

RECHERCHE DES PROPRIETES BACTERICIDES DES ENZYMES DE L'ANANAS

LAURENT Amélia, GAÏL Kessy, LABRU Kréolynn', AOULADI Manime
Tle STL, Lycée Raoul Georges Nicolo, Basse-Terre, GUADELOUPE

INTRODUCTION

La pandémie de COVID-19 a causé la hausse de la demande en produits désinfectants; la population ressent donc le besoin de se protéger contre tous types d'agents pathogène virus ou bactéries. La production de produits bactéricides représente alors une des sources principales de profit dans le monde médical. Cependant la production de bactéricides à l'échelle industrielle est une des causes de la dégradation de la qualité de l'environnement. Ces produits, non solubles et non biodégradables peuvent entraîner un déséquilibre de l'écosystème. Les produits bactéricides sont parfois retrouvés sous forme de mousse en milieu marin : ils provoquent la perturbation endocrinienne des poissons et des cétacés à cause de leur composition pétrochimique ¹. Certains bactéricides sont en effet fabriqués à partir de dérivés de pétrole. Il y a donc un intérêt à favoriser des produits de nettoyage issus de la chimie verte moins polluante.

¹<https://ecotoxicologie.fr/desinfectants-environnement>

PROBLEMATIQUE Comment produire des désinfectants en limitant l'impact sur notre environnement ?

MODELE D'ETUDE

Le projet mené consiste à trouver une alternative naturelle à la fabrication des désinfectants.

L'ananas (*Ananas comosus*) est une espèce de plante xérophYTE (vivant dans les lieux secs) appartenant à la famille des *Bromeliaceae*. Il est formé d'une tige à une extrémité qui traverse le fruit et d'une rosette de longues feuilles dentées à l'autre. Il comprend en plus des écorces en écaille et de la chair à l'intérieur.



Structure moléculaire de l'enzyme Broméline

La broméline est un ensemble d'enzymes protéolytiques présentes dans les racines, les tiges fraîches et la peau de l'ananas. L'enzyme broméline hydrolyse les protéines. Elle coupe les liaisons peptidiques qui s'établissent entre les acides aminés. L'activité de la broméline est stable entre pH 3 et 6, et son activité enzymatique est maximale à une température de 62°C.

On sait que la paroi bactérienne est constituée de peptidoglycane. Le peptidoglycane est formé de plusieurs chaînes de glucides (l'acide N-acétyl muramique ou du N-acétyl glucosamine) liées par des ponts peptidiques.

Hypothèse. Les enzymes protéolytiques de l'ananas peuvent avoir une action bactéricide en hydrolysant ponts peptidiques de paroi bactérienne.

Objectif général. L'objectif est de déterminer si les enzymes de l'ananas ont un effet bactéricide.

EXTRACTION ET PURIFICATION DES ENZYMES DE L'ANANAS

Protocole d'extraction de la Broméline (d'après Optimisation of Bromelain Enzyme Extraction from Pineapple (*Ananas comosus*) and Application in Process Industry. **Mohan et al**, 2016. [American Journal of Biochemistry and Biotechnology](#))

Extraction and separation of Bromelain enzyme from the pineapple fruit material is essential. The pineapple fruit and peel were separated and cut into small pieces and was processed separately for the extraction of enzyme. Fruit pieces and peel were weighed and grinded in mortar and pestle to extract the juice. After extracting the juice, crude enzyme from the fruit remaining was further extracted by adding 20 mL distilled water was added to it. Then the juice was filtered using Whatman filter paper (150 mm). It was used as crude extract of Bromelain enzyme from pineapple fruit "FT" and peel "FP".

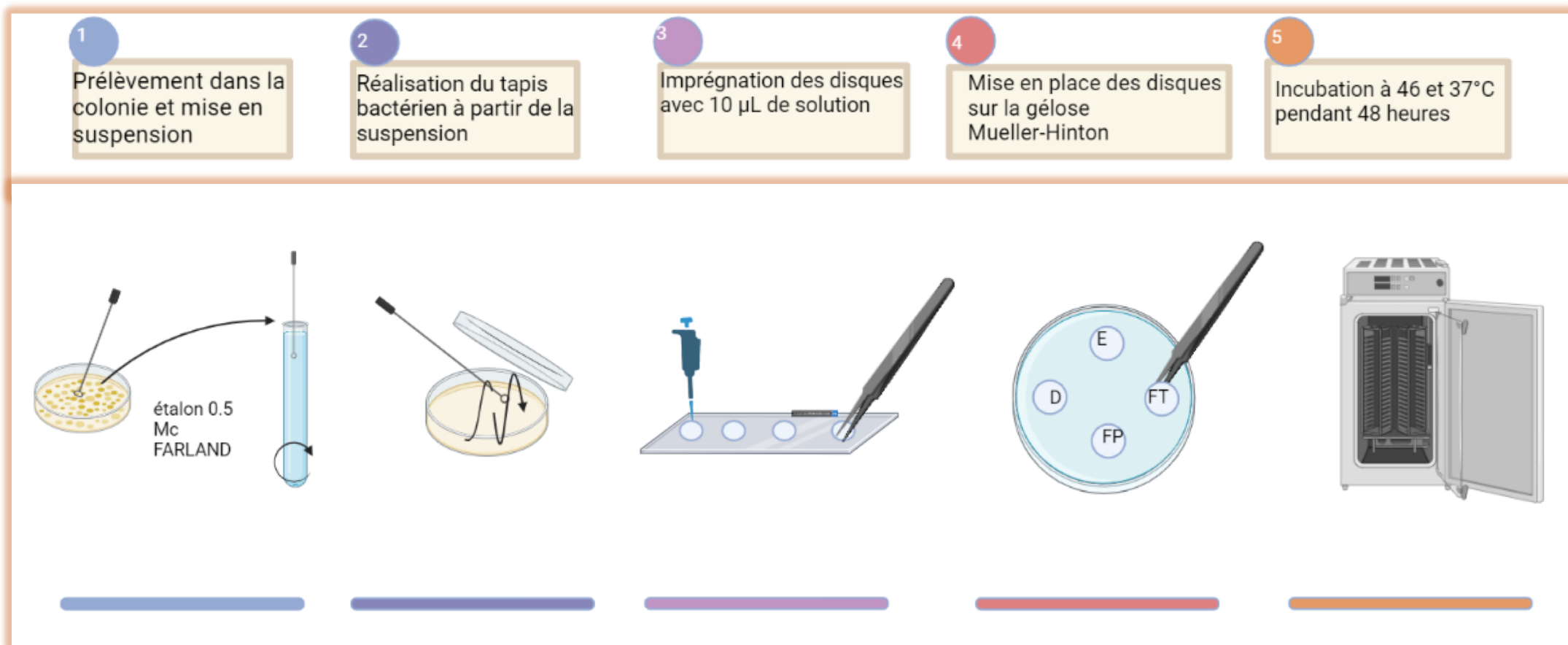
Les filtrats de tige « FT » et de peau « FP » ont été stérilisés par filtration sur membrane de porosité 0,22µm.



RECHERCHE DE L'EFFET ANTIBACTERIEN PAR LA METHODE DES DISQUES EN MILIEU GELOSE

PRINCIPE. On cherche à déterminer si les filtrats issus de la tige et de la peau de l'ananas ont un effet antibactérien. La méthode des disques consiste de manière générale en une diffusion en milieu solide sur une gélose qui aura été préalablementensemencée avec la bactérie à étudier. Ici, il s'agissait d'un ensemencement d'*Escherichia coli* sur gélose Mueller-Hinton.

Pour valider la manipulation, l'eau stérile n'ayant aucune propriété antibactérienne a été choisi comme témoin négatif et une solution antiseptique de Dakin noté « D » comme témoin positif. Deux essais ont été réalisés : les filtrats d'extrait de tige « FT » et d'extrait de peau d'ananas « FP ». Chaque disque a été imprégné avec 10µL d'échantillons. Une période d'incubation a ensuite été suivie à 37 °C ou 46°C (température la plus proche de la température où l'activité de l'enzyme à laquelle *E.coli* peut pousser) pendant 48h. La propriété antibactérienne d'une solution se traduit par la zone d'inhibition autour du disque imprégné de cette dernière



Boîte obtenue après incubation à 37°C

VALIDATION ET EXPLOITATIONS DES RESULTATS

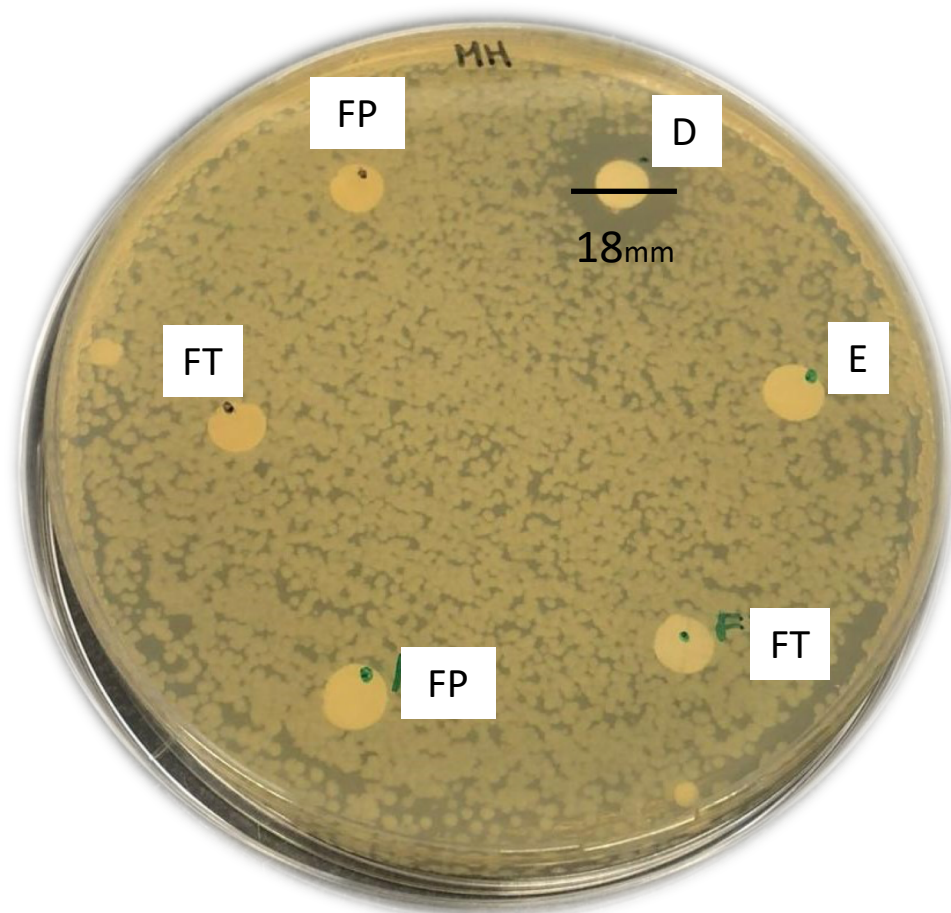
Après incubation à 37°C, on constate une absence de zone d'inhibition autour du disque E imprégné par l'eau stérile. Le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque D, imprégné par l'eau de javel est de 18mm; cela qui signifie que la solution de dakin présente dans le disque a diffusé dans la gélose autour du disque et a inhibé la croissance des bactéries *E. coli*.

Les résultats des témoins correspondent donc aux résultats attendus, l'expérience est validée, les résultats sont exploitables.

Pour les essais, on observe qu'il n'y a pas de zone d'inhibition autour du disque FP, imprégné par le filtrat de peau d'ananas ni autour du disque FT imprégné par le filtrat de tige d'ananas.

Nos filtrats d'extrait de tige et de peau d'ananas n'ont pas d'effet bactéricide sur la bactérie *E.coli* à 37°C

Après incubation à 46°C -température plus proche de la température où l'activité enzymatique de la broméline est maximale- le tapis bactérien ne s'est pas développé. Nous n'avons donc pas été en mesure de déterminer l'effet de l'enzyme sur la souche *E.coli* test à cette température.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Afin vérifier l'hypothèse selon laquelle les enzymes protéolytiques de l'ananas auraient un effet bactéricide, deux manipulations ont été réalisées. Une première manipulation préparative a été menée pour extraire les enzymes de l'ananas dans deux parties du fruit: la peau et la tige. La recherche de l'effet bactéricide des extraits par la méthode des disques sur milieu gélosé a ensuite été réalisé : l'effet des filtrats stérilisés a été testé sur la bactérie *E.coli*. Après exploitation des résultats, **les extraits d'ananas contenant entre autres les enzymes de l'ananas n'ont pas montré d'effet bactéricide sur la souche *E.coli* utilisée.**

Au regard des résultats, on peut s'interroger sur la présence des enzymes protéolytiques de l'ananas dans nos extraits. Pour vérifier leur activité, on pourrait mettre nos extraits présence d'un gélifiant comme la gélatine; l'effet protéolytique se traduit en effet par la liquéfaction du gélifiant. Par ailleurs, il faudrait aussi tester l'effet bactéricide sur d'autres souches de bactéries.