

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel



MB.17/08

Faculté des Sciences
Département du Biologie Moléculaire et Cellulaire

01
24

Mémoire

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures
(D.E.S)

Option : Microbiologie

Thème

**La production de la tannase
par les microorganismes**

Membre du jury :

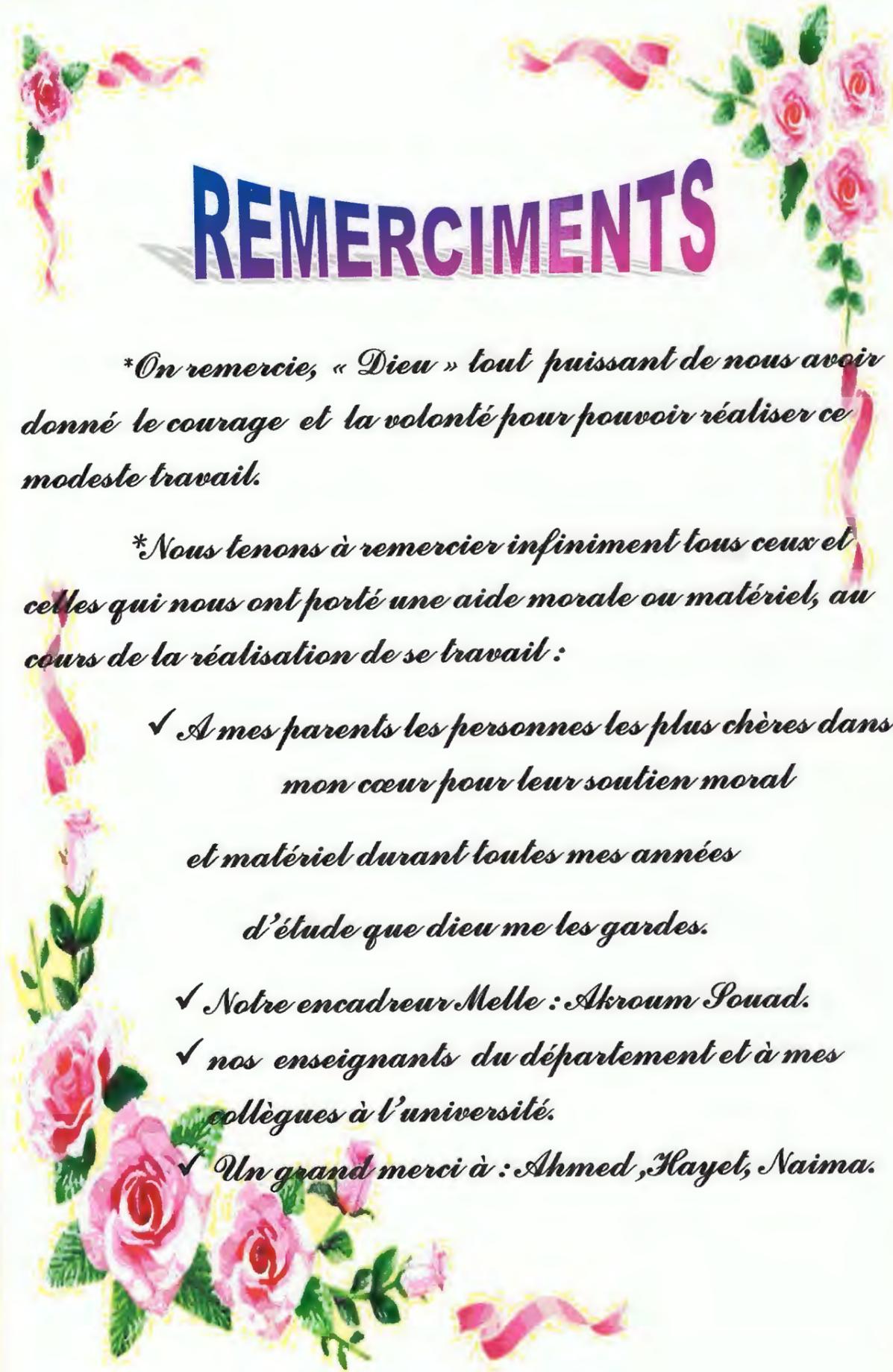
- ❖ Encadreur : M^{elle} AKROUM. S
- ❖ Examineur : Dr SIFOUR. M

Présenté par :

- ❖ MERGHIT Ilhem
- ❖ YEKHLEF Hasna
- ❖ MAACHE Basma



Promotion Juin: 2008



REMERCIEMENTS

**On remercie, « Dieu » tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté pour pouvoir réaliser ce modeste travail.*

**Nous tenons à remercier infiniment tous ceux et celles qui nous ont porté une aide morale ou matériel, au cours de la réalisation de se travail :*

✓ *A mes parents les personnes les plus chères dans mon cœur pour leur soutien moral*

et matériel durant toutes mes années

d'étude que dieu me les gardes.

✓ *Notre encadreur Melle : Akroum Pouad.*

✓ *nos enseignants du département et à mes collègues à l'université.*

✓ *Un grand merci à : Ahmed, Hayet, Naima.*

SOMMAIRE

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION..... | 01 |
| CHAPITRE I | |
| I.1 Les polyphénols | 03 |
| I.1.1 Définition des polyphénols..... | 03 |
| I.1.2 Les types des polyphénols..... | 03 |
| I.1.2.1.Les acides phénols..... | 03 |
| I.1.2.2 Les flavonoïdes..... | 04 |
| I.1.2.3 Les anthocyanes..... | 05 |
| I.1.2.4 Les tannins..... | 06 |
| I.2 Les tannins..... | 06 |
| I.2.1 Introduction..... | 06 |
| I.2.2 Les sources naturelles des tannins..... | 07 |
| I.2.3 Les types des tannins..... | 07 |
| I.2.3.1.Les tannins condensées..... | 08 |
| I.2.3.2 Les tannins hydrolysables..... | 10 |
| I.2.4 La biosynthèse des tannins..... | 14 |
| A. la voie de l'acide shikimique..... | 14 |
| B. La voie de l'acide malonique..... | 15 |
| I.2.5 Désagrément causé par l'ingestion des tannins..... | 16 |
| I.2.5.1 L'inhibition des enzymes digestives..... | 16 |
| I.2.5.2 Les effets antinutritionnels des tannins..... | 16 |
| CHAPITRE II | |
| II.1 Présentation de la tannase..... | 18 |
| II.2 Les micro-organismes producteurs de la tannase | 18 |
| II.2.1-Les bactéries | 18 |
| II.2.2 Les moisissures | 19 |
| II.3 Les conditions de la production de la tannase..... | 21 |

| | |
|---|----|
| II.4 Transformation microbienne de substrat tannin à l'acide gallique par la méthode de co-culture..... | 22 |
| II.5 L'activité de la tannase selon les différentes espèces productrices..... | 22 |

CHAPITRE III

| | |
|------------------------------------|----|
| III.1 Introduction..... | 24 |
| III.2 L'intérêt de la tannase..... | 24 |

| | |
|-----------------|----|
| DISCUSSION..... | 28 |
|-----------------|----|

| | |
|-----------------|----|
| CONCLUSION..... | 31 |
|-----------------|----|

| | |
|----------------------------------|----|
| RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 32 |
|----------------------------------|----|

LISTES DES FIGURES

- Figure01** : Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque.
Figure02 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique.
Figure03 : Structure des flavanoides.
Figure04 : Structure des anthocyanes.
Figure05 : La structure générale des tannins condensés.
Figure06 : Exemple des tannins condensés.
Figure07 : Quelques tannins hydrolysables représentatifs.
Figure08 : Ellagitannins formes par simples liaisons des groupes galloyl.
Figure09 : Voie de l'acide shikimique.
Figure10 : Proposition pour la biosynthèse des oligomères de procyanidines.

ABREVIATION

C : carbone.

D : dalton.

g : gramme.

h : heure.

KD : kilo dalton.

M : mol.

MSSF : La fermentation modifiée à semi-conducteurs.

PA : proanthocyanidine.

TH : tannins hydrolysable.

TC : tannins condensés.

tr/min : toure par minute.

UI/g : unité international.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La nutrition fournit à un organisme les composés chimiques nécessaires pour sa croissance, son développement, sa reproduction, sa défense, ses déplacements et sa survie (Slansky et Rodriguez 1987). Ces processus biotiques nécessitent une énergie qui est fournie grâce aux substances nutritives présentées dans nos aliments.

Les dernières recherches ont porté sur les aliments et ses constituants telle que les tannins qui sont des molécules polyphénoliques synthétisées par les végétaux pour se défendre des agressions environnementales, ils regroupent une multitude de composés et représentent l'un des groupes phénoliques les plus intéressants présents dans les végétaux, les tannins se trouvent dans toutes les parties des plantes, aujourd'hui on les trouve aussi bien dans les aliments courants dans: les fruits les plus fréquents dans les raisins dans le thé, le chocolat, dans les légumineuses fourragères, les légumineuses dans les arbres, en herbe etc.... divers que dans les compléments alimentaires ou les cosmétiques où ils sont présents à l'état d'ingrédient isolé et utilisés pour leurs propriétés physiologiques.

Les tannins sont également utilisés en agroalimentaire pour conserver, aromatiser ou colorer les aliments, donc ils contribuent à de nombreux aspects de notre vie quotidienne. Ils peuvent avoir une grande influence sur la valeur nutritive des aliments consommés par de nombreuses humaines et animaux.

Par conséquent les tannins peuvent avoir des effets positifs, négatifs ou neutres. En effet, les tannins sont connus par leurs propriétés antioxydantes et neutralisation des radicaux libres et contribuent ainsi à prévenir diverses pathologies dégénératives telles que cancer (freinant le développement des tumeurs), maladies cardiovasculaires (Réduction du mauvais cholestérol), maladies du système nerveux central, maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose (agissent comme des hormones contre la diminution du capital osseux), luttant contre le vieillissement cellulaire certains encore démontrent une activité anti-inflammatoire.

Ils sont aussi caractérisés par la formation des complexes avec des protéines principalement, mais aussi avec les enzymes digestives, les polysaccharides (l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses etc.). De plus, les tannins sont capables de précipiter les ions métalliques et particulièrement le Fer ce qui réduirait le potentiel de la valeur nutritive des aliments consommés. En particulier les responsables majeures des déférents effets négatifs sont les tannins condensés, ces derniers se lient également avec les enzymes des sucs digestifs, ce qui les rend inactives. Il en résulte une forte baisse de la digestibilité notamment des protéines mais aussi de l'amidon et donc de l'énergie de l'aliment. On observe une corrélation négative significative entre teneur en groupe des tanins condensés et la digestibilité des protéines ou valeur nutritive relative ceux-ci peuvent influencer la valorisation de ce nutriment dans l'organisme des êtres vivants.

Le tannin acyl hydrolase, communément appelé tannase, qui coupe les liaisons covalentes se trouvent entre les monomères des tannins condensés, c'est une enzyme extracellulaire, inductible par la présence de l'acide tannique ou autre tannin dans le milieu.

Les principaux producteurs de cette enzyme sont les microorganismes, notamment les moisissures et les bactéries.

CHAPITRE I

I.1 les polyphénols

I.1.1 Définition des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux pour se défendre des agressions environnementales. Ils se trouvent dans toutes les parties des plantes. Les polyphénols regroupent une multitude de composés et représentent un des groupes les plus importants distribués dans les végétaux (α) (BEART et al. 1985).

Les principales sources alimentaires de polyphénols sont les fruits et les légumes, les huiles et les plantes aromatiques ainsi que les boissons comme le thé, le café, la bière et le vin (SOCYNSKA et al. 2001).

Chimiquement, les polyphénols sont très hétérogènes et peuvent être constitués de simples monomères ou de très grands polymères avec une masse molaire de 20000 D (LOOMIS et BATAILE 1966).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui se caractérisent, selon BATE-SMITH et SWAIN (1962) et HASLAM (1998) par : leur solubilité dans l'eau ; bien que les polyphénols purs des plantes soient difficilement solubles dans l'eau à l'état naturel, les interactions polyphénol- polyphénol assurent une solubilité minimale en milieu aqueux.

Les tannins peuvent être dissous par des solvants organiques comme les alcools ou l'acétone (LOOMIS et BATAILE 1966).

Les polyphénols naturels possèdent une masse moléculaire entre 500g.mol⁻¹ et 3000-4000 g.mol⁻¹. En général, la masse moléculaire des polymères de proanthocyanidines solubles se situe entre 1000 et 6000 g.mol⁻¹. Cependant, dans certains tissus végétaux, la masse moléculaire peut atteindre 20 000 g.mol⁻¹. (40unités flavan-3-ol). Leur structure ; pour une masse moléculaire relative de 1000 g.mol⁻¹, les polyphénols possèdent entre 12 et 16 groupes phénoliques et entre 5 et 7 noyaux aromatiques.

Les polyphénols possèdent la capacité de précipiter quelques alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines en solution.

I.1.2 Les types des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances qui peuvent se classer en quatre groupes principaux :

I.1.2.1 Les acides phénols

Ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature.

Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides.

Ex : l'Acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables. (figure1).

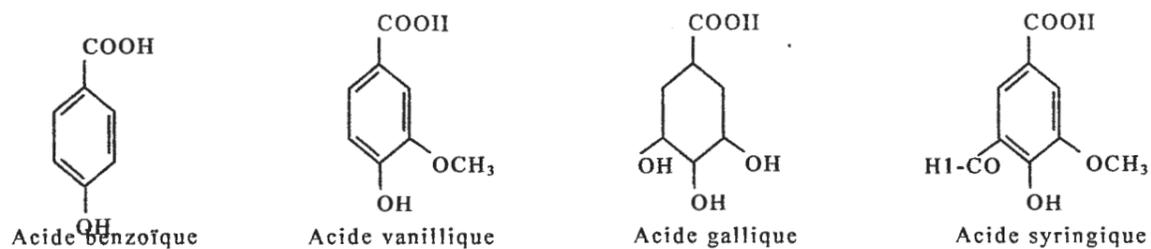


Figure 01 : Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque (HASLAM 1998)

Les acides phénoliques comprennent, entre autres, l'acide caféique présent dans le café. Ils sont localisés dans les vacuoles des cellules de la pulpe et de la pellicule des raisins. De ce fait, contrairement aux autres composés phénoliques, ils sont extraits très rapidement lors du foulage ou du pressurage. Ils atteignent leur concentration maximale dès les premières heures de la macération. Ils sont présents à des teneurs proches dans les raisins blancs et les raisins rouges. Dans le raisin, ils se trouvent majoritairement sous la forme d'esters de l'acide tartrique. Ils jouent un rôle important dans les phénomènes d'oxydation des moûts. Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide saticylique, l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide sinaptique(β) (figure2).

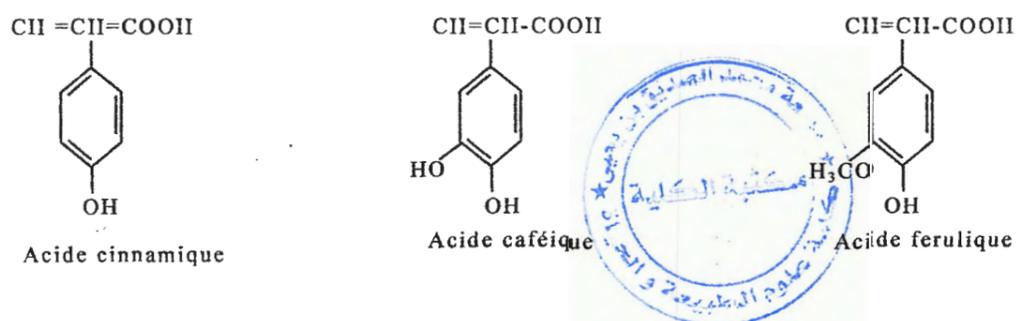


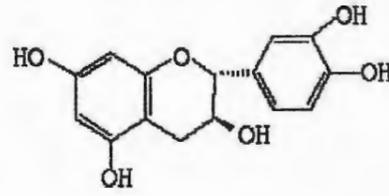
Figure 02 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique (HASLAM 1998)

I.1.2.2 les flavonoïdes

Ont des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux de leur squelette de base en C15, les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, faonnés, isoflavones, chalcones, aurones. Ces composés existent sous forme libre (aglycones) ou sous forme d'hétérosides. (HEIM *et al.* 2002).

Les flavonoïdes ne sont fournis que par les végétaux, tandis que les acides phénoliques peuvent aussi être formés dans l'organisme à partir des autres poly phénols. (JOVANOVIC *et al.* 1998) (Figure3).

Les flavonoïdes comprennent huit sous-classes, dont celle des anthocyanes.



**Figure 03 : Structure générale des flavonoïdes
(COOK et SAMMAN 1996).**

I.1.2.3 Les anthocyanes

Ce sont les pigments rouges des raisins. Présentes dans les pellicules et solubles dans l'eau, elles sont extraites rapidement en cours de vinification. Leur concentration passe par un maximum après quelques jours de macération. Les vins jeunes peuvent en contenir plusieurs centaines de milligrammes par litre. Les anthocyanes sont alors les principales responsables de leur couleur. Cette teneur diminue rapidement au cours du vieillissement par la combinaison des anthocyanes entre elle et avec les tannins. Ils donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve ou rose. Tous les anthocyanes sont chargés positivement. Ceci est dû à leur structure de base commune : le cation flavylum ou 2 phenyl 1-benzopyrilium (Figure04) (HEIM et *al.* 2002).

Les trois anthocyanes principaux sont :

- * La pélagonidine : a un OH en 4' et donne une couleur rouge-orange.
- * La cyanidine : a deux OH en 3', 4' ou en 4', 5'. Elle donne une couleur rouge magenta.
- * La delphinidine : a trois OH en 3', 4', 5'. Elle donne une couleur mauve.

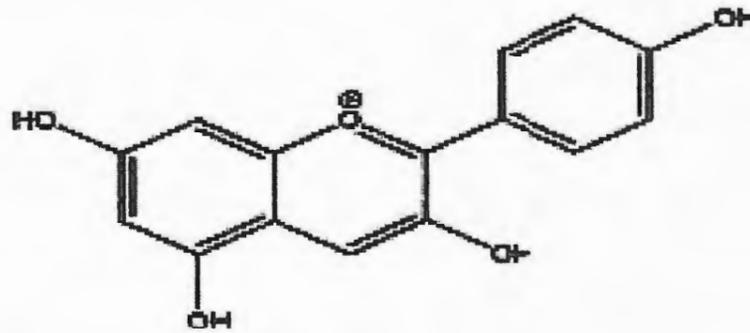


Figure04 : Structure générale des anthocyanes(HEIM et *al.* 2002).

I.1.2.4 Les tannins

Sont des macromolécules se divisant selon leur structure en deux groupes principaux :

* **Les tannins condensés (TC)** proanthocyanidines : qui sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy 3- flavonols et flavan-3,4-diols. Les polymères ont une structure hérissée d'OH phénoliques, capables de former des liaisons stables avec les protéines.

* **Les tannins hydrolysables (TH):** sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose: un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique.

I.2 Les tannins

I.2.1 Introduction

Le mot tannin est très ancien et témoigne d'une technologie traditionnelle. "Tannerie" (étanchéité et de la préservation) était le mot utilisé pour décrire le processus de transformation en cuir les peaux d'animaux (tannage). Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes.

Les tanins sont des poly phénols naturels des plantes. Très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes (tannins condensés) et les dicotylédones (tannins hydrolysables) (SEIGLER 1998). Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinité (MOLE et WATERMAN α et β , 1987, BLYTT et al. 1988, HAGERMAN 1988, HARBORN 1988).

Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 K Da (3000 pour les structures les plus complexes). (HAGERMAN et BUTTLER 1981).

Les tannins peuvent complexés avec:

- Protéines
- Amidon
- Cellulose
- Minéraux

Les tannins sont situés principalement dans les vacuoles ou de la cire de la surface des plantes. Dans ces sites, ils n'ont pas interféré avec le métabolisme des plantes C'est seulement après la ventilation des cellules et la mort peuvent-ils agir et ont des effets métaboliques.

Ils peuvent avoir une grande influence sur la valeur nutritive des aliments consommés par de nombreux humains et les aliments consommés par les animaux.

I.2.2 Sources naturels des tannins

Il y a différentes parties de plantes de différentes espèces végétaux contenant les tannins :

- Parties de plantes contenant des tannins comprennent l'écorce, le bois, les fruits, les feuilles, les racines de plantes et de galles.
- Exemples d'espèces de plantes utilisées pour obtenir des tannins fins de bronzage sont : Mimosa (*Acacia sp*), Le chêne (*Quercus sp*), D'eucalyptus (*Eucalyptus sp*), Le bouleau (*Betula sp*), Le saule (*Salix caprea*), le pin (*Pinus sp*), Quebracho (*Scinopsis balansae*).

Les tannins sont fréquents dans les fruits (raisins, bleuets ...), dans le thé, le chocolat, dans les légumineuses fourragères (trèfle), Des légumineuses dans les arbres (*Acacia sp*, *Sesbania sp...*), en herbe (Sorgho, maïs ...).

Les tannins sont largement distribués dans le règne végétal. Ils sont tous deux en commun Gymnospermes et des Angiospermes. Dans les Angiospermes, les tannins sont plus fréquents dans les Dicotyledons que dans les Monocotyledons.

Exemples de familles de Dicotyledons riches en tannins sont :

- Leguminosae: *Acacia sp* ; *Sesbania sp* ; *Lotus sp* (*Acacia*), *Onobrychis sp* (Trèfle) ; *Onobrychis sp* (sainfoin) ; Anacardiaceae: *Scinopsis balansae* (quebracho).
- Combrétacée : myrobalan.
- Rhizophoraceae : mangrove.
- Myrtaceae: *Eucalyptus sp* ; *Mirtus sp*.
- Polinaceae : canaigre.

Autres plantes contenant du tannins important sont *Quercus sp* (Oak), *Acer sp* (Chêne), *Acer sp* (Maple), *Betula sp* (Érable), *Pinus sp* (Bouleau), *Salix caprea* (saule), *Pinus sp* (Pine), *Sorghum sp* (Pine) (HASLAM 1989) (SAKAKIBARA et al. 2003).

Dans notre alimentation, l'astringence est la qualité organoleptique qui indique la présence des tannins (HASLAM 1993).

Elle a un rôle important dans le choix des aliments (corrélation inverse entre les espèces végétaux choisies et leur teneur en tannins) (MITJAVILA 1977) (BERNAYS et al. 1989).

Ils sont responsables du goût astringent nous éprouvons lorsque nous participons à raisin ou un ripe fruits, et pour la couleur enchanteresses vu des fleurs et des feuilles en automne.

I.2.3 Types des tannins

En 1920, Freudenberg établit la classification des tannins la plus largement acceptée .Il est divisé en deux groupes bases sur des différences structurales : les tannins hydrolysables et les tannins condensées (SALUNKHE et al. 1990). En 1977, Swain établit une classification en quatre groupes, comprenant les deux groupes cites ci-dessous, et deux autres, Oxytannins et Batannins, qui ne sont pas véritablement reconnus

comme des vrais tannins (BERNAYS et *al.* 1989).

I.2.3.1 Les tannins condensés (Catéchols ou Proanthocyanidines)

Ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy 3- flavonols et flavan-3,4-diols.

Les polymères ont une structure hérissée d'OH phénoliques, capables de former des liaisons stables avec les protéines (figure 5). Sont plus astringents et bronzer plus rapidement que les pyrogallols. Ils dépôt de sédiments rougeâtre connu comme 'Rouges' ou phlobaphenes. Ils font des cuirs de couleur rose, rouge ou brun foncé teintes, qui sont plus solides'. Ils créent également verdâtre point noir sur le contact avec le fer. Mimosa, de bouleaux, de pruches, quebracho, aulne et le sapin écorce contiennent catéchols. L'écorce de chêne contient deux types.

Le terme, proanthocyanidines est dérivé de la réaction d'oxydation catalysée par l'acide qui produit des anthocyanes rouge sur le chauffage dans les PA solutions acides alcool.

Les tannins condensés peuvent contenir de 2 à 50 unités ou plus flavonoïdes ; les tannins condensés polymères ont des structures complexes parce que les flavonoïdes unités peuvent différer pour certains substituant et en raison de la variable interflavan sites pour les obligations.

Les pigments d'anthocyanidines sont responsables de la grande variété de rose, écarlate, rouge, mauve, violet, bleu et en couleurs des fleurs, des feuilles, des fruits, des jus de fruits, et les raisins. Ils sont aussi responsables de la saveur astringente des fruits et de raisin. La structure d'anthocyanidines est caractérisée par des liaisons carbone-carbone qui ne sont pas clivés par l'hydrolyse.

En fonction de leur structure chimique et le degré de polymérisation, les tannins condensés peuvent être ou ne pas être solubles dans les solvants organiques aqueux.

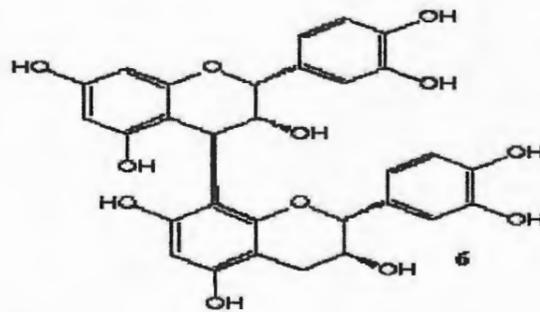


Figure 05 : La structure générale des tannins condensés (SALUNKHE et *al.* 1990).

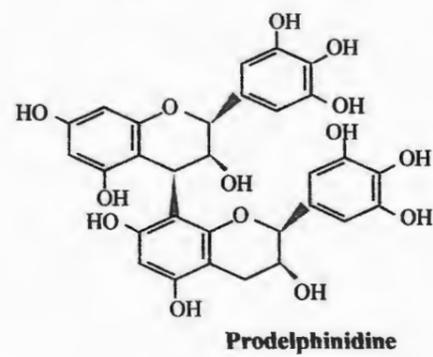
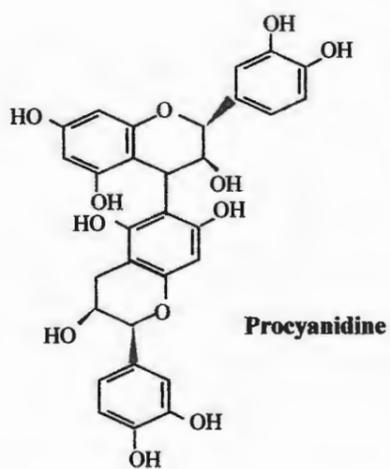
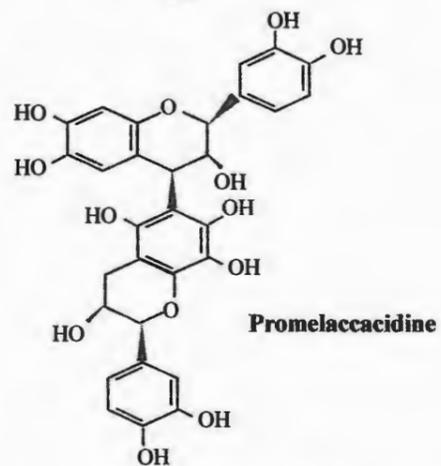
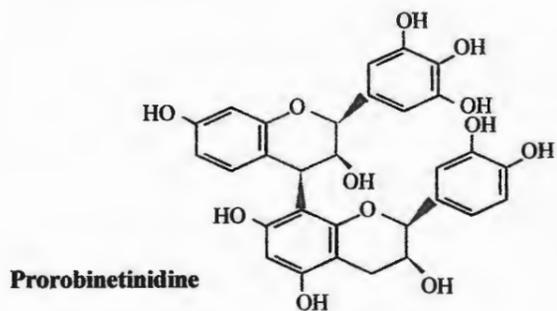
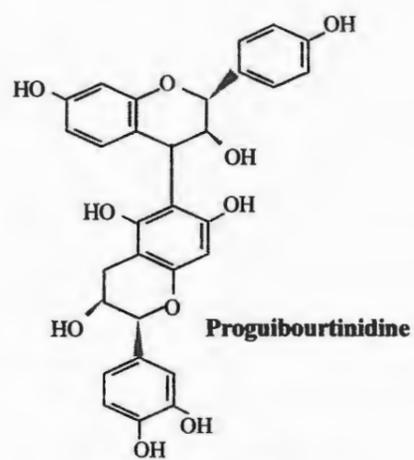
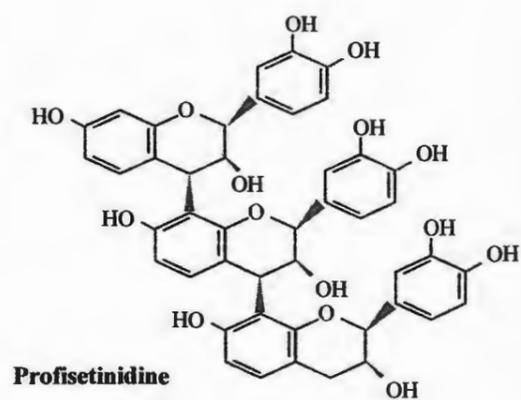


Figure 06: Exemples des tannins condensés (SEIGLER 1998).

Ce sont des proanthocyanidines, composés phénoliques hétérogènes: dimères, oligomères ou polymères du flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols (BUFFNOIR et ROLANDO 1998).

Ces composés ont tous comme précurseur des flavonoïdes C₆-C₃-C₆, et diffèrent entre eux par le type de liaison, les monomères de flavonoïdes impliqués, la position stéréochimique des carbones 2, 3 et 4, les hydroxylations et la présence ou non de substituant comme l'acide gallique.

Les deux groupes majeurs des proanthocyanidines sont les procyanidines et les prodelphinidines. Les monomères constitutifs des procyanidines sont la catéchine et l'épi catéchine qui peuvent être substituées par l'acide gallique ou les sucres, généralement en position 3 ou plus rarement en position 7. Les monomères de prodelphinidines sont la gallocatéchine et l'épigallocatéchine, mais on distingue également des monomères de quercétine et de myricétine (Figure06) (BUFFNOIR et ROLANDO 1998).

En s'hydrolysant, les tannins condensés ne donnent pas de composés simples comme le glucose ou les acides phénols comme c'est le cas pour les tannins hydrolysables, mais plutôt des anthocyanidines (BUFFNOIR et ROLANDO 1998).

I.2.3.2 Les tannins hydrolysables (pyrogallols)

Ce sont des molécules avec un polyol (généralement D-glucose) en tant que noyau central. Les groupes hydroxyles de ces hydrates de carbone sont partiellement ou totalement phénoliques estérifiés avec des groupes comme l'acide gallique (**gallotannins**) ou de l'acide ellagique (**ellagitannins**). Les TH sont habituellement présentés en faibles quantités dans les plantes.

Certains auteurs définissent deux autres classes de tannins hydrolysables: taragallotannins (acide gallique et acide quinique comme le noyau) et caffetannins (acide caffeique et acide quinique).

Gallotannins

- Les groupes phénoliques estérifiés avec le noyau sont parfois constitués de dimères ou supérieur oligomères de l'acide gallique (chaque monomère est appelé galloyl)
- Chaque molécule de TH est généralement composée d'un noyau de D -glucose et 6 à 9 groupes galloyl.
- Dans la nature, il ya abondance de mono et di-esters de galloyl glucose. Ils ne sont pas considérés comme des tannins. Au moins 3 groupes hydroxyles de la glycémie doivent être estérifiés d'afficher une capacité de fixation suffisamment solide pour être classé comme un tannin.
- La plus célèbre est la source de l'acide tannique gallotannins obtenu de la brindille de galls. Il dispose d'un penta galloyl-D-glucose de base et cinq autres unités de galloyl lié à l'un des galloyl du noyau.

Ellagitannins

- Les groupes sont composés phénoliques hexahydroxydiphénique de l'acide, ce qui déshydrate spontanément à la forme lactone, acide ellagique.

***Propriétés des tannins hydrolysables**

Ce sont des molécules hydrolysées par les acides peu concentrés ou les bases afin de libérer les glucides et les acides phénoliques.

- Dans les mêmes conditions, les proanthocyanidines (tanins condensés) ne peuvent s'hydrolyser.
- Les tannins hydrolysables sont également hydrolysés par l'eau chaude ou des enzymes (c'est-à-dire tannase) (Figure 07).

L'acide gallique provient de la β -oxydation des composés C₆-C₃, comme l'acide coumarique ou les acides oxygénés correspondants. Mais, l'acide shikimique est considéré comme le meilleur précurseur. (Figure 08) (SEIGLER 1998).

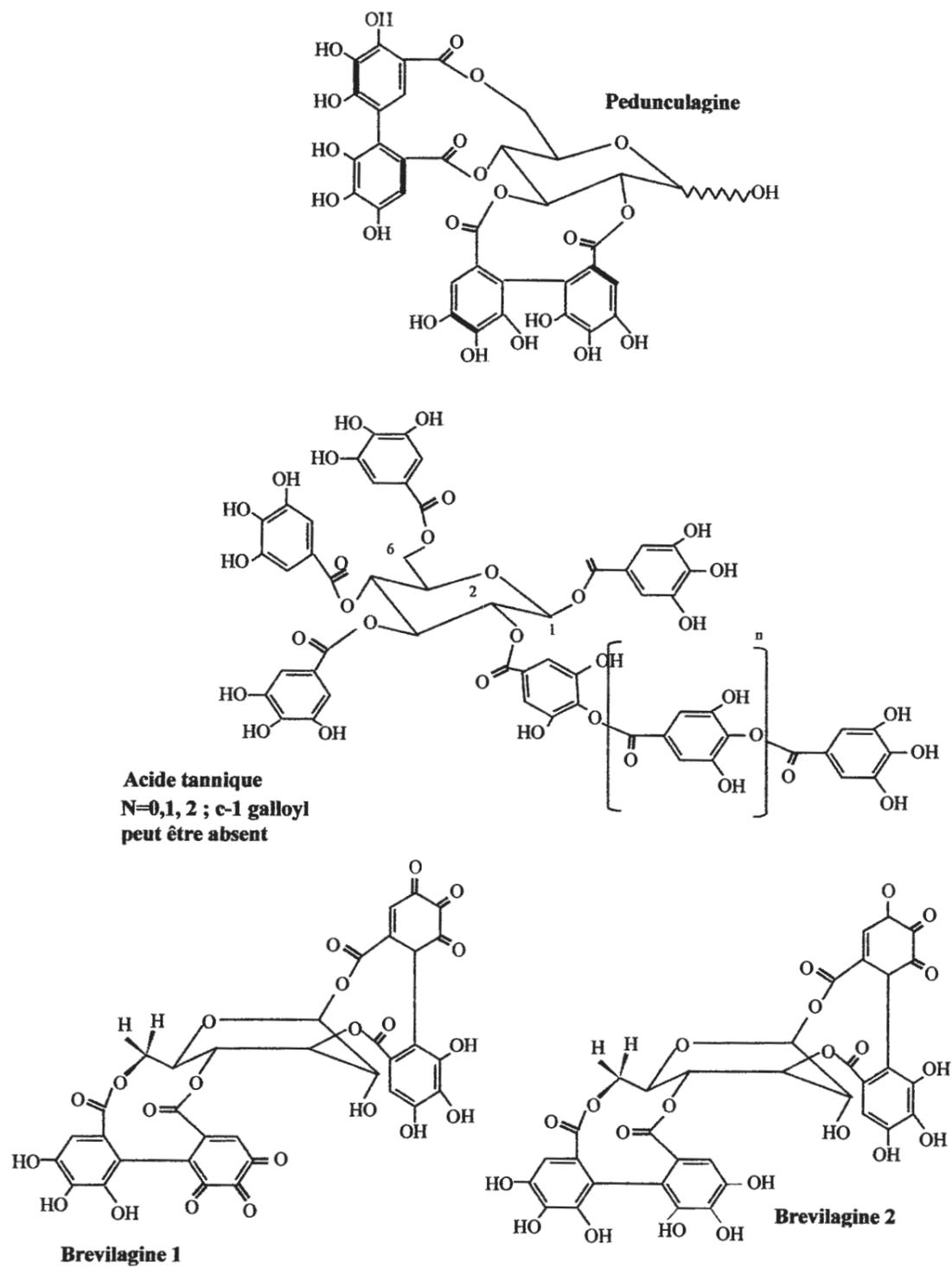


Figure07: Quelques tannins hydrolysables représentatifs (SEIGLER 1998)

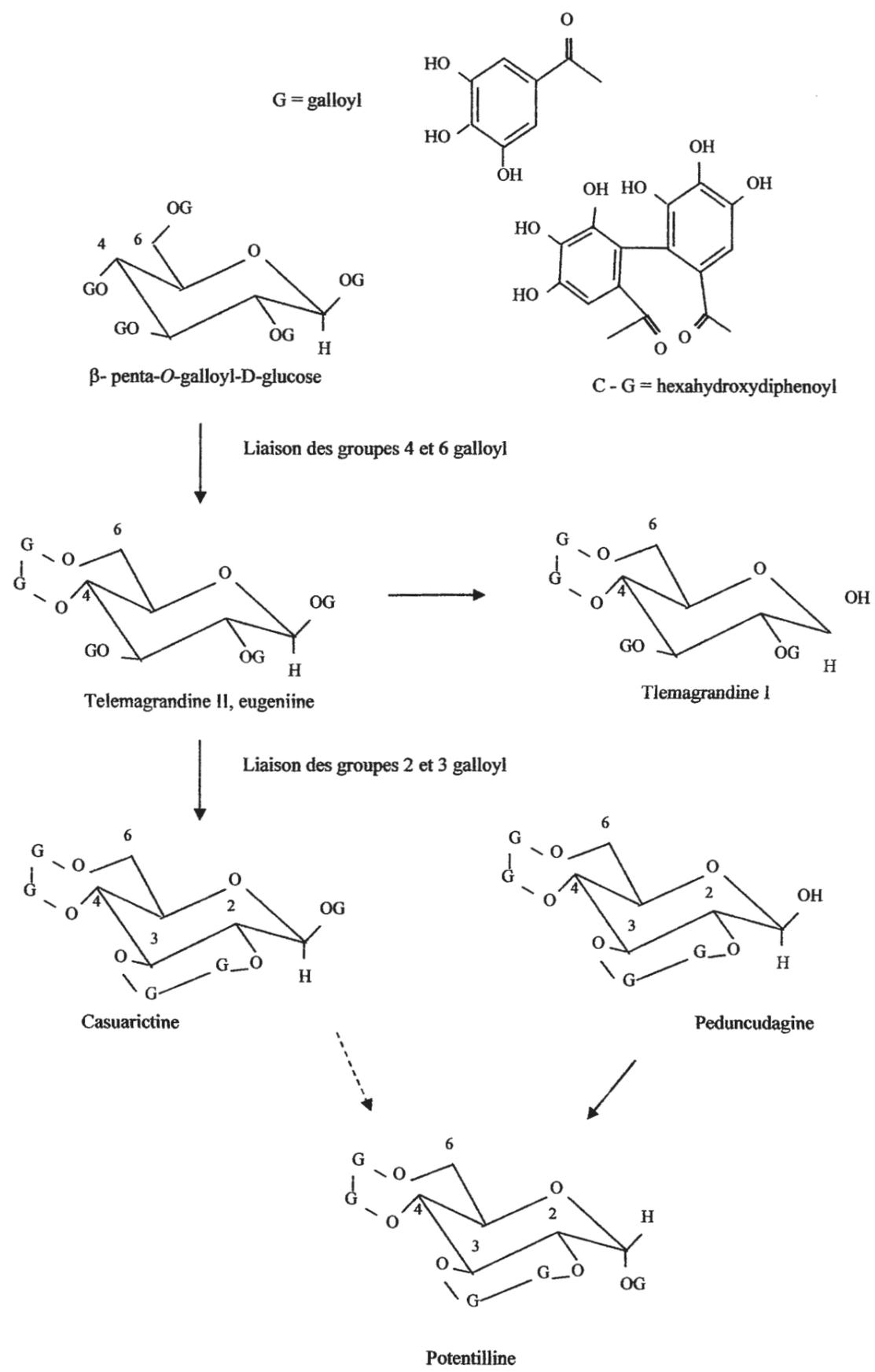


Figure08: Ellagitannins formes par simples liaisons des groupes galloyl (SEIGLER 1998).

I.2.4 La biosynthèse des polyphénols

Se fait par deux voies principales qui sont :

A. La voie de l'acide shikimique

Dans cette voie, les hydrates de carbones produisent lors de leur dégradation par la voie des pentoses-P et la glycolyse l'érythrose 4-P et le phosphoenol pyruvate respectivement.

Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C_6C_1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés. (Figure09) (SEIGLER 1998 ; Herrmann 1995; Weaver et Herrmann 1997).

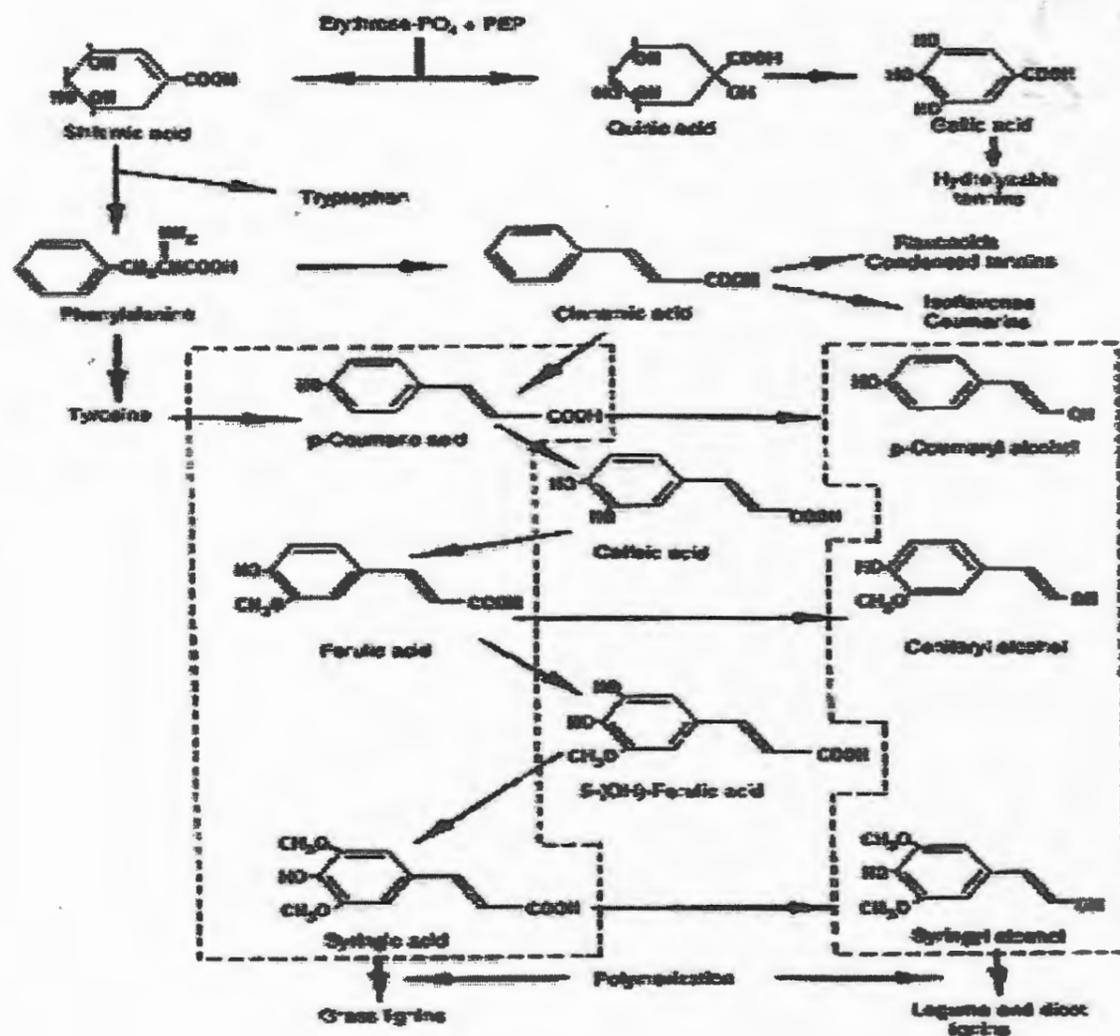


Figure09 : Voie de l'acide shikimique
(WEAVER et HERRMANN 1997).

B. La voie de l'acide malonique

La glycolyse ainsi que la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate.

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités "Acétate" qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Figure10). (SEIGLER 1998).

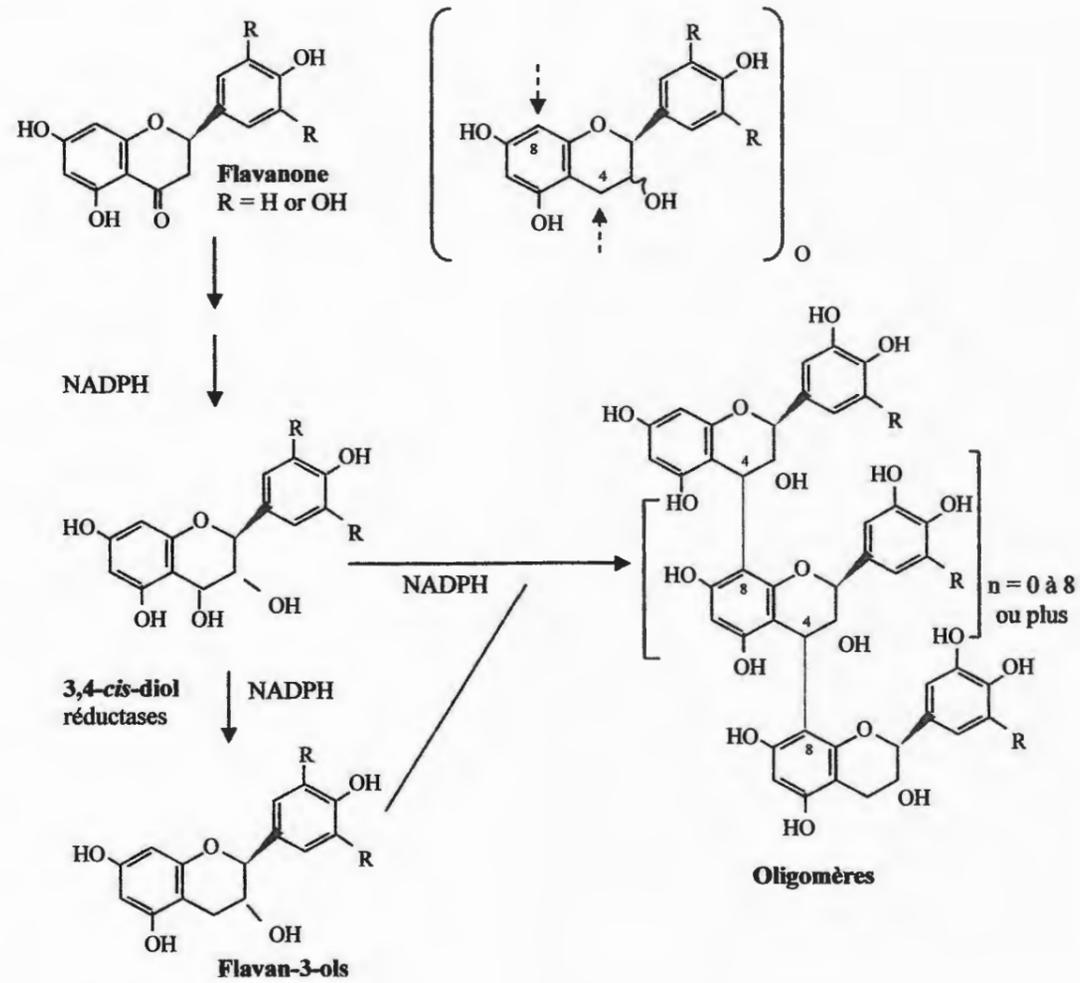


Figure10 : Proposition pour la biosynthèse des oligomères de procyanidines (SEIGLER 1998).

I.2.5 Désagréments causés par l'ingestion des tannins (effet antinutritionnel)

Les tannins agissent comme un mécanisme de défense contre les agents pathogènes des plantes, les herbivores et les conditions environnementales hostiles. Généralement, les tannins induisent une réponse négative lorsqu'ils sont consommés. Ces effets peuvent être instantanés comme l'astringence ou un goût amer ou désagréable ou peuvent avoir une réponse tardive liée à des effets antinutritionnels / effets toxiques.

I.2.5.1 Inhibition des enzymes digestives

Les tannins sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber. Plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' α -amylase, l' α -glucosidase (DOUGALL 2005), les protéases, la trypsine et les hémagglutinines (DE MEJIA et RAMIREZ 2004). L'inhibition de ces enzymes cause un trouble de l'activité du tube digestif et diminue la valeur nutritive des aliments ingérés qui ne pourront pas être assimilés (DE MEJIA et al. 2005).

Deux extraits du sorgho et des mil chandelles ne présentent aucune activité inhibitrice contre l' α -amylase, alors que d'autres variétés du sorgho, de mil chandelles, de millet des oiseaux et d'éleusine présentent une activité appréciable ; ce qui indique que cette activité inhibitrice des enzymes digestives est propre seulement à certains composés phénoliques.

I.2.5.2 Effets antinutritionnels des tannins proprement dits

Les tannins caractérisés par la précipitation des protéines qui va conduire à un effet antinutritionnel (HASLAM et al. 1991).

Plusieurs études *in vitro* ont été menées sur cette action. Principalement par la diffusion radiale (HAGERMAN et KLUCHER 1986) qui a démontré que les proanthocyanidines naturels ainsi qu'industriels (comme le quebracho) se liaient aux différents composés protéiques et glucidiques. La BSA (bovin sérum albumine), le gluten, l' α -amylase et la β -galactosidase sont les principales protéines utilisées, et l'amidon ainsi que la pectine les principaux polysaccharides (GEDIR et al. 2005).

Ces liaisons dépendent de plusieurs facteurs liés au milieu, à la structure des molécules combinantes (exemple : l'importance de la proline dans la structure des protéines) (ZIMMER et CORDESSE 1996), comme à la nature hydrophile ou hydrophobe et à la concentration des tannins impliqués (ZHANG et al. 2003).

Il a été démontré que la liaison des protéines aux tannins dans le rumen cause une diminution de la dégradation et de l'assimilation de ces protéines ce qui cause une perte de la valeur nutritive des aliments et provoque une malnutrition. A long terme, la grande teneur en tannins de l'alimentation cause chez les ruminants une perturbation de la microflore du rumen (et donc de son activité), une limitation de l'absorption du nitrogène, une diminution de l'ingestion et même une toxicité (HAGERMAN et al. 1998) (HAGERMAN et BUTTLER 1978, 1980).

Chez certains animaux, la présence de microorganismes gastro-intestinaux ayant une capacité à dégrader les tannins limite ces effets néfastes (c'est le cas de: *Streptococcus gallolytians*, *Lonepinella koalarum*, *Selemomona ruminantium*) (ZIMMER et CORDESSE 1996 ; GOEL 2005).

En réalité, ces microorganismes possèdent une enzyme dite: tannase.

Les effets antinutritionnels ont été observés aussi chez les rats, les poussins et le bétail. En effet, on a remarqué qu'une alimentation à teneur élevée en tannins a un effet négatif sur la digestibilité des protéines et des hydrates de carbone, et réduit la croissance, l'efficacité de l'alimentation, l'énergie métabolisable et la disponibilité biologique des acides aminés.

La plante qui a permis de réaliser une grande partie de ces recherches est le sorgho brun. Etant riche en tannins, ses graines ont montré une résistance contre les oiseaux dévastateurs et les moisissures.

Au cours de la maturation, la graine du sorgho brun devient très astringente; cette qualité organoleptique est importante dans les régions arides et semi-arides où les autres cultures échouent.

Les tannins ont une grande capacité à se lier à d'autres molécules présentes dans l'alimentation : polysaccharides (pectines, xyloglucon, amidon, cellulose..., minéraux (fer, argent..... vitamines, alcaloïdes

Effectivement, les tannins peuvent se lier au fer non héminique (présent dans les végétaux, œufs, produits laitiers et céréaliers) et le bloquer dans l'intestin en formant des complexes insolubles, ce qui l'empêche d'être absorbé. Leur action est dose dépendante, c'est à dire que plus ils sont présents dans les repas, plus l'absorption du fer est diminuée. Il est donc préférable de consommer les produits qui en sont riches (thé, café), en dehors des repas et en petites quantités.

Le problème ne se pose pas de la même façon pour le fer héminique (présent dans les viandes) car son absorption est plus importante, fortement stimulée par les acides aminés des produits animaux.

Le café et le raisin rouge peuvent également diminuer l'absorption du fer des aliments, mais c'est le thé noir qui a l'effet le plus important. En effet, au cours de la macération du thé vert pour obtenir du thé noir, les composés phénoliques du thé sont en grande partie transformés en tannins. Le lait dans le thé permet de contrecarrer le blocage de l'absorption du fer. En effet, les polyphénols du thé se lient aux ions dérivés du lait, ils ne sont donc plus disponibles pour lier le fer (SALUNKHE et *al.* 1989,1990).

CHAPITRE II

II.1 présentation de la tannase

La tannase ou tannin acyl hydrolase EC «3.1.1.20» est une enzyme catalysant l'hydrolyse des liaisons présentes dans les molécules de tannins et d'esters de l'acide gallique «tannins hydrolysables ou condensés».

Cette enzyme produite en présence de l'acide tannique par les plantes et divers micro-organismes, champignons filamenteux, principalement *Aspergillus* et *Penicillium*.

Parmi les autres producteurs de tannase nous avons les bactéries (DESCHAMP et al. 1983, KUMAR et al. 1999 ; MONDAL et al. 2000,2001 a et b) et les levures (AOKI et al. 1976 a et b). Son activité est optimale à PH 6, température 40°C et après 15 minutes d'incubation.

Les ions métalliques comme le Zn, Cu, Mg, Fer inhibent son activité, seul le K l'augmente. Elle est efficace sur un large intervalle de température et de PH ce qui permet son utilisation dans plusieurs processus industriels (SABU et al. 2005).

II.2 Les micro-organismes producteurs de la tannase

II.2.1 Les bactéries

Quelques bactéries reconnaissent comme productrices de tannase, parmi les quelles, nous citons les plus importantes :

-*Lactobacillus sp ASR S1*:

Les excréments de mouton contiennent une souche de bactérie productrice de la tannase. Elle est identifiée comme étant *Lactobacillus sp ASR S1*. La souche bactérienne produit une tannase extracellulaire sur milieux solides en utilisant la poudre de graines du tamarin, les grains du palmier, du blé et l'écorce du café. Ceci a permis une production supplémentaire et maximale de la tannase (SABU et al. 2006).

- *Selenomonas* :

Caractérisé par trois souches «EAT1, ES3 et EG19» du rumen résistant aux tannins, ces souches isolent de la flore du rumen du mouton, de la chèvre à partir de cultures obtenues dans un milieu additionné aux concentrations élevées d'extraits de tannin brut ou d'acide tannique (SKENE et BROOKER 1995).

-*Lactobacillus apodemi* :

Présente la particularité des bactéries hydrolysant des tannins. Durant l'automne 2003, Sasaki et al isolent plusieurs souches de coques et de bacilles Gram positif à partir des fèces de huit mulots du Japon «*Apodemus speciosus*». Une réponse positive est notée pour les tests d'hydrolyse des tannins suivie par la libération de l'acide gallique «mais sans sa décarboxylation» et l'hydrolyse de l'esculine.

-*Streptococcus gallolyticus* :

Cette souche renferme dans la flore fécale des Koalas, ainsi que celle d'autres herbivores, elle sécrète une tannase capable de dégrader les complexes tannins-protéines (OSAWA et al. 1995 a et b).

-*Linepinella koalarum* :

Les recherches présentées en 1992 par Osawa à partir des flores cœcales et dans les fèces des koalas, montrées une souche capable de dégrader aussi les complexes tannins-protéines. Dans un premier temps, cet auteur isole deux souches dégradant les tannins et ressemblant à une entérobactérie d'où la désignation d'Enterobacterie capable de dégrader les complexes tannins-protéines. En 1995, Osawa et al publient les résultats d'analyse bactériologique de huit souches de cette enterobacterie qui montrant leur pourcentage d'homologie avec celle de la famille des Pasteurellaceae plus que celle des Enterobacteriaceae, une seule souche proposée comme un nouvel genre *Linepinella* capable de dégrader les tannins (OSAWA et al. 2006), «D'espèce *L. koalarum*» (OSAWA et al. 1995 a et b) (OSAWA 1992).

-*Bacillus licheniformis* :

Produit une tannase avait une activité enzymatique de 0.21 U/ml avec 1.5% d'acide tannique en présence ou absence de 1g de glucose après 18-21h, mais la production de cette enzyme n'atteint pas le maximum que à 36h (MONDEL et PATI 2000).

-Autres bactéries productrices de la tannase :

Bacillus : *B. cereus*, *B. licheniformis* KBR6, *B. pumilus*, *B. polymyxa*.

Botrytis cinerea.

Corynebacterium sp.

Cryphonectria Parasitica.

Klebsiella pneumoniae.

Lactobacillus plantarum. (VAQUERO et al. 2004)

Selenomonas ruminantium. (AYED et HAMDI 2002).

Citrobacter freundii.

II.2.2 Les moisissures

Quelques moisissures sont aussi reconnues comme productrices de la tannase surtout les espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (BAJPAI et PATIL 1996) parmi leurs souches les plus importantes sont:

-*Aspergillus awamori nakazawa* :

Produit une tannase «tannin acyl hydrolase» qui est purifiée et caractérisée à des conditions optimales de production. L'activité de cette enzyme est déterminée en utilisant diverses combinaisons de substrats de fermentation et diverses combinaisons de cultures (MAHAPATRA et al. 2005).

-*Candida guilliermondii Y11* :

Est démontrée comme étant une souche capable de dégrader les tannins de mimosa en ne libérant aucun composé phénolique simple et visible au cours de la séparation en chromatographie sur couche mince. (ÖTÜK et DESCHAMPS 2004).

-*Candida tropicalis* Y65 :

Cette levure attaque les groupements leucoanthocyanines en libérant de la catéchine. Ceci démontre l'aptitude des levures à dégrader les tannins condensés. Donc ces levures permettent d'attribuer un rôle actif dans la décomposition des écorces des plantes riches en tannins (ÖTÜK et DESCHAMPS 2004).

-*Penicillium* :

Appartient à l'ensemble des Deutéromycètes et plus exactement à l'ordre Hyphomycetales, il a la capacité d'hydrolyser les tannins en sécrétant la tannase, parmi les espèces les plus importantes productrices de la tannase, nous avons *P. glabrum*, *P. chrysogenum*. L'enzyme de cette espèce a une activité optimale à pH 5-6 et à température 30°- 40°C, l'enzyme est stable à 30°C avec pH entre 4 et 6.5, la valeur Km est de 0.48 .10 M quand l'acide tannique est utilisé comme substrat, les sels minéraux à 20mM deviennent inhibiteurs à différents concentrations pour l'enzyme. (BATRA et SAXENA 2005) (RAJAKUMAR et al. 1983).

-*Rhizopus oryzae* «ROII, TKGP» :

Est aussi utilisé comme producteur de la tannase extracellulaire qui est indiqué par la dégradation de l'acide tannique en l'acide gallique (MUKHERJEE et BANERJEE 2006).

-*Aspergillus niger* :

Peut aussi produire la tannase sur cultures solides (gélose), mais la purification et l'homogénéisation d'enzyme sont effectuées dans le bouillon de culture avec l'utilisation de la chromatographie sur colonne pour la séparation de cette enzyme. L'action de l'enzyme est d'éliminer l'acide gallique à la fois des tannins condensés et des tannins hydrolysables. L'enzyme a un point isoélectrique de 3.8, une température optimale de 60°-70°C et un pH optimal de 6.0. Les analyses ainsi que les études de localisation des gels purifiants de la tannase, indique la présence de deux formes d'enzymes, avec une masse moléculaire de 90KD et 180KD respectivement (SABU et al. 2005).

-*Paecilomyces variotii* :

Produit une tannase extracellulaire qui est isolée et purifiée à partir de la filtration de bouillon de culture, on utilise la précipitation par l'ammonium sulfate suivi par la chromatographie de gel filtrant (MAHENDRAN et al. 2006 ; BATTESTIN et al. 2007).

-Autres moisissures productrices de la tannase :

Parmi les différentes espèces productrices, nous citons les principales :

-*Aspergillus* : *A. aculeatu*, *A. awamori*, *A. fischeri*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. japonicus*, *A. sojae*, *A. usamii*, *A. ustus* (YAMADA et al. 1968 a et b).

-*Penicillium*: *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. glabrum*, *P. javanicum*,

P. notatum, *P. oxalicum*, *P. variable* IARI2031 (YAMADA et al. 1968 a et b).

-*Fusarium solani*.

-*Candida sp.*

-*Aureobasidium* : *A. pullulans* DBS66 (BANERJEE et PATI 2007).

-*Saccharomyces cerevisiae*.

-*Trichoderma viride*.

II.3 Les conditions de production de la tannase

Différents conditions de production de la tannase sont déterminées selon les diverses espèces bactériennes et fongiques. En effet, chaque espèce et chaque souche nécessitent des conditions culturales et environnementales particulières afin de donner un optimum de production de la tannase.

II.3.1 *Aspergillus niger* (Méthode Taguchi)

Les niveaux optimaux des différents facteurs de la biosynthèse de la tannase sont de 3% d'acide tannique, 7% de glucose, 28°C, 150 tr/min et $\text{pH} 4$. Dans ces conditions, un maximum de productivité de 7,45 U / ml est obtenu à 24 h, après une période d'incubation. La concentration de glucose est le facteur le plus important dans la production de l'enzyme (39% de contribution), alors que le pH a une contribution minimale (3,5%).

Le milieu liquide utilisé pour la production de cette enzyme comprend également des sels minéraux comme celui de Czapeck. (HERNANDEZ 2002).

II.3.2 *Aspergillus awamori nakazawa*

La fermentation réalisée à 46 h pour optimiser la production de la tannase. Les échantillons de cette enzyme sont obtenus après la précipitation du surnageant de bouillon de fermentation par l'acétone suivie de filtration sur gel chromatographique. Les conditions optimales de température et de pH sont étudiées et les effets de l'urée, du surfactant et du chélateur sont aussi déterminés. La tannase isolée présente un optimum d'activité à 35°C et pH à 5,0. Les concentrations d'urée supérieures à 3 M sont inhibitrices de cette enzyme. L'augmentation des concentrations de laurylsulfate de sodium a également conduit à une diminution de l'activité (MAHAPATRA et al. 2005).

II.3.3 *Lactobacillus sp*

La production maximale de la tannase par cette espèce est de «0.85 UI/g», elle est obtenue après addition de 0.6% d'acide tannique et 50% de l'humidité avec 1ml d'inoculum de suspension bactérienne et incubation à 33°C pendant 72h (SABU et *al.* 2006).

II.3.4 *Citrobacter freundii*

Une souche bactérienne capable d'utiliser l'acide tannique comme seule source du carbone a été isolée et identifiée comme étant *Citrobacter freundii*. Cette souche peut se développer à des concentrations aussi hautes que 5% d'acide tannique et produire une tannase extracellulaire. Dans un milieu de culture contenant 1% d'acide tannique (à 30 °C), cette souche produit 1.87 U/ml de tannase après 6 h. Les produits de la dégradation de l'acide tannique, à savoir le glucose et l'acide gallique, sont alors détectables dans le filtrat de la culture (KUMAR et *al.* 1999).

II.4 Transformation microbienne du substrat allant des tannins condensés à l'acide gallique par la méthode de Co-culture

La fermentation modifiée à semi-conducteurs (MSSF) avec substrat riche en tannins (acide gallique) est effectuée en utilisant une Co-culture pour des mycètes filamenteux, *Rhizopus oryzae* (RO IIT RB-13, NRRL 21498) et *Aspergillus foetidus* (GMRB013 MTCC 3557). Des fruits en poudre de *Terminalia Chebula*, et une poudre de l'écorce de *Caesalpinia digyna* sont employés pour fixer les paramètres donnant un maximum de production de la tannase. Par la méthode de Co-culture l'acide gallique permet d'optimiser sa production. Cette fermentation est effectuée dans des conditions optimales de 30°C et d'humidité relative de 80%. Le pH et l'incubation se sont faits à des valeurs optimum, de 5.0 et 48 h respectivement. Par la technique de Co-culture le rendement maximum de tannase et d'acide gallique s'avèrent être de 41.3 U/ml et 94.8% respectivement (JOGESWAR et *al.* 2005. MUKHERJEE et BANERJEE 2004, 2006) (BEVERINI et METCHE 1990).

II.5 L'activité de la tannase selon les différentes espèce productrices

La capacité de production de la tannase à partir de 35 espèces d'*Aspergillus* et 25 espèces de *Penicillium* est examinée sur le plan qualitatif en utilisant des géloses avec l'acide tannique et quantitativement dans le bouillon de culture avec le même substrat, les espèces d'*Aspergillus* productrices sont utilisées, notamment *A. fumigatus* (8,3 UI / ml), *A. versicolor* (7,0 UI / ml), *A. flavus* (4,95 UI / ml) et *A. caespitosum* (4,47 UI / ml) et chez *Penicillium*, *P. charlesii* (4,82 UI / ml), *P. variable*. (4,70 UI / ml), *P. crustosum* (4,7 UI / ml) et *P. restrictum* (4,47 UI / ml). L'activité optimale de la tannase est à 60° C dans la plupart des producteurs puissants, à l'exception d'*A. caespitosum*, *P. charlesii*, *P. crustosum*, et *P. restrictum*, qui montrent une température optimale de 40°C. Parmi les tannases sélectionnées d'*Aspergillus* et *Penicillium*, celle d' *A. versicolor* et *P. restrictum* sont stables dans une large gamme de pH 3.0-8.0 pour 24 h. La tannase de *A. versicolor* est stable à la chaleur car elle est conservé à 67% d'activité à 70°C après 1h (YAMADA

et al. 1968 a et b ; BATRA et SAXENA 2005 ; MUKHERJEE 2007) (SAXENA 1940)
(BANERJEE et al. 2005).

CHAPITRE III

III.1 Introduction

Durant les dernières années, la tannase fait l'objet de plusieurs études en raison de son importance commerciale et de la complexité de son utilisation comme catalyseur des molécules au niveau industriel.

Les tannases sont capables d'hydrolyser les tannins complexés qui représentent le principal groupe de produits chimiques antimicrobiens naturels et qui sont produits par les plantes.

Le profil général de l'utilisation de la tannase au niveau industriel nécessite la connaissance du substrat utilisé comme base de production de cette enzyme, des informations sur l'enzyme elle même et aussi ses applications. Cette analyse prend en compte dans son introduction l'histoire de la tannase et explore les aspects scientifiques et technologiques. Le "progrès" trace l'itinéraire du général, la biologie moléculaire et de catalyseur, et les informations obtenues en application fonctionnelle proche de conditions optimales pour la production microbienne grâce à la purification, la description des propriétés enzymatiques, et les applications commerciales à la «perspective», y compris les études d'expression, de la réglementation, et d'utilisations potentielles ; aspects liés à l'évolution de notre compréhension de tannin biodégradation sont aussi incluses (AGUILAR et GUTIERREZ-SANCHEZ 2001).

Deux facteurs critiques, coûts de production et connaissance insuffisante du de base caractéristiques, propriétés physico-chimiques, caractéristiques catalytiques, les mécanismes et les utilisations réglementaires de potentiel, limitent l'utilisation du tannase au niveau industriel. Ce travail passe en revue l'état d'aspects critiques reliés au tannase, soulignant des aspects tels que des sources, substrats, mécanismes réglementaires métaboliques, propriétés physico-chimiques, inhibiteurs, production, applications et utilisations de potentiel (AGUILAR et *al.* 2007).

III.2 Intérêt de la tannase

Cette enzyme est produite par des usines et les micro-organismes et elle est utilisée industriellement comme catalyseurs dans la fabrication de l'acide gallique. En outre, il emploie potentiellement dans la transformation de boissons et des produits alimentaires (BELMARES et *al.* 2004)

Elle est utilisée aussi comme agent clarifiant dans les jus de fruits et de thé instantané lors de la préparation et la production d'acide gallique (clé antioxydant) (BOADI et NEUFELD 2001).

Commercialement, la forme de cette enzyme; extraits des plantes ou des champignons est instable.

D'autre part, la culture sur milieu solide est un procédé à faible coût et récemment, il décrit comme un système dans lequel la stabilité et de l'activité enzymatique des valeurs telles que pectinases et amylases sont plus élevés que ceux obtenus par la culture submergée (AGUILAR et *al.* 2001).

Cette enzyme implique dans les voies de dégradation fongique des composés aromatiques sont d'un intérêt considérable pour la biorestauration et la biodégradation des déchets des produits organiques.

Elles peuvent également être utilisés dans des applications industrielles, par exemple, permet de constater des tannase servir a la fabrication de thé instantané.

La biotechnologie des espèces de genre *Aspergillus*: *A. fischeri*, *A. flavus*, *A. japonicus*, *A. oryzae* et de *Fusarium solani*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma viride*, *Cryphonectria parasitica* effectué dans la production de l'enzyme pour les buts industriels (ADACHI et al. 1968) (FARIAS et al. 1994) (BRADDOO et al. 1997).

La biotechnologie d'*Aspergillus niger* est effectuée par l'immobilisation de l'enzyme tannase par micro-encapsulation avec une membrane de l'alginate du calcium du coacervate qui entoure d'un coeur liquide. Amélioration de la stabilité de la température et de PH considérablement. Le rendement est 36.8% d'activité de l'enzyme initiale, stabilité de PH et stabilité thermique améliorent après micro-encapsulation. L'enzyme peut être utilisée pour 15 courses. (AISSAM et al. 2005 ; YU et al. 2003).

Suivant par la production d'enzyme par *Aspergillus* qui grandit sur moulin vert olive dilué quadruple dans l'eau du gaspillage est stable pendant plus que 30 h et correspond avec approximativement 70% déchéance de composés phénoliques présents dans le gaspillage.

Aussi elle est utilisée à la production d'une enzyme pour les buts industriels, usage dans l'amélioration de la qualité dans la production de la bière, et le raisin.

“ L'intérêt nutritionnel de l'enzyme d'*A. niger* à l'usage potentiel dans l'industrie de la nourriture, par exemple pour éclaircissement de bière et jus du fruit (SHARMA et al. 1999). ”

Dû à la nature de l'extracellulaire et le haut pH et stabilité de la température du tannase, la production de l'enzyme dans la fermentation transitorisée à une haute possibilité de production économique, par rapport à une fermentation submergée.

A. niger utilisé dans la synthèse d'esters d'acide gallique et d'alcools introduire dans la formation des solvants organiques en utilisant la micro-encapsulation de l'enzyme avec membrane chitosan-alginate. Le plus haut rendement est 44.3% dans benzène, et 35.7% dans l'hexane, les meilleurs substrats sont 1-propanol, 1-butanol, ou 1-pentanol (YU et al. 2004).

La biotechnologie d'*Aspergillus oryzae* est de synthétiser une enzyme dans la culture de fourrée nourrie, à pH 5.0, accomplit 7000 IU/l (ZHONG et al. 2004).

La biotechnologie d' *Aspergillus sp* est de synthétiser les deux acides ellagiques et l'enzyme de production maximale entre 48 h et 72 h, autour de 28 à 35°C et à approximativement 5 tanin du g/l (HUANG et BORTHWICK 2004).

La biotechnologie de *Lactobacille sp* est la production maximale d'une enzyme pour le but industriel par augmentation de production de cette enzyme sur l'écorce du café, avec 0.6% acide tannique, et 50% humidité (SABU et al. 2006).

La biotechnologie de *Paecilomyces variotii* est d'hydrolyser l'acide tannique par enzyme immobilisée sur les perles de l'alginate, l'enzyme retient approximativement 85% d'activité initiale et elle est active après réutilisation étendue (MAHENDRAN et al. 2006) (BATTESTIN et al. 2005, 2007).

De plus *Bacillus licheniformis* enquête pour déterminer la structure d'avoir lieu des esters de l'acide gallique naturellement. Dans la nutrition l'enzyme utilise dans la production du thé immédiat, le raisin, et l'acide gallique. Le gallate du *B. licheniformis* utilise pour la synthèse de gallate du propyle, un antioxydant de la nourriture largement usagé. (MONDAL et PATI 2000).

L'intérêt d'*Aspergillus aculeatus* est de synthétiser une enzyme à de larges applications dans la nourriture exactement des produits alimentaires, cosmétique, des boissons, de brassage, et d'industrie chimique (BANERJEE et al. 2001).

L'intérêt du *Lactobacillus plantarum* effectué dans la nutrition et le traitement des boissons (VAQUERO et al. 2004).

De nos jours, beaucoup de recherches sont fait sur la biodégradation de gallotannin et gagnent le grand succès dans les avantages d'utilisation industrielle.

Certaines applications industrielles de ces résultats sont dans la production du tannase, la métabolisation de l'acide tannique au pyrogallol ou l'acide gallique et le detannification de la nourriture et du fourrage. Bien que les ellagitannins aient les liaisons c-c typique qui est plus difficile à être dégradé que des gallotannins, les efforts concertés sont encore en marche pour améliorer la dégradation et l'utilisation d'ellagitannins.

Actuellement, plus d'attention principalement concentrée sur la biodégradation des tannins par une flore microbienne intestinale en particulièrement des ellagitannins qui peuvent contribuer à la définition de leur disponibilité biologique pour les deux êtres vivants humains et ruminants (NELSON et al. 1995).

En outre il y a eu des efforts d'utiliser l'activité dégradante les tannins de différents mycètes pour la biomasse riche en ellagitannin, qui facilitera l'application des enzymes dégradantes des tannins dans les stratégies pour améliorer la production industrielle et animale. En raison des structures compliquées des tannins complexes et particulièrement des tannins condensés, la biodégradation d'eux est beaucoup plus difficile et il y a moins recherche sur eux. Par conséquent, la recherche sur les mécanismes de la biodégradation des gallotannins et d'ellagitannins peuvent avoir comme conséquence l'arrangement

global à la biodégradation des tannins complexes et des tannins condensés (LEKHA et LONSANE 1997).

La biodégradation des tannins est à une étape naissante et d'autres études doivent être effectuées pour exploiter le potentiel de divers tannins pour des plusieurs applications dans le traitement d'effluent de nourriture, de fourrage, de médecine et de tannerie. (Li et *al.* 2006) (BHAT et *al.* 1997). "

DISCUSSION

DISCUSSION

En tant qu'antioxydants, tous les poly phénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) qui favorisent le vieillissement cellulaire (θ) (σ) (KUMAZAWA et al. 2002).

De plus, les composés phénoliques du vin préservent d'autres antioxydants dans l'organisme, comme les vitamines E et C contre l'oxydation et les formes toxiques de l'oxygène impliquées dans un grand nombre de maladies. Il est à noter, cependant, que ces effets ne sont constatés que pour des consommations modérées ingérées avec nos aliments, car une consommation excessive d'alcool produit à son tour des radicaux libres, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (lipides et autres macromolécules) contre le stress oxydant et préviendraient ainsi les diverses maladies chroniques associées, telles que cancers, maladies cardio-vasculaires ou ostéoporose (KELAWALA 2004).

Les effets bénéfiques du vin sur les maladies cardiovasculaires ont d'abord été attribués à l'alcool qu'il contient et qui véhicule le cholestérol, donc les tannins entrent dans la filiale des mécanismes complexes du corps pour régler les taux du fameux cholestérol. Il a été démontré que l'alcool contribue à élever le taux des HDL (les lipoprotéines de haute densité-le «bon cholestérol») et l'augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (ou LDL«mauvais cholestérol»). Les poly phénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Par ailleurs, l'alcool inhibe l'agrégation des plaquettes sanguines, réduit la teneur en fibrinogène, un composé impliqué dans la coagulation du sang, et accélère la fibrinolyse, ou la dissolution d'un caillot, à l'origine d'accidents vasculaires ischémiques (μ) (AVIRAM 2002,2004) (MAZUR et al. 1999).

Des études cliniques ont montré que les poly phénols améliorent le fonctionnement de l'endothélium, la couche cellulaire qui tapisse les surfaces des vaisseaux sanguins et qui joue un rôle essentiel dans le contrôle du bon fonctionnement du système vasculaire en réduisant les risques d'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). Les poly phénols en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose limiteraient les risques d'infarctus du myocarde, ce que tend à confirmer les quelques études épidémiologiques déjà publiées (FRANKEL 1993) (GRYGLEWSKI 1987).

D'abord, au niveau vasculaire, les poly phénols augmentent la résistance des vaisseaux, si bien que l'un des médicaments les plus répandus dans le domaine de la protection vasculaire - Endotélon, mis au point par le professeur Masquelier - est fabriqué à base de pépins de raisin.

Ajoutés au régime de divers animaux de laboratoire, les tannins montrent aussi une capacité à limiter le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse (Ω) (AFAQ 2005).

Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de pro carcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents supprimeurs de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent là encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose, inhibition de l'angiogenèse. Les preuves de leurs effets chez l'homme restent cependant encore insuffisantes (γ) (JONES *et al.* 2000) (NAKANISHI *et al.* 2003) (HERTO *et al.* 1992) (LANSKY 2005).

Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes, telle que l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains poly phénols et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-oestrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des poly phénols tels la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques où inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Là encore, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme (η).

Il est récemment apparu que la supplémentation en aliments riches en polyphénols a un effet neuroprotecteur chez les animaux adultes utilisés comme modèles de cas d'ischémie et de maladie d'Alzheimer. Une expérience a été réalisée sur des souriceaux nouveau-nés dont la mère avait ingéré depuis le début du troisième trimestre de gestation et pendant la période d'allaitement de l'eau de boisson additionnée de jus de grenade. Les lésions du cerveau provoquées de manière artificielle et examinées au niveau histologique et biochimique montrent que les souriceaux ayant reçu du jus de grenade présentent une perte de tissu cérébral significativement réduite, d'autant plus que la dose administrée est élevée. L'acide ellagique a été détecté dans le plasma des souriceaux traités mais pas chez les souriceaux témoins. Sa présence pourrait donc être liée à l'effet neuroprotecteur obtenu chez les nouveaux-nés par supplémentation maternelle en jus de grenade (Λ) (LOREN et JUN 2005).

L'utilisation de plantes à tannins a été envisagée et les premières études menées en Nouvelle-Zélande ont montré que la consommation de plantes à tannins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production d'œufs (PAOLINI *et al.* 2003).

Des expérimentations *in vitro* ont également été menées sur *Trichostrongylus colubriformis*, afin d'étudier l'effet des tannins sur la mobilité et le développement des larves et sur l'excrétion d'œufs.

Utilisant des extraits de tannin de Quebracho (tannins condensés), ces essais ont confirmé ces résultats, en précisant que les tannins condensés réduisaient le nombre d'œufs excrétés de *Trichostrongylus colubriformis*. Ils diminuent la fécondité des larves et augmentent la mortalité des larves de stade L3.

Des études *in vivo* ont confirmé l'effet des tannins condensés sur les nématodes intestinaux des moutons et des chèvres (PAOLINI *et al.* 2003), tout en suggérant que les effets mesurés *in vitro* sous-estimaient les effets réels.

Mais comme il a été cité auparavant, les tannins condensés peuvent induire aussi d'autres effets négatifs lorsqu'ils sont consommés en grande quantité. En effet, ils sont capables de se lier aux protéines et aux enzymes de la digestion causant ainsi un trouble de l'activité du tube digestif et une perte non négligeable de la valeur nutritive des aliments ingérés. Ceci est à l'origine de graves malnutritions (effet antinutritionnel). *In vitro*, cet effet de combinaison se traduit par la précipitation des protéines lorsqu'elles se lient aux tannins. *In vivo*, il se traduit plutôt par un amaigrissement prononcé des souris, allant parfois même jusqu'à la mort.

La solution la plus plausible à ce problème pourrait être l'utilisation de la tannase comme additif alimentaire.

En effet, les études récentes tendent à chercher et à caractériser les microorganismes les plus producteurs de cette enzyme dans le but d'optimiser leur taux de production et l'activité de leur tannase.

L'addition de la tannase aux aliments riches en tannins condensés pourrait libérer les différentes molécules qui s'y lient tout en libérant des composés phénoliques moins complexes qui continueraient à apporter leurs divers bienfaits au corps (KAR et *al.* 2003).

CONCLUSION

Les tannins condensés offrent à l'organismes plusieurs intérêts (anticancéreux, antimicrobiens, préviennent des maladies cardiovasculaires.....), mais leur présence en forte concentration dans les aliments est aussi à l'origine d'une malnutrition non négligée. Il serait donc intéressant et nécessaire de produire des tannases et de les utiliser comme additifs alimentaires. Parmi, les organismes producteurs, les bactéries et les moisissures restent les plus intéressants, notamment les dernières.

Références bibliographique

- ADACHI O., WATANABE M., YAMADA H., 1968:** Studies on fungal tannase. Part II. Physicochemical properties of tannase of *Aspergillus flavus*. *Agric. Biol. Chem.* 32, p 1079-1085.
- AFAQ F., 2005:** Anthocyanin- and hydrolysable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int. J. Cancer.* 20,113 (3), p 423-33.
- AGUILAR CN., GUTIERREZ-SANCHEZ G., 2001 :** Sources, propriétés, applications et utilisations potentielles de la tannase. *Int. Food. Sci. Technol.* 7 (5), p 373-382.
- AGUILAR CN., AUGUR C., FAVELA-TORRES E., VINIEGRA-GONZÁLEZ G., 2001:** Induction and repression patterns of fungal tannase in solid-state and submerged cultures. *Int. Process. Biochem.* 36.
- AGUILAR CN., RODRIGUEZ R., GUTIERREZ-SANCHEZ G., AUGUR C., 2007:** tannases, progrès et perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76 (1), p 47-59(13).
- AISSAM H., ERRACHIDI F., PENNINGCKX MJ., MERZOUKI M., BENLEMLIH M., 2005:** Production of tannase by *Aspergillus niger HA37* growing on tannic acid and Olive Mill Waste Waters. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 21, p 609-614.
- AOKI K., SHINKE R., NISHIRA H., 1976a:** Chemical composition and molecular weight of yeast tannase. *Agric. Biol. Chem.* 40, p 297-302.
- AOKI K., SHINKE, H., NISHIRA H., 1976b:** Purification and some properties of yeast tannase. *Agric. Biol. Chem.* 40 (1), p 79-85.
- AVIRAM M., 2004:** Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin. Nutr.* 23 (3), p 423-33 .
- AVIRAM M., 2002:** flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases , studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs. Exp. Clin. Res.* 28 (2-3), p 49-62.
- AYED L., HAMDI M., 2002 :** Culture conditions of tannase production by *Lactobacillus plantarum*. *Biotechnol.* 24, p1763-1765.
- BAJPAI B. & PATIL S., 1996:** Tannin acyl hydrolase (EC 3.1.1.20) activity of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Trichoderma*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12 (3), p 217-220.
- BANERJEE D., PATIBIKAS R., 2007:** Optimization of tannase production by *Aureobasidium pullulans DBS66*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17 (6), p1049-1053.

BANERJEE D., MONDAL KC., PATI BR., 2001: Production and characterization of extracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus aculeatus* DBF 9. J. Basic. Microbiol. 41, p 313-318.

BANERJEE R., MUKHERJEE G., PATRA KC., 2005: Microbial transformation of tannin-rich substrate to Gallic acid through co-culture method. Bioresource. Technol. 96 (8), p 949-953.

BATE-SMITH EC., SWAIN T., 1962: Flavonoid compounds, in comparative biochem. Florkin M. Mason H. S. Eds. 3, p 75-809.

BATRA A., SAXENA RK., April 2005: Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. Process. Biochem. 40 (5), p 1553-1557.

BATTESTIN V., MACEDO G., ABRIELA A., 2007 : Effets de la température, de pH et des additifs sur l'activité de tannase produit par *Paecilomyces variotii*. Electronic. J Biotechnol. 10 (2), p 191-199.

BATTESTIN V., MACEDO G., PASTORE G., 2005: Optimizing the fermentation broth for tannase production by a new isolated strain *Paecilomyces variotii*. J. Technol. 118, p S49-S49.

BEART JE., LILLEY TH., HASLAM E., 1985: Plant polyphenols. Secondary metabolism and chemical defence, some observations. Phytochem. 24, p 33-38.

BELMARES R., CONTRERAS-ESQUIVAL JC., RODRIGUEZ-HERRERA R., RAMIREZ CORONEL A., AGUILAR CN., 2004: Microbial production of tannase, an enzyme with potential use in food industry. Lebensmittel-Wissenschaft . Technol. 37 (8), p 857-864.

BERNAYS EA., COOPER-DRIVER G., BILGENER M., 1989: Herbivores and plant tannins. Advances. Ecol. Research. 19, p 263-302.

BEVERINI M., METCHE M., 1990: Identification, purification and physicochemical properties of tannase of *Aspergillus oryzae*. Sci. Aliments. 10, p 807-816.

BHAT TK., SINGH B., SHARMA OP., 1997: Microbial degradation of tannins – A current perspective. Biochem. 32 (2) p 135-9.

BLYTT HJ., GUSCAR TK., BUTLER LG., 1988: Antinutritional effects and ecological significance of dietary condensed tannins may not be due to binding and inhibiting digestive enzymes. J. Chemical. Ecol. 14, p1455-1465.

BOADI DK., NEUFELD RJ., 2001: Encapsulation de tannase pour l'hydrolyse des tanins du thé. Enzy. Microbial. Technol. 28, p 590-595.

- BRADDO S., GUPTA R., SAXENA RK., 1997:** Parametric optimization and biochemical regulation of extra cellular tannase from *Aspergillus japonicus*. *Process. Biochem.* 32 (2), p135-9.
- BUFFNOIR S., ROLANDO CA., 1998:** new access to proanthocyanidin using organometallic coupling. *Int. Electronic Conference on Synthetic Organic Chem. ECSOC-2.*
- COOK NC., SAMMAN S., 1996:** Flavonoids, chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.* 7, p 66-76.
- DESCHAMPS AM., OTUK G., LEBEAULT JM., BRANDA., 1983:** Production of tannase and degradation of chestnut tannin by bacteria *Corynebacterium sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus polymyxa*. *J. Ferment. Technol.* 61, p 55-59.
- DE MEJIA SONG YS., RAMIREZ M., 2004:** Effect of origin of mate tea (*Ilex paraguariensis*) leaves on total polyphenol content and topoisomerase inhibition. *FASEB J.* 18 (5), p A890- A890.
- DE MEJIA G., VALADEZ-VEGA E., REYNOSO-CAMACH MC., LOARCAPINA RG., 2005:** Tannins, Trypsin Inhibitors and Lectin Cytotoxicity in Tepary (*Phaseolus acutifolius*) and Common (*Phaseolus vulgaris*) Beans. *Plant. Food. Human. Nutr.* 60 (3), p 137-145.
- DOUGALL E., 2005:** Revelations of an ecological perspective: Issues, inertia, and the public opinion environment of organisational populations. *Public. Relations.* 31, p 534-543.
- FARIAS GM., GORBEA C., ELKINS JR., GRIFFIN GJ., 1994:** Purification, characterization, and substrate relationships of the tannase from *Cryphonectria parasitica*. *Physiological . Molecular. Plant. Pathology.* 44 (1), p 51-63.
- FRANKEL EN., 1993:** Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. 341, p 454- 457.
- GEDIR JV., SPORNS P., HUDSON RJ., 2005:** L'extraction des tanins condensés de cervidés aliments pour animaux et les matières fécales et la quantification en utilisant un dosage de diffusion radicale. *J. Chem. Ecol.* 31 (12), p761-773.
- GOEL V., 2005:** Cognitive neuroscience of deductive reasoning. In K. Holyoak & R. G. Morrison (Eds.), *The Cambridge handbook of thinking and reasoning.* p 475-492.
- GRYGLEWSKI RJ., 1987:** On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 36, p 317-322.
- HAGERMAN AE., BUTLER LG., 1978:** Protein precipitation method for the quantitative.

HAGERMAN AE., 1988: Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. J. Chem. Ecol. 14, p 453-461.

HAGERMAN AE ., BUTLER LG ., 1980: Determination of protein in tannin-protein complexes. J. Agric. Food. Chem. 28, p 944-947.

HAGERMAN AE., BUTLER LG., 1981: The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. J. Biol. Chem. 256, p 4494- 4497.

HAGERMAN, AE., RICE ME., RITCHARD, N. T., 1998: Mechanisms of protein precipitation of two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin 16(4-8) catechin (procyanidin). J. Agric. Food. Chem. 46, p 2590-2595.

HAGERMAN AE., KLUCHER KM., 1986: Tanin-protein interactions, in plant flavanoids en biologie et en médecine, biochim, pharmacol, et les relations structure-activité. p 67-76.

HARBORNE JB., 1988: Methods in plant biochemistry, in Plant phenolics.

HASLAM E., 1989: Plant polyphenols.

HASLAM E., 1993: Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. Phytochem. 37, p 357-371.

HASLAM E., 1998: Practical polyphenols, from structure to molecular recognition and physiological action. p 420.

HASLAM E ., LILLEY TH ., WARMINSKI E ., LIAO H ., CAI Y ., MARTIN R ., 1991: Polyphenol complexation. A study in molecular recognition. In Phenolic compounds in food and their effects on health. Int. Anal, occurrence. Chem. Soc. p 8-49.

HEIM KE., TAGLIAFERRO AR., BOBILYA DJ., 2002: Flavonoid antioxidants, chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J. Nutr. Biochem. 13, p572-584.

HERNÁNDEZ HS., 2002: Optimization of *Aspergillus niger* tannase production using Taguchi methods. Biotechnol. 76B-23.

HERRMANN KM., 1995: The shikimate pathway, early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. Plant. Cell. 7, p 907-919.

HERTOG MGL., HOLLMAN P., KATAN M., 1992: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the netherlands. J. Agri. Food. Chem. 40, p 2379-2383.

HUANG WNJ., BORTHWICK AGL., 2004: Biosynthesis of valonia tannin hydrolase and hydrolysis of valonia tannin to ellagic acid by *Aspergillus SHL 6*. *Process. Biochem.* 40, p 1245-1249.

JOGESWAR SP ., DE JAYATI DR ., KUMAR RN ., BANERJEE R ., 2005 : Tendez l'amélioration pour la production de tannase de la Co-culture de *Foetidus d'Aspergille Oryzae* et *Rhizopus*. *Biotech. Microbienne et laboratoire de traitement descendant*.

JONES PJ., RAEINI-SARJAZ M., NTANIOS FY ., VANSTONE CA ., FENG JY ., PARSONS WE ., 2000: Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J. Lipid. Research.* 41, p 697-705.

JOVANOVIĆ SV., STEENKEN S., SIMIĆ MG., HARA Y., 1998: Antioxidant properties of flavonoids, reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoids. p 137-161.

KAR B., BANERJEE R., BHATTACHARYYA BC., 2003: Effect of additives on the behavioural properties of tannin acyl hydrolase. *Process Biochem:* 38 (9), p 1285-1293.

KELAWALA NS., 2004: Antioxidant activity of selected foodstuffs. *Int. J. Food. Sci Nutr.* 55 (6), p 511-6.

KUMAR RA., GUNASEKARAN P., LAKSHMANAN M ., 1999: Biodegradation of tannic acid by *Citrobacter freundii* isolated from a tannery effluent. *J. Basic. Microbiol.* 39 (3), P161-8.

KUMAZAWA S ., TANIGUCHI M ., SUZUKI Y ., SHIMURA M ., KWON M ., NAKAYAMA T ., 2002 : Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J. Agric Food. Chem.* 50, p 373-377.

LANSKY EP ., 2005: Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New. Drugs.* 23 (4), p 379.

LEKHA PK., LONSANE BK., 1994: Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *Aspergillus niger PKL 104* in solid-state, liquid surface and submerged fermentations. *Process. Biochem.* 29, p 497-503.

LI MKY., QIANG H., DONGYING J., 2006: Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. *J. Basic. Microbiol.* 46 (1), p 68-84.

LOOMIS WD., BATTAILE J., 1966: Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochem.* 5, p 423-438.

LOREN D ., JUN J ., 2005: Maternal dietary supplementation with pomegranate juice is

neuroprotective in an animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr. Res.* 57 (6), p 858-64.

MAHAPATRA K., NANDA RK., BAG SS., BANERJEE R., PANDEY A., SZAKACS G., 2005: Purification, characterization and some studies on secondary structure of tannase from *Aspergillus awamori nakazawa*. *Process. Biochem.* 10, p 3251-3254.

MAHENDRAN B., RAMAN N., KIM DJ., 2006: Purification and characterization of tannase from *Paecilomyces variotii*, hydrolysis of tannic acid using immobilized tannase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70 (4), p 444-450.

MAZUR A., BAYLE D., LAB CI., ROCK E., RAYSSIGUIER Y., 1999: Inhibitory effect of procyanidin-rich extracts on LDL oxidation in vitro, *Atherosclerosis.* 145, p 421-422.

MITJAVILA S., LACOMBE C., CARRERA G., DARECHE R., 1977: Tannic acid and oxidized tannic acid on the Taiwo. Haematology, functional state of the rat intestinal epithelium. *J. Nut.* 107, p 2113-2121.

MOLE S., WATERMAN PG., 1987a: Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. II. Potential Significance to herbivores. *J. Chemical. Ecol.* 14 (1), p 23-24.

MOLE S., WATERMAN PG., 1987b: A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia.* 72, p 148-156.

MONDAL KC., BANERJEE D., BANERJEE R., PATI BR., 2001a: Production and characterization of tannase from *Bacillus cereus KBR9* *J. Gen. Appl. Microbiol.* 47, p 263-267.

MONDAL KC., PATI BR., 2000: Studies on the extra cellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis KBR 6*. *J. Basic. Microbiol.* 40, p 223-232.

MONDAL KC., BANERJEE D., JANA M., PATI BR., 2001b: Colorimetric assay method for determination of the tannin acyl hydrolase (EC 3.1.1.20) activity. *Anal. Biochem.* 295 (2), p 168-171.

MUKHERJEE G., 2007: Production and proprties of fungal tannase, an important industrial biocatalyst. *Chim. oggi.* 25 (3), p 65-69.

MUKHERJEE G., BANERJEE R., 2004: Biosynthesis of tannase and gallic acid from tannin rich substrates by *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus foetidus*. *J. Basic. Microbiol.* 44, p 42-48.

MUKHERJEE G., BANERJEE R., 2006: Effects of temperature, pH and additives on the activity of tannase produced by a co-culture of *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus foetidus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 22, p 207-212, 3251-3254.

- NAKANISHI Y ., CHANG FR ., LIAW CC ., WU Y ., CHANG B ., KENNETH., LEE KH., 2003:** Acetogenins as selective inhibitors of the Human Ovarian 1A9 Tumor Cell Line. *J. Medicinal. Chem.* 46 (15), p 3185-3188.
- NELSON KE., PELL AN., SCHOFIELD P., ZINDER S., 1995:** Isolation and characterization of an anaerobic ruminal bacterium capable of degrading hydrolyzable tannins. *Appl. Microbiol.* 61, p 3293-3298.
- OSAWA R., FUJISAWA T., SLY LL., 1995a:** *Streptococcus gallolyticus sp.*, gallate degrading organisms formerly assigned to *Streptococcus bovis*. *Syst. Appl. Microbiol.* 18, p74-78.
- OSAWA R., FUJISAWA T., PUKALL R., 2006:** *Lactobacillus apodemi sp.*, a tannase-producing species isolated from wild mouse fascies. *J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, p1693-1696.
- OSAWA R., RAINEY F., FUJISAWA T., LANG E., BUSSE HJ., WALSH TP., STACKEBRANDT E., 1995b:** *Lonepinella koalarum sp.*, a new tannin-protein complex degrading bacterium. *Syst. Appl. Microbiol.* 18, p 368-373.
- OSAWA., 1992:** Tannin-protein complex-degrading enter bacteria isolated from the alimentary tracts of koalas and a selective medium for their enumeration. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, p 1754-1759.
- ÖTÜK AG. , DESCHAMPS M ., 2004 :** Biomedical and life sciences, dégradation d'un tanin condensé par plusieurs types de levures. *Mycopathol.* 83, p 107-111.
- PAOLINI V ., FRAYSSINES A ., DE LA FARGE F ., DORCHIES P., HOSTE H ., 2003 :** Effets des tanins condensés sur des populations et sur les larves de *Trichostrongylus colubriformis* et *teladorsagia circumcincta* dans chevres..Interaction Hôtes Pathogènes. *Ecole. Nat.*
- RAJAKUMAR GS ., NANDY SC ., BRANDA ., 1983:** Isolation, purification, and some properties of *Penicillium chrysogenum* tannase. *Appl. Environ. Microbiol.* 46 , p 525-527.
- SABU A., AUGUR C., SWATI C., PANDEY A., 2006:** Tannase production by *Lactobacillus sp. ASR-S1* under solid-state fermentation. *Process. Biochem.* 41, p 575-580.
- SABU A., KIRAN G., SHEGAL. , PANDEY A., 2005:** Purification and characterization of tannin acyl hydrolase from *Aspergillus Niger ATCC 16620*. *Food. Technol. Biotechnol.* 43 (2), p133-138.
- SAKAKIBARA H ., HONDA Y ., NAKAGAWA S ., ASHIDA H ., KANAZAWA K., 2003:** Simultaneous:determination of all polyphenols in vegetables, fruits and teas. *J. Agric. Food. Chem.* 51, p 571-581.

SALUNKHE DK., CHAVAN JK., KADAM SS., 1989: Dietary tannins, consequences and remedies, Ed. CRC press, Inc. Boca Raton.

SALUNKHE DK., CHAVAN JK., KADAM SS., 1990: Dietary tannins, consequences and remedies, Ed. CRC press. Inc. Boca Raton.

SAXENA S., SAXENA RK., 1940: Statistical optimization of tannase production from *Penicillium variable* using fruits (chebulic myrobalan) of *Terminalia chebula* Schopf, C. Winterhalder. L. Liebigs. Ann. p 544 -74.

SEIGLER DS ., 1998: Plants secondary metabolism. Kluwer Academic Publishers. Boston. p 106-129.

SHARMA S., BHAT TK., DAWRA RK., 1999: Isolation, purification and properties of tannase from *Aspergillus niger*, van Tieghem. J. Microbiol. Biotechnol. 15 (6), p 673-677.

SKENE IK., BROOKER JD., 1995: Characterization of tannin acylhydrolase activity in the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. Anaerobe. p 321-327, 358-365.

SOCYNSKA-KORDALA M., BAKOWSKA A., OSZMIANSKY J., GABRIELSKA J., 2001: Metal-ion flavonoid associations in bilayer phospholipid membranes. Cell. Mol. Biol. Lett. 6, p 277-281.

TZENG SH., 1991: Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids.

VAQUERO I., MARCOBAL A., MUÑOZ R., 2004: Tannase activity by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. Int. J. Food. Microbiol. 96 (2), p 199-204.

WEAVER LM. , HERRMANN KM., 1997: Dynamics of the shikimate pathway in plants. Trends in plant. Science. 2, p 346-351.

YAMADA H., ADACHI O., WATANABE M., OGATA K., 1968a: *Aspergillus flavus* Tannase (tannin acyl hydrolase), a typical serine esterase. Agric. Biol. Chem. 32, p 257-258.

YAMADA H., ADACHI O., WATANBE M., SATO N., 1968 b: Studies on fungal tannase (part I). Formation, purification and catalytic properties of tannase of *Aspergillus flavus*. Agric. Biol. Chem. 32, 9, p 1070-1078.

YU XW., LI YQ., WANG CX., WU D., 2003: Immobilization of tannase by microencapsulation and its kinetic characteristics . Appl. Biochem. Biotechnol. 40, p 151-155.

YU X ., LI Y ., WU D ., 2004: Enzymatic synthesis of garlic acid esters using microencapsulated tannase, effect of organic solvents and enzyme specificity . J. Mol. Catal. 30, p 69-73.

ZHONG X ., PENG L ., ZHENG S ., SUN Z ., REN Y ., DONG M ., XU A ., 2004: Secretion, purification, and characterization of a recombinant *Aspergillus oryzae* tannase in *Pichia pastoris* . *Protien. Expr. Purif.* 36, p 165-169.

ZHANG Q ., CHEN Y ., ZHENG YQ ., XIA P ., XIA Y ., YANG ZY ., BASTOW KF ., MORRIS-NATSCHKE. SUSAN L ., LEE KH ., 2003: Synthesis and bioactivity of 4,10-dimethyl-pyridino[2,3-h]quinolin-2(1H)-one-9-carboxylic acid and its esters. *Bioorganic. Medicinal. Chem.* 11(6), p 1031-1034.

ZIMMER NR ., CORDESSE ., 1996 : Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Inra. Prod. Anim.* 9 (3), p 167-

LES LISTES (EN LIGNES)

α -° <http://www.ifr.ac.uk/polybind/polyphenols.doc> (en ligne). Définition des polyphénols.

B-° [http:// www.frenchedonist.com/index-fr.htm](http://www.frenchedonist.com/index-fr.htm) .

γ ° <http://www.pharmacorama.com/ezone/lupourvous5.php> .

θ °-http://www.doctissimo.fr/html/sante/mag_2000/mag0929/dossier/sa_2145_french_paradox.htm

Ω °-<http://www.socpharmbordeaux.asso.fr/pdf/pdf-138/138-075-090.pdf> .

η °-<http://www.lespolyphenolsdegrenade.fr/EditionsSFA2007.html>.

σ °-[http://www.Société Francaise des Antioxydants. fr /Editions SFA1998-2007.html](http://www.SociétéFrancaisedesAntioxydants.fr/EditionsSFA1998-2007.html)

Noms et prénoms des étudiantes :
Maache Basma
Merghit Ilhem
Yakhlef Hasna

Examineur : Sifour. M
Encadreur : Akroum. S

Résumé

Les tannins condensés sont des polyphénols synthétisés lors du métabolisme secondaire des végétaux .Ils sont connus pour leurs nombreuses vertus thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques, agroalimentaire....Mais ces composés causent aussi des inconvénients majeurs lorsqu'ils sont présents en grande quantité dans nos aliments. Pour ceci, la tannase offre un intérêt particulier. En effet, l'utilisation de cette enzyme comme additif alimentaire limiterait de manière considérable l'effet antinutritionnel causé par les tannins condensés.

Les microorganismes sont considérés comme les meilleures producteurs du tanin acyl hydrolase .Avec une attention particulière est accordée aux bactéries et aux moisissures.

Mots clés : tannins, polyphénols, effet antinutritionnel, tannase, micro-organismes, additive alimentaire.

Abstract

The condensed tannins are polyphénols synthesized by the secondary metabolism of the plants. They are known for their numerous therapeutic, pharmaceutical virtues, cosmetologiques, agroalimentary... But these compounds also cause major inconveniences when they are present in big quantities in our food. In this goal, the tannase offers one particular interest. Indeed, the use of this enzyme as food additive would limit considerably the antinutritionnel effect caused by the condensed tannins.

Microorganismes are considered as the best producers of tannin acyl hydrolase. A particular attention is granted to the bacteria and moulds.

Key words:tannins,polyphénols, antinutritionnel effect, tannase, micro-organismes, food additive.

المخلص

الذباغ المكثفة هي متعددات فينولات تصنع خلال الاستقلاب الثانوي للنباتات. وهي معروفة بتعدد خواصها و مميزاتها العلاجية, الصيدلانية, التجميلية, وفي علم التغذية.... لكن هذه المركبات تسبب ايضا سلبية خطيرة و عظيمة عند تواجدها بنسب عالية في اغذيتنا. في هذا الصدد, الانزيم المحلل للذباغ يقدم منفعة خاصة و دقيقة في الواقع, استعمال هذا الانزيم كاضافة و زيادة غذائية يحدد و يقلل بطريقة مهمة و معتبرة المفعول المضاد لهذه المركبات على القيمة الغذائية و المسببة خاصة بواسطة الذباغ المكثفة. تعتبر الكائنات الحية المجهرية أفضل المنتجين للانزيم المحلل للذباغ. مع اهتمام خاص و التقاف يمنح لكل من البكتيريا و الاعفان .

الكلمات المفتاحية : الذباغ, متعدد الفينولات, تأثير مضاد للغذاء, انزيم محلل للذباغ, كائنات مجهرية, اضافة غذائية.