

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Thème

*Étude in vitro de l'activité antioxydante de quelques
souches des bactéries lactiques*

Membres de Jury : Présenté par :

Président : Dr. R.MOHDEB

M^{elle} : Sara MELLIT

Examineur : Dr. N. BALLI

M^{elle} : Iméne MOUSSAOUI

Promotrice : Dr.N. BENHAMADA

Année Universitaire 2020-2021



Remerciements

Nous espérons que les quelques mots que nous nous apprêtons à écrire réussiront à retranscrire fidèlement nos sentiments.

En premier lieu, nous remercions « Allah », le tout puissant, de nous avoir aidé à surmonter toutes les difficultés lors de nos études et qui nous avoir donné la patience, la volonté et le courage afin d'arriver à la finalité de ce travail.

*Notre première pensée va tout naturellement à notre encadreur **Dr. N. BENHAMADA** qui nous a fait l'honneur de veiller et diriger ce travail. Nous avons beaucoup apprécié sa confiance, ses conseils et sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury **Dr. N.***

***BALLI et Dr. R. MOHDEB** d'avoir accepté de juger ce travail.*

On souhaite également remercier l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de Microbiologie appliquée ainsi que le personnel du département de Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires qui ont contribué pour mener à bien ce travail.

Nos remercions aussi gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Enfin nous remercions tous les étudiants de la promotion de master II toxicologie fondamentale et appliquée 2020 /2021.



Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai

Pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

***Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous ces sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

***Mon père**, qui peut être fier de trouver ici le résultat des longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie, puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.*

*Mes sœurs **Zineb**, **Meriem**, **Amina** et **Hadjer** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*Mes frère **Yaacoub** et **Yasser***

*Mes petite –enfant de la famille, **Abderrahmane**, **Abdsammad**, **Anfel**, **Arwa**, **Coussay**, **Ghofrane**,
Miral, **Ritel** et **Ouais***

*Mes jumeaux **Abrar**, **Afnan***

*À toute la famille **Mellit** et **Bouznoune***

*Mon fiancé **Youcef** pour ton aide et ton soutien moral, et a toute ma future famille **REZZIG**.*

*Mes amis : **Ahlem**, **Nada**, **Soumia**, **Rania**, **Wissam**, **Sakina**, **Naila** et **Sirine***

*À toutes mes amies, je cite en particulier ma copine et mon binôme **Iméne**, qui partagé avec moi tous les moments de ce travail.*

Sara



Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai

Pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous ces sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier de trouver ici le résultat des longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie, puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.

Mes sœurs Nawal ; Meriem et Aïcha et mon frère ***Bilal*** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

*À toute la famille **Moussaouiet Bouakrif***

*Mon fiancé **Sidali** pour ton aide et ton soutien moral, et à toute ma future famille **Ater***

*Mes amies ; **Wisseem, Rima, Kaouter***

*À toutes mes amies, je cite en particulier ma copine et mon binôme **Sara**, qui partagé avec moi tous les moments de ce travail.*

Iméne



Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux	VI
Introduction.....	1

Partiel : Synthèses bibliographique

Chapitre I : Stress oxydant

I. 1. Généralités.....	05
I. 2. Origines du stress oxydant	05
I. 2. 1. Origines endogènes.....	06
I. 2. 1. 1. Respiration mitochondriale.....	06
I. 2. 1. 2. Phagocytose.....	07
I. 2. 2. Origines exogènes.....	07
I. 2. 2. 1 .Ultras Violets.....	07
I. 2. 2. 2. Ozone	08
I.2.2.3. Fumée de tabac.....	08
I. 3. Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires.....	08
I. 3.1. Peroxydation lipidique	09
I. 3.2. Oxydation de l'ADN.....	10
I. 3.3. Oxydation des protéines.....	10
I. 4. Maladies liées au stress oxydatif.....	11
I. 4 .1. Diabète de type 2.....	11
I. 4 .2. Inflammation.....	12
I. 4 .3. Athérosclérose	12
I. 4 .4. Cancers.....	12

I. 4 .5. Maladies neurodégénératives et neuromusculaires.....	13
---	----

Chapitre II : Système antioxydant

II. 1. Définition des antioxydants.....	15
II. 2. Types de systèmes antioxydants.....	15
II. 2.1. Antioxydants enzymatiques.....	15
II. 2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	16
II. 2.1.2. Catalase (CAT).....	16
II. 2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	16
II. 2.2. Antioxydants non enzymatiques.....	17
II. 2.2.1. Vitamines.....	17
II. 2.2.2. Oligoéléments.....	18
II. 2.2.3. Polyphénols.....	19
II. 2.2.4. Les antioxydants synthétiques.....	20
II. 3. Mécanisme d'action des antioxydants.....	20
II. 4. Effets des antioxydants sur la santé.....	20

Chapitre III : Les bactéries lactiques

III. 1. Définition et caractéristiques.....	23
III. 2. Habitat et origine des bactéries lactiques.....	23
III.3. Taxonomie	23
III.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	23
III.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	24
III.4.3. Le genre « <i>Streptococcus</i> ».....	24
III.4.4. Le genre « <i>Enterococcus</i> »	24

III.4.5. Les genres« <i>Lactococcus</i> ».....	24
III.4.6. Les genres« <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i> ».....	24
III.5.Principales voies fermentaires des bactéries lactiques.....	25
III.5.1. Les ferments lactiques.....	25
III.5.2. Applications industrielles des bactéries lactiques.....	25
III.6. Rôle et intérêt des bactéries lactiques.....	26
III.6.1. Domaine alimentaire.....	26
III.6.2. Domaine de santé.....	26
III.7. Activité antioxydante des bactéries lactiques.....	26
Partie II : Étude expérimentale	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
I.1. Objectif	30
I.2. Matériel.....	30
I.2.1. Matériel biologique.....	30
I.2.2. Produits chimiques et milieux de culture.....	30
I.2.3. Appareillages.....	30
I.3. Méthodes.....	30
I.3.1. Repiquage et réactivation des souches lactiques.....	30
I.3.2. Standardisation et préparation de cellules intactes.....	31
I.3.3. Détermination <i>in vitro</i> du pouvoir antioxydant.....	31
I.3.3.1 Essai de résistance au peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	31
I.3.3.2. Essai de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	32
I.3.3.3. Piégeage des radicaux anions superoxydes	33
I.3.3.4. Dosage de la teneur totale en polyphénols	34
I.3.3.5. Pouvoir réducteur.....	34
I.4. Analyse statistique	35

Chapitre II. Résultats et discussions

II.1. Résistance au peroxyde d'hydrogène	37
II.2. Essai de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	38
II. 3. Piégeage de l'anion superoxyde	40
II.4. Dosage de la teneur totale en polyphénols	41
II.5. Pouvoir réducteur	42
Conclusion	45
Référence bibliographique.....	47
Annexe	
Résumé	

- NO**:Le monoxyded'azote
- OH**:Le radical hydroxyle
- 1O₂**:Oxygène singulet
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ADP**:Acide adénosine-diphosphorique
- ATP**:Adénosine-triphosphate.
- BHA** : Le butylhydroxyanisole
- BHT** :Butylhydroxytoluène
- CAT**:Catalase
- DNPH**:Dinitrophénylhydrazone
- DPPH** : 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl
- ERA** : Espèces réactives d'azote
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- GPx** : Glutathion peroxydase
- GSH** : Glutathion
- HCL** : L'acide chlorhydrique
- MRS** : Man-Rogosa et Sharp
- Na₂CO₃** : Carbonate de sodium
- NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogenase
- NAOH** : L'hydroxyde de sodium
- NO**:Monoxyded'azote
- NOS** : Oxyde nitrique synthétases
- NOx**:L'oxydesd'azote
- O₂**:Oxygen
- O^{2•-}** :L'anionsuperoxyde
- PBS** :Phosphate Buffer Saline
- PG** : Gallate propylée
- ROS**: Reactive oxygen Species
- SOD**:Superoxydedismutase
- TCA** : L'acide trichloracétique
- TNF- α** : Facteurs de nécrose tumorale-alpha

Figure	Page
1. Origine extracellulaires et intracellulaires des radicaux libres dérivés del'oxygène.....	5
2. Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale.....	6
3. Un schéma expliquant la peroxydation lipidique.....	9
4. un schéma expliquant l'oxydation de LADN.....	10
5. schéma expliquant l'oxydation des protéines.....	11
6. Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leur cofacteur métallique.....	15
7. Structure de l'acide ascorbique.....	17
8. Structure de la vitamine E.....	17
9. Structure de caroténoïdes.....	18
10. Structure de flavonoïde.....	20
11. Résultats de piégeage du radical DPPH par les trois souches de bactéries lactiques	39
12. Taux de piégeage de l'anion superoxyde des souches lactiques étudiées.....	40
13. Teneurs en polyphénol des souches lactiques	41
14. Résultats du pouvoir réducteur des souches lactiques étudiées	42

Tableau	page
1. Résultats de la recherche de catalase et de la coloration de Gram des bactéries lactiques étudiées	31
2. Le taux de survie de 23 souches de bactérie lactique dans le milieu MRS à le H ₂ O ₂	37



Introduction

Les avancées de la médecine ont permis de mieux comprendre la physiologie du corps humain et les réactions chimiques permettant son bon fonctionnement. Dès lors, bon nombre de pathologies ont vu leurs mécanismes identifiés (**Rechner et al., 2002**).

L'oxygène est une molécule essentielle pour le métabolisme aérobie afin de produire des molécules à haut potentiel énergétique. En effet, entre 1 à 2% du taux d'O₂ utilisé sur la chaîne respiratoire mitochondriale est transformé en espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelles (**Prutz et al., 2001 ; Wang et al., 2017**).

Cependant, lorsque ces derniers sont générés en excès les biomolécules en particuliers les protéines, les lipides et les acides nucléiques peuvent être endommagés par le processus de stress oxydatif (**Li et al., 2012**), qui peut se définir comme une condition dans laquelle la balance prooxydante antioxydant dans la cellule est perturbée (**Wang et al., 2017**). La plupart des organismes vivants possèdent des systèmes de défenses et de réparation antioxydants enzymatiques tels que la superoxydedismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR), la catalase (CAT), et des défenses antioxydants non enzymatique tels que, les oligoéléments (cuivre, zinc, manganèse, fer ; etc.), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), mélatonine, le glutathion, les caroténoïdes et les flavonoïdes présents dans les cellules (**Spyropoulos et al., 2011; Mishra et al., 2015**).

Les antioxydants sont des molécules qui interagissent avec les radicaux libres générés et terminent la réaction en chaîne avant que des dommages ne soient causés aux molécules vitales (**Mishra et al., 2015**).

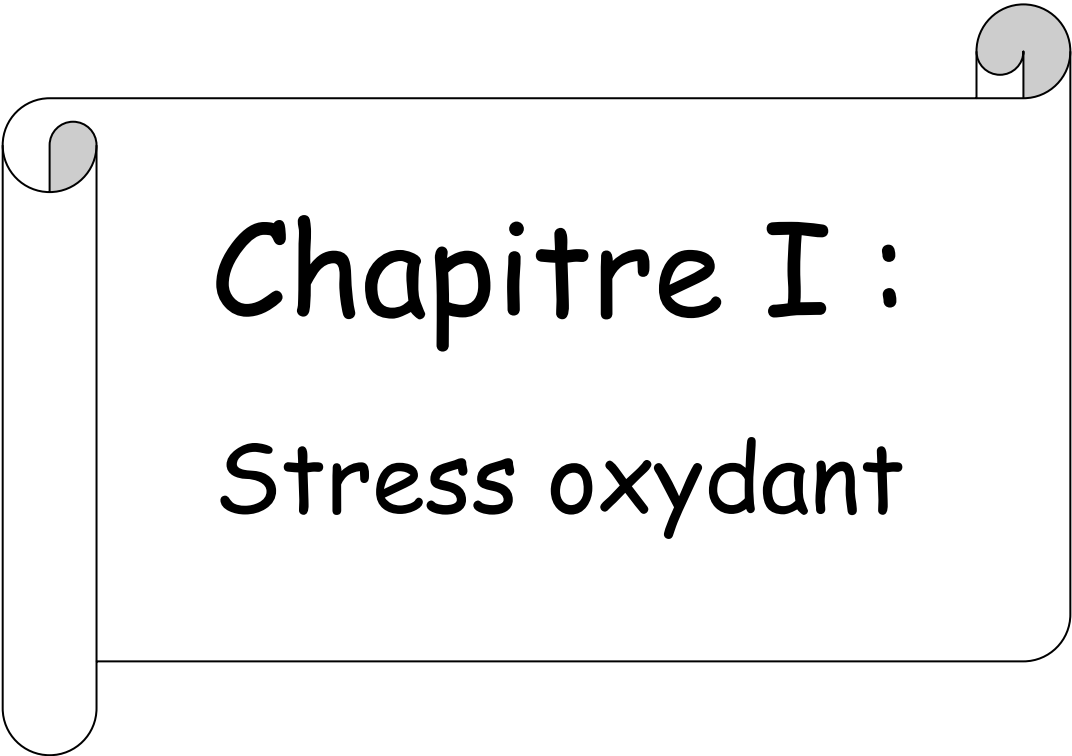
Les bactéries lactiques (LAB : Lactic Acid Bacteria) sont connues par plusieurs effets bénéfiques, tels que l'activité antimicrobienne, la capacité de moduler la réponse immunitaire et les effets anti-tumoraux (**Kullisaar et al., 2002; Saarela et al., 2002; Mikelsaar et al., 2004**). Il a été démontré que certains lactobacilles possèdent une activité antioxydante et sont capables de diminuer le risque d'accumulation des ERO lors de l'ingestion d'aliments. Les LAB sont capables de dégrader l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (**Korpela et al., 1997; Miller et Britigan 1997; Kullisaar et al., 2002**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail vise à évaluer *in vitro*, l'activité antioxydante de quelques souches de bactéries lactiques isolées du blé fermenté.

Notre manuscrit commence par une introduction générale ensuite une synthèse bibliographique regroupant les connaissances sur le stress oxydant et le système antioxydant, une étude expérimentale englobant le matériel et les méthodes utilisées et les résultats obtenus ainsi que la discussion de ces derniers. En fin, le manuscrit est achevé par une conclusion.



Partie I :
Synthèse
bibliographique



Chapitre I :

Stress oxydant

I.1. Généralités

Un radical libre par définition est une espèce chimique, atome ou molécule extrêmement instable comprenant un ou plusieurs électrons célibataires non appariés dont ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer leurs électrons. Donc cette molécule instable est considérée comme un radical libre (Migdal et al., 2011 ;Birben et al., 2012). Les radicaux libres font partie de la famille des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui regroupe ; radical anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), radical hydroxyle (OH^{\cdot}) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le dioxygène singulet 1O_2 , à côté des ERO, il existe des ERN (espèces réactives nitrogènes) qui sont générées en permanence par l'organisme dont le représentant majeur est le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) (Dhawan, 2014; Kouassi, 2017). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydante-antioxydante c'est-à-dire lorsque la production des radicaux libres dépasse les capacités de défense des tissus, ce qui peut engendrer de nombreux dommages sur la structure et la métabolisme cellulaire en dégradant ainsi de nombreuses cibles : protéines, lipides, et acides nucléiques, concernant les lipides il peut y avoir même des peroxydations touchant les membranes ou les lipoprotéines qui transportent les lipides dans le sang (Taibur et al., 2012 ;Bensakhria, 2018).

I.2. Origines du stress oxydant

Les origines de stress oxydant se divisent en deux types :

- Endogène (intracellulaire) : respiration mitochondriale, phagocytose.
- Exogène (extracellulaire) : ultraviolet, ozone, le fumé du tabac (figure 1) (Libbey, 2018).

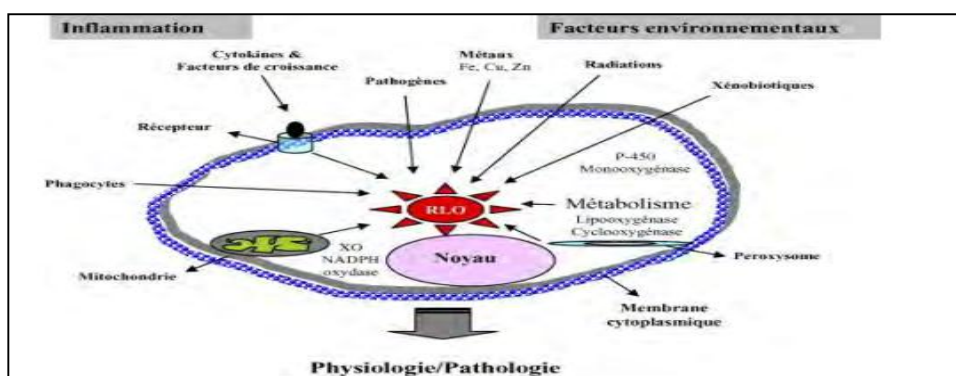


Figure 1. Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Bonnefont-Rousselot et al., 2003)

I.2.1. Origines endogènes

I.2.1.1. Respiration mitochondriale

Les mitochondries sont des organites intracellulaires qui permettent principalement la synthèse d'énergie cellulaire par la production d'ATP. Elles convertissent de l'énergie issue des oxydations en molécule d'ATP (Adénosine TriPhosphate) qui est nécessaire à la cellule.

La production d'ATP se fait en plusieurs étapes dont trois importantes :

- Dégradation des glucides et lipides entraînant la formation d'acétylCoA
- Passage de l'AcétylCoA dans le cycle de Krebs
- Couplage du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire, ce qui forme l'ATP (**Bonnard et al., 2008 ; Oueslati, 2017**). Cet organite est également impliqué dans la thermogénèse, dans l'homéostasie ionique (notamment du calcium et du potassium) et dans l'apoptose. Aussi, les mitochondries participent à la synthèse des stéroïdes et de l'hème et à la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (**Neviere, 2008**). La chaîne respiratoire mitochondriale est composée de cinq complexes (I : NADH-ubiquinone réductase, II : succinate-ubiquinone réductase, III : UQH₂-cytochrome c réductase, IV : cytochrome oxydase, V : ATP synthase) comprenant chacun des sous-unités protéiques (figure 2). Dans cette chaîne, il y a un transfert d'électrons du NADH jusqu'à l'oxygène, ce qui a pour conséquence un déplacement de protons de la matrice mitochondriale jusqu'à l'espace inter-membranaire (**Mazat et al., 2010; Strobel et al., 2011**). Cela crée alors un gradient de pH entre la matrice et l'espace inter-membranaire ainsi que la génération d'un potentiel de membrane au niveau de la membrane mitochondriale interne de -180mV. Cette énergie emmagasinée dans le gradient permet la phosphorylation de l'ADP en ATP par le complexe V. C'est en fait un enchaînement de réactions d'oxydoréduction (**Andreyev et al., 2005 ; Oueslati, 2017**).

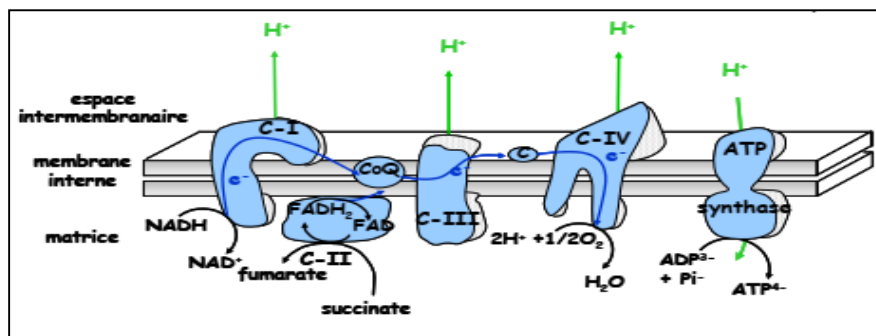


Figure 2. Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale (Favier, 2006)

Chez la plupart des organismes eucaryotes, l'accepteur final d'électrons est l'oxygène : il s'agit de la respiration aérobie par opposition à la respiration anaérobie qui ne nécessite pas d'oxygène (Powers, 2008 ; Joris ,2018). La majorité de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente, ce qui conduit à la production d'eau, cette réaction est catalysée par l'enzyme cytochrome oxydase (Kouassi, 2017).



Cette réaction peut cependant laisser fuir des électrons qui vont produire des espèces radicalaires de l'oxygène. Ces électrons réagissent avec les molécules d'oxygène, créant ainsi des radicaux superoxydes. Des ERO sont produites en continue par les complexes mitochondriaux I et III, notamment des anions superoxydes (0,4 à 4% de l'oxygène consommé) (Afonso et al., 2007).

I.2.1.2. Phagocytose

Lorsqu'un agent étranger a réussi à traverser les barrières naturelles de l'organisme, le système immunitaire se met en action afin d'assurer la défense de l'organisme. Dans un premier temps, se met en place de façon rapide et locale une réponse immédiate et non spécifique. Il s'agit de la phagocytose, c'est un processus cellulaire qui permet l'ingestion et l'élimination des particules étrangères, notamment des bactéries, des débris cellulaires ou des cellules mourantes (Joyeux, 2018 ;Choudhari,2014). Celle-ci se fait par certains leucocytes et en particulier les macrophages. Les micro-organismes sont alors absorbés puis digérés par des enzymes digestives. Un autre mécanisme coopère : c'est une dégranulation indépendante de l'oxygène qui permet le déversement de substances bactéricides dans le phagosome. La NADPH-oxydase (Nox2) est composée de différentes sous-unités cytosoliques et membranaires qui s'assemblent à la membrane du phagosome. L'activation du système enzymatique de la NADPH-oxydase dans l'explosion oxydative entraîne la production de formes réactives de l'oxygène. Une fois phagocytée, les ERO synthétisées par la NADPH-oxydase vont détruire l'agent responsable puis les déchets sont expulsés (Favier, 2006 ; Bonnefont-Rousselot et al., 2003).

I.2.2. Origines exogènes

I.2.2.1. Ultras Violets

Les Ultras Violets (320-400 nm) sont absorbés par des chromophores qui vont alors être excités pour fournir un oxygène singulet. Ils réduisent également l'O₂ en anion superoxyde (O²⁻) qui sera rapidement transformé par l'enzyme superoxydedismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui sera réduit à son tour en radical hydroxyle (OH) par la

réaction de Fenton. Ce dernier (OH) réagit alors avec les protéines, les lipides et l'ADN (**Gambini et al., 2013**).

I.2.2.2. Ozone

L'ozone O₃ est un gaz très réactif formé par réaction photochimique dans l'air à partir d'oxydes d'azote (OxN) et des composés organiques volatiles. L'ozone possède deux électrons libres et interagit avec les composés du fluide périciliaire qui recouvre l'épithélium bronchique (**Bhattacharyya et al., 2014**). L'ozone est peu hydrosoluble et interagit avec les antioxydants présents dans le fluide comme la vitamine C, l'acide urique et le glutathion réduit donnant le glutathion oxydé. L'O₃ favorise aussi la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire par chimio-attraction, cela favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène. L'O₃ est également à l'origine d'une réponse inflammatoire favorisant le stress oxydant (**Baeza et al., 2007**).

I.2.2.3. Fumée de tabac

La fumée de cigarette est un mélange complexe d'éléments réactifs aussi bien dans la phase gazeuse que particulaire. Chaque bouffée inhalée correspond à de la libération de molécules oxydantes donc 1014 sont des radicaux libres de l'oxygène (**Brack, 2018 ;Koechlin-Ramonatxo, 2006**). De plus, la fumée de tabac diminuerait le taux de vitamine A circulante qui est antioxydante. Il en résulte alors une diminution de la protection naturelle contre les ERO. Les radicaux libres provenant de la fumée de cigarette provoquent un stress oxydatif qui entraîne la séquestration des macrophages et des polynucléaires neutrophiles, la peroxydation lipidique et une activation des cytokines pro-inflammatoires. On observe à partir de là une augmentation de la perméabilité de l'épithélium ainsi qu'une inflammation. En effet, des études chez le patient fumeur atteint de Bronchopneumonie chronique obstructive (BPCO) ont démontré une augmentation des concentrations en TNF- α et IL-8 dans les expectorations (**Haleng et al., 2007 ;Strobel et al., 2011**).

I.3. Effets du stress oxydant sur les structures moléculaires

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Oueslati et al., 2017;Bensakhria ,2018**).

I.3.1. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde (**Favier,2006 ;Defraigne ,2008**). Cette réaction appelée peroxydation lipidique se déroule en trois étapes (figure 3) :

- ✓ **Initiation** : Dans cette étape un acide gras polyinsaturé est attaqué au niveau d'un carbone situé entre deux doubles liaisons par un radical hydroxyle avec arrachement d'un atome d'hydrogène qui laisse un électron non apparié. L'acide gras subira alors une suite de réarrangements des doubles liaisons (**Jacques et André, 2004**).
- ✓ **Propagation** : est réalisée par la fixation d'une molécule d'oxygène, qui réagit rapidement sur le site radicalaire, le radical formé réagit avec un autre acide gras formant ainsi un hydro-peroxyde et un nouveau site radicalaire (**Favier, 2003**).
- ✓ **Terminaison** : Les hydro-peroxydes subissent plusieurs transformations, ils sont soit réduits par la glutathion peroxydase, soit l'oxydation continue et dans ce cas ils se fragmentent en aldéhydes toxiques. Cette réaction en chaîne se termine soit par l'intervention d'un composé antioxydant, soit par l'interaction de deux radicaux pour former une molécule stable (**Hennebelle et al., 2004**).

L'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées, favorise la formation du dépôt lipidique de la plaque d'athérome dans les maladies cardiovasculaires. L'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité des membranes (**Hadi, 2004 ; Favier, 2003**).

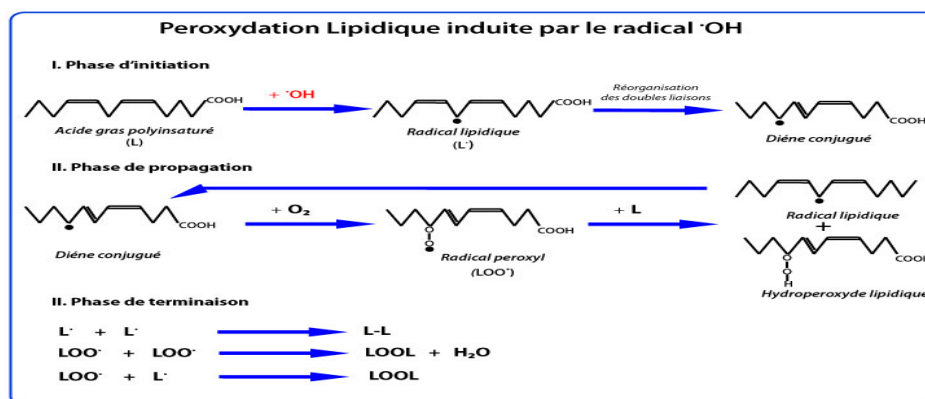


Figure 3. Un schéma expliquant la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**)

I.3.2. Oxydation de l'ADN

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que les désoxyribooses peuvent être la cible des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle $\text{OH}\cdot$. Par exemple, la guanine peut réagir avec ce radical pour former la 8-OH-désoxyguanosine qui va s'apparier à l'adénine au lieu de s'associer normalement à la cytosine. Cela entraîne des mutations au sein de l'ADN (figure 4) (Haleng *et al.*, 2007; Defraigne, 2008). Il existe des systèmes de réparation de l'ADN mais lorsqu'ils sont débordés, ces systèmes ne sont plus suffisants et cela entraîne des altérations du matériel génétique qui peuvent engendrer des mutations, des cancers...

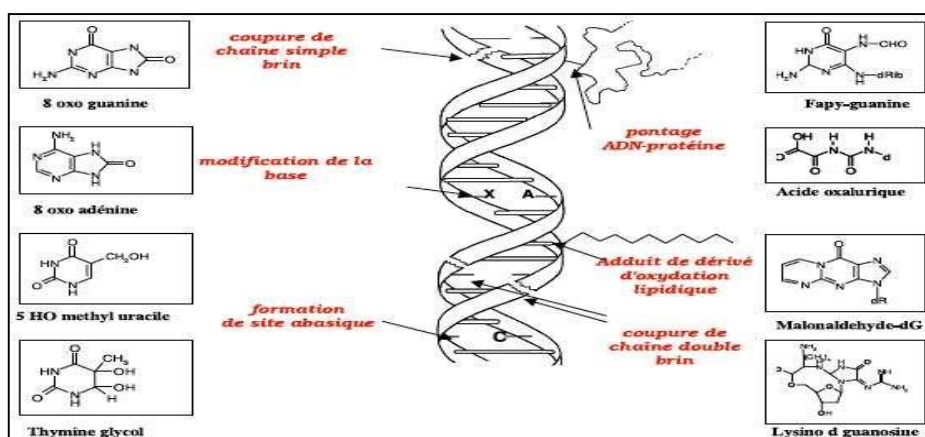


Figure 4. Un schéma expliquant l'oxydation de l'ADN (Haleng *et al.*, 2007)

I.3.3. Oxydation des protéines

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les radicaux libres sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés. En présence de dinitrophénylhydrazone (DNPH) (Haleng *et al.*, 2007; Buonocore *et al.*, 2010). Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane et la tyrosine sur lesquels le radical $\text{OH}\cdot$ s'additionne, modifiant la conformation de la protéine. Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures (figure 5) (Koechlin-Ramonatxo, 2006; Migdal *et al.*, 2011).

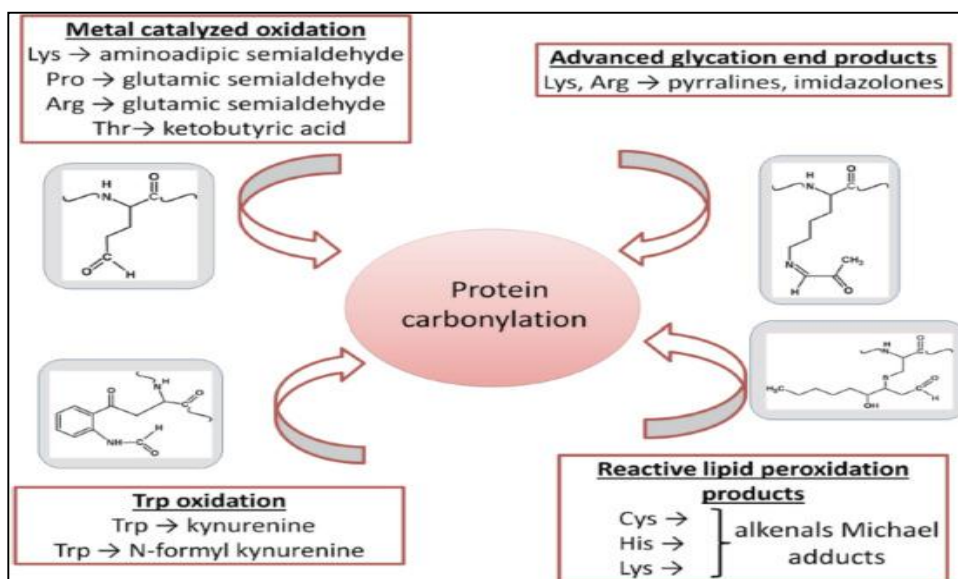


Figure 5. Schéma expliquant l'oxydation des protéines (Migdal et al., 2011)

I.4. Maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est à l'origine des modifications irréversibles de molécules et de cellules, ces anomalies se produisent plusieurs années avant l'apparition des signes de la maladie qui sont irréversibles (Strobel et al., 2011; Libbey, 2018). Les maladies chroniques non transmissibles et les problèmes de santé chroniques sont directement ou en grande partie générés par le stress oxydatif (Favier, 2006).

I.4.1. Diabète de type 2

Les radicaux libres sont indispensables pour certaines réactions biologiques, notamment la transduction du signal de l'insuline. Cependant, les radicaux libres peuvent être impliqués dans l'insulinorésistance. L'insulinorésistance est une diminution de l'action de l'insuline à deux niveaux : la capture cellulaire du glucose par le muscle et le tissu adipeux et l'inhibition de la production hépatique du glucose (Libbey, 2018).

L'hyperglycémie, les dyslipidémies et les anomalies hémodynamiques sont à l'origine d'une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène. Cela mène à un stress oxydant et une diminution de la complaisance vasculaire, ce qui peut conduire à des micro-angiopathies et macro-angiopathies qui caractérisent le diabète de type 2, à savoir la rétinopathie et l'insuffisance coronaire (Thanan et al., 2015 ; Dismier, 2016).

I.4.2. Inflammation

L'inflammation est un ensemble des réactions générées par l'organisme en réponse à une agression (**Joyeux, 2018**). Lorsqu'elle est trop intense ou chronique, les radicaux libres deviennent alors trop nombreux, submergent les défenses anti oxydantes et entraînent des réactions en chaîne pouvant altérer des tissus sains, le complément, l'hémostase mais également les quinines interviennent en parallèle du stress oxydant. Le métabolisme de l'acide arachidonique implique l'oxydation de l'acide arachidonique par l'anion superoxyde, la synthèse de prostaglandine et de leucotriène (via des cyclooxygénases ou des lipoxygénases), eux-mêmes médiateurs de l'inflammation (**Desmier, 2016; Strobel et al., 2011**).

I.4.3. Athérosclérose

Le cholestérol sanguin élevé aide à la formation des plaques à l'intérieur de l'artère, si ces plaques sont grandes elles coupent la circulation sanguine, mais la plupart des dommages se produit lorsque des caillots de sang se détachent et voyagent vers le cœur ou le cerveau, qui peut déclencher une crise cardiaque ou un accident vasculaire cérébral. Le stress oxydatif joue un rôle critique dans la formation des plaques et avec une inflammation vasculaire inhérente, peut être un indicateur fort de l'athérosclérose (**Bhattacharyya et al., 2014**). Les cellules enflammées produisent des radicaux libres impliqués dans la dégradation de la cellule. En cas d'inflammation vasculaire, les cellules endothéliales des vaisseaux peuvent être activés pour produire des oxydants (**Hippocrate et al., 2018**).

I.4.4. Cancers

Les cancers impliquent plusieurs types de cellules ou de tissus. La cellule cancéreuse, engendrant des masses qui envahissent progressivement le territoire des autres organes. Cette invasion provoque de nombreux dommages et conduit fréquemment à la mort de l'individu (**Favier, 2006 ; Buonocore et al., 2010**). Les cellules tumorales présentent une production anormalement accrue d'espèces réactives de l'oxygène (**Gentric et al., 2017**). L'ADN humain est soumis à l'action des radicaux libres, de 20 altérations de l'ADN par jour ce qui conduit à la création de protéines mutantes. Par exemple une mutation désactivant une protéine de la chaîne apoptotique (p53, caspases) pourra être à l'origine de l'immortalisation de la cellule, qui pourra constituer une lignée cellulaire immortelle reconnues par le système immunitaire qui luttera en activant les mécanismes de défenses.

En conséquence, le taux de radicaux libres augmentera à proximité et sera susceptible de faire muter à nouveau les cellules environnantes (**Dismier, 2016; Bhattacharyya et al., 2014**).

I.4.5. Maladies neurodégénératives et neuromusculaires

Dans l'Alzheimer, le Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique (SLA) les marqueurs du stress oxydant sont anormaux. Lors de l'Alzheimer, le stress oxydant joue un rôle a étiologie liée à la protéine bêta amyloïde et dans l'inflammation ou les troubles neuronaux du métabolisme calcique et/ou des fonctions mitochondriales (**Couratier, 2002 ; Buonocore et al., 2010**). Un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire cause une production excessive des radicaux libres. Le stress oxydatif modifie le type dystrophique dans le muscle squelettique. En effet, des patients atteints de dystrophinopathies présentaient les signes d'une augmentation du stress oxydatif (**Ray, 2006**).



Chapitre II :

Systeme
antioxydant

II.1. Définition des antioxydants

Un antioxydant est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité d'endommager. Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leur propriété d'élimination des radicaux libres. Ces antioxydants de faible poids moléculaire peuvent interagir en toute sécurité avec les radicaux libres et interrompre la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Berger, 2006 ; Birben *et al.*, 2012).

II.2. Types de systèmes antioxydants

II.2.1. Antioxydants enzymatiques

Le système humain possède des enzymes qui neutralisent les espèces réactives formées (figure 6). La superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase sont des enzymes antioxydants qui jouent non seulement un rôle fondamental mais indispensable dans la capacité de protection antioxydant des systèmes biologiques contre les attaques des radicaux libres (Haleng *et al.*, 2007 ; Sisein, 2014).

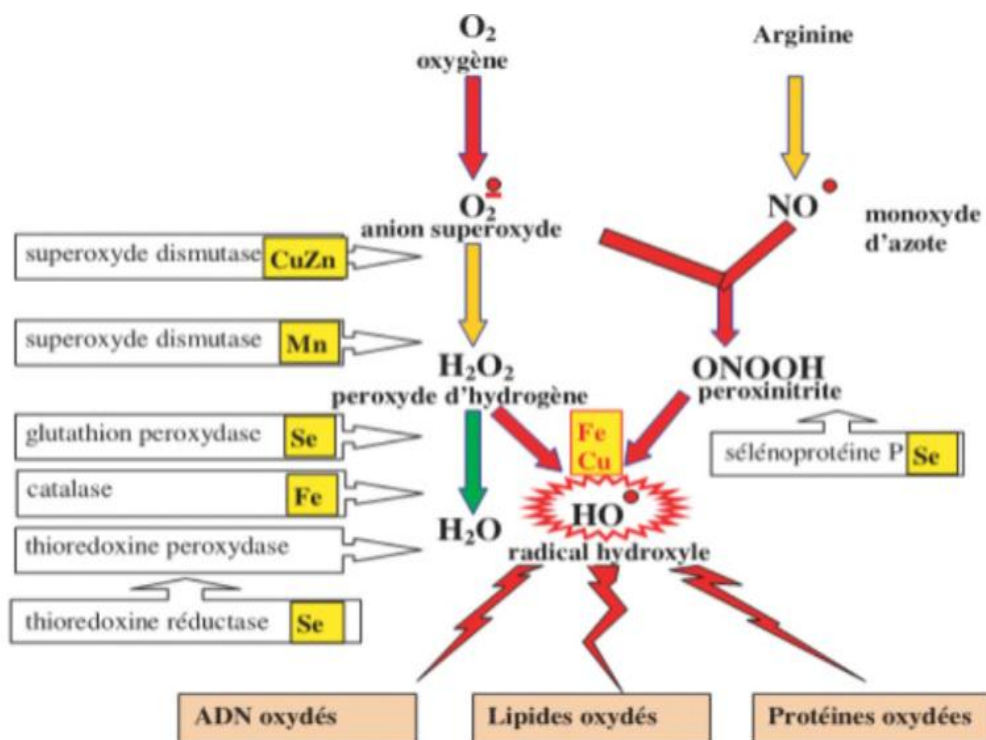
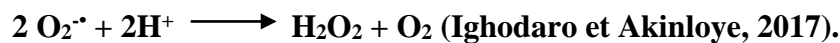


Figure 6. Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

II.2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

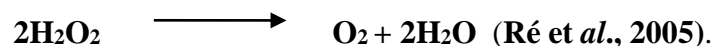
La première enzyme de détoxification et l'antioxydant le plus puissant de la cellule. Il s'agit d'une enzyme antioxydante endogène importante qui agit comme un composant du système de défense de première ligne contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Elle catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2), rendant ainsi l'anion superoxyde potentiellement dangereux moins dangereux (Ighodaro et Akinloye, 2017; Sisein, 2014) par la réaction suivante :



Les SODs contiennent soit du manganèse (Mn-SOD), soit du cuivre et du zinc (Cu/Zn-SOD), et qui sont restreintes à des compartiments cellulaires différents (Ré et al., 2005). Il existe trois types de SOD : la SOD 1 ou Cu/Zn-SOD, est cytosolique ; la SOD 2 ou Mn-SOD est mitochondriale ; la SOD 3, qui comme la SOD1 comporte du cuivre et du zinc, est extracellulaire et donc aussi appelée EC-SOD (Afonso et al., 2007).

II.2.1.2. Catalase (CAT)

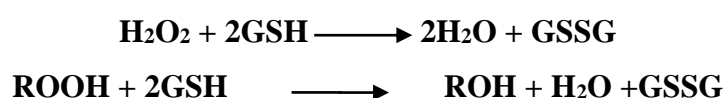
La catalase est une enzyme commune présente dans presque tous les organismes vivants, qui sont exposés à l'oxygène, où elle fonctionne pour catalyser rapidement la décomposition du peroxyde d'hydrogène en molécules d'oxygène gazeux et d'eau moins réactives (Ré et al., 2005 ; Powers et Jackson, 2008) par la réaction suivante :



Tous les animaux connus utilisent la catalase dans tous les organes, avec des concentrations particulièrement élevées dans le foie (Lobo et al., 2010).

II.2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

Cette enzyme est présente dans le cytoplasme et dans la mitochondrie. C'est une glycoprotéine et métamérique qui réduit d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part tous les peroxydes lipidiques (Favier, 2003 ; Ali et al., 2019). Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion GSH, celles-ci se transforment en glutathion disulfure GSSG selon la réaction suivante (Ré et al., 2005) :



II.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Les micronutriments alimentaires constituent de nombreux antioxydants non enzymatiques solubles dans l'eau et les lipides trouvés dans le système mammifère. Les antioxydants importants comprennent la vitamine A, la vitamine C (acide ascorbique) et la vitamine E (tocophérol et tocotriénol). Ces antioxydants agissent comme une barrière de défense contre les radicaux libres et les oxydants non radicaux et empêchent l'agression de l'ADN, des protéines, des lipides et d'autres molécules induites par les oxydants (Ali et al., 2019).

II.2.2.1. Vitamines

✓ Vitamine C (acide ascorbique)

L'acide ascorbique est un composé antioxydant hydrosoluble qui assure la protection de l'environnement intracellulaire et extracellulaire. Il peut dégrader les radicaux libres d'oxygène qui sont toxiques pour les cellules. Il piège les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO). L'action antioxydante de l'acide ascorbique est proportionnelle inversement à sa concentration (figure 7) (Gaedès-Albert et al., 2003 ; Misset, 2019).

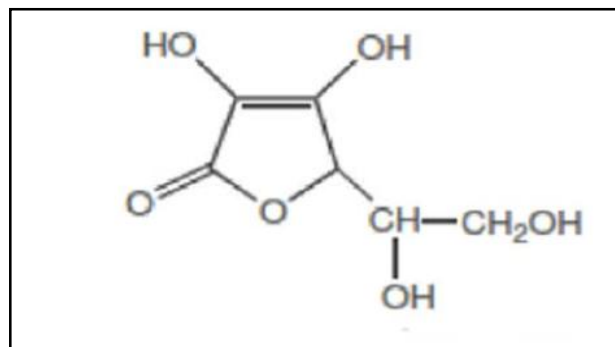


Figure 7. Structure de l'acide ascorbique (Diallo, 2005)

✓ Vitamine E

En raison de sa capacité à inhiber la peroxydation lipidique, elle est considérée comme un antioxydant. À cet égard, elle participe à la lutte contre les formes actives de l'oxygène (ERO) ainsi que de nombreuses autres substances, c'est-à-dire la lutte contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation des radicaux libres (figure 8) (Cuvelier et al., 2003 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Hidalgo-Cantabrano et al., 2014).

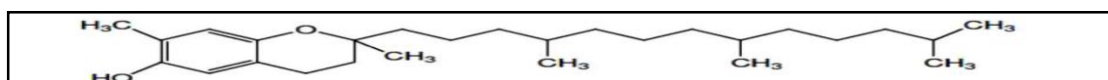


Figure 8. Structure de la vitamine E (Flora et al., 2008)

✓ Caroténoïdes (vitamine A)

Ils sont des molécules liposolubles produites par les organismes photoautotrophes (Joyeux, 2018). Ils sont capables de réagir avec les radicaux libres par le transfert d'électrons hydrogènes ou par la liaison avec le radical (figure 9). Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (Hermes-Lima, 2005; Gardès-Albert et al., 2003).

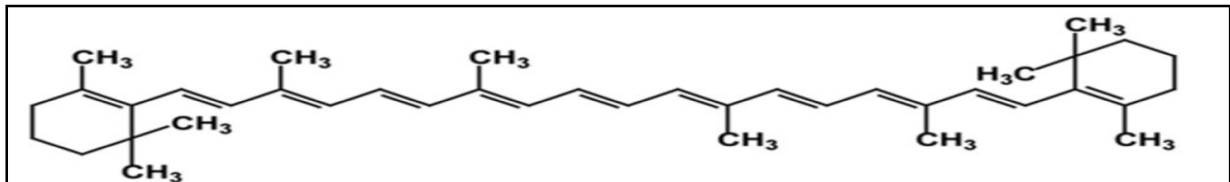


Figure 9. Structure de caroténoïdes (Flora et al., 2008)

II.2.2.2. Oligoéléments

Les oligo-éléments (Cu, Zn, Se, Mn, Fe etc.) ne sont pas des antioxydants en tant que tels, mais agissent comme cofacteurs des enzymes constituant la première ligne de défense face aux attaques oxydatives. Il s'agit en réalité de catalyseurs de ces enzymes. Leur apport par l'alimentation permet donc de maintenir le bon fonctionnement de la machinerie antioxydante cellulaire et donc l'équilibre oxydatif (Van Der Werf, 2013).

✓ Cuivre

Le cuivre d'origine alimentaire est absorbé au niveau digestif par l'intermédiaire de protéines spécifiques. Il a un rôle essentiel au sein du corps humain et plus particulièrement du métabolisme cellulaire car il est le cofacteur de nombreuses enzymes. Il agit au niveau de la synthèse érythropoïétique en agissant sur la libération du fer, c'est un stimulant neuropsychique car il favorise la synthèse des catécholamines au niveau du système nerveux. Les principales sources alimentaires de cuivre sont le foie, les crustacés, le chocolat, les noix, les céréales et les fruits. Les apports recommandés sont entre 1 et 2 mg/j chez l'adolescent et l'adulte, quel que soit le sexe (Athamena et al., 2010).

✓ Manganèse

Le manganèse est présent en grande quantité dans les mitochondries du muscle squelettique, du foie, du pancréas et du rein. Il est impliqué dans la synthèse, la sécrétion et l'action de l'insuline en association au zinc et au cuivre. Il est également indispensable pour la maturation des os et du cartilage. Il participe aussi à la synthèse de vitamines E (Fitsanakis et al., 2009). Le manganèse est retrouvé principalement dans, le seigle, le riz complet, le

soja, l'avocat, le jaune d'œuf, les haricots verts, les épinards, le thé vert, les huîtres, l'huile d'olive et les noix (Chen et al., 2015). Lorsqu'on observe un déficit ou une diminution de la biodisponibilité du manganèse dans les tissus riches en mitochondries, on observe parallèlement une inactivation de la SOD-Mn, ce qui peut augmenter le stress oxydant (Chen et al., 2015).

✓ Sélénium

Le sélénium est un oligoélément retrouvé dans tous les organes du corps humain mais il est principalement localisé dans le foie, les reins, le sang, le cerveau, le muscle cardiaque et les testicules. Selon les apports nutritionnels conseillés (ANC), le sélénium doit être apporté à hauteur de 1 mg/kg/j sans dépasser 5 mg/kg/j (Hoet, 2013). L'apport se fait principalement par l'alimentation. Les principales fonctions biologiques du sélénium en font un élément antioxydant. En effet, le sélénium a un effet immunostimulant, notamment en stimulant l'expression des récepteurs à l'IL-2 à la surface des lymphocytes activés et de la cellule Natural Killer (NK) (Ducros, 2004).

✓ Zinc

Le zinc est principalement retrouvé dans les os, les muscles et les liquides riches en protéines du fait de ses liaisons, comme par exemple dans le plasma ou le liquide céphalorachidien. L'apport en zinc se fait principalement par les viandes et poissons puis dans les fruits de mer, les céréales, les légumes secs (Roussel et al., 2009). Le zinc est impliqué dans de nombreuses réactions métaboliques par l'intermédiaire de métalloenzymes, notamment l'anhydrase carbonique ou la superoxyde dismutase qui est un *scavenger* capital des ions superoxydes, précurseurs de la chaîne des radicaux libres. C'est en ce sens que le zinc a des propriétés antioxydantes (Bosco et al., 2010).

II.2.2.3. Polyphénols

Ce sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans tous les végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques. Les plus représentés sont les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier, 2006; Benmlih et al., 2012).

✓ Flavonoïdes

Ce sont des métabolites secondaires possédant une structure avec deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone (figure 10). Ils se retrouvent dans les fruits, les légumes, les

céréales...etc. La propriété la mieux décrite des flavonoïdes est leur capacité à agir comme antioxydants et protéger l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (Nijveldt et al.,2001).

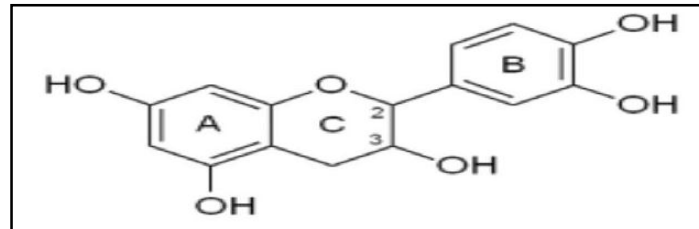


Figure 10. Structure des flavonoïdes (Benmlih et al., 2012)

Ce sont des molécules hautement hydroxylées et peuvent former des complexes, parmi les tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Bravo, 1998).

II.2.2.4. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Ali et al.,2019).

II.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Deux principaux mécanismes d'action ont été proposés pour les antioxydants : Le premier est un mécanisme de rupture de chaîne par lequel l'antioxydant primaire donne un électron au radical libre présent dans les systèmes. Le second mécanisme implique l'élimination des ERO initiateurs d'espèces réactives de l'azote (antioxydants secondaires) par trempe du catalyseur initiateur de chaîne (Lobo et al.,2010;Pisoschi et Negulescu, 2011) .

II.4. Effets des antioxydants sur la santé

Nous avons vu que le stress oxydant avait un réel impact négatif sur la santé, notamment par la favorisation de la survenue de pathologies telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et les maladies rhumatismales. Ainsi, il est légitime de penser que si l'on supplémente la population en antioxydants, toutes ces pathologies pourraient tendre à disparaître (Kawabata et al.,2019;Mishra et al., 2015). Le régime méditerranéen riche en fruits et légumes a démontré ses effets sur le système cardiovasculaire. Une des hypothèses avancées pour justifier ce mécanisme protecteur est la

richesse en antioxydants des fruits et légumes. En effet, de nombreuses études conseillent une alimentation variée riche en fruits et légumes afin de prévenir l'apparition de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le diabète de type 2. Certaines études confèrent également un rôle important aux polyphénols dans ses effets bénéfiques, ceci étant lié au caractère antioxydant de ces molécules (**Marin *et al.*, 2015 ; Adriouche et *al.*, 2017**).



Chapitre III :

Bactéries lactiques

III.1. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques (LAB : LacticAcidBacteria) sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène (**Badis et al., 2005 ; Yang et al., 2015 ; Ismaili et al., 2016**). Elles peuvent avoir différentes formes : sphérique (coques : genre *Streptococcus* et *Lactococcus*...), en bâtonnets (bacilles : genres *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (*Leuconostoc*sp.) (**Luquet et Corrieu, 2005 ; Galvez et al., 2011**). Ce sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%. Elles sont asporulantes, aéro anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, à métabolisme fermentaire strict, acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 4,5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique comme produit majeur du métabolisme (**Salmine et al., 2004; König et Fröhlich, 2009 ; Ismaili et al., 2016**). Les LAB ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Hogg, 2005**).

III.2. Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des aliments. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif (**Kawabata et al., 2019 ; Zhao et al., 2016**).

III.3. Taxonomie

La taxonomie des bactéries lactiques ne cesse d'évoluer. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (**Zhao et al., 2016**). L'identification préliminaire des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques. Certaines caractéristiques phénotypiques peuvent être utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétone, synthétiser certaines enzymes...etc. d'autres critères peuvent aussi être employés pour identifier des espèces lactiques tels que : la composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras (**Yang et al., 2015**).

III.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

III.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, ce sont des bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Plusieurs espèces appartenant à ce genre sont utilisées dans diverses industries comme agents de fermentation lactiques ou sont rencontrées comme contaminants (Galvez et al., 2011). Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par ORLA-JENSEN en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Luquet et Corrieu, 2005).

Groupe I « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

Groupe II « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

Groupe III « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

III.4.2. Le genre « *Lactococcus* » : Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits «lactique», car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène (Badis et al., 2005).

III.4.3. Le genre « *Streptococcus* » : Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène, oral et les autres streptocoques (Galvez et al., 2011).

III.4.4. Le genre « *Enterococcus* » : regroupe les streptocoques fécaux qui représentent une hémolyse de type λ et β et qui appartiennent au groupe D (Hogg, 2005).

III.4.5. Les genres « *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* » : Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué (Luquet et Corrieu, 2005 ; Hogg, 2005).

III.4.6. Les genres « *Pediococcus* et *Tetragenococcus* » : Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade (Boudjemaa, 2008).

Le genre « *Bifidobacterium* » : Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal (Khalid, 2011).

III.5. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des germes hétérotrophes, elles ont donc besoin d'énergie pour leur croissance, énergie qu'elles synthétisent à partir de la fermentation lactique des glucides. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes : **(Kim et al., 2005)**

- le transport du sucre à travers la membrane cellulaire ;

- le catabolisme intracellulaire du sucre ;

- formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux. Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres, il s'agit des voies homofermentaire (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas) où l'acide lactique est le seul produit terminal etcétera fermentaire (voie des pentoses-phosphate) où, en plus de l'acide lactique, d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits **(Abubakr et al., 2012)**.

III.5.1. Les ferments lactiques

C'est une préparation microbienne ajoutée à une matière première dans le but de produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation. Le groupe des bactéries lactiques occupe un rôle important dans ces processus **(Zhang et al., 2011 ; Ding et al., 2017)**. La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères, ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leur performance et de leur sécurité **(Ding et al., 2017)**.

III.5.2. Applications industrielles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques présentent une large gamme d'application à l'échelle industrielle et ceci est dû à leur grande activité métabolique ainsi qu'à leur grande capacité d'adaptation à différents environnements **(Coşkun et al., 2010)**. Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs domaines :

- Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes sont utilisés pour la conversion d'une grande variété de matières premières mais l'industrie laitière est sans doute le plus grand utilisateur de ferments lactiques commerciaux **(Kullisaar et al., 2012)**. dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides), pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques **(Ding et al., 2017)** ;

- Dans l'industrie chimique (production d'acide lactique) ;

-Dans le domaine médical notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux (Kullisaar et *al.*, 2002)

III.6. Rôle et intérêt des bactéries lactiques

III.6.1. Domaine alimentaire

✓ Rôle sur la structure et la texture

L'acidification provoque la formation d'un caillé plus ou moins ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée, l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (Salmine *etal.*, 2004).

✓ Rôle dans la conservation

a. Production d'acide lactique

Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.

b. Production de bactériocines

➤ Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactique, ils sont généralement thermorésistants (Badis et *al.*, 2005).

✓ Rôle sur les caractéristiques organoleptiques

Par production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que le diacétyl et l'acétaldéhyde, sont responsables des saveurs caractéristiques (Boudjemaa, 2008).

III.6.2. Domaine de santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus* spp pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale (Khalid, 2011). Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés :

- ✓ Améliore la digestion de lactose ;
- ✓ Le traitement de certaines infections ou diarrhées ;
- ✓ Diminution du cholestérol sérique et dé-conjugaison des sels biliaires ;
- ✓ Utilisation dans l'élaboration des vaccins (Calvez *etal.*, 2009 ; Abubakr et *al.*, 2012).

III.7. Activité antioxydante des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques possèdent des propriétés antioxydantes puissantes qui peuvent maintenir un équilibre normalement dans le corps, ils protègent également le corps humain du vieillissement, de l'inflammation et même du cancer, réduisent le cholestérol sérique et plusieurs d'autres troubles de la santé (Kim *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2011 ; Ding *et al.*, 2017).

Les systèmes antioxydants des bactéries lactiques sont diversifiés comprenant la production et la sécrétion d'enzymes comme la SOD, la CAT et la GPx, en favorisant également la production d'antioxydants non enzymatiques comme le glutathion qui a un rôle principal dans la régulation du système redox, tocophérol, l'acide ascorbique ainsi que certaines biomolécules connues pour leur effets antioxydants (Coşkun *et al.*, 2010; Afify *et al.*, 2012). Il existe différents mécanismes de réactions des antioxydants des bactéries lactiques, y compris la prévention de la formation des radicaux libres, piégeage des radicaux libres (radical scavenging activity), capacité réductrice, activité de chélation des ions métalliques (Abubakr *et al.*, 2012 ; Ding *et al.*, 2017).

Plusieurs études ont été menées pour étudier les propriétés antioxydantes des bactéries lactiques *in vivo* et *in vitro*. Des études ont montré que les maladies inflammatoires de l'intestin causent une diminution de GSH dont une supplémentation a donné des effets bénéfiques (Coşkun *et al.*, 2010 ; Kullisaar *et al.*, 2012). *Lactobacillus sppest* parmi les espèces les plus importantes du microbiote humain dont certains lactobacilles possèdent une activité antioxydante pouvant atténuer le risque d'accumulation des ERO comme le peroxyde d'hydrogène, le radical superoxyde et les radicaux hydroxyles, qui réduit le risque de mutations et de carcinomes (Kullisaar *et al.*, 2002).



Partie II :
Étude expérimentale



Chapitre I :

Matériel et méthodes

L'ensemble de notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel, durant la période d'Avril- Mai 2021.

I.1. Objectif

Cette étude vise à explorer l'effet antioxydant de quelques souches de bactéries lactiques isolées à partir du blé dur fermenté.

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel biologique

23 souches de bactéries lactiques isolées à partir du blé fermenté traditionnellement ont fait l'objet de l'évaluation de la capacité antioxydante *in vitro*. Les souches lactiques ont été fournies par Mme. BENHAMADA Nabila (université de Jijel).

I.2.2. Produits chimiques et milieux de culture

Pour notre étude expérimentale, divers produits chimiques ont été utilisés ; Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ; Folin-Ciocalteu ; le carbonate de sodium (Na_2CO_3) ; pyrogallol ; Ferricyanure de potassium ; Acidetrichloracétique (TCA) ; Trichlorure de fer ; Acidegallique (AG), Acide ascorbique (AA) ; Tampon Phosphate Buffer Saline (PBS) à pH 6.6 ; Tampon Tris-HCL à pH 8.2 ; Le milieu de culture Man-Rogosa et Sharp (MRS) gélose.

I.2.3. Appareillages

Les appareils utilisés dans les différentes étapes de notre travail sont :étuve de 37°C (MEMMERT) ;autoclave ;réfrigérateur(ENIEM) ;balance(SARTORIUS) ;PHmètre (HANNA) ;bain Marie (Gerhardt) ;plaque chauffante ;centrifugeuse (Hettich) ; Spectrophotomètre (Specord 50 plus).

I.3. Méthodes

I.3.1. Repiquage et réactivation des souches lactiques

23 souches de bactéries lactiques préalablement isolées du blé fermenté traditionnellement, pré-identifiées et conservées dans le milieu liquide MRS à 30 % glycérol à une température de -20 °C, sont réactivées et repiquées dans le milieu MRS (bouillon et gélose) et conservées au réfrigérateur jusqu'au moment de réalisation des différents tests. Les souches lactiques ont été vérifiées aussi pour la production de catalase ou non, elles sont toutes catalase négatives. La coloration de Gram a été réalisée, et les résultats sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau. 1. Résultats de la recherche de catalase et de la coloration de Gram des bactéries lactiques étudiées

Isolat	Test de catalase	Test de coloration de Gram
S001 à S020	-	Cocci +
S021	-	Bacille +
S022	-	Cocci +
S023	-	Bacille +
S024 à S029	-	Cocci +
S030	-	Bacille +
S031	-	Cocci +
S032	-	Bacille +

I.3.2. Standardisation et préparation des cellules intactes

Pour chaque analyse, 0,5 ml de la souche lactique ajusté à McFarland 5 (11 log cfu/ml) a été transféré dans des tubes Eppendorf et centrifugé à 13 000 tr/min pendant 15 min. Après la centrifugation, le culot suspendu dans 1 ml de la solution saline tamponnée au phosphate (PBS) a été utilisé pour la réalisation des différents tests. Tandis que le surnageant obtenu a été utilisé pour le dosage des polyphénols (Duz et al., 2020).

I.3.3. Détermination *in vitro* du pouvoir antioxydant

I.3.3.1 Essai de résistance au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

➤ Principe

C'est l'une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité de résistance des bactéries lactique au peroxyde d'hydrogène, Certaines bactéries lactiques produisent en milieu humide du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui inhibe de nombreuses souches bactériennes pathogènes (Ouwehand et Vesterlund, 2004). Cette méthode consiste à incuber les souches lactiques dans un milieu contenant des concentrations différentes en H₂O₂ puis déterminer le pourcentage de survie.

➤ Mode opératoire

La résistance des souches lactiques à H₂O₂ a été déterminée comme décrit par Li et al. (2012), avec quelques modifications. Les cultures d'une nuit des souches lactiques ont été inoculées à 2 % dans du MRS à la fois comme groupe témoin, et dans du bouillon MRS

contenant 0,5 ou 1,0 mM de H₂O₂ séparément comme groupe d'échantillon. Le groupe témoin et le groupe échantillon ont été incubés à 37°C pendant 8 h. La croissance des souches lactiques a été mesurée en double en utilisant le spectrophotomètre à la longueur d'onde 600 nm.

On calcule la survie en % des souches endommagées par H₂O₂ comme suit :

$$\text{La survie en \%} = (\text{Ae} / \text{At}) \times 100$$

Ae: L'absorbance de l'échantillon.

At : l'absorbance de témoin.

Après ce test on sélectionne 03 souches qui présentent le taux de survie et de résistance le plus élevé pour la suite des autres tests.

Les souches qui possèdent le taux de survie le plus élevé sont BL12 ; BL13 ; BL14.

I.3.3.2. Essai de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

➤ Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène devient stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un atome d'hydrogène. La réduction de DPPH est déterminée par le changement de couleur du violet vers le jaune.

La méthode de piégeage des radicaux DPPH est couramment utilisée dans les études d'activité antioxydante en raison de sa facilité, rapidité, sensibilité et reproductibilité par rapport aux autres méthodes (**Kouassi.2017**). L'activité antioxydante augmente proportionnellement à la suppression de couleur pourpre formé lorsque le radical DPPH a été ajouté au milieu (**Atoui et al., 2005**).

➤ Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été déterminée selon la procédure de **Li et al. (2012)** 1 ml de la solution fraîche de DPPH (0,05 mM, dans de l'éthanol) a été ajouté aux échantillons des cellules intactes préparés avec une suspension dans 1 ml de PBS dans des tubes Eppendorf. Les échantillons ont été conservés dans l'obscurité et à température ambiante pendant 1 heure. Après incubation, les échantillons ont été centrifugés à 13 000

tr/min pendant 10 minutes et le pourcentage de piégeage du radicale DPPH a été mesuré en déterminant l'absorbance des surnageants par spectrophotométrie à 517 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

L'activité de piégeage radicalaire DPPH (%) des souches est calculée comme suit :

$$\text{Activité de piégeage (\%)} = [1 - (Ae - Ab) / At] \times 100$$

Ae : Absorbance de l'échantillon.

Ab : Absorbance du blanc.

At : Absorbance de témoin.

I.3.3.3. Piégeage des radicaux anions superoxydes

➤ Principe

Le pyrogallol est un tri-hydroxy-phénol. En milieu acide, cette molécule est stable. Mais lorsqu'elle est placée en milieu basique (pH>7), elle se dégrade. Elle produit alors des anions superoxydes qui vont oxyder le pyrogallol. On parle d'auto-oxydation du pyrogallol (**Kullisaar et al., 2002**). Le test au pyrogallol est utilisé en routine, en raison de son faible coût et de sa facilité de mise en œuvre, pour tester des produits antioxydants, et plus particulièrement anti-anions superoxydes (**Li et al., 2012**).

➤ Mode opératoire

L'analyse de l'activité de piégeage des radicaux anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) a été réalisée par spectrophotométrie avec une méthode améliorée d'autooxydation au pyrogallol (**Wu et al., 2014**). Le radical anion superoxyde a été produit avec des systèmes d'autooxydation au pyrogallol (1, 2, 3-benzotriol) dans des conditions alcalines. Initialement, 0,1 ml de la souche lactique, ajusté à la concentration McFarland 5, a été ajouté à 4,5 ml de solution de Tris-HCl (0,05 M, pH 8,2) et le mélange réactionnel a été incubé pendant 20 minutes dans un bain-marie à 25°C. Ensuite, 0,4 ml de pyrogallol (0,25 M, préchauffé à 25°C) a été ajouté et le mélange a été incubé à 25°C pendant 4 minutes. 0,1 ml de HCl (8M) a été ajouté pour arrêter la réaction. L'absorbance a été mesurée à 320 nm. Le contrôle comprenait une quantité égale de tampon Tris-HCl 0,05 M (pH 8,2) pour remplacer l'échantillon.

L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

Activité de piégeage du radical anion superoxyde est calculée comme suit :

$$\text{Piégeage de l'anion superoxyde \%} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

Ae : Absorbance de l'échantillon

At: Absorbance du témoin

I.3.3.4. Dosage de la teneur totale en polyphénols

➤ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMoO_{12}O_{40}$) du réactif du Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{28}) lors de l'oxydation des polyphénols. La couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques contenus dans l'extrait (**Boizot et Charpentier, 2006**).

➤ Mode opératoire

Une aliquote (1 ml) de surnageant de la souche lactique préparé précédemment a été introduite dans un tube à essai avec 5 ml de la solution Na_2CO_3 0,5 M et a été mélangé brièvement avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. La solution a été agitée et laissée au repos pendant 30 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 725 nm et les données ont été exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide gallique de polyphénols (EAG)/g (**Livinska et al., 2016**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique.

I.3.3.5. Pouvoir réducteur

➤ Principe

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance, et présente souvent un profil comparable à celui des teneurs en substances anti-oxydantes dont la nature et la concentration modulent le pouvoir réducteur (**Arasu et al., 2016**). Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols présents dans nos échantillons (les bactéries lactiques) à réduire le complexe ferrique (Fe^{3+}) de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de couleur bleu verdâtre, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur.

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été mesuré selon la technique décrite par **Bae et al. (2016)** avec quelques modifications. 0,5 ml de la souche lactique a été mélangé avec 0,5 ml de la solution

saline tamponnée au phosphate (PBS, 0,2 M ; pH 6,6) et 0,5 ml de solution de ferricyanure de potassium (1%, P/V). Le mélange a été incubé dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 min, rapidement refroidi à température ambiante, et une solution d'acide trichloroacétique (10 %, P/V) a ensuite été ajoutée. Après centrifugation à $1399 \times g$ pendant 5 min, une aliquote du surnageant (1 mL) a été mélangée avec 1 mL d'eau distillée et 0,2 mL de solution de trichlorure ferrique (0,1 %, P/V). L'absorbance du mélange a été mesurée à 700 nm (A_e) par rapport à un blanc avec du PBS remplaçant l'échantillon (A_b).

Le % de pouvoir réducteur est calculé comme suit :

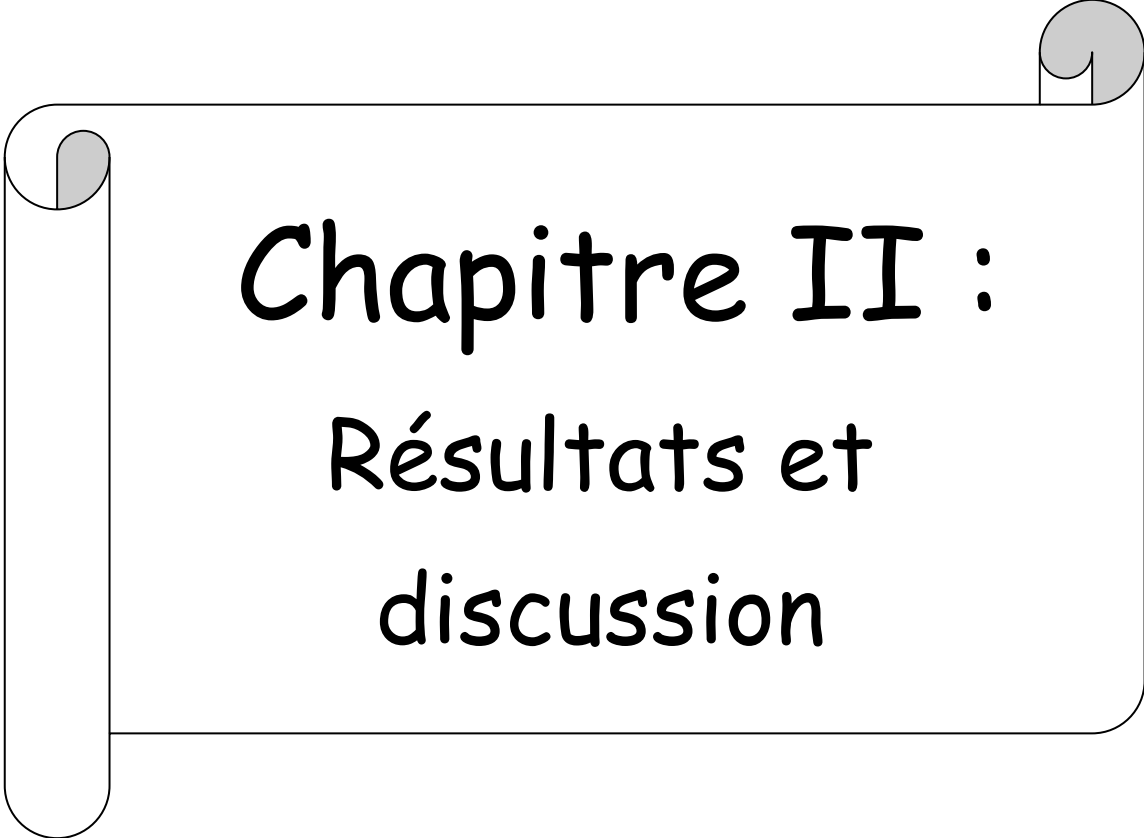
$$\text{Le pouvoir réducteur (\%)} = (A_e - A_b)/A_b \times 100$$

A_e : Absorbance de l'échantillon

A_b : Absorbance du blanc.

I.4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés comme une moyenne \pm écart type, le calcul de la moyenne et de l'écart type sont réalisés avec Microsoft Excel 2010. L'effet significatif a été évalué par le test de « ANOVA » qui permet la comparaison des moyennes ; celui-ci a été effectué avec le logiciel « SPSS.22 ». Les résultats sont jugés statistiquement différents avec un seuil de signification supérieur à 95% lorsque « $P < 0.05$ ».



Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Résistance au peroxyde d'hydrogène :

Les résultats de la résistance des bactéries lactiques étudiées au peroxyde d'hydrogène sont représentés dans le tableau 02.

Tableau 2. Le taux de survie de 23 souches de bactérie lactique dans le milieu MRS à le H₂O₂. BL1-BL23 : les souches lactiques étudiées

Les souches lactiques	Le % de survie à 0.5 mM H ₂ O ₂ (***)	Le % de survie à 1 mM H ₂ O ₂ (***)
BL1	48.02 ± 1.2	31.17 ± 0.29
BL2	40.11±0.53	32 ±0.43
BL3	41,325± 4.33	31.55 ±0.26
BL4	45.25± 2.46	36.3 ±2.68
BL5	42.96± 1.14	34.03 ±3.65
BL6	39.49± 0.43	28.36± 1.01
BL7	42.44± 0.40	33.03± 6.09
BL8	35.65± 1.29	30.31 ±1.23
BL9	39.46± 1.35	28.81± 0.86
BL10	47.94± 0.69	40.43± 4.82
BL11	50.58± 1.03	36.09± 2.67
BL12	48.64 ±0.45	36.01± 1.80
BL13	39.75± 0.37	25.59 ±6.32
BL14	45.31 ±0.34	33.26 ±0.18
BL15	44.92 ±1.35	45.60 ±4.58
BL16	33.21 ±0.04	26.69 ±0.24
BL17	40.20 ±1.15	32.76 ±0.56
BL18	47.1 ±1.01	41.87 ±1.94
BL19	42.02 ±0.91	34.98 ±0.24
BL20	44.17 ±5.65	34.96 ±6.20
BL21	26.59± 0.34	21.11 ±0.36
BL22	38.82 ±3.05	27.75 ±0.75
BL23	48.10 ±5.80	32.01 ±2.66

Nous avons remarqué une différence hautement significative dans les résultats de résistance des souches lactiques étudiées au peroxyde d'hydrogène (à 0.5 mM et à 1 mM) (P=0.000***).

Selon le tableau, toutes les souches lactiques étudiées ont la capacité de résister au peroxyde d'hydrogène. Lorsque les souches étaient exposées à 0,5 mM de H₂O₂, les taux de survie variaient entre 26,59± 0,34 % et 50,58± 1,03 %. Lorsqu'ils étaient exposés à 1,0 mM H₂O₂, les taux de survie variaient entre 21,11 ± 0,36% et 45,60 ± 4,58 %.

Une étude de **Mu et al. (2018)** a montré que des concentrations différentes en H₂O₂ pourraient inhiber la croissance de 6 souches de lactobacilles. En effet, pour les souches exposées à 0,5 mM de H₂O₂, les taux de survie variaient de 72,67 à 91,05 %. Et lorsqu'elles étaient exposées à 1,0 mM H₂O₂, les taux de survie variaient entre 30 % et 50 %.

Malgré la faible toxicité du peroxyde d'hydrogène, il est impliqué dans la formation des ROS tels que les radicaux hydroxyles qui entraînent des dommages dans les cellules. Les bactéries qui possèdent une catalase sont très résistantes aux H₂O₂ mais les BL en générale et comme notre étude le montre ont une faible résistance au H₂O₂ en raison de l'absence de cette activité (**Tang et al., 2016**). En comparant la croissance cellulaire en absence et en présence du H₂O₂ à différentes concentrations, on peut remarquer que la croissance des souches est affectée par sa présence en diminuant leurs taux de croissance, ce qui indique que la présence du peroxyde d'hydrogène cause des dommages pour la cellule bactérienne entraînant une diminution de la croissance (**Wang et al., 2006**).

Les souches à haute résistance au peroxyde d'hydrogène ont été sélectionnées pour le reste des tests de l'activité anti-oxydante, il s'agit des souches codées BL12, BL13 et BL14.

II.2. Essai de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante d'un composé ou d'une cellule bactérienne, plusieurs méthodes sont mises en évidence toutes basées sur le piégeage des radicaux (**Kouassi, 2017**). Le plus utilisé est le radical DPPH en raison de sa facilité, rapidité, sensibilité et reproductibilité par rapport aux autres méthodes (**Prior et al., 2005**). La méthode de piégeage des radicaux DPPH est couramment utilisée dans les études d'activité antioxydante qui augmente proportionnellement à la suppression de la couleur pourpre formée lorsque le radical DPPH a été ajouté au milieu.

Les résultats de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) montrent une différence hautement significative ($p=0.000^{***}$) entre les échantillons. Ces résultats sont illustrés dans la figure 11.

Selon la figure 11, les trois souches lactiques étudiées ont la capacité de piéger le radical DPPH, le taux de ce piégeage varie entre 54,91±0,12% et 93,75 ±0,7%. Les deux souches

codées BL14 et BL12 présentent des activités de piégeage proches et plus élevées ($93.75 \pm 0.7\%$ et 92.3 ± 0.28 respectivement), la souche codée BL13 présente l'activité la plus faible avec un pourcentage de $54.91 \pm 0.12\%$. Les activités de piégeage pour les deux souches BL14 et BL12 sont très proches que celle de l'acide ascorbique (vitamine C : $93.91\% \pm 0.00$). Cela indique la plus forte activité antioxydante que présentent ces deux souches.

Nos résultats concordent bien avec l'étude de **Duzet *al.* (2020)** ils ont montré que les activités de piégeage des radicaux DPPH chez des souches de bactéries lactiques varient entre 90,34 % et 58,38 %. Ainsi, la souche *L. plantarum IH14L* présentait l'activité la plus élevée ($90,34 \pm 0,40\%$).

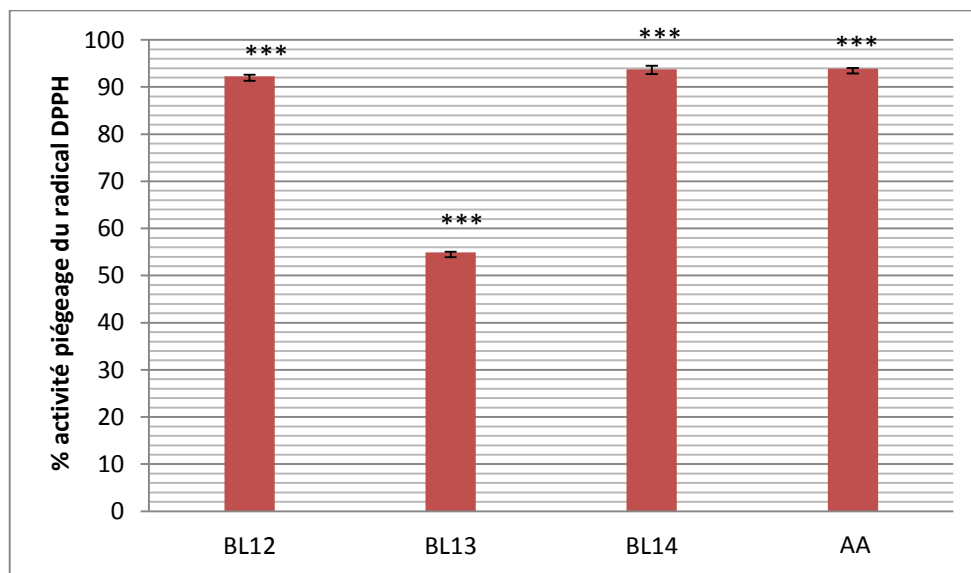


Figure 11. Résultats de piégeage du radical DPPH par les trois souches de bactéries lactiques. BL12, BL13 et BL14 : les souches lactiques étudiées ; AA : acide ascorbique

D'autre part, les résultats trouvés dans notre étude confirment que les souches lactiques étudiées présentaient une activité antioxydante très intéressante et cela comparativement avec les résultats trouvés par **Zhang *et al.*, (2011)** qui ont noté des pourcentages de piégeage du radical DPPH variant entre 52.9% et 71.3 % seulement, pour les cellules intactes de certaines souches lactiques. Ainsi, **Arasu *et al.*, (2016)** ont noté un pourcentage de 48,63% seulement pour la souche *L. brevis*P68 isolé à partir de cornichons.

Des études antérieures ont démontré que l'activité antioxydante de certaines souches de LAB pourrait être associée à la production des composés de la surface cellulaire tels que les

exopolysaccharides (Feng et Wang, 2020) produits par quelques souches telles que *Lactococcus lactis subsp. lactis* 12 et *Bifidobacterium animalis* RH (Xu et al., 2011) et l'acide lipotéichoïque pour quelques bifidobactéries. De plus, Talib, (2019) ont signalé que l'activité de piégeage du radical DPPH des souches de *Lactobacillus* isolées du kéfir est liée au contenu phénolique total et à la teneur totale en flavonoïdes.

II.3. Piégeage de l'anion superoxyde

Les résultats de l'activité de piégeage de l'anion superoxyde sont représentés dans la figure 12. Selon cette figure, les trois souches lactiques étudiées ont la capacité de piéger l'anion superoxyde. Nous avons noté un taux de piégeage de 55.71 ± 4.53 % et 54.63 ± 5.32 % pour les souches codées BL13 et BL14 respectivement. Ces résultats sont très proches deux enregistrés pour la vitamine C (61.08 ± 2.55 %).

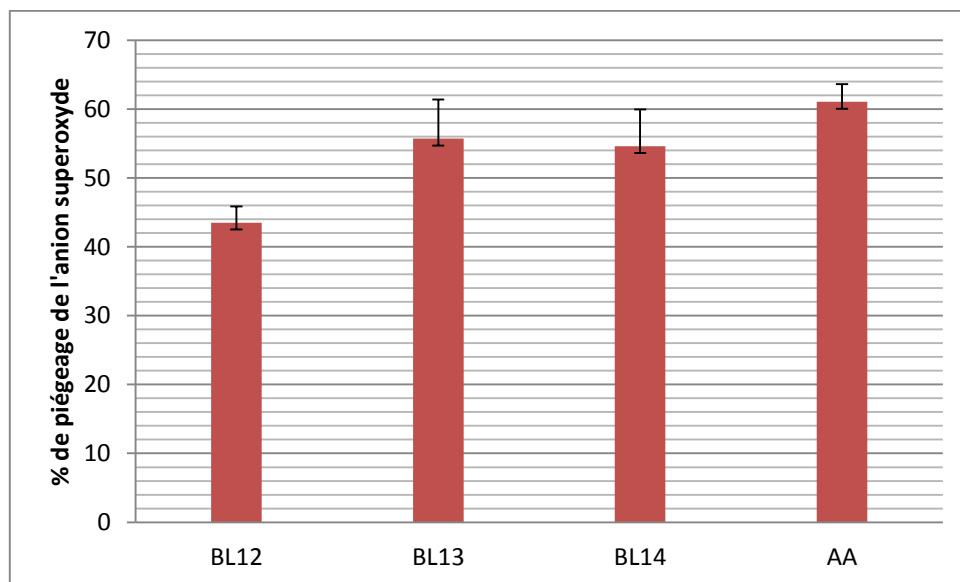


Figure 12. Taux de piégeage de l'anion superoxyde des souches lactiques étudiées. BL12, BL13 et BL14 : les souches lactiques étudiées ; AA : acide ascorbique

Duz et al. (2020) ont noté des pourcentages de piégeage de l'anion superoxyde variant entre 7.22 ± 0.04 % et 21.63 ± 1.32 %. En se basant sur ces résultats on peut dire que les trois souches lactiques testées dans notre travail avaient une activité antioxydante très importante car elles présentaient des pourcentages de piégeage de l'anion superoxyde élevés.

Ji et al. (2015) ont étudié l'activité antioxydante de quelques souches de *Leuconostoc* sp. Ils ont déterminé que ces souches présentaient une activité de piégeage supérieure à 35 %.

La capacité de piéger l'anion superoxyde par les souches lactiques étudiées pourrait être liée à leur production des exopolysaccharide (EPS). En effet, ces EPS sont au premier plan en ce qui concerne les molécules antioxydantes produites par les bactéries lactiques car ils présentent des activités de piégeage des radicaux libres et de chélation des métaux (**Feng et Wang, 2020**).

II.4. Dosage de la teneur totale en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux formés par les bactéries lactiques testées a été réalisé selon la méthode au Folin-Ciocalteu (**Boizot et Charpentier, 2006**). Les composés phénoliques réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en donnant une coloration bleu proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel.

Les résultats du dosage des polyphénols chez les souches lactiques sont représentés dans la figure 13. D'après cette figure, nous avons constaté que les trois souches de bactéries lactiques produisent des substances phénoliques. Les trois souches présentaient des teneurs proches en polyphénols, ainsi, nous avons enregistré pour la souche codée BL12 une teneur de 1.69 mg EAG/g.

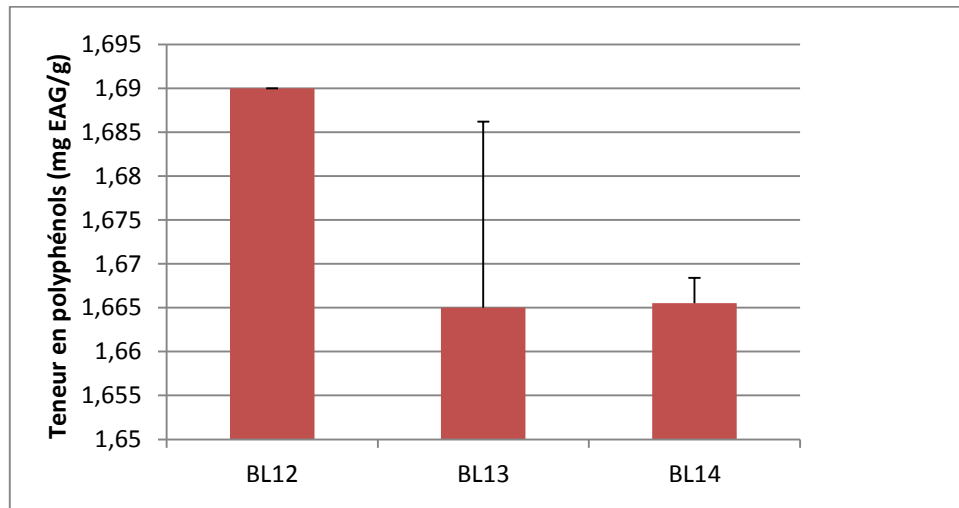


Figure 13. Teneur en polyphénol des souches lactiques. BL12, BL13 et BL14 : les souches lactiques étudiées.

D'après **Skorokhod et al. (2014)**, seuls les végétaux et les micro-organismes sont capables de synthétiser les précurseurs de composés phénoliques. Ainsi, **Livinska et al. (2016)** ont étudié la production des polyphénols par quelques bactéries lactiques dans des milieux différents. Ils ont montré que la majorité des souches lactiques étudiées (>90%) produisaient des substances

phénoliques dans le jus de concombre. Seul trois souches ont pu produire des substances phénoliques dans tous les milieux testés. Ces souches étaient également caractérisées par une activité antioxydante élevée. Il a été constaté que des souches d'origine végétale avaient produit des composés phénoliques uniquement lorsqu'elles sont cultivées sur du jus de concombre, mais n'étaient pas capables de produire ces composés dans le lait ou le milieu MRS. Selon ces chercheurs, la production des composés phénoliques dépend de la souche lactique elle-même ainsi que de son origine.

III.3.5. Pouvoir réducteur

Cette méthode est basée sur l'aptitude des souches lactiques étudiées à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action des antioxydants. Les résultats du pouvoir réducteurs sont très significativement différents ($P=0.001^{**}$), ils sont illustrés dans figure14.

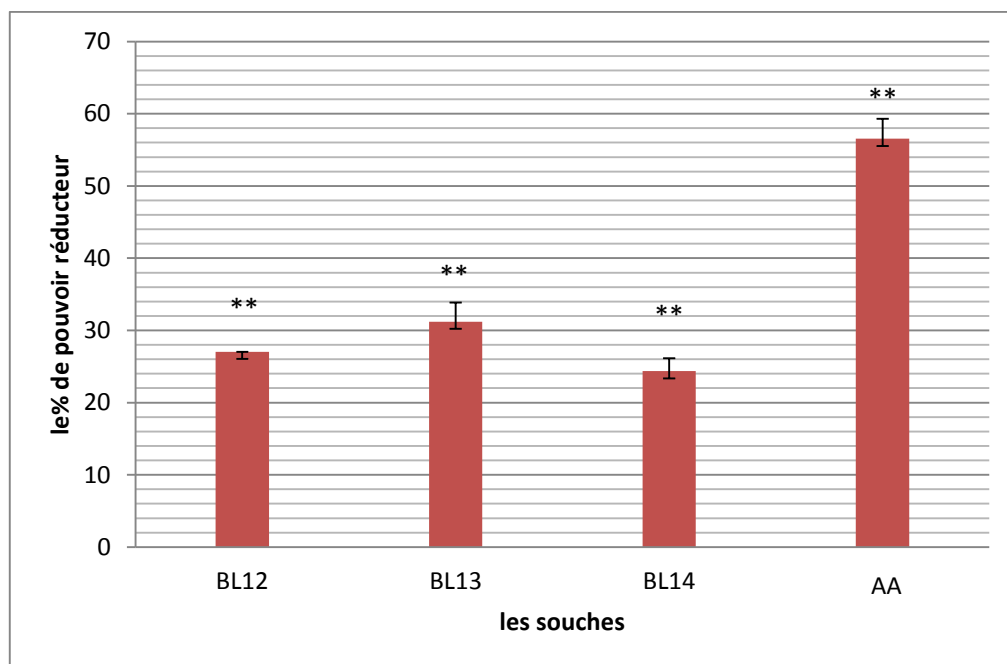


Figure14. Résultats du pouvoir réducteur des souches lactiques étudiées. BL12, BL13 et BL14 : les souches lactiques étudiées ; AA : acide ascorbique

D'après cette figure, les trois souches lactiques étudiées ont la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), elles présentent des pouvoirs réducteurs proches. Le meilleur résultat a été enregistré pour la souche codée BL14 ($38.06 \pm 21.17 \%$) qui est très proche de celui de la souche BL12 ($37.66 \pm 12.59\%$).

Les résultats trouvés dans notre travail sont en accord avec les résultats trouvés par **Zhang et al. (2017)** qui a démontré que les souches lactiques *L. curvatus SR6* et *L. paracasei SR10-1* ont un pouvoir réducteur et les résultats obtenus pour les deux souches étaient de (47.31% et 44.24%) respectivement.

D'après tous ces résultats, on peut noter que les trois souches étudiées présentaient une activité antioxydante intéressante. Il semble que l'activité de piégeage de radical DPPH est liée à la production de polyphénols, ce résultat est noté pour l'espèce codée BL12. Toutes les souches présentaient une capacité antioxydante très proche de celle de la vitamine C, cela est évident pour le test de DPPH et celui de piégeage de l'anion superoxyde et en moindre mesure concernant le pouvoir réducteur. Selon la littérature, l'origine de l'activité antioxydante est bien de la production des exopolysaccharides par les bactéries lactiques et dans certains cas de caroténoïdes. Par ailleurs, les souches de bactéries lactiques probiotiques exercent leur action antioxydante en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions métalliques (**Feng et Wang, 2020**), ces propriétés nous laissent penser du caractère probiotique de nos souches étudiées et de leur possible usage comme souche probiotique dans des aliments et des boissons fermentés en jouant le rôle de complément alimentaire pour l'homme ou l'animal.



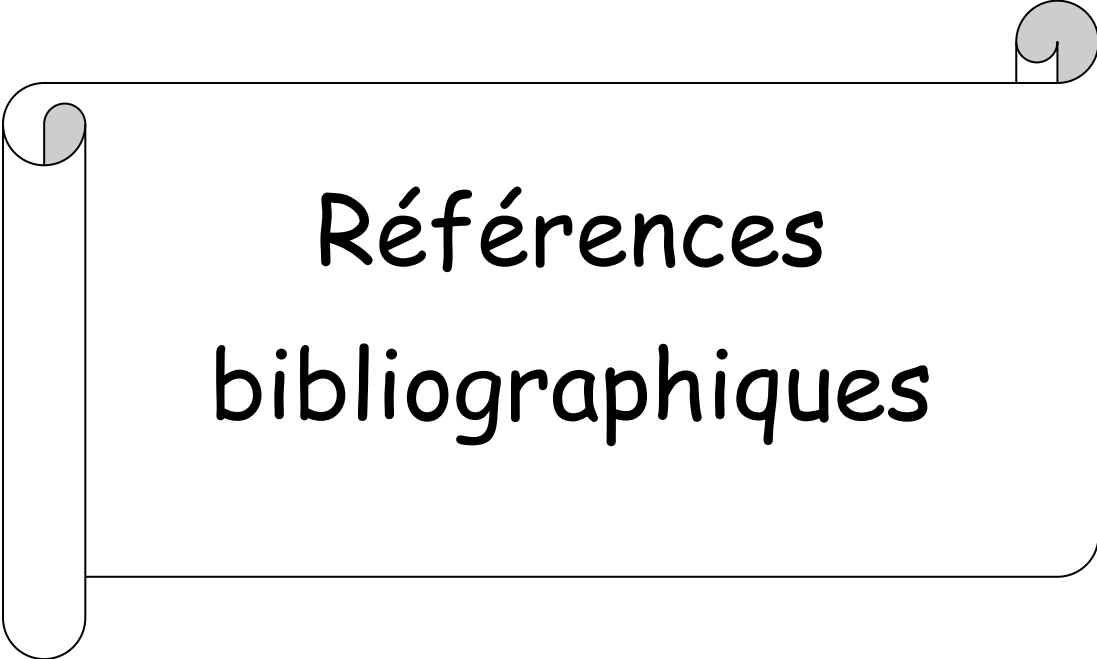
Conclusion et
perspectives

Les Bactéries Lactiques (LAB), largement utilisées dans l'industrie pour la fabrication des produits laitiers fermentés, sont exposées au stress oxydant ce qui conduit à des pertes de rendement et diminue leur survie. L'activité antioxydante des bactéries lactiques est importante à la fois pour la protection contre les dommages oxydatifs dans le corps humain. L'objectif de ce travail était de démontrer les effets des antioxydants de certaines bactéries lactiques nouvellement isolées à partir du blé fermenté.

L'étude de l'activité antioxydante des 23 souches lactiques a été effectuée en mesurant la résistance au peroxyde d'hydrogène, le piégeage des radicaux DPPH, le dosage des polyphénols, le pouvoir réducteur et le piégeage de l'anion superoxyde.

Les résultats obtenus ont montré que parmi les 23 souches étudiées trois souches BL12, BL13 et BL14 possèdent une résistance plus élevée au peroxyde d'hydrogène. Ces trois souches présentent une activité antioxydante très intéressante à savoir le piégeage du radical DPPH et de l'anion superoxyde, ainsi un pouvoir réducteur élevé et cela comparativement avec la vitamine C utilisée comme témoin positive.

En perspective, il est très intéressant de compléter cette étude, de l'activité antioxydante *in vitro* des bactéries lactiques, par une étude *in vivo* sur des modèles animaux intoxiqués ayant subi un stress oxydant, via l'administration dans la nourriture des bactéries lactiques, ensuite évaluation de l'état protecteur de ses souches en déterminant les taux des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, GPx) ainsi que d'autres molécules antioxydantes (GSH),.....



Références
bibliographiques

A

Abubakr, M. A., Hassan, Z., &Imdakim, M. M. A. **2012.** Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity (FCA). *African Journal of Microbiology Research*, 6(34), 6358-6364.

Adriouch, S., Kesse-Guyot, E., Hercberg, S., Touvier, M., &Fezeu, L. K. **2017.** Association entre les apports en polyphénols et le risque de maladies cardiovasculaires : résultats d'une étude prospective sur 84 000 adultes français. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 31(3), 238-240.

Afify, A. E. M. M., Romeilah, R. M., Sultan, S. I., & Hussein, M. M. **2012.** Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains. *International Journal of Academic Research*, 4(6), 131-139.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. AndLomri, A. **2007.** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), pp.324-329.

Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., & Khan, F. H. **2019.** Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44, 13145.

Andreyev, A.Y., Kushnareva, Y.E., Starkov, A. **2005.** Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)*, 70, 200-214.

Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., &Srigopalram, S. **2016.** In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(1), 6-10.

Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui A. &Khebri S. **2010.** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminumcuminum* L. *Lebanese Science Journal* 11, 69-81.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. **2005.** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27-36.

B

- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales " arabia et kabyle". *Sciences & Technologie C*, (23), 30-37.
- Bae, J.J., Yeon, S.J., Park, W.J., Hong, G.E., & Lee C.H. 2016.** Production of sesaminol and antioxidative activity of fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Streptococcus thermophilus* S10. *Food Science and Biotechnology* 25(1):199–204.
- Baeza, A., & Marano, F. 2007.** Pollution atmosphérique et maladies respiratoires. *médecine/sciences*, 23(5), pp.497-501.
- Benmlih M., & Ghanam J. 2012.** Polyphénols d'Huile d'Olive, *Tresors Santé!* Medicatrix Editions: Embourg, Belgique.
- Bensakhria, A. 2018.** Le stress oxydatif in toxicologie général, 70-71,73.
- Berger, M.M. 2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(1), 48-53.
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. 2014.** Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, 94(2), 329-354.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. 2012.** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bonnard, C., Durand, A., Peyrol, S., Chanseume, E., Chauvin, M., Morio, B., Vidal, H, & Rieusset, J. 2008.** Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *Journal of Clinical Investigation*, 118(2): 789–800.
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., & delattre, J. 2003.** Radicaux libres et anti-oxydants. *Aspect biologique et pathologique*, 59–81.

Bosco, M., Mohanasundaram, D., Drogemuller, C., Lang, C., Zalewski, P., & Andcoates, P. 2010. Zinc and Zinc Transporter Regulation in Pancreatic Islets and the Potential Role of Zinc in Islet Transplantation. *The Review of Diabetic Studies*, 7(4), pp.263-274.

Boudjemaa, K. 2008. Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactisérum par streptococcus thermophilus. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara – Boumerdés.

Brack, M. 2018. Le stress oxydatif <https://www.gestion.du.stress.net/index.php?o=15&m=8&sm=30>.

Bravo, L. 1998. « Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance », *Nutrition Reviews*. 56 (11), 317-333.

Buonocore, G., Perrone, S., & Tataranno, M.L. 2010. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 15 :186–190.

C

Calvez, S., Belguesmia, Y., & Kergourley, G. 2009. in bactériocines : de la synthèse aux applications in bacteries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles edition: *Economica*. P 100-122.

Chen, P., Chakraborty, S., Mukhopadhyay, S., Lee, E., Paoliello, M., Bowman, A. & Aschner, M. 2015. Manganese homeostasis in the nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 134(4), pp.601-610.

Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Gadmail, A. R., Sharma, A., & Tekade, S. 2014. Oxidative and antioxidant mechanisms in oral cancer and precancer: a review. *Oral oncology*, 50(1), 10-18.

Coşkun, Ş., Aslim, B., & Yuksekdağ, Z. N. 2010. Effect of two strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine. *Medicinal Chemistry Research*, 19(9), 1082-1091.

Couratier, P., & Claude, J. 2002. In *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16(4):253-259 · December 2002 with 107 Reads.

Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse L. 2003. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. Université de Liège B43, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique. *Annal de Médecine Vétérinaire*, 147, 315-324.

D

Defraigne, J. O., &Pincemail, J. 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue Médicale de Liège*, 63, 10-19.

Desmier, T. 2016. Les antioxydants de nos jours, définition et applications. Thèse pour l'obtention de docteur en pharmacie. Université de limoges faculté de pharmacie.

Dhawan, V. 2014. Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations. *Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations. Springer Science andBusinessMedia.*New York.

Diallo, A. 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygiumguineense WILLD*(MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. p. 13-14.

Ding,W., Wang L., Zhang J., Ke W., Zhou J., Zhu J., &Long R. 2017. Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the Tibetan Plateau. *Journal of FunctionalFoods*, 35, 481-488.

Ducros, V., &Favier, A. 2004. Métabolisme du selenium. *EMC-Endocrinologie* : 1, 19–28.

Düz, M., Nil, Y., Doğan, A., &DoğanI.2020.Antioxidant activitiy of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake* and *Lactobacillus curvatus*strains isolated from fermented Turkish Sucuk.

F

Favier, A. 2003. Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108-115.

Favier,A.2003.Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, 108-115.

Favier, A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), pp.390-396.

Fitsanakis, V., Zhang, N., Garcia, S. &Aschner, M. 2009. Manganese (Mn) and Iron (Fe): Interdependency of Transport and Regulation. *Neurotoxicity Research*, 18(2), pp.124-131.

Flora, S J., Mittal, M., &Mehta, A. 2008. Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research.*, 128, 501-523.

G

Galvez, A., Abriouel, H., Ben Omar, N., & Lucas, R. 2011. Food Applications and Regulation In: Drider D., etRebuffat S. (eds). *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*. Springer Verlag. Jaen, Spain. pp, 253-390.

Gambini,J., &Granier, R. 2013. Effets indésirables des rayons X. EMC - RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE : Principes et techniques – Radioprotection : 1-20.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z.,&Jore D. 2003. Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité Chimique*, 270, 91-96.

Gentric, G., Mieulet, V., & Mehta, G. 2017.Heterogeneity in Cancer Metabolism: New Concepts in an Old Field.*Antioxidants & Redox Signaling*, 10.1089.

H

Hadi,M. 2004. La quercitrine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine: Pharmacochimie, Université Strasbourg I. p. 155.

Haleng,J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C. & Chapelle, J. P. 2007. Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., &Bailleul, F. 2004.Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.*Phytothérapie.*,1, 3-6.

Hermes-Lima, M. 2005. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K. B.Storey (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, NJ: Wiley-Liss, 319-368.

Hidalgo-Cantabrana, C., Sánchez, B., Milani, C., Ventura, M., Margolles, A., &Ruas-Madiedo, P. 2014. Genomic overview and biological functions of exopolysaccharide biosynthesis in *Bifidobacterium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1), 9-18.

Hippocrate, A. 2018.Origine de la maladie [https:// naturavie. Eu/ index. php/en/ hygiene-de-vie/origine-de-la-maladie/item/ 41-les-radicaux-libres](https://naturavie.eu/index.php/en/hygiene-de-vie/origine-de-la-maladie/item/41-les-radicaux-libres).

Ho, T.N.T., Tuan, N.N., Deschamps, A., Caubet, R. 2007. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *International Work shop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.

Hoet, P. 2013. Sélénium et ses composés. EMC - Pathologie professionnelle et de l'environnement. 8(2):1-10.

Hogg, T. 2005. Essential microbiology. *John Wiley & Sons, Ltd.* 188-190.

I

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. 2017. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 2018.

Ismaili, M. A., Guilal, J., Hamama, A., Saidi, B., & Zahar, M. 2016. Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. *The International Journal of Multi-disciplinary Sciences*, 1(1), 81-94.

J

Jacques, B., & André, R. 2004. Biochimie métabolique Ed ellipses. Paris. p. 217-219-220-223-225.

Ji, K., Jang, N.Y, & Kim, Y.t. 2015. Isolation of Lactic Acid Bacteria Showing Antioxidative and Probiotic Activities from Kimchi and Infant Feces. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(9): 1568-1577.

Joris, A. 2018. Le stress oxydatif, les radicaux libres et les antioxydants [https:// www.bmoove.com/ stress-oxydatif/](https://www.bmoove.com/stress-oxydatif/).

Joyeux, H. 2018. Oxydation cellulaire et vieillissement [https:// www.medicatrix. be/ pathologie/ antioxydants/](https://www.medicatrix.be/pathologie/antioxydants/).

K

Kawabata, K., Yoshioka, Y., Terao, J. 2019. Role of Intestinal Microbiota in the Bioavailability and Physiological Functions of Dietary Polyphenols. *Molecules*, 24(2), 370-395.

Khalid, K. 2011. An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, 1(3), 1- 13.

Kim, H. S., Chae, H. S., Jeong, S. G., Ham, J. S., Im, S. K., Ahn, C. N., & Lee, J. M. 2005. Antioxidant activity of some yogurt starter cultures. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 18(2), 255-258.

Koehlin-Ramonatxo, C. 2006. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases, *Nutrition clinique et metabolism*, **20**, 165-177.

König, H. and Fröhlich, J. 2009. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 3, 29, 30.

Korpela, R., Lähteenmäki, T., Sievi, E., Saxelin, M. and Vapaatalo, H. 1997. *Lactobacillus rhamnosus* GG shows antioxidative properties in vascular endothelial cell cultures. *Milchwissenschaft*, 52, 503– 505.

Kouassi, M. C. 2017. Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes (Doctoral dissertation, Normandie Université).

Kullisaar, T., Songisepp, E., & Zilmer, M. 2012. Probiotics and oxidative stress. In Oxidative stress, Environmental induction and dietary antioxidants. *InTech*. 203-222.

Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C. & Kilk, A. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food and Microbiology*, 72, 215– 224.

L

Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., & Wang, Q. 2012. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chemistry*, 135(3), 1914-1919.

Libbey, J. 2018. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur Vol. 55, numéro 1, Janvier - Février 1997.

Livinska, O., Ivaschenko, O., Garmasheva, I., & Kovalenko, N. 2016. The screening of lactic acid bacteria with antioxidant properties. *10.3934/Microbiology*, 4.447.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.

Luquet, F.M., & Corrieu, G. 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. *Santé et Nutrition*. France.

M

Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó F. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMedical Research International*, 2015, 1-18.

Mazat, J.P., & Ransac, S. 2010. Le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell-La preuve par une approche stochastique. *Médecine Sciences*, **26**(12), 1079-1086.

Migdal, C., & Serres, M. 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine Sciences*, **27**(4), 405-412.

Mikelsaar, M., Mändar, R., Sepp, E., & Annuk, H. 2004. Human lactic acid microflora and its role in the welfare of the host. In *Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects*, 279-342.

Miller, R.A., & Britigan, B.E. 1997. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 10, 1– 18.

Mishra, V., Shah, C., Mokalhe, N., Chavan, R., Yadav, H., & Prajapati, J. 2015. Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**(14), 3615-3626.

Misset, B. 2019. Evaluation du statut en vitamine C de patients vus en consultation à l'Unité Transversale de Nutrition du CHU de Limoges et recherche de facteurs associés entre le statut nutritionnel et la carence en vitamine C, Université de Limoges Thèse d'exercice., 169p.

Mu, G., Gao, Y., Tuo, Y., Li, H., Zhang, Y., Qian, F., & Jiang, S. 2018. Assessing and comparing antioxidant activities of lactobacilli strains by using different chemical and cellular antioxidant methods. *Journal of Dairy Sciences*, 101:10792–10806.

N

Neviere, R. 2008. Physiopathologie mitochondriale et syndrome septique. *Réanimation*, **17**(3), pp.185-191.

Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K. & Van Leeuwen, P. A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.

O

Oueslati, K. 2017. Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton en milieu mimétique de la viande (Doctoral dissertation de Sciences des aliments, Université Clermont Auvergne), Français, 239p.

Ouwehand, A. C., & Vesterlund, S. 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *Food Science and Technology* - New York-Marcel Dekker-139: 375-396.

P

Pisoschi, A., & Negulescu, G. 2011. Methods of total antioxidant activity determination – *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 1(106), 2172-2161.

Powers, S. K., & Jackson, M. J. 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243-1276.

Prior, R., Wu, X., & Schoirch, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.

Prütz, W. A., Kissner, R., Nauser, T., & Koppenol, W. H. 2001. On the oxidation of cytochrome c by hypohalous acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 389(1), 110-122.

R

Ray, L. 2006. Myopathies et stress oxydatif : La vie des malades peut être améliorée lefaso.net/spip.php?page=impression&id_article=17890.

Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian le Goff, L., & Hade-Aissouni, L. 2005. Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations. Consequences for neuronal viability. *Annales Francaise d'Anesthésie et Réanimation*, 24: 502-509.

Rechner, AR., Kuhnle, G., Bremmer, P., Hubbard, GP. Moore, KP., & Rice-Evans, CA. 2002. The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 33: 220-35.

Roussel, A., &Hininger-Favier, A.2009.Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC - Endocrinologie - Nutrition, 6(2), pp.1-16.

S

Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., &Mattila-Sandholm, T. 2002.Gut bacteria and health foods – the European perspective. *International Journal and Food Microbiology*, **78**, 99– 117.

Salmine, S., Wright, A.V., &Ouwehand, A. 2004.Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects.*Marcel Dekker. Inc., U.S.A.*

Sisein, E. A.2014. Biochemistry of free radicals and antioxidants.*Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(2), 110-118.

Skorokhod, I., &Kurdysh, I. 2014.The low-molecular weight antioxidants of microorganisms.*Mikrobiology*, 76: 48–59.

Spyropoulos, B. G., Misiakos, E. P., Fotiadis, C., &Stoidis, C. N. 2011.Antioxidant properties of probiotics and their protective effects in the pathogenesis of radiation-induced enteritis and colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(2), 285-294.

Strobel, N.A., fassett, R.G., Marsh, S.A., &Coombes, J.S. 2011. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease.*International Journal of Cardiology*, 147:191–201.

T

Taibur, R., Ismail, H., Towhidul Islam, M.M., &HaossainUddin, S. 2012.Oxidative stress and human health.*Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3:997-1019.

Talib, N.2019. Isolation and Characterization of Lactobacillus spp. from Kefir Samples in Malaysia.*Molecules*, 14: 2606.

Tang, W., Xing, Z., Li, C., Wang, J., &Wang, Y. 2016.Molecular mechanisms and *in vitro* antioxidant effects of *Lactobacillus plantarum*MA2.*Food Chemistry*. 221, 1642-1649.

Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Yongvanit, P.,Kawanishi, S., & Murata, M. 2015.Oxidative stress and its significant roles inneurodegenerative diseases and cancer.*International Journal of Molecular Sciences*.16: 193-217.

V

Van Der Werf, R. 2013. Evaluation du pouvoir anti-oxydant des aliments: recherche de leurs effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg). 250p.

W

Wang, Y., Yu R., &Chou, C. 2006.Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifid bacteria. *Food Microbiology*. 23, 128-135.

Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., & Li, W. 2017.Antioxidant properties of probiotic bacteria.*Nutrients*, 9(5), 521- 525.

Wu, D., Sun, M.Z., Zhang, C.,&Xin, Y. 2014.Antioxidant Properties Of *Lactobacillus* And Its Protecting Affects To Oxidative Stress Caco-2 Cells. *Journal of Animals and Plants Sciences*, 24(6): 1766-1771.

X

Xu, H., Jeong, H.S., Lee, H.S., &Ahn, J. 2011. Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains.*Applied Microbiology*, 49(2), 434-442.

Y

Yang, F., Hou, C., Zeng, X., Qiao, S. 2015. The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets.*Pathogens*, 4(1), 34-45.

Z

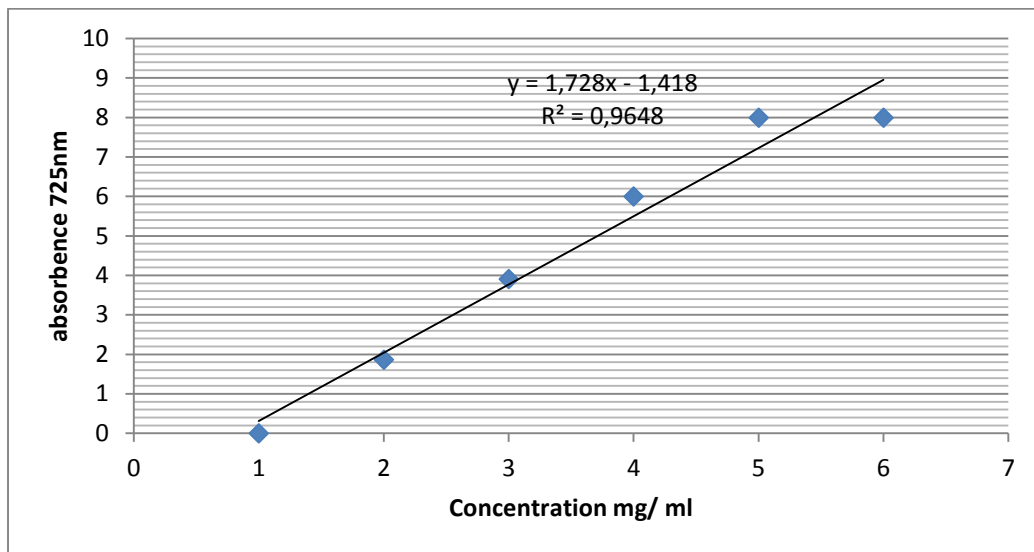
Zhang, S., Liu, L., Su, Y., Li, H., Sun, Q., Liang, X., &Lv, J. 2011. Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt.*African Journal of Microbiology Research*.5(29), 5194-5201.

Zhang, Y., Hu, P., Lou, L., Zhan, J., Fan, M., Li, D., & Liao, Q. 2017.Antioxidant Activities of Lactic Acid Bacteria for Quality Improvement of Fermented Sausage. *Journal of Food Science*, 82(12), 2960–2967.

Zhao, Y., Wang, Y., Song, Z., Shan, C., Zhu, R., & Liu, F. 2016. Development of a simple, lowcost and eurytopic medium based on *Pleurotuseryngii* for lactic acid bacteria. *AMB Express*, 6(1), 65.

A graphic of a scroll with a black outline and a grey shadow on the left side. The scroll is unrolled, and the word "Annexes" is written in a large, black, handwritten-style font in the center. The scroll has a small grey circle at the top right corner, suggesting a binding or a roll.

Annexes

Annexe 1 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Réalisé par : Sara MELLIT Iméne MOUSSAOUI	Promotrice : M^{me}. Nabila BENHAMADA
	Date de soutenance : 23/09/2021

Thème :Etude in vitro de l'activité antioxydante de quelques souches de bactéries lactiques

Résumé

Notre étude vise à explorer l'activité anti oxydante de 23 souches de bactéries lactiques. Dans cette étude, des souches des bactéries lactiques isolé à partir de blé fermenté ont été criblées pour des activités antioxydantes en étudiant leur résistance à H₂O₂, activité de piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl, piégeage des radicaux superoxyde, dosage des polyphénol et le pouvoir réducteur. Les résultats ont montré queles trois souches BL12, BL13 et BL14 ont la capacité la plus élevée de résister au peroxyde d'hydrogène. La souche BL14 présente une capacité la plus élevée pour le piégeage du radical DPPH (93.75 %) ainsi que un pouvoir réducteur le plus élevé (38.06 %). Tandis que la souche BL13 présente la capacité de piégeage de l'anion superoxyde la plus élevée (55.71%). Enfin, les trois souches produisent aussi des polyphénols.

Mots clés : bactéries lactiques, DPPH, pouvoir réducteur, anion superoxyde.

Abstract :

Our study aims to explore the antioxidant activity of 23 strains of lactic acid bacteria. In this study, strains of lactic acid bacteria isolated from fermented wheat were screened for antioxidant activities by studying their resistance to H₂O₂, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity, superoxide radical scavenging, assay polyphenols and reducing power. The results showed that the three strains BL12, BL13 and BL14 have the highest capacity to resist hydrogen peroxide. The strain BL14 has the highest capacity for the scavenging of the DPPH radical (93.75%) as well as the lowest reducing power. higher (38.06%), while the BL13 strain exhibits the highest superoxide anion trapping capacity (55.71%). Finally, the three strains also produce polyphenols.

Key words: lactic acid bacteria, DPPH, reducing power, superoxide anion.

المخلص:

تهدف دراستنا إلى استكشاف النشاط المضاد للأكسدة لـ 23 سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك. في هذه الدراسة، تم فحص سلالات بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من القمح المخمر بحثاً عن الأنشطة المضادة للأكسدة من خلال دراسة مقاومتها لنشاط الكسح الجذري H₂O₂ و 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl، والكسح الجذري لأكسيد الفائق، ومقايسة البوليفينول وتقليل الطاقة. أظهرت النتائج أن السلالات الثلاثة BL12 و BL13 و BL14 لديها أعلى قدرة على مقاومة بيروكسيد الهيدروجين، حيث تمتلك السلالة BL14 أعلى قدرة على كسح جذور DPPH (93.75%) وكذلك أقل قدرة اختزال أعلى (38.06%).، بينما تُظهر سلالة BL13 أعلى قدرة محاصرة لأنيون الأكسيد الفائق (55.71%). أخيراً، تنتج السلالات الثلاث أيضاً مادة البوليفينول. كلمات الأساسية: بكتيريا حمض اللاكتيك، DPPH، تقليل الطاقة، أنيون فوق أكسيد.