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59, 1.
101. Rodríguez-Viera, L., Perera, E., Martos-Sitcha, J. A., Perdomo-Morales, R., Casuso, A., Montero-Alejo, V., ... & Mancera, J. M. (2016). Molecular, biochemical, and dietary regulation features of α -amylase in a carnivorous crustacean, the spiny lobster *Panulirus argus*. *PLoS one*, 11(7), e0158919.

102. Salgado, P., Cuong, V. C., Van Thu, T., & Ly, N. T. H. (2008). Production et utilisation de l'avoine fourragère (*Avena sativa*) au nord du Vietnam: une solution pour résoudre le déficit fourrager en hiver. (Proposition pour la prise en compte de l'avoine fourragère dans la liste officielle d'espèces fourragères du Vietnam).
103. Sankar, S., & Ponnuraj, K. (2020). Less explored plant lipases: Modeling and molecular dynamics simulations of plant lipases in different solvents and temperatures to understand structure-function relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 3546-3558.
104. Schilperoord, P. (2018). Plantes cultivées en Suisse—cinq nouvelles monographies. *Recherche agronomique suisse*, *9*(1), 26-29.
105. Schneider, H. J. (2015). Limitations and extensions of the lock-and-key principle: Differences between gas state, solution and solid state structures. *International journal of molecular sciences*, *16*(4), 6694-6717.
106. Shah, J. (2005). Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, *43*, 229-260.
107. Sharma, S., & Kanwar, S. S. (2014). Organic solvent tolerant lipases and applications. *The Scientific World Journal*, *2014*.
108. Sheldon, R. A., Brady, D., & Bode, M. L. (2020). The Hitchhiker's guide to biocatalysis: recent advances in the use of enzymes in organic synthesis. *Chemical science*, *11*(10), 2587-2605.
109. Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, *6*(2), 1-15.
110. Singh, R. N., Bahuguna, A., Chauhan, P., Sharma, V. K., Kaur, S., Singh, S. K., & Khan, A. (2016). Production, purification and characterization of thermostable α -amylase from soil isolate *Bacillus* sp. strain B-10. *Journal of BioScience & Biotechnology*, *5*(1).
111. Smichi, N., Fendri, A., Triki, S., Arondel, V., Rebai, A., Gargouri, Y., & Miled, N. (2017). Biochemical characterization, cloning and molecular modeling of a digestive lipase from red seabream (*Pagrus major*): structural explanation of the interaction deficiency with co-lipase and lipidic interface. *Engineering in Life Sciences*, *17*(6), 664-677.

112. Solaiman, E. A. M., Hegazy, W. K., & Moharam, M. E. (2005). Induction of overproducing alkaline protease *Bacillus* mutants through UV irradiation. *Arab J. Biotech.*—2005.—8, (1), 49-60.
113. Tarazona, A., Gómez, J. V., Mateo, F., Jiménez, M., & Mateo, E. M. (2021). Potential Health Risk Associated with Mycotoxins in Oat Grains Consumed in Spain. *Toxins*, 13(6), 421.
114. Tusé, D., Tu, T., & McDonald, K. A. (2014). Manufacturing economics of plant-made biologics: case studies in therapeutic and industrial enzymes. *BioMed research international*, 2014.
115. Wang, X., Li, D., Watanabe, T., Shigemori, Y., Mikawa, T., Okajima, T., ... & Ohsaka, T. (2012). A glucose/o-2 biofuel cell using recombinant thermophilic enzymes. *Int. J. Electrochem. Sci*, 7, 1071-1078.
116. Wati, L., Dhamija, S. S., Singh, D., Nigam, P. S. N., & Marchant, R. (1996). Characterisation of genetic control of thermotolerance in mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *New Genetics and Society*, 16(1), 19-26.
117. Worning, P., Jensen, L. J., Hallin, P. F., Stærfeldt, H. H., & Ussery, D. W. (2006). Origin of replication in circular prokaryotic chromosomes. *Environmental microbiology*, 8(2), 353-361.
118. Xu, J., Towler, M., & Weathers, P. J. (2018). Platforms for plant-based protein production. *Bioprocessing of plant in vitro systems*, 509.
119. Yang, Z., Wang, K., Aziz, U., Zhao, C., & Zhang, M. (2020). Evaluation of duplicated reference genes for quantitative real-time PCR analysis in genome unknown hexaploid oat (*Avena sativa* L.). *Plant methods*, 16(1), 1-14.
120. Yi, H., Yi, M. A., & Choe, H. T. (2005). Changes in lipoxygenase properties and activity related to postgerminative growth and senescence in oat (*Avena sativa* L cv. Victory 1). *Journal of Plant Biology*, 48(4), 429-439.
121. Yu, L., Chen, X., Wang, L., & Chen, S. (2016). The sweet trap in tumors: aerobic glycolysis and potential targets for therapy. *Oncotarget*, 7(25), 38908.
122. Żebrowska, E., Milewska, M., & Ciereszko, I. (2017). Mechanisms of oat (*Avena sativa* L.) acclimation to phosphate deficiency. *PeerJ*, 5, e3989.
123. Zhang, C., & Kim, S. K. (2010). Research and application of marine microbial enzymes: status and prospects. *Marine drugs*, 8(6), 1920-1934.

Références bibliographiques

124. Zhang, K., Dong, R., Hu, X., Ren, C., & Li, Y. (2021a). Oat-Based Foods: Chemical Constituents, Glycemic Index, and the Effect of Processing. *Foods*, *10*(6), 1304.
125. Zhang, N., Zhao, L., Cai, S., Zeng, X., Wu, W., Ji, B., & Zhou, F. (2021b). Ethyl acetate subfractions from ethanol extracts of fermented oats (*Avena sativa* L.) exert anti-cancer properties in vitro and in vivo through G2/M and S Phase arrest and apoptosis. *Journal of Cancer*, *12*(7), 1853.
126. Zhou, J., Olson, D. G., Argyros, D. A., Deng, Y., van Gulik, W. M., van Dijken, J. P., & Lynd, L. R. (2013). Atypical glycolysis in *Clostridium thermocellum*. *Applied and environmental microbiology*, *79*(9), 3000-3008.

Résumé

Les enzymes sont des biocatalyseurs omniprésents chez tous les organismes vivants. Ils interviennent sur le plan cellulaire notamment dans divers métabolismes de l'organisme tel que la réplication, la transmission du signal, l'apoptose, la photosynthèse etc. Leurs actions spécifique et rapide a conduit les scientifiques à la recherche de leur exploitation dans différents domaines industriels afin de satisfaire les besoins de la vie quotidienne. Parmi ces enzymes, les hydrolases représentent la classe la plus utilisée dans le milieu industriel.

Un grand nombre d'enzymes provenant d'une variété de plantes différents jouent actuellement un rôle important dans un éventail d'applications industrielles différentes. La plante d'avoine est l'une des variétés la plus importante reconnue comme une céréale saine depuis le milieu des années 1980.

Pour cela, l'objectif de notre travail consiste à rechercher et caractériser des activités enzymatiques de 2 hydrolases (lipases et amylases) des flocons d'avoine (*Avena sativa*) par étude de l'influence du pH et de la température sur l'activité et la stabilité de ces 2 hydrolases.

Les résultats obtenus montrent que les 2 hydrolases atteignent leurs activités optimales à pH de 7,2 et à la température d'incubation de 37°C et que la stabilité de ces deux enzymes est affectée par les traitements de 60 min aux conditions extrêmes de température et de pH

Mots clés : flocons d'avoine, hydrolases, amylases, lipases, activité enzymatique, stabilité des enzymes.

Abstract

Enzymes are ubiquitous biocatalysts in all living organisms. They are involved at the cellular level in various metabolisms of the organism such as replication, signal transmission, apoptosis, photosynthesis etc. Their specific and rapid actions have led scientists to seek their exploitation in various industrial fields in order to satisfy the needs of daily life. Among these enzymes, hydrolases represent the most widely used class in industry.

A large number of enzymes from a variety of different plants currently play an important role in a range of different industrial applications. The oat plant is one of the most important varieties recognised as a healthy cereal since the mid-1980s.

To this end, the objective of our work is to research and characterise the enzymatic activities of 2 hydrolases (lipases and amylases) of oat flakes (*Avena sativa*) by studying the influence of pH and temperature on the activity and stability of these 2 hydrolases.

The results obtained show that both hydrolases reach their optimal activities at pH 7.2 and at the incubation temperature of 37°C and that the stability of both enzymes is affected by the 60 min treatments at extreme conditions of temperature and pH.

Key words: Hydrolases, Amylases, Lipases, Enzyme activity, Enzyme stability, Oats.

ملخص

الإنزيمات هي محفزات حيوية منتشرة في كل الكائنات الحية. يشاركون على المستوى الخلوي ، ولا سيما في مختلف عمليات التمثيل الغذائي في الجسم مثل النسخ المتماثل ، ونقل الإشارات ، وموت الخلايا المبرمج ، والتمثيل الضوئي ، وما إلى ذلك. دفعت تصرفاتهم المحددة والسريعة العلماء إلى البحث عن استغلالهم في مختلف المجالات الصناعية من أجل تلبية احتياجات الحياة اليومية. من بين هذه الإنزيمات ، تمثل الإنزيمات المائية الطبقة الأكثر استخدامًا في الصناعة.

يلعب عدد كبير من الإنزيمات من مجموعة متنوعة من المصانع المختلفة حاليًا دورًا مهمًا في مجموعة من التطبيقات الصناعية المختلفة. يعتبر نبات الشوفان من أهم الأصناف المعترف بها كحبوب صحية منذ منتصف الثمانينيات.

لهذا الغرض ، يتمثل الهدف من عملنا في البحث وتوصيف الأنشطة الأنزيمية لـ 2 هيدرولاز (الليباز والأميلاز) من رقائق الشوفان (*Avena sativa*) من خلال دراسة تأثير الأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة على نشاط واستقرار هذين الهيدرولازين.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هذين الإنزيمين يصلان إلى أنشطتهما المثلى عند درجة الحموضة 7.2 وعند درجة حرارة الحضانة البالغة 37 درجة مئوية وأن ثبات هذين الإنزيمين يتأثر بالعلاج لمدة 60 دقيقة تحت ظروف درجات الحرارة و الأس الهيدروجيني القصوى.

الكلمات المفتاحية: دقيق الشوفان ، الهيدرولاز ، الأميلاز ، الليباز ، نشاط الإنزيم ، استقرار الإنزيم.