

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل



Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie Appliquée

et Sciences Alimentaires

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية

وعلوم التغذية

## Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

### Thème

**Activités biologiques des exopolysaccharides des bactéries  
lactiques**

#### Membres de Jury:

- **Président :** Pr. Tayeb IDOUI
- **Examineur :** Mr. Tarek KHENNOUF
- **Encadreur :** Pr. Mohammed SIFOUR

#### Présenté par :

M<sup>elle</sup> Houria BOUNNECHE

Année Universitaire 2020 – 2021

Numéro d'ordre (bibliothèque): .....

## Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant qui m'a procuré du courage et de la volonté pour avoir terminé ce travail.

Je me ferais un agréable devoir de remercier mon encadreur **Pr. Mohamed Sifour**, Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour m'avoir dirigé ce travail de recherche et m'avoir fait bénéficier de son expérience et de ses précieux conseils, d'avoir m'encourager et pousser tout au long de ma démarche. Je suis sensible à l'honneur que me fait monsieur.

Je tiens à remercier également l'ensemble des membres du jury, **Pr. Tayeb Idoui** qui me fait l'honneur de présider ce travail et **Mr. Tarek Khannouf** qui s'est donné la peine d'examiner cette mémoire.

Je tiens à remercier spécialement **M<sup>elle</sup> Nadia Aliouache** pour m'avoir aidé à la réalisation de ce travail, merci infiniment.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mon parcours d'études.

Mes plus sincères remerciements à mes parents qui m'ont toujours encouragé dans la poursuite de mes études, ainsi que pour leur aide, leur compréhension et leur soutien.

# *Sommaire*

Liste des figures.....	I
Liste des abréviations.....	II
Introduction.....	1
Partie bibliographique	
I. Les bactéries lactiques.....	2
I.1. Généralité .....	2
I.2. Classification .....	2
I.3. Applications.....	2
I.3.1. Propriétés technologiques .....	3
I.3.2. Propriétés probiotiques .....	3
II. Les exopolysaccharides des bactéries lactiques.....	4
II.1. Composition .....	4
II.2. Classification.....	4
II.3. Organisation/régulation des gènes codant pour les EPS des bactéries lactiques .....	6
II.4. Avantages et inconvénients des EPS.....	7
II.4.1. Avantages .....	7
II.4.2. Inconvénients.....	8
II.5. Facteurs affectants la production des EPS .....	8
II.5.1. Conditions de production.....	9
II.5.2. Conditions de cultures .....	9
II.6. Utilisations des EPS des bactéries lactiques .....	11
III. Activités biologiques des EPS.....	12
III.1. Activité antioxydante .....	12
III.2. Activité anti-inflammatoire.....	13
III.3. Activité anticancéreuse .....	13
III.4. Activité immunomodulatrice .....	14
III.5. Activité antidiabétique .....	14
Partie expérimentale	

1. Matériel.....	16
1.1. Souches bactériennes .....	16
1.2. Milieux de culture et tampons .....	16
1.3. Réactifs et produits chimiques .....	16
1.4. Appareillage.....	16
2. Méthodes .....	17
2.1. Revivification des bactéries lactiques.....	17
2.2. Screening des bactéries productrices des EPS .....	17
2.3. Quantification des EPS .....	17
2.3.1. Production .....	17
2.3.2 Extraction .....	17
2.3.3. Quantification d'EPS.....	18
2.4. Activités biologiques des EPS .....	18
2.4.1. Activité antioxydante des EPS .....	18
2.4.2. Activité anti-inflammatoire des EPS.....	19
2.4.3. Activité antidiabétique .....	20
2.5. Optimisation de la production des EPS .....	21
2.5.1. Effet de la source de carbone .....	21
2.5.2. Effet de la durée d'incubation .....	21
Résultats et discussion	
1. Screening des bactéries productrices des EPS.....	22
2. Quantification d'EPS.....	22
3. Activités biologiques des EPS.....	23
3.1. Activité antioxydante des EPS.....	23
3.1.1 Activité de piégeage des radicaux libres DPPH.....	23
3.1.2. Capacité de piégeage des radicaux hydroxyles .....	24
3.1.3. Activité de chélation des ions de fer .....	25
3.2. Activité anti-inflammatoire des EPS .....	26

3.2.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine .....	26
3.2.2. Inhibition de la protéinase .....	28
3.3. Activité antidiabétique .....	29
4. Optimisation de la production des EPS .....	29
4.1. Effet de la source de carbone .....	29
4.2. Effet de la durée d'incubation.....	31
Conclusion.....	34
Références.....	35

Annexe

N°	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Biosynthèse des homopolysaccharides par les trans-glycosylase chez les bactéries lactiques.	05
<b>Figure 02</b>	Biosynthèse des hétéropolysaccharides.	06
<b>Figure 03</b>	Plasmide pNZ4000 de <i>Lactococcus lactis</i> NIZO B40	07
<b>Figure 04</b>	Système du transport membranaire	10
<b>Figure 05</b>	Aspect des colonies des trois souches sur un milieu hypersaccharosé.	22
<b>Figure 06</b>	Concentration des EPS produit par les trois souches.	23
<b>Figure 07</b>	Capacité de piégeage des radicaux libres DPPH par les EPS.	24
<b>Figure 08</b>	Capacité de piégeage des radicaux hydroxyles par les EPS de différentes souches.	25
<b>Figure 09</b>	Activité de chélation des ions de fer par les EPS.	26
<b>Figure 10</b>	Inhibition de la dénaturation de l'albumine par les EPS.	27
<b>Figure 11</b>	Activité antiprotéinase des EPS.	28
<b>Figure 12</b>	La croissance de K2 dans différentes sources de carbone.	30
<b>Figure 13</b>	La concentration des EPS produite par K2 en présence de différentes sources de carbones.	30
<b>Figure 14</b>	La capacité de piégeage des radicaux libres DPPH en fonction de changement de la source de carbone.	31
<b>Figure 15</b>	La croissance cellulaire de la souche K2 en fonction du temps.	32
<b>Figure 16</b>	La concentration des EPS produits par la souche K2 en fonction du temps.	32

ADN :	Acide désoxyribonucléique
BSA:	Albumine de Sérum Bovin
bv:	biovar
C :	Cytosine
DNS :	L'acide 3,5-dinitrosalicylique
DPPH :	1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic acid
EPS :	Exopolysaccharide
FAO :	Food and Agriculture Organization
FeSO <sub>4</sub> :	Sulfate ferreux
G :	Guanosine
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Peroxyde d'hydrogène
IL-1b:	interleukine 1 bêta
IL-6:	Interleukine 6
BL:	Les bactéries lactiques
MRS :	Man-Rogosa Sharp
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PBS :	Tampon de phosphate de sodium
ROS:	Espèces réactive d'oxygène
RMN:	Résonance Magnétique Nucléaire
rpm :	Tour par minute
TCA :	Trichloroacetic acid solution
TNF-a :	Facteur de nécrose tumorale alpha
UFC :	Unité Formant Colonie
UDP :	Uridine diphosphate glucose



# *Introduction*

Ces dernières années, les consommateurs sont devenus de plus en plus préoccupés par les aliments fonctionnels contenant des bactéries lactiques (BL), qui ont un impact positif sur la santé humaine (**Russo et al., 2019 ; Jiang et al., 2021**). Les bactéries lactiques sont omniprésentes dans les aliments en raison de leur statut généralement reconnu comme sûr (**Ismail et Nampoothiri, 2010**). Elles produisent une variété de métabolites, notamment des acides organiques, des bactériocines, du mannitol, du 1,3-propanediol, des acides gras et des exopolysaccharides (EPS) (**Xu et al., 2019**).

Les EPS produits par les BL sont des métabolites secondaires sécrétés à l'extérieur de la paroi cellulaire et qui sont largement utilisés dans diverses applications (**Baruah et al., 2016**). Les EPS des BL pourraient apporter de nombreux bienfaits pour la santé des consommateurs qui sont dus à leurs nombreuses activités telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antitumorale, immunomodulatrice, anti-biofilm et la capacité de réduire le cholestérol. De plus, l'EPS peut permettre à la bactérie de mieux résister à l'acide gastrique et aux sels biliaires (**Wang et al., 2014a; Liu et al., 2017 ; Nambiar et al., 2018**).

La production d'EPS par les bactéries lactiques a reçu beaucoup d'attention ces dernières années en raison des propriétés biologiques uniques de ces biopolymères. *Lactiplantibacillus plantarum* est couramment utilisée dans le domaine de la santé et dans le domaine alimentaire à cause de sa capacité à produire des EPS avec des fonctions spécifiques (**Da Silva et al., 2019**). La recherche de nouvelles souches productrices d'EPS est devenue indispensable pour combattre de nombreuses maladies chroniques comme le diabète et le cancer (**Saadat et al., 2019 ; Huang et al., 2020**).

La constitution du milieu, les souches des bactéries lactiques utilisées et les conditions de culture (température, pH, agitation, durée d'incubation...) sont des éléments importants pouvant affecter le taux des EPS produits. L'optimisation des conditions de croissance est un point critique pour la production maximale d'EPS par les souches de bactéries lactiques (**Sanlibaba et Çakmak, 2016**).

L'objectif de ce travail consiste à rechercher quelques activités biologiques des EPS telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique des souches appartenant au genre *Lactiplantibacillus*, ainsi que la mise en évidence de l'effet de la source de carbone et de la période d'incubation sur la production de ces EPS.

# *Partie bibliographique*

## I. Les bactéries lactiques

### I.1. Généralité

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène, produisant de l'acide lactique comme principal produit final de la fermentation des sucres hexose, et d'autres produits comme l'acétate, l'éthanol, CO<sub>2</sub>, formate et succinate (Alnakip *et al.*, 2016). Ce sont des bactéries à faible GC% (Gómez *et al.*, 2016), Gram-positives, non mobiles, non sporulées, sphériques ou en forme de bâtonnet (Teneva-Angelova et Beshkova, 2021), anaérobiques ou aérotoleérantes, catalases négatives, cependant certaines ont une pseudocatalase (Juwana *et al.*, 2020 ; Castro *et al.*, 2021) et oxydase négative (Tat et Khanh, 2021). Ces bactéries, du fait de leur souplesse d'adaptation physiologique peuvent coloniser différents milieux et occupent différents habitats. Elles font partie de la flore intestinale et vaginale humaine et animale, elles sont aussi associées aux plantes, aux ensilages et aussi aux produits laitiers (Duar *et al.*, 2017).

### I.2. Classification

Auparavant, la classification des bactéries lactiques a été basée sur des caractéristiques phénotypiques, y compris la température de croissance optimale, l'utilisation du sucre et le spectre des métabolites produits. Plus tard dans le 20<sup>e</sup> siècle, les critères génotypiques et chimiotaxonomiques, y compris l'hybridation ADN-ADN, la teneur en % molaire de G + C et la structure chimique du peptidoglycane ont été utilisées pour la détermination de nouvelles espèces bactériennes (Duar *et al.*, 2017 ; Zheng *et al.*, 2020).

Ce groupe renferme plusieurs genres dont les plus étudiés sont : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*. Les lactobacilles désignent le groupe principal classé dans le phylum Firmicutes, classe Bacilli, ordre Lactobacillales, famille des *Lactobacilaceae*, qui contient plusieurs genres : *Lactiplantibacillus*, *Amylolactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Fructilactobacillus*...etc (Zheng *et al.*, 2020).

### I.3. Applications

L'usage des bactéries lactiques pour une application industrielle dépend de leurs propriétés technologiques et probiotiques.

### **I.3.1. Propriétés technologiques**

#### **I.3.1.1. Activité acidifiant**

Cette activité se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne, elle est utilisée dans la conservation en inhibant les germes d'altération et dans la transformation des aliments (Aragon-Alegro *et al.*, 2021).

#### **I.3.1.2. Activité protéolytique**

En raison du système protéolytique (protéinases et peptidases) des bactéries lactiques, la dégradation des protéines et des peptides donne des acides aminés essentiels et des propriétés organoleptiques aux produits fermentés, aussi ils sont utilisés dans l'industrie des textiles comme détergent, dans les tanneries et dans le domaine pharmaceutique et de la biologie moléculaire (Savijoki *et al.*, 2006 ; Prihanto *et al.*, 2013).

#### **I.3.1.3. Activité lipolytique**

Les bactéries lactiques possèdent une activité lipolytique grâce aux deux enzymes estérases et lipases qui participent au développement des arômes et des saveurs dans les produits fermentés (Esteban-Torres *et al.*, 2015; Dinçer et Kivanç, 2018).

#### **I.3.1.4. Production des exopolysaccharides**

Certaines bactéries lactiques ont la capacité de produire les exopolysaccharides qui sont des biopolymères et ils jouent un rôle important dans le domaine alimentaire et sanitaire grâce à leurs propriétés rhéologiques et physiques (Daba *et al.*, 2021).

### **I.3.2. Propriétés probiotiques**

Les probiotiques sont définis selon l'FAO et l'OMS en 2002 comme des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte. Les bactéries probiotiques sont principalement des bactéries lactiques et des bifidobactéries. Les souches probiotiques doivent être étudiées pour évaluer leurs propriétés fonctionnelles, telles que la tolérance à l'acidité, aux sels biliaries, la capacité d'adhérer à l'épithélium intestinal et l'activité antagoniste contre les microorganismes pathogènes (Ahire *et al.*, 2021). En outre, les souches probiotiques doivent être identifiées,

suffisamment caractérisées, non pathogène et non transmissible des gènes de résistances aux antibiotiques (**Binda et al., 2020 ; Ahire et al., 2021 ; Henry et al., 2021**).

## II. Les exopolysaccharides des bactéries lactiques

Sutherland (1972) et Cerning (1994) ont donné le nom d'exopolysaccharide (EPS) ou polysaccharide exo-cellulaire aux polysaccharides sécrétés à l'extérieur de la cellule (**Zidani, 2015**). Les bactéries lactiques ont suscité un intérêt pour leur capacité à sécréter des polysaccharides extracellulaires qui sont soit associés à la surface cellulaire sous forme de capsules (Exopolysaccharides capsulaires) soit sécrétés dans l'environnement extracellulaire sous forme de boue (Exopolysaccharide gluant) (**Baruah et al., 2016 ; Zhang, et al., 2021**).

### II.1. Composition

Les EPS sont des biopolymères à longue chaîne contenant des unités ramifiées et répétitives des glucides. Parmi ces derniers trouve le glucose, le galactose, le rhamnose, le mannose et le fructose existant dans des taux différentes (**Baruah et al., 2016 ; Kansandee et al., 2019**).

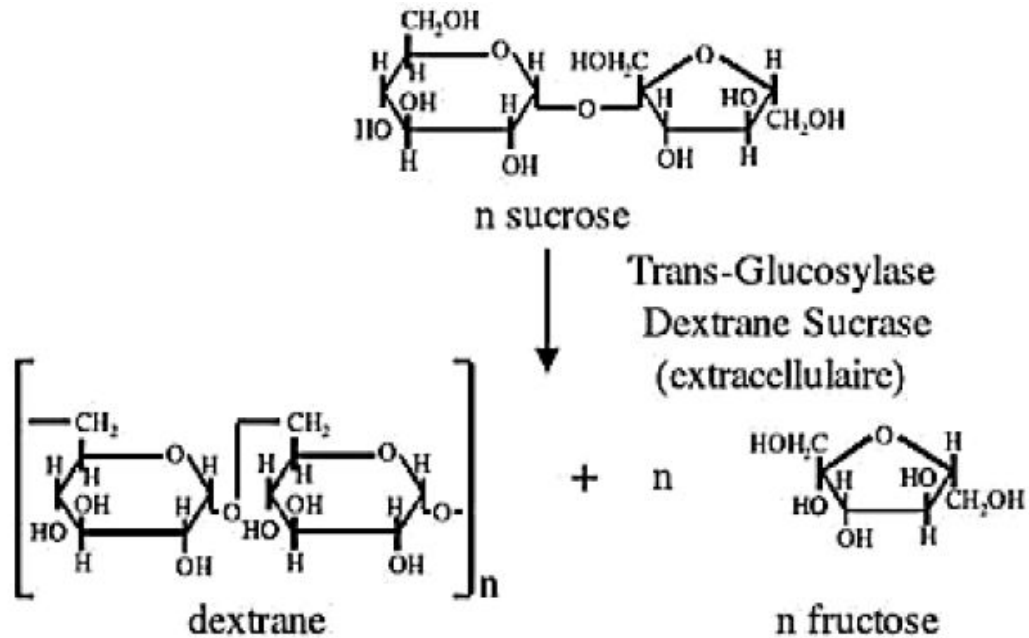
Le degré de ramification du polymère affecte les propriétés physiques comme la solubilité dans l'eau, la viscosité et les comportements de gélification des solutions de polysaccharides. Le nombre de monomère contenus dans un polysaccharide peut être de quelques à plusieurs monomères et la structure d'un polysaccharide peut être homogène ou hétérogène (**Gorska et al., 2013; Baruah et al., 2016**).

### II.2. Classification

Les polysaccharides sont des métabolites naturels essentiels trouvés dans toutes les formes de vie tels que les micro-organismes, les animaux et les plantes avec diverses structures biochimiques et fonctions biologiques. Parmi toutes les formes de vie, on peut class les EPS des bactéries lactiques en deux grands types de polysaccharides (**Rana et Upadhyay, 2020**).

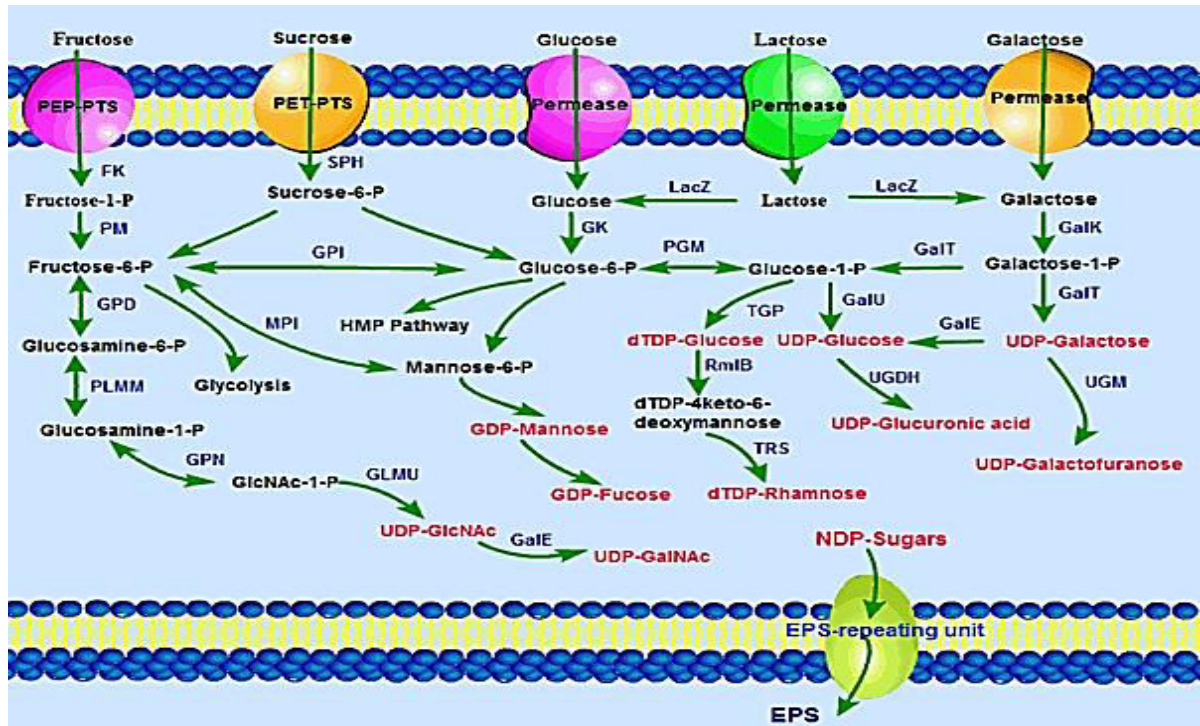
Les homopolysaccharides résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules d'un ose (**Zhang et al., 2021**), parmi les, on retrouve les  $\alpha$ -glucanes composés des résidus de glucose liés en  $\alpha$ -1,6 et  $\alpha$ -1,3, ex : les dextranes produits par *Weissella confusa* A16 et *Leuconostoc pseudomesenteroides* DSM20193 (**Koirala et al., 2021**), et les glucanes par *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus* (**Han et al., 2021**). Les levanes constitués de résidus de fructose liés en  $\beta$ -2,6, produit par *Streptococcus salivarius* (**Xu et al., 2021**). Les homopolysaccharides sont synthétisés à l'extérieur de la cellule grâce à des enzymes sécrétés

par la bactérie (Cheng *et al.*, 2021). Dans la production des dextranses, par exemple, seulement une enzyme est utilisée, la dextransucrase. Cet enzyme est spécifique pour le saccharose et l'énergie pour la polymérisation résulte de son hydrolyse (Koirala *et al.*, 2021) (Figure 01).



**Figure 01 :** Biosynthèse des homopolysaccharides par les trans-glycosylase chez les bactéries lactiques (Monsan *et al.*, 2001).

Les hétéropolysaccharides résultant de l'accumulation de plusieurs types de glucides constitutifs formés d'unités répétitives, peuvent contenir d'autres groupes tels que des groupements phosphate, amines ou acétyles (Baruah *et al.*, 2016; Sanalibaba et Çakmak, 2016). Parmi les on prend l'exemple d'un heptasaccharide contenant du glucose, galactose et rhamnose dans le rapport 2:1:4 et un groupement pyruvate, produit par *Lactobacillus rhamnosus* (Bertsch *et al.*, 2019). La synthèse des hétéropolysaccharides se fait au niveau de la membrane cytoplasmique par polymérisation des unités répétitives synthétisées dans le cytoplasme, puis rencontrées dans la membrane cytoplasme par l'addition successive d'unités glucosyl au polysaccharide neuf qui se fixe sur un transporteur lipidique à l'extérieur de la cellule pour former un hétéropolysaccharide à haut poids moléculaire (Baruah *et al.*, 2016; Velasco *et al.*, 2021). La synthèse des hétéropolysaccharides nécessite plusieurs enzymes d'épimérisation, de décarboxylation, de phosphorylation et de déshydrogénation, parmi les on trouve l'UDP-glucose déshydrogénase, la glucosyl-transférase et la galactosyl-transférase (Sanalibaba et Çakmak, 2016) (Figure 02).



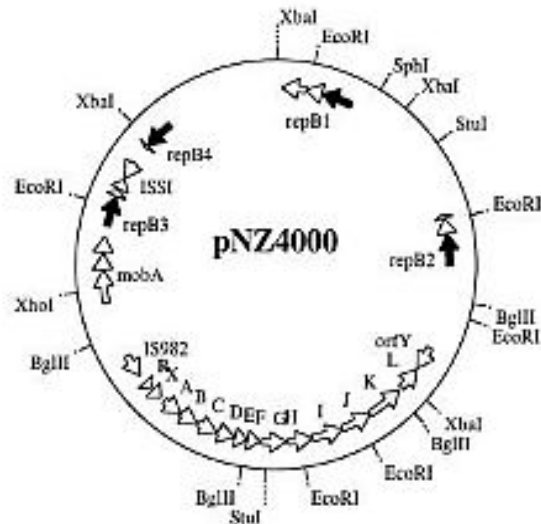
**Figure 02 :** Biosynthèse des hétéropolysaccharides (Cui *et al.*, 2017).

### II.3. Organisation/régulation des gènes codant pour les EPS des bactéries lactiques

Les gènes codant pour la production des EPS généralement localisés sur les plasmides des bactéries lactiques mésophiles (ex: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lb. casei*) (Gotoh *et al.*, 2021) ou sur le chromosome des thermophiles (ex: *Lb. delbrückii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) (Karadeniz *et al.*, 2021). Dans une recherche réalisée par Stingle *et al.* (1996) sur *Streptococcus thermophilus* Sfi6, les chercheurs ont trouvé que les gènes codant pour la production d'EPS sont installés sur le chromosome. Alors que la recherche réalisée par Van Kranenburg *et al.* (1997) a montré que les gènes codant pour la production d'EPS sont installés sur le plasmide de *Lactococcus lactis* NIZO B40.

La formation des EPS est contrôlée par des gènes de l'opéron *eps* codant pour les enzymes responsables de la synthèse d'EPS. Ces gènes forment des régions fonctionnelles telles que la polymérisation, la détermination de la longueur de chaîne, l'exportation d'EPS et la régulation du groupe de gènes. Ces régions sont responsables de la variabilité en poids moléculaire et en composition d'EPS (Baruah *et al.*, 2016). Il a été rapporté que *Lactococcus lactis* NIZO B40 contient le plasmide pNZ4000 de 42,180 pb qui comporte l'opéron *eps* de 12 kb (Figure 03) (Van Kranenburg et De Vos, 1998 ; Van Kranenburg *et al.*, 2000).





**Figure 03 :** Plasmide pNZ4000 de *Lactococcus lactis* NIZO B40 (Van Kranenburg et De Vos, 1998).

De plus, *Lactococcus lactis subsp. lactis* bv. *diacetylactis* S50 héberge le plasmide pS74 (74,256 pb) responsable de la production des EPS (Malesevic *et al.*, 2021). Il a été rapporté que *Streptococcus thermophilus* contient un gène chromosomique d'une taille de 14.52 kb comprend 13 gènes, les produits de ces derniers intervient à la production de l'EPS (Stingle *et al.* 1996 ; Karadeniz *et al.*, 2021). Par ailleurs Le *et al.* (2021) ont trouvé que le niveau d'expression des gènes responsable de la synthèse des EPS est la cause principale des changements dans le rendement et la composition monosaccharidique des EPS durant les stress environnementaux.

## II.4. Avantages et inconvénients des EPS

### II.4.1. Avantages

Plusieurs rôles biologiques, physiologiques et technologiques ont été rapportés dans les travaux de recherche étant donné leur grande importance, les EPS peuvent servir dans plusieurs domaines :

- Comme agent adhésif des molécules regroupées «connues sous le nom de glycocalyx» entre cellule-cellule ou bien cellule-surface. Où ils jouent le rôle important dans la formation et la stabilisation des colonies, ainsi que la colonisation des probiotiques au niveau de l'épithélium intestinale (Marcial *et al.*, 2017; Konieczna *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2019).

- Comme substance d'agrégation bactérienne dans les communautés de rhizosphère et à un rôle dans la dissimulation de la surface bactérienne, la rétention d'eau, l'absorption des nutriments et la protection contre les stress environnementaux (**Panda et al., 2020**).
- Dans certaines interactions entre les cellules, ex : la communication entre les plantes et les bactéries dans la formation de nodules par *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* et *Trifolium repens* (**Oleńska et al., 2021**).
- Certains EPS (appelé r-EPS) isolés de biofilms formés par *Lb. acidophilus* A4 ayant une action anti-biofilm contre les germes pathogènes tels que *Escherichia coli* O157:H7 entéro-hémorragique (**Kim et Kim, 2009; Rendueles et al., 2013**), et celui de *Lb. plantarum* 12 contre *Shigella flexneri* (**Song et al., 2020**).
- Ils ont un effet bénéfique sur la santé des consommateurs comme la réduction du taux de cholestérol (**Korcz et al., 2018; Ye et al., 2021**), ils ont des activités antitumorale (**Wang et al., 2021a; Gargouch et al., 2021**), et anti-inflammatoire et comme immunomodulateur (**Hidalgo-Cantabrana et al., 2014; Saadat et al., 2019**).
- Ils peuvent aussi être utiles au captage des ions métalliques comme  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  et  $Co^{2+}$  (**Patel et Prajapat, 2013**).

#### II.4.2. Inconvénients

Les polysaccharides excrétés par certaines souches peuvent avoir un impact négatif :

- La production de glucanes par *Streptococcus mutans* permet à la souche de coller aux dents et participe à la formation de la plaque dentaire (**Chen et al., 2021**).
- La production de polysaccharides par des souches de *Leuconostoc* ou de *Pediococcus* donne un aspect filant et huileux au vin (**Walling et al., 2001**).
- La sélection des souches mucoïdes lors de la fabrication de yaourt est cruciale et doit être faite avec précaution pour ne pas compromettre le processus fermentaire. Etant donné qu'une forte production d'EPS masque la saveur et les arômes et peut produire un yaourt filamenteux (**Zidani, 2015**).

#### II.5. Facteurs affectants la production des EPS

La biosynthèse des EPS est influencée par plusieurs facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques.

### **II.5.1. Conditions de production**

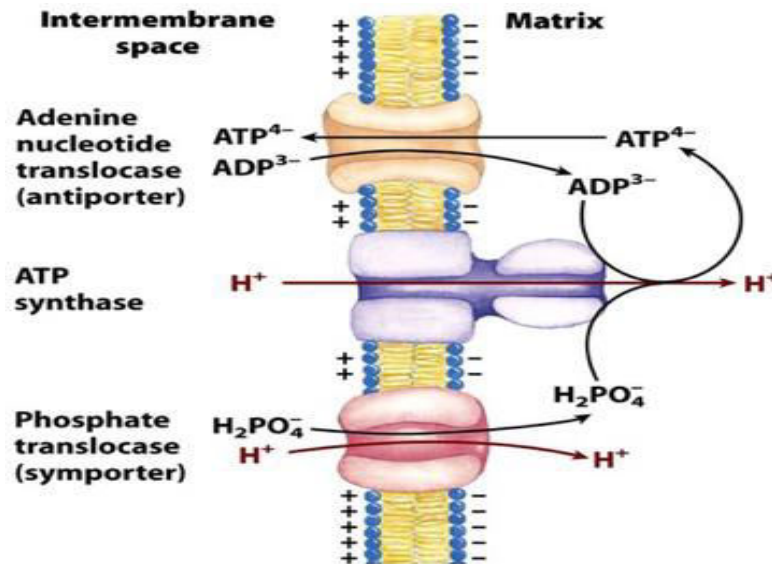
Ces conditions dépendent essentiellement de la souche étudiée et sélectionnée. Le type et la quantité d'EPS synthétisé par des souches de la même espèce sont différents selon les conditions de croissance (**De Vuyst et Degeest, 1999**). La mutation spontanée peut donner naissance à des variantes clonales avec une production faible ou élevée ainsi que des composés EPS complètement nouveaux. Ce qui est peut interpréter par la perte d'un plasmide portant le gène codant pour la production d'EPS dans les bactéries lactiques mésophiles ou par l'intervention des éléments génétiques mobiles existants dans le chromosome des souches thermophiles (**Cerning, 1990; Germond et al., 2001; Mayer et al., 2020**). Le rendement des EPS aussi dépend de la composition du milieu de culture (source de carbone, source d'azote...) et des conditions environnementales (température, pH, temps d'incubation...etc) (**Badel et al., 2011**).

### **II.5.2. Conditions de cultures**

Les conditions de culture ont un impact clair sur la croissance des bactéries productrices d'EPS (**Midik et al., 2020**). La majorité des espèces du genre *Lactobacillus* sont incapables de synthétiser des acides aminés et des vitamines. C'est pour cela différents milieux de culture ont été utilisés pour déterminer le type et la quantité des EPS et l'influence des nutriments sur la croissance des souches productrices, et sur la production et la génétique des EPS (**Raveschot et al., 2018 ; Xu et al., 2019**). Les bactéries lactiques mésophiles synthétisent des EPS en quantités maximales dans des conditions sous-optimales, dans lesquelles le taux de production d'exopolysaccharides est autonome de la croissance bactérienne. Alors que dans les bactéries thermophiles, il est associé à la croissance bactérienne (**Zidani, 2015**).

#### **II.5.2.1. Source de carbone**

Le lactose est considéré comme la source d'énergie habituellement favori pour les bactéries lactiques, mais elles peuvent métabolisées d'autres oses grâce au système de transport membranaire (**Tsuda et al., 2019**), (Figure 04). La source de carbone affecte la production et le rapport en sucres des EPS. Le comportement des souches vis-à-vis de cette source diffère d'une espèce à une autre (**Sanchez et al., 2006**). Le glucose étant la source la plus efficace, puis vient le lactose par rapport au fructose pour des densités égales en cellules (**Grobben et al., 1998**).



**Figure 04 :** Système du transport membranaire (web).

### II.5.2.2. Source d'azote

La source d'azote n'influence pas sur la biosynthèse et la composition en sucres, mais elle a un effet sur la croissance des cellules en diminuant la densité cellulaire (**Grobben *et al.*, 1998**). Un milieu riche en carbone et pauvre en azote favorise la production d'EPS à haut poids moléculaire. Par contre, un faible ratio carbone sur azote favorise la production d'EPS à faible poids moléculaire (**Gentès, 2011**).

### II.5.2.3. Température d'incubation

La température d'incubation a un effet direct sur la biosynthèse d'EPS (**Ruas-Madiedo et Reyes-Gavilan, 2005**). Il a été montré qu'il existe une différence entre la température optimale de la biosynthèse de la biomasse et celle de la biosynthèse des EPS (**Zajsek *et al.*, 2013 ; Zidani, 2015**). La production des dextrans extracellulaires par des espèces de *Weissella* est connue pour être favorisée à des températures au-dessous des optimums de leur croissance (**Hu et Gänzle, 2018**). Sa plus grande production à de plus basses températures est due apparemment du fait que la dextransucrase est très rapidement inactivée aux températures au-dessus de 30°C (**Sarwat *et al.*, 2008**).

### II.5.2.4. pH

La variation du pH joue un rôle significatif dans la biosynthèse et la dégradation des EPS. Un pH stable permet d'élargir la phase exponentielle et la phase stationnaire. Cela conduit à une

diminution de la synthèse du peptidoglycane et des acides téichoïques en augmentant la production des EPS (**Pham *et al.*, 2000; Shu et Lung, 2004; Nehad et El-Shamy, 2010**).

### **II.5.2.5. Enzymes dégradantes**

**Tsuda *et al.* (2019)** ont montré que les rendements en EPS sont susceptibles de diminuer après avoir atteint un maximum et cela est causé par des enzymes, telles que la glycohydrolase, qui est produite par des bactéries. Il a été clairement démontré par **Pham *et al.* (2000)** que la quantité d'EPS produite diminuait lors d'une fermentation prolongée. La dégradation de l'EPS dans les processus de fermentation a également été évaluée en mesurant ses poids moléculaires et ses viscosités. Ces réductions pouvant avoir un effet négatif sur le rendement et les propriétés viscosifiants d'EPS.

## **II.6. Utilisations des EPS des bactéries lactiques**

Les applications industrielles des EPS sont larges et dans des domaines variés tels que le domaine alimentaire, cosmétique, médicale, pharmaceutique, textile, agriculture, pétrolière, dans la bioremédiation et le bioleaching.

- Domaine alimentaire : ils sont utilisés dans ce domaine en tant que texturant, stabilisant, agent de gélification, cryoprotectant, épaississant, émulsifiant, agent de liaison et ainsi pour accroître la viscosité (**Patel et Prajapat, 2013 ; Baruah *et al.*, 2016 ; Velasco *et al.*, 2021**).
- Domaine pharmaceutique et médical : ils sont utilisés dans ce domaine pour remplacer le plasma sanguin et pour agrandir le volume du plasma (**Bhavani et Nisha, 2010 ; Wang *et al.*, 2021b**), comme adhésif de la prothèse dentaire (**Ullah *et al.*, 2021**), anticoagulant, agent anticancéreux (**Muñoz-Garcia *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021a**), antivirale et antitumorale (**Gargouch *et al.*, 2021**).
- Domaine cosmétique : ils sont utilisés dans ce domaine en tant qu'émulsifiant, agent de conditionnement de la peau, lotion et préparation du crème, et aussi pour accroître l'élasticité de la peau (**Mobarak *et al.*, 2021**).
- Industrie de textile : ils sont utilisés dans ce domaine en tant qu'agent d'amincissement, agent de combinaison et aussi comme couverture résistante à l'eau (**Ikhaddalene *et al.*, 2021 ; Boumhandi, 2021**).
- Domaine d'agriculture : ils sont utilisés dans ce domaine en tant qu'agent stabilisant, agent adhésif, agent de conditionnement de sol, biosurfactant et pour la résistance au stress de l'eau (**Panda *et al.*, 2020**).

- Domaine de la bioremédiation et bioleaching : ils sont utilisés dans ce domaine pour l'absorption des ions et pour l'extraction des métaux (**Kalita et Joshi, 2017**).
- Domaine pétrolière : ils sont utilisés dans ce domaine pour la récupération et le forage de l'huile et même pour le nettoyage du pipeline (**Krishnaswamy et al., 2021 ; Flik et al., 2021 ; Kuppanan et al., 2021**).

L'EPS le plus commercialisé est le dextrane qui est utilisé comme produits de gels de filtration, comme unités d'extension du volume de sang et pour améliorer le débit sanguin, améliorants de pâtes, stabilisateurs de sirops alimentaires, rétablissement des huiles (**Bhavani et Nisha, 2010**). Le levane peut aussi être utilisé dans le domaine alimentaire et médicale (**Hundschell et al., 2020**). Ils sont intégrés dans l'amélioration de la texture, de la viscosité des produits laitiers fermentés (fromages, crèmes fermentées et surtout les divers types de yaourts pour prévenir la synérèse) (**Górska-Frączek et al., 2013 ; Surber et al., 2021**).

### **III. Activités biologiques des EPS**

Les polysaccharides sont des macromolécules qui se trouvent dans les plantes, les animaux et les micro-organismes et sont de bonnes sources de fibres alimentaires avec des activités biologiques importantes telles que l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, immunrégulatrice, antimicrobienne, anti-cancéreuse et antidiabétique ainsi que d'autres effets bénéfiques pour la santé (**Jiang et al., 2021**).

#### **III.1. Activité antioxydante**

L'oxydation est un processus essentiel dans les organismes vivants pour la production d'énergie. Toute formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) sous forme d'anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles peuvent causer des dommages dans les protéines, des mutations dans l'ADN, l'oxydation des phospholipides membranaires et la modification des lipoprotéines de basse densité (**Wang et al., 2017; Li et al., 2019**). Une quantité excessive de ROS peut entraîner des dommages cellulaires qui favorisent les maladies chroniques, notamment l'athérosclérose, l'arthrite, le diabète, les maladies neurodégénératives, maladies cardiovasculaires et cancer (**Min et al., 2019; Taylan et al., 2019**).

Pour neutraliser les molécules oxydantes, le corps humain synthétise des enzymes antioxydantes et des molécules qui avec les antioxydants contenus dans les aliments forment

la barrière biologique antioxydante. Cependant, dans certaines circonstances le système de défense ne parvient pas à protéger le corps contre le stress oxydatif, par conséquent la possibilité d'augmenter les défenses antioxydantes est considérée importante dans le maintien de la santé humaine et dans la prévention des maladies (**Yang et al., 2015; Zhao et al., 2017; Min et al., 2019**).

Les bactéries lactiques sont largement consommées comme probiotique pour moduler et améliorer l'équilibre du microbiote intestinal. Parmi ses effets bénéfiques rapportés dans de nombreuses études, se trouve ses propriétés antioxydantes. Les mécanismes antioxydants des bactéries lactiques et leurs EPS pourraient être attribués au piégeage des ROS, la chélation des ions métalliques, l'inhibition enzymatique et à l'activité de réduction et l'inhibition de l'auto-oxydation de l'ascorbate (**Wang et al., 2017; Li et al., 2019; Jiang et al., 2021**).

### **III.2. Activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Les principales cellules qui interviennent dans la réponse inflammatoire sont les monocytes/macrophages, leucocytes polymorphonucléaire et les cellules endothéliales (**Leent et al., 2021**). Le traitement de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Malgré que ces molécules soient efficaces mais elles présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation à long terme (**Ndiaye et al., 2006; Leent et al., 2021**).

Plusieurs études ont démontré les propriétés anti-inflammatoires des EPS, les mécanismes anti-inflammatoires des EPS consistent à inhiber l'activité des enzymes dénaturantes. Pour mesurer l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, on fait appel aux tests de la dénaturation de l'albumine, l'inhibition de la protéinase et la stabilisation de la membrane (**Vidhyalakshmi et al., 2016 ; Pereira et al., 2021**).

### **III.3. Activité anticancéreuse**

L'activité anticancéreuse des EPS a suscité un intérêt particulièrement intense en raison de la forte mortalité d'un nombre croissant de patients atteints de cancer. Bien que les agents anticancéreux actuellement utilisés en chimiothérapie possèdent une forte activité mais ont souvent des effets secondaires. Par conséquent, la recherche de nouvelles stratégies

alternatives pour la prévention et le traitement du cancer est nécessaire. Les EPS des bactéries lactiques sont une source naturelle sécurisée qui peuvent servir comme substituants aux agents anticancéreux synthétiques (Li *et al.*, 2015).

Les EPS sécrétés par les bactéries lactiques ont montré des effets protectifs contre le cancer en modulant les mécanismes de défense naturelle de l'hôte (Deepak *et al.*, 2016; Zannini *et al.*, 2016), l'inhibition de l'initiation et la progression de la cancérogenèse, l'amélioration de l'apoptose et la régulation négative des gènes impliqués dans la prolifération des cellules cancéreuses (Saber *et al.*, 2017). Concernant les effets bénéfiques de ces métabolites sur la santé, Thamacharoensuk *et al.* (2017) ont rapporté que cinq souches de bactéries lactiques ont montré des effets anti-prolifératifs contre les cellules Caco-2 avec une capacité immunomodulatrice. Haghshenas *et al.* (2014) ont démontré que les métabolites sécrétés de souches probiotiques potentielles d'*Enterococcus*, de *Lactobacillus* et de *Lactococcus* possèdent des effets anti-prolifératifs sur différentes lignées cellulaires cancéreuses par induction de l'apoptose (Saadat *et al.*, 2019).

#### **III.4. Activité immunomodulatrice**

Dans les dernières années, de plus en plus les chercheurs s'engagent dans la recherche et l'exploitation des EPS avec l'activité immunomodulatrice des macrophages. Les macrophages jouent un rôle vital dans le système immunitaire. Ce sont les premières cellules à reconnaître les agents infectieux et ils sont essentiels pour l'immunité humorale à médiation cellulaire. Après activation, les macrophages sécrètent du monoxyde d'azote (NO) et des cytokines, qui agissent comme médiateurs du système immunitaire (Lee *et al.*, 2013). Les EPS immunomodulateurs ont une variété d'effets bénéfiques en régulant la fonction immunitaire des macrophages et sans provoquer des effets secondaires (You *et al.*, 2020). L'activité immunomodulatrice de l'EPS des bactéries lactiques est principalement due à l'induction de la production de IL-6, IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$  et ainsi la phagocytose (Dilna *et al.*, 2015).

#### **III.5. Activité antidiabétique**

Le diabète est une maladie caractérisée par une augmentation chronique de la glycémie. Elle est causée par de nombreux facteurs pathogènes (Luc *et al.*, 2019). Elle est divisée en deux types, l'incidence du type 2 est supérieure à celle du type 1. Les symptômes du type 2 comprennent l'hyperglycémie, la polydipsie, la polyphagie et la résistance à l'insuline (Huang *et al.*, 2020).



Les troubles du métabolisme du glucose sont parmi les principales causes du diabète. Le glucose est obtenu à partir de l'hydrolyse de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase et provoque une augmentation du glucose dans le sang qui peut éventuellement endommager les organes (**Luc et al., 2019**). De plus, la résistance à l'insuline des cellules du foie et des muscles squelettiques est principalement associée à une glycogénase déficiente et le dérèglement de la signalisation de l'insuline (**Kazeem et Davies, 2016**). Ainsi, les inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase et les agents libérant de l'insuline sont très importants dans le traitement du diabète (**Teng et al., 2017**).

Cependant, les médicaments comme l'acarbose, le voglibose et le miglitol ont souvent des effets indésirables. Ils peuvent provoquer une distension abdominale accrue, des troubles intestinaux et de la diarrhée et ne peuvent pas être utilisés chez les patients souffrant de troubles gastro-intestinaux. Considérant le traitement à long terme du diabète, ces problèmes graves doivent être soigneusement pris en considération (**Wang et al., 2016; Huang et al., 2020**). Sur la base des études récentes, les EPS ont été utilisés pour le traitement de cette maladie. **Hsu et al. (2014)** ont démontré que les EPS pourraient diminuer les niveaux du glucose dans le sang chez les rats présentant une intolérance au glucose. **Huang et al. (2020)** ont trouvé que l'EPS H31-2 de *Lb. plantarum* H31 pourrait inhiber efficacement l'activité de l' $\alpha$ -amylase du pancréas et a des applications potentielles dans la prévention et le soulagement du diabète.

# *Partie expérimentale*

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 (Université Mohamed Seddik Benyahia de Jijel) durant la période d'Avril-Mai 2021.

## **1. Matériel**

### **1.1. Souches bactériennes**

Au cours de cette étude les bactéries lactiques utilisées sont des souches préalablement isolées à partir de trois niches écologiques. La souche *Lactiplantibacillus plantarum* S10 a été isolée à partir de rumen de chèvre, fournie par Mr Khenouf T. (Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé) et les deux autres souches, *Lactiplantibacillus* sp. K2 et N5 ont été isolées à partir des selles de nourrissons et produit laitier respectivement, obtenus à partir du soucier du Laboratoire de Toxicologie Moléculaire.

### **1.2. Milieux de culture et tampons**

Nous avons utilisé ce qui suit:

- Gélose MRS « Man, Rogosa, Sharpe », (composition en annexe).
- Gélose hypersaccharosée, (composition en annexe).
- Bouillon MRS et MRS modifié avec différentes sources de carbone (lactose ; saccharose, galactose), (composition en annexe).
- Tampon de phosphate de sodium (PBS), (composition en annexe).

### **1.3. Réactifs et produits chimiques**

Nous avons utilisé : TCA (Trichloroacetic acid solution), Ethanol à 95%, Phénol (6%), Acide sulfurique, DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl), Phenanthroline, FeSO<sub>4</sub>, Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Acide ascorbique, NaOH, HCl, EDTA, BSA (albumine de sérum bovin), Diclofénac de sodium (Rapidux), Tris, Trypsine, Caséine et Acide acétique.

### **1.4. Appareillage**

Au cours de notre étude nous avons utilisé : étuve (Memmert), Spectrophotomètre (analytik jena), Incubateur à agitation (Ecotron), Bain Marie (Memmert), Centrifugeuse (SIGMA 3- 16 PK), Vortex (VWR), Centrifugeuse (SIGMA, Hetich EBA 20), pH-mètre (HANNA), Balance (KERN), Autoclave (pbi brand), Réfrigérateur (ENIEM), Micropipette (BIOCONTROL) et Plaque chauffante (BUNSEN).

## 2. Méthodes

### 2.1. Revivification des bactéries lactiques

La revivification des souches bactériennes a été effectuée par ensemencement dans du bouillon et Gélose MRS, suivi d'une incubation à 37°C pendant 24h. La pureté des souches a été vérifiée par observation macroscopiques (aspects des colonies sur gélose) et observation microscopique (coloration de Gram)

De plus, la recherche de la catalase a été faite sur une lame où on met la culture bactérienne à tester dans une solution d'eau oxygénée.

### 2.2. Screening des bactéries productrices des EPS

La production des EPS a été étudiée sur milieu gélosé hyper-saccharose à 37°C pendant 24-48h. Les souches qui présentent un aspect visqueux avec des colonies larges et gluantes testées par le toucher avec l'anse de platine stérile ont été considérées comme étant productrices d'EPS (Mostefaoui *et al.*, 2014 ; N'tcha *et al.*, 2016).

### 2.3. Quantification des EPS

#### 2.3.1. Production

Après le screening sur le milieu solide, la capacité des souches à produire les EPS a été testée sur le milieu liquide. Pour cela, des erlenmeyers de 100ml contenant 20ml du bouillon MRS ont été ensemencés par un inoculum de 10% ( $10^9$ UFC/ml) et qui sont par la suite incubés dans un incubateur à agitation (140rpm) à 37°C pendant 24h (Savadojo *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2014). La teneur totale en EPS a été déterminée par la méthode au phénol-acide sulfurique en utilisant le glucose comme standard pour le traçage de la courbe d'étalonnage.

#### 2.3.2 Extraction

L'extraction des EPS a été réalisée par la méthode décrite par Li *et al.* (2012) avec des modifications mineures. Après la période d'incubation, les échantillons ont été chauffés dans un bain Marie à 95°C pendant 10min pour inactiver les enzymes potentiellement capables de dégrader le polymère. Après refroidissement, l'acide trichloracétique à 80% (p/v) a été ajouté jusqu'à une concentration finale de 4%. L'élimination des cellules et des protéines a été réalisée par centrifugation (12000g pendant 30min à 4°C) ; le surnageant clair a été mélangé avec un double volume d'éthanol froid (95%), agité vigoureusement puis maintenu à 4°C

pendant une nuit. Les EPS précipités ont été séparés par centrifugation (15000g pendant 12min), et le culot contenant les EPS a été mis en suspension dans 3ml de l'eau distillée.

### 2.3.3. Quantification d'EPS

L'EPS a été quantifiée selon la méthode au phénol-acide sulfurique de **Xu *et al.* (2010)**, qui repose sur le traçage d'une courbe standard par la préparation de différentes dilutions d'une solution de glucose de 1mg/ml en suivant la même procédure que celle pour l'EPS. Dans des tubes, 0.5ml de l'échantillon (la solution d'EPS) a été mélangé avec 0.5ml du phénol (6%) suivi par l'addition de 2ml de l'acide sulfurique avec une agitation immédiate avec le vortex. Après l'incubation à l'obscurité pendant 30min à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 490nm contre un blanc qui contient de l'eau distillée au lieu de l'échantillon. La teneur en EPS a été calculée en utilisant la courbe étalon du glucose.

## 2.4. Activités biologiques des EPS

### 2.4.1. Activité antioxydante des EPS

#### 2.4.1.1. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH a été mesurée en utilisant la méthode décrite par **Qiao *et al.* (2009)**. Brièvement, 1ml d'une solution de DPPH fraîchement préparée (0.2mM) dans l'éthanol a été mélangé avec 1ml de la solution d'EPS. Le mélange réactionnel bien agité est incubé par la suite à une température ambiante dans l'obscurité durant 30min. L'absorbance a été mesurée à 517nm contre un blanc contenant de l'éthanol, tandis que la solution du DPPH dans l'éthanol exempt de l'échantillon a été utilisée comme témoin. Plus l'absorbance du mélange réactionnel est plus faible plus l'activité de piégeage des radicaux libres est plus élevée (**Li *et al.*, 2014**). La capacité de piégeage est calculée comme suit :

$$\text{Effet scavenger (\%)} = [(A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Témoin}}] \text{ (Marinova et Batchvarov, 2011).}$$

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif dans ce test.

#### 2.4.1.2. Capacité de piégeage des radicaux hydroxyles

L'effet piègeur des radicaux hydroxyles a été mesuré par la méthode décrite par **Li *et al.* (2014)**. La génération du radical hydroxyle est réalisée dans une solution contenant 0.5ml de phenanthroline (0.75mM), 0.5ml de FeSO<sub>4</sub> (0.75 mM), 0.5ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.01%, v/v) et 0.75ml de PBS (pH 7.4). 0.5ml de l'échantillon (100µg/ml) a été rajouté et une incubation du mélange a été réalisée à 37°C pendant 30min. L'absorbance du mélange a été mesurée à

536nm contre un blanc contenant de l'eau distillée au lieu de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles est exprimé par :

$$\text{Activité scavenger (\%)} = (A_{\text{Echantillon}} - A_{\text{Blanc}}) / (A_0 - A_{\text{Blanc}}) \times 100$$

Où A<sub>0</sub> était l'absorbance en absence de l'échantillon et A<sub>Blanc</sub> était l'absorbance en absence de l'échantillon et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif dans ce test.

### 2.4.1.3. Activité de chélation des ions de fer

La capacité de chélation de l'ion ferrique a été mesurée selon la méthode de **Zhang et al. (2011)**. Brièvement, un mélange réactionnel contenant 0.5ml d'échantillon (100µg/ml), 0.1ml de l'acide ascorbique (1%, p/v), 0.1ml de FeSO<sub>4</sub> (0.4g/l) et 1ml de NaOH (0.2M) a été incubé à 37°C pendant 20min. Après, on ajoute 0.2ml de TCA à 10% au mélange. Par la suite, on rajoute 0.5ml de la phenanthroline (1g/l) au mélange. Après 10min de réaction à la température ambiante, on mesure l'absorbance à 562nm. La capacité de chélation des ions métalliques a été déterminée comme suit :

$$\text{Capacité de chélation (\%)} = [1 - (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{contrôle}})] \times 100.$$

Le contrôle contient le milieu réactionnel dont l'échantillon est remplacé par l'eau distillée. La solution d'EDTA avec une concentration de 100µg/ml a été utilisée comme contrôle positif.

## 2.4.2. Activité anti-inflammatoire des EPS

### 2.4.2.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des EPS a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines avec quelques modifications (**Srikanth et al., 2015**). La méthode consiste à préparer quatre solutions :

- Solution d'essai (0.5ml) composée de 0.45ml de la solution aqueuse de l'albumine de sérum bovin (BSA) 1% (p/w) et 0.05ml d'une solution d'EPS (100µg/ml).
- Solution contrôle (0.5ml) composée de 0.45ml de la solution aqueuse de BSA 1% (p/w) et 0,05ml de l'eau distillée.
- Solution standard (0.5ml) composée de 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 1% (p/w) et 0,05ml de la solution standard Diclofénac de sodium avec une concentration de 100µg/ml.

Les échantillons ont été incubées à 37°C pendant 30min, ensuite la température était augmenté jusqu'à 57°C pendant 3min. Après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution

tampon phosphate (pH 6,3) a été ajouté aux solutions. L'absorbance a été mesurée à 416nm et le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit :

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{contrôle}} \times 100.$$

#### 2.4.2.2. Inhibition de la protéinase

L'activité d'inhibition de la protéinase a été réalisée en utilisant la méthode décrite par **Vidhyalakshmi et al. (2016)** avec des modifications mineures. Un mélange réactionnel contenant 0.5ml d'échantillon et 0.5ml d'une solution contenant la trypsine (0.06mg de trypsine, 1ml de Tris-HCl 20mM) est incubé à 37°C pendant 5min. 0.5ml de la solution caséine (0.8%) a été ajouté, puis le mélange a été ré-incube à 37°C pendant 20min. 1 ml de l'acide acétique (0.1M) a été ajouté pour arrêter la réaction et puis une centrifugation a été réalisée à 6000rpm pendant 20min. Le surnageant a été récupéré pour mesurer l'absorbance à 210nm à l'aide d'une cuve en quartz. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivant :

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Blanc}} \times 100.$$

$A_{\text{Blanc}}$  est l'absorbance de milieu réactionnel où l'échantillon est remplacé par l'eau distillée.

#### 2.4.3. Activité antidiabétique

La capacité d'EPS à inhiber l'enzyme  $\alpha$ -amylase a été analysée suite à l'utilisation de la méthode décrite par **Dilna et al., (2015)** avec quelques modifications afin de vérifier son rôle antidiabétique. Le dosage a été effectué par la procédure suivante : 250 $\mu$ l d'EPS à une concentration de 100 $\mu$ g/ml et du médicament « acarbose » ont été ajoutés à 250 $\mu$ l de l'enzyme  $\alpha$ -amylase (0,5mg/ml) et ont été incubés pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 250 $\mu$ l d'une solution d'amidon à 1% ont été ajoutés à la préparation suivie d'une incubation pour 10 min. Par la suite, 0.5ml du réactif DNS a été ajouté au mélange réactionnel et chauffé dans un bain Marie pendant 5 min. Après refroidissement, une dilution a été réalisée avec 5ml d'eau distillée. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 540nm. L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase a été exprimée en pourcentage d'inhibition. Il a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Blanc}}).$$

Le blanc contient le milieu réactionnel dont l'échantillon est remplacé par l'eau distillée.

## **2.5. Optimisation de la production des EPS**

La souche K2, utilisée pour l'optimisation est la souche productrice d'EPS qui a montré la meilleure activité anti-inflammatoire dans le test de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

### **2.5.1. Effet de la source de carbone**

Pour étudier l'effet de différentes sources de carbone sur la production des EPS, plusieurs substrats ont été testés (glucose, lactose, saccharose, galactose) à une concentration de 20g/l dans le bouillon MRS modifié. Des erlenmeyers de 100ml contenant 20ml du bouillon MRS modifié ont étéensemencés par un inoculum de 10% ( $10^9$  UFC/ml), ils ont été par la suite incubés à 37°C pendant 24h. L'absorbance à 600nm est mesurée avant et après l'incubation pour la mise en évidence de l'effet de changement de la source de carbone sur la croissance de la souche. La production, l'extraction et la quantification des EPS ainsi que le test DPPH ont été réalisées par la même méthode déjà citée précédemment (2.3.1., 2.3.2., 2.3.3., 2.4.1.1.).

### **2.5.2. Effet de la durée d'incubation**

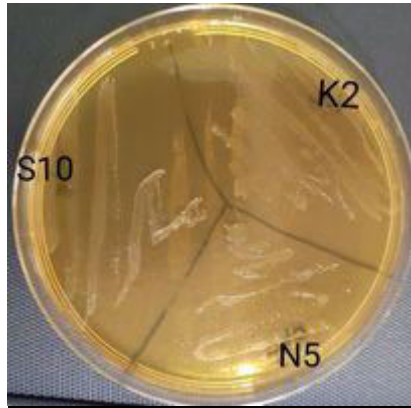
Pour le suivi de la production des EPS au cours du temps, le bouillon MRS modifié a été préparé avec le lactose comme source de carbone à une concentration de 20g/l où nous avons obtenu une meilleure production des EPS. Par la suite, 30ml du bouillon MRS modifié dans un erlenmeyer de 100ml ont étéensemencés par un inoculum de 10% ( $10^9$  UFC/ml). L'incubation a été réalisée dans un incubateur à agitation 140rpm à 37°C pendant 72h. 5 ml du milieu ont été prélevés chaque 24h dans des conditions stériles et ont été utilisés afin de déterminer la croissance de la souche bactérienne en mesurant l'absorbance à 600nm et la quantité de l'EPS produite. L'extraction et la quantification des EPS ont été réalisées par la même méthode déjà citée précédemment.



# *Résultats et discussion*

## 1. Screening des bactéries productrices des EPS

Les trois souches utilisées dans cette étude ont été testées pour la production de l'EPS sur la gélose hypersaccharosé. Les résultats ont montré l'apparition des colonies larges, visqueuses et ayant un aspect gluant (Figure 05).

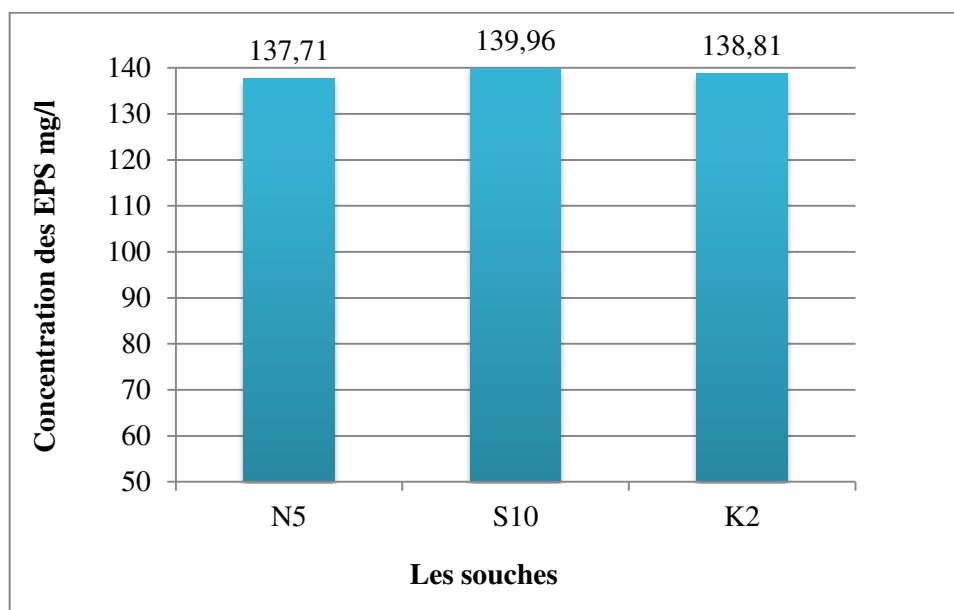


**Figure 05 :** Aspect des colonies des trois souches sur le milieu hypersaccharosé.

N'tcha *et al.* (2016) et Mostefaoui *et al.* (2014) ont montré que les souches de bactéries lactiques formant des colonies larges et visqueuses indiquant la production d'EPS, sur cette base on peut conclure que nos souches sont productrice d'EPS.

## 2. Quantification d'EPS

Nous constatons qu'il n'y a pas une grande différence entre les concentrations d'EPS produits par les trois souches (entre 137.71 et 139.96mg/l). La souche S10 a été la meilleure souche productrice d'EPS avec une concentration de 139.96mg/l, puis la souche K2 avec une concentration de 138.81mg/l, par la suite la souche N5 avec une concentration de 137.71mg/l (Figure 06). Il est a noté que la quantité d'EPS produite varié d'une souche à une autre. Mostefaoui *et al.* (2014) et N'tcha *et al.* (2016) ont obtenu une forte production d'EPS chez des espèces de *Lactobacillus* avec une concentration de 160mg/l à 1130mg/l.



**Figure 06 :** Concentration des EPS produit par les trois souches.

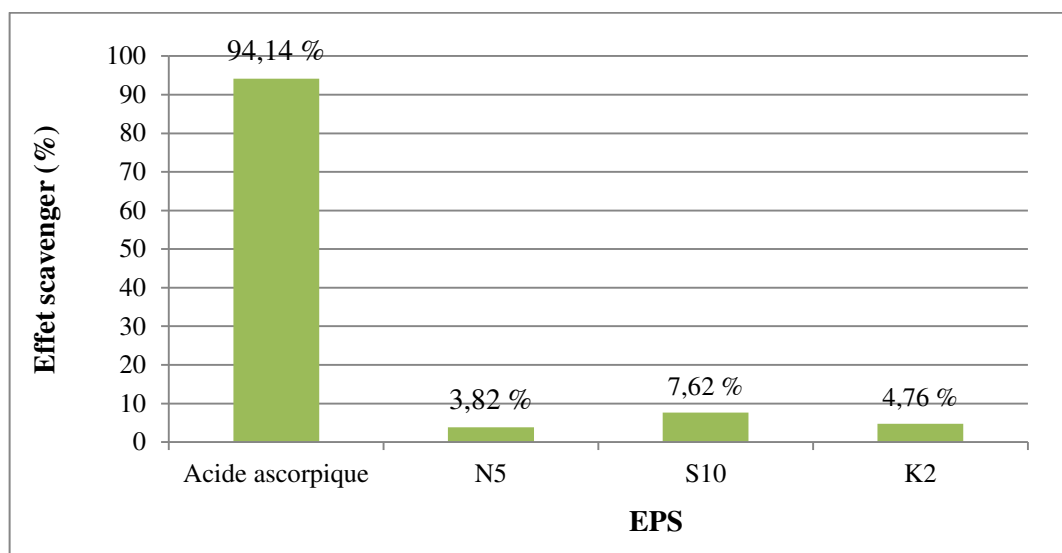
### 3. Activités biologiques des EPS

#### 3.1. Activité antioxydante des EPS

Dans cette étude, l'activité anti-oxydante des trois EPS contre deux radicaux et l'activité chélatrice des ions du fer ont été déterminés par comparaison avec ceux de l'acide ascorbique et de l'EDTA respectivement.

##### 3.1.1 Activité de piégeage des radicaux libres DPPH

Comme le montre la figure 07, la capacité de piégeage maximale de L'EPS a été observée à 7.62% pour l'EPS de la souche S10 (100µg/ml), et qui était inférieur à celle de l'acide ascorbique 94,14% mais supérieur de celle de l'EPS de la souche K2 4.76% et de la souche N5 3.82% à la même concentration.



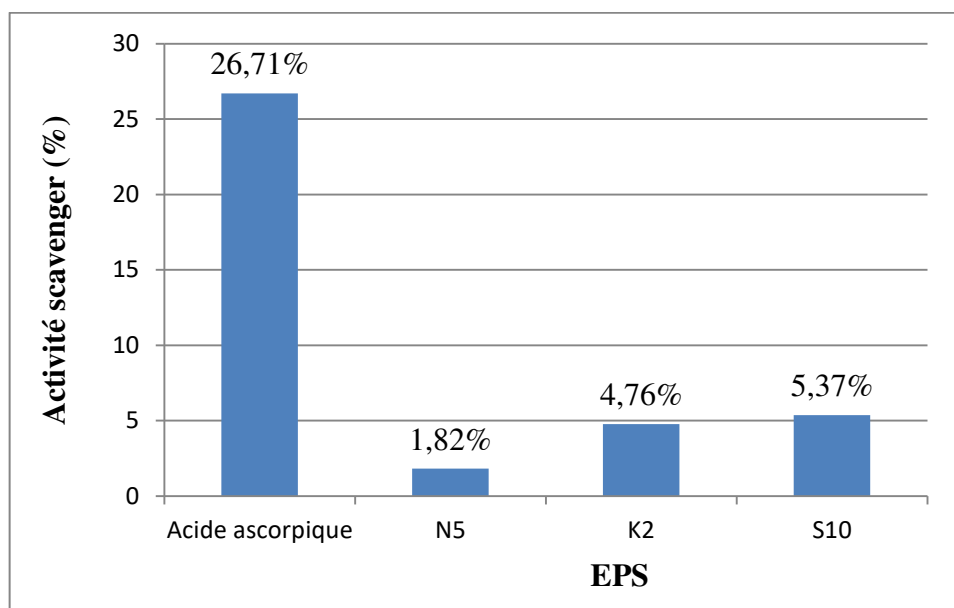
**Figure 07 :** Capacité de piégeage des radicaux libres DPPH par les EPS.

Il a été rapporté que le radical libre DPPH pouvait accepter des électrons ou radical hydrogène pour devenir une molécule stable, ce qui implique que les EPS pourraient être un bon donneur d'hydrogène ou d'électrons (Li *et al.*, 2014 ; Li *et al.*, 2019). Les faibles pourcentages montrés chez les EPS peuvent être dû à la faible concentration des EPS utilisées ainsi que la faible activité de piégeage des radicaux libres chez les EPS des souches utilisées (Abubakr *et al.*, 2012). Les résultats obtenus par Li *et al.* (2019) ont démontré que l'effet scavenger des échantillons d'EPS et de l'acide ascorbique sont dose-dépendant.

### 3.1.2. Capacité de piégeage des radicaux hydroxyles

Le radical hydroxyle réagit facilement avec des cellules voisines ou des molécules biologiques et provoque de graves dommages oxydatifs aux cellules ou aux molécules biologiques, entraînant des maladies comme le vieillissement et le cancer (Wang *et al.*, 2017).

Comme le montre la figure 08, la capacité de piégeage maximale de l'EPS a été observée à 5.37% pour l'EPS (100µg/ml) de la souche S10, la valeur était inférieure à celle de l'acide ascorbique 26,71% mais supérieure que celle des autres EPS de la souche K2 4.76% et N5 1.82% à la même concentration.



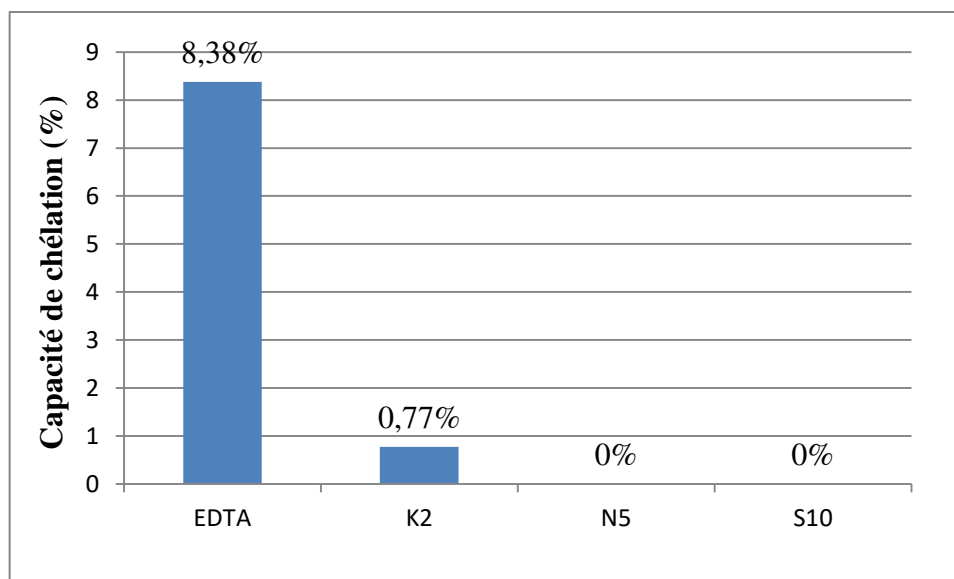
**Figure 08 :** Capacité de piégeage des radicaux hydroxyles par les EPS de différentes souches.

**Li et al. (2019)** ont trouvé que la capacité de piégeage des radicaux hydroxyles par les EPS de *Lb. helveticus* KLDS1.8701 arrive jusqu'à 62,36 % à 4mg/ml. Pareillement, l'EPS de *Lb. plantarum* C88 (85,21 %), *Lb. plantarum* 70810 (68,81 %) et *Lb. plantarum* YW32 (77,5%) ont montré une capacité élevée de piégeage des radicaux hydroxyle (**Zhang, et al., 2013 ; Wang et al., 2014b ; Wang et al., 2015**). Ces résultats suggèrent que l'EPS des *Lactobacillus* possède le potentiel d'être utilisé comme antioxydants en raison de leurs fortes capacités de piégeage des radicaux hydroxyles (**Wang et al., 2015 ; Min et al., 2019**). Il a été rapporté que l'EPS pouvait inhiber la formation du groupe hydroxyle par chélation des ions  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  qui sont des pro-oxydants puissants et jouent un rôle important dans la réaction d'oxydation catalytique (**Wang et al., 2017**).

### 3.1.3. Activité de chélation des ions de fer

L'activité de chélation des métaux est considérée comme l'un des mécanismes antioxydants. Parmi les ions métalliques impliqués dans les réactions d'oxydation, les ions de fer qui sont les plus importants du fait de leur haute réactivité. Les antioxydants chélateurs stabilisent la forme oxydée de l'ion ferreux en réduisant leur potentiel redox (**Zhang et al., 2011 ; Li et al., 2014**).

Les résultats présentés sur la figure 09 montrent que seulement l'EPS de la souche K2 a une faible activité de chélation des ions ferreux 0.77% par rapport au contrôle positive (EDTA) avec un pourcentage de 8.38% ; tandis que les EPS des autres souches ne présentent aucune activité.



**Figure 09 :** Activité de chélation des ions de fer par les EPS.

**Li et al. (2014)** ont trouvé que les EPS de la souche *Lb. helveticus* MB2-1 ont un pouvoir de chélation de 99.34%. Il a été rapporté qu'une faible activité de chélation des ions de fer par les souches est probablement liée à leur intolérance aux niveaux élevés d'oxygène (**Lee et al., 2005**).

L'activité antioxydante des EPS peut être affectée par divers facteurs y compris la composition monosaccharide, le poids moléculaire, groupes fonctionnels ainsi que les méthodes utilisées pour l'extraction et la purification (**Wang et al., 2015 ; Min et al., 2019**). Selon les résultats obtenus, on peut dire que l'activité antioxydante de l'EPS de la souche S10 présentait le meilleur effet antioxydant suivi par l'EPS de la souche K2 et enfin l'EPS de la souche N5.

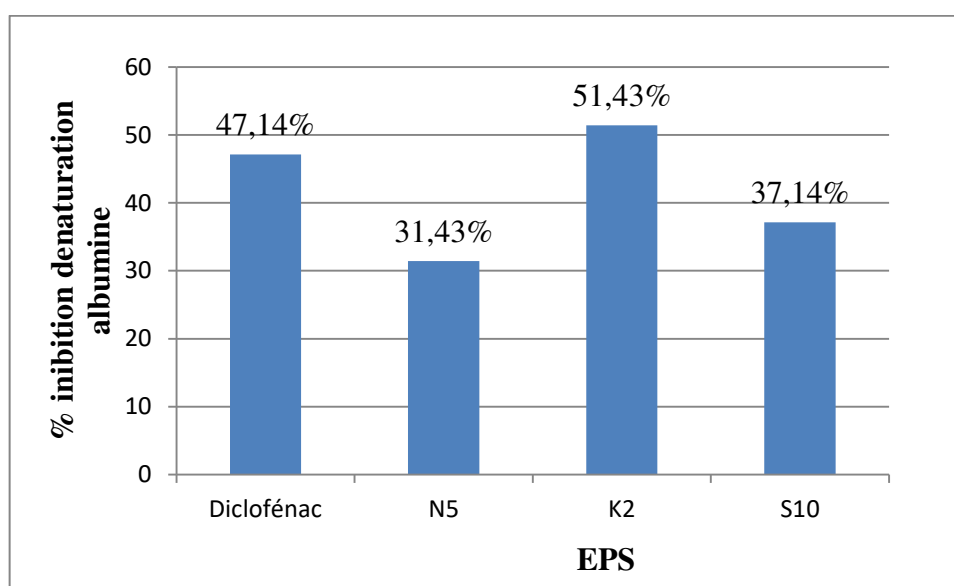
### 3.2. Activité anti-inflammatoire des EPS

#### 3.2.1. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

Les processus inflammatoires et anti-inflammatoires impliquent de nombreuses molécules, dont la plupart sont des protéines. La dénaturation de ces protéines leur fait perdre leurs propriétés biologiques, ce qui peut déclencher ou accentuer l'inflammation. Cette dénaturation implique souvent l'altération des liaisons qu'ils constituent (hydrogène, électrostatique, hydrophobe et disulfure) (**Abbou et al., 2019**). La dénaturation des protéines tissulaires conduise à la production d'auto-antigènes, l'un des causes principales des maladies

inflammatoires et arthritiques (Wang *et al.*, 2014b; Vidhyalakshmi *et al.*, 2016). Il a été noté que les EPS obtenu à partir de diverses sources ayant une activité anti-inflammatoire ont une forte demande dans l'industrie médicale (Srikanth *et al.*, 2015).

Nous nous sommes intéressés à examiner l'activité anti-inflammatoire des EPS des trois souches par un test anti-inflammatoire *in vitro* réalisé à l'aide de la méthode de dénaturation des protéines (BSA). Les résultats de l'inhibition de la dénaturation par l'EPS ont été résumés dans la figure 10. Les EPS ont montré une activité inhibitrice entre 31.43% et 51.43%. Le diclofénac sodique, le médicament standard utilisé pour le test a montré un effet inhibiteur de 47.14% à une concentration de 100µg/ml. Ainsi que l'EPS de la souche K2 a montré une meilleure inhibition de la BSA avec un pourcentage de 51,43% à la même concentration, suivi par l'EPS de la souche S10 avec un pourcentage d'inhibition de 37.14% et enfin l'EPS de la souche N5 avec un faible pourcentage d'inhibition de 31.43%.



**Figure 10 :** Inhibition de la dénaturation de l'albumine par les EPS.

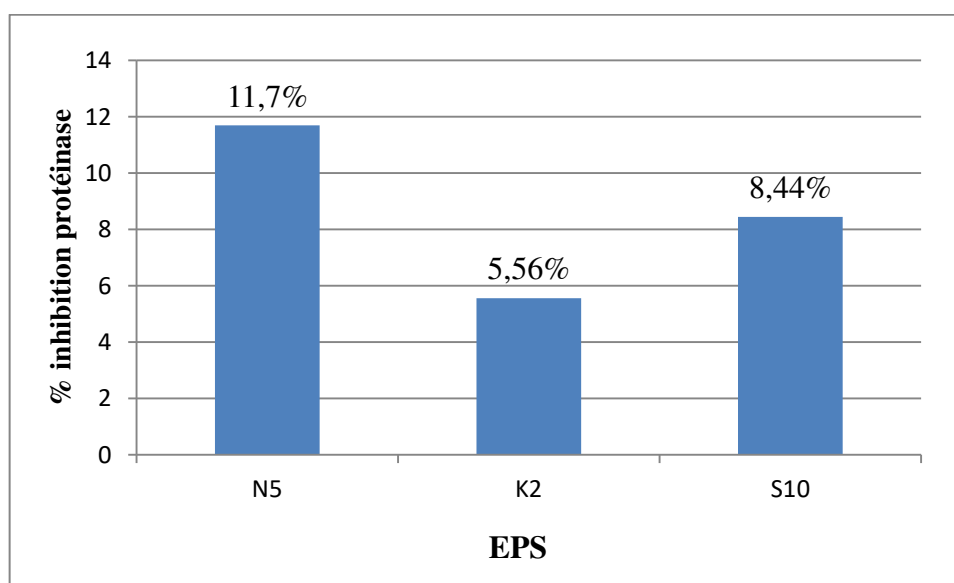
Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Jain et Mehta (2017) qui ont trouvé que *Enterococcus faecium* BM10 a montré une inhibition de la dénaturation des protéines de 49,58% à la concentration de 100µg/ml et *Lb. casei* GM10 a montré une inhibition de 51,34% avec la même concentration, sachant que le médicament a montré un pourcentage de 90,11%. De même, Pereira *et al.* (2021) ont rapporté que *Saccharomyces cerevisiae* DABRP5 et *Saccharomyces boulardii* ont montré une inhibition de 60,39% et 62,95%, respectivement. Vidyalakchmi *et al.* (2016) trouvent que l'EPS de *Bacillus circulans* a montré une inhibition de 93 % contre la dénaturation de l'albumine à 1000 µg/ml.

Il a été rapporté que la dénaturation des protéines augmente la viscosité du milieu, de sorte que l'effet inhibiteur de la dénaturation de la BSA peut être soutenu par le changement de viscosité. D'autre côté, l'analyse RMN de BSA a montré que ce dernier contenait deux sites actifs contenant la thréonine, lysine et tyrosine auxquels les molécules bioactives pouvaient se lier pour activer et réguler la transduction du signal (**Chandra *et al.*, 2012**). L'effet pourrait également être dû à la liaison des molécules bioactives aux protéines plasmatiques et ainsi les protéger de toute agression (**Duganath *et al.*, 2010 ; Abbou *et al.*, 2019**). D'après toutes ces données on peut conclure que l'activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine dépend de la concentration, la composition et la nature des EPS.

### 3.2.2. Inhibition de la protéinase

Il a été rapporté que pendant la période de la réaction inflammatoire, les protéinases leucocytaires sont très importantes dans le développement des lésions tissulaires et des inhibiteurs de la protéinase assureraient une réduction de ces lésions et serait donc considéré comme un anti-inflammatoire (**Leelaprakash et Dass, 2011 ; Abbou *et al.*, 2019**).

Les résultats de l'activité anti-protéinase pour des EPS sont résumés dans la figure 11. Les EPS ont montré une activité anti-protéinase entre 5.56% et 11.4%. L'activité anti-protéinase trouvée avec l'EPS de la souche N5 avec un pourcentage de 11.4% a été était la plus forte par rapport à celle de la souche S10 avec un pourcentage de 8.44% et la souche K2 avec un pourcentage de 5.56%.



**Figure 11 :** Activité anti-protéinase des EPS.



Cet effet peut s'expliquer par le fait que les polysaccharides des souches entrent en compétition avec la caséine en se liant aux sites actifs de la trypsine, et la différence observée entre les EPS des trois souches pourrait être due à la différence d'affinité de leurs composés pour les sites actifs (**Abbou *et al.*, 2019**).

### 3.3. Activité antidiabétique

L'acarbose est un médicament actuellement utilisé dans le traitement du diabète pour réduire l'augmentation de la glycémie après un repas et qui est un inhibiteur connu de l' $\alpha$ -amylase. Il est donc utilisé comme standard pour vérifier la propriété antidiabétique de l'EPS des trois souches étudiées. Les EPS des trois souches ne présentent aucun effet inhibiteur contre l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, tandis que l'effet inhibiteur du l'acarbose était de 11.15%. Nos résultats ont été différents de ceux obtenus par **Dilna *et al.* (2015)** qui ont trouvé que l'EPS de *Lb. plantarum* RJF4 possède une inhibition de 25% à une concentration de 100 $\mu$ g/ml. Nous pouvons conclure que nos échantillons n'ont pas d'activité antidiabétique ou bien que la concentration utilisée n'est pas suffisantes.

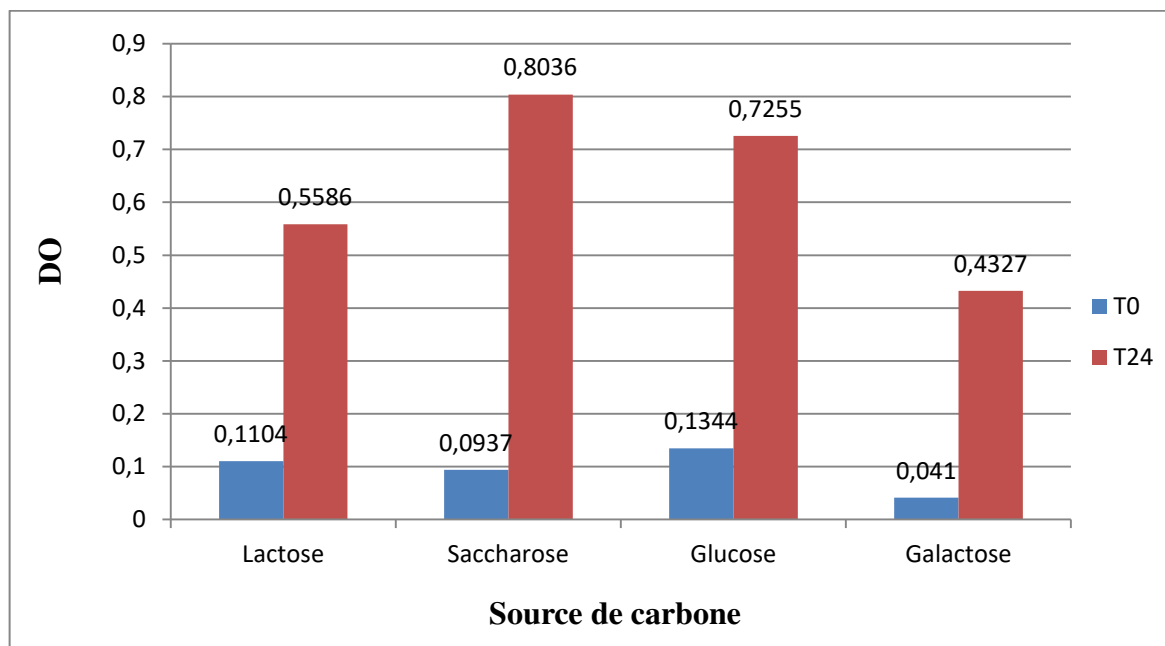
## 4. Optimisation de la production des EPS

La souche K2 a été sélectionnée sur la base des résultats obtenu dans le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, où les EPS produit par cette souche étant donnés la meilleure activité.

On a essayé de vérifier l'effet de la source de carbone et la période d'incubation sur la production des EPS à partir de la souche K2.

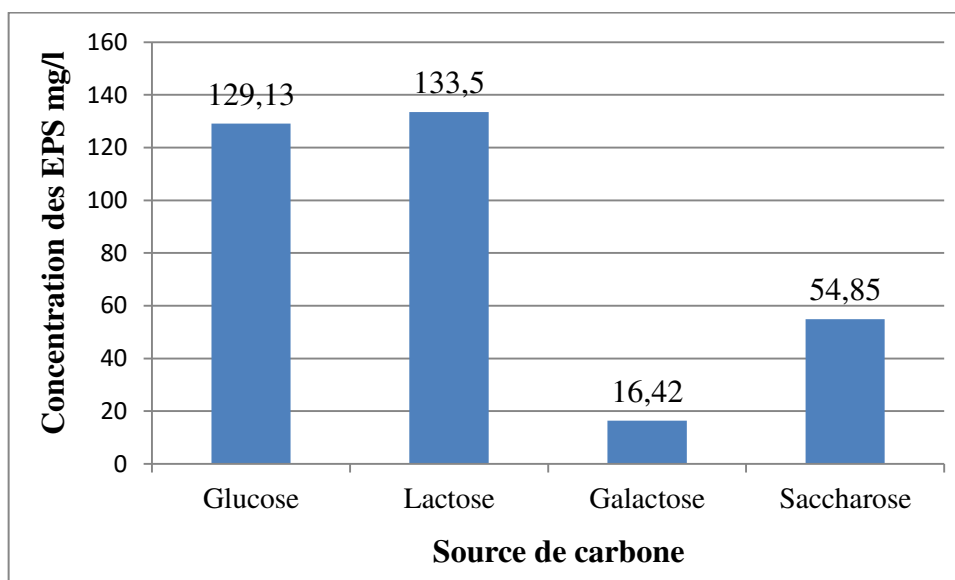
### 4.1. Effet de la source de carbone

Les résultats de la croissance de la souche K2 et la production des polymères en changeant la source de carbone sont présentés dans les figures 12 et 13 respectivement. D'après la figure 12 la souche K2 a montré une meilleure croissance sur le milieu contenant le saccharose comme source de carbone. Les valeurs de la DO a augmenté de 0.11 à 0.55 après 24h d'incubation dans le milieu MRS modifié additionné de 20g/l de lactose, de 0.09 à 0.8 lorsque le saccharose a été ajouté au milieu, de 0.13 à 0.72 lorsqu'on a ajouté du glucose au milieu et de 0.04 à 0.43 lorsque le galactose a été ajouté au milieu.



**Figure 12 :** Croissance de la souche K2 en présence de différentes sources de carbone.

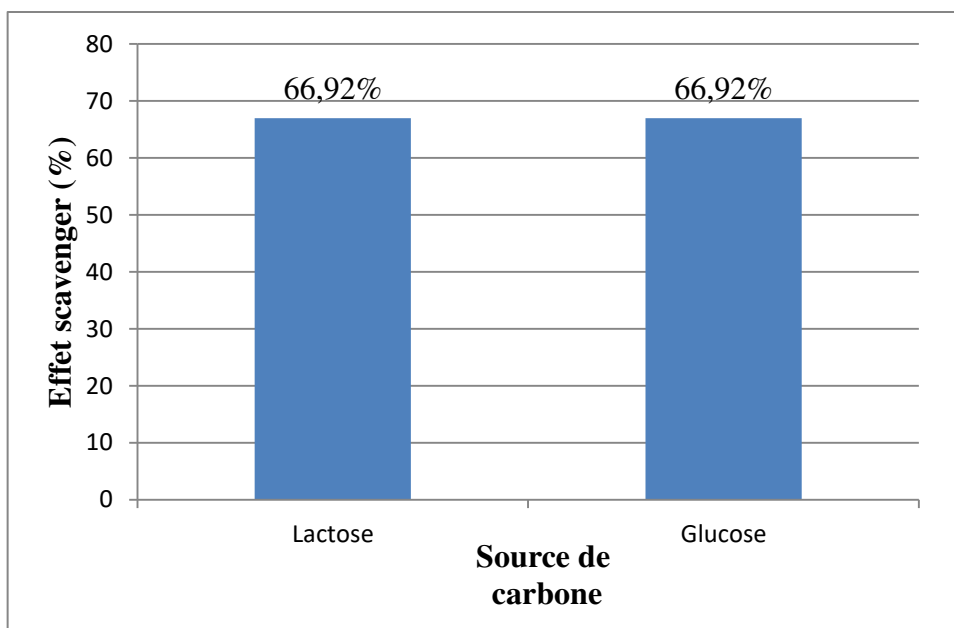
La figure 13 montre que la source de carbone a également influencé la production de l'EPS. Le lactose, le glucose et le saccharose ont permis à la souche de produire des quantités maximales d'EPS de 133.5, 129.13 et 54.85mg/l, respectivement, cependant, lorsque le galactose était utilisé comme source de carbone la production d'EPS a considérablement diminué (16,42mg/l). Il est à noter que malgré que le lactose a donné une croissance modérée, il a montré la meilleure production d'EPS (133.5mg/l d'EPS).



**Figure 13 :** Concentration d'EPS produite par K2 en présence de différentes sources de carbones.

Nos résultats sont en accord avec les résultats trouvés par **Tallon et al. (2003)**, ils ont montré que le lactose a été la mauvaise source de carbone pour la croissance de la souche *Lb. plantarum* EP56 mais il a entraîné la meilleure production d'EPS 140.2mg/l. **Tsuda et al. (2019)** ont rapporté que la production des EPS par *Lb. buchneri* GM3701 et *Lb. plantarum* RB-3 était de 216 et de 79,0 mg/l, respectivement, lorsqu'ils ont été incubés dans un milieu contenant du glucose.

Pour mettre en évidence l'effet du changement de la source de carbone sur l'activité antioxydante, le test DPPH a été réalisé. Comme le montre la figure 14, la capacité de piégeage de l'EPS a été observée à 66.92% pour le glucose et le lactose. Ces résultats sont en contradiction avec les résultats de **Cheng et al. (2019)** qui ont rapporté que l'activité de piégeage des radicaux DPPH des EPS produits par *Lb. plantarum* LPC-1 avec du saccharose comme source de carbone était significativement plus importante que les autres sucres, ce qui est peut-être dû à la composition des EPS (**Wan et al. 2011**).

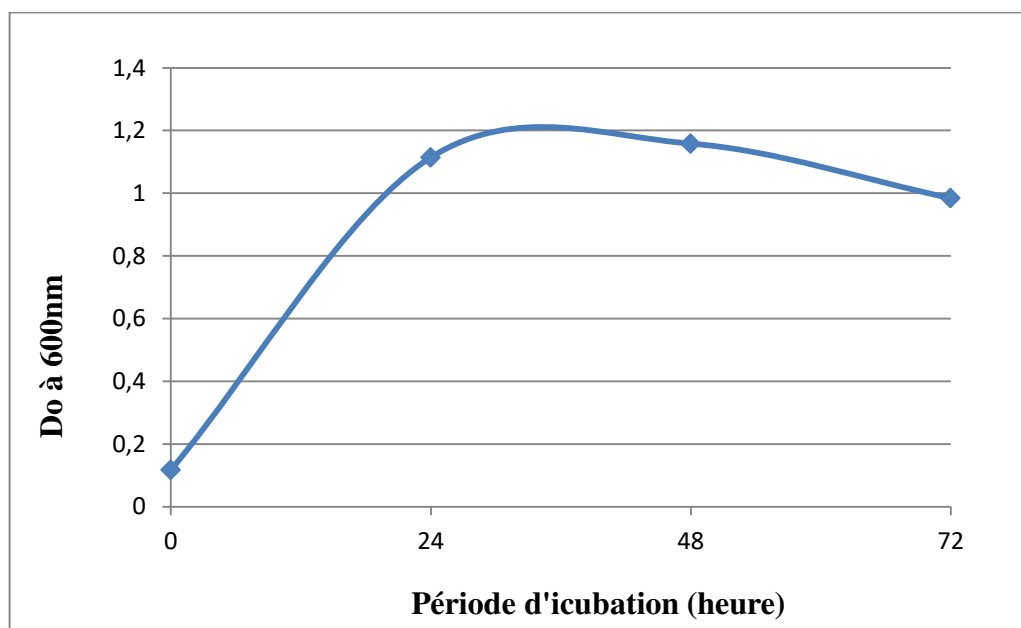


**Figure 14 :** Capacité de piégeage des radicaux libres DPPH en fonction de changement de la source de carbone.

#### 4.2. Effet de la durée d'incubation

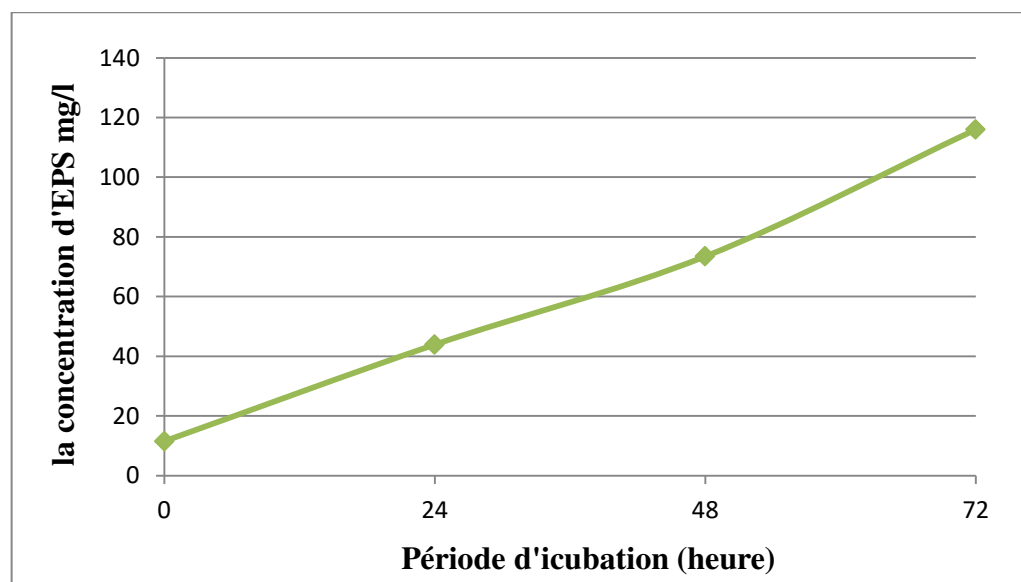
Les résultats de la croissance et la production de polymères au cours du temps sont présentés dans les figures 15 et 16, respectivement. D'après la figure 15, la croissance de la souche K2 en fonction du temps exprimé par la densité optique (DO) a augmenté d'une façon

exponentielle dans les premières 24h jusqu'à 1.11, puis elle a ralenti (1.15) dans le deuxième jour et après trois jours d'incubation on a remarqué une petite diminution (DO=0.98).



**Figure 15 :** Croissance cellulaire de la souche K2 en fonction du temps.

La figure 16 montre que le taux des EPS produits par la souche K2 a augmenté au cours du temps de  $t_{24}$  (43.93mg/l),  $t_{48}$  (73.47mg/l) à  $t_{72}$  (115.97mg/l).



**Figure 16 :** Concentration des EPS produits par la souche K2 en fonction du temps.

Les résultats obtenus à partir du présent travail sont cohérents avec les études similaires menées précédemment. Il a été rapporté que *Bacillus subtilis* a produit des polysaccharide (1,58mg/100ml) après 72 h (Vijayabaskar *et al.*, 2011). Razack *et al.* (2013) ont montré que

le rendement en EPS produit par *B. subtilis* variait entre 3,51 et 5,56 g/l. La productivité maximale (5.56g/l) a été atteinte après 72h d'incubation.

# *Conclusion*

## Conclusion

---

La recherche de bactéries productrices d'EPS est devenue indispensable. Les souches testées dans notre étude sont capables de produire des EPS avec des concentrations acceptables. La souche *Lactiplantibacillus plantarum* S10 a donné une meilleure production avec 139,96mg/l, suivi par *Lactiplantibacillus* sp. K2 avec 138.81mg/l et *Lactiplantibacillus* sp. N5 avec 137.71mg/l.

Les résultats obtenus ont montré que l'EPS de *Lactiplantibacillus plantarum* S10 montre la meilleure activité antioxydante, l'EPS de *Lactiplantibacillus* sp. K2 a montré la meilleure activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine, alors que l'EPS de *Lactiplantibacillus* sp. N5 a montré la meilleure activité anti-protéinase. Les EPS des trois souches ne montrent aucune activité antidiabétique.

La souche *Lactiplantibacillus* sp. K2 a été choisie pour tester l'effet de la source de carbone et la durée d'incubation sur la production des EPS. Les résultats ont montré que la meilleure source de carbone pour la production de l'EPS de la souche étudiée est le lactose et la période de trois jours représente le temps idéal pour la production d'une quantité maximale des EPS.

Les résultats de notre recherche permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives pour compléter ce travail, ainsi nous proposons, une optimisation de tous les paramètres qui peuvent affecter la production des EPS, une identification de la composition de ces EPS et une évaluation *in vivo* des activités antioxydantes et anti-inflammatoire des exopolysaccharides.

# *Références*



*A*

**Abbou, A., Kadri, N., Debbache, N., Dairi, S., Remini, H., Dahmoune, F., ... & Madani, K.** (2019). Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinus halepensis* Mill. seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, *141*, 663-670.

**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.

**Ahire, J. J., Jakkamsetty, C., Kashikar, M. S., Lakshmi, S. G., & Madempudi, R. S.** (2021). In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* UBLP40 Isolated from Traditional Indigenous Fermented Food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-12, <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09775-7>.

**Alnakip, M. E., Mohamed, A. S., Kamal, R. M., & Elbadry, S.** (2016). Diversity of lactic acid bacteria isolated from raw milk in Elsharkia province, Egypt. *Japanese Journal of Veterinary Research*, *64*(2), 23-30.

**Aragon-Alegro, L. C., Lima, E. M. F., Palcich, G., Nunes, T. P., de Souza, K. L. O., Martins, C. G., Noda, P. K., Destro, M. T., & Pinto, U. M.** (2021). *Listeria monocytogenes* inhibition by lactic acid bacteria and coliforms in Brazilian fresh white cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, *52*(2), 847-858.

*B*

**Badel, S., Bernardi, T., & Michaud, P.** (2011). New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, *29*(1), 54-66.

**Baruah, R., Das, D., & Goyal, A.** (2016). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria: current trends and applications. *Journal of Probiotics & Health*, *4*(141), 2, <http://dx.doi.org/10.4172/2329-8901.1000141>.

**Bertsch, A., Roy, D., & LaPointe, G.** (2019). Enhanced exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Sciences*, *9*(19), 4026.

**Boumhandi, N.** (2021). Exopolysaccharides from marine bacteria: An overview. *Moroccan Journal of Agricultural Sciences*, *2*(2), 83-105.

**Bhavani, A. L., & Nisha, J.** (2010). Dextran—the polysaccharide with versatile uses. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4), 569-573.

**Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C.** (2020). Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>

### T

**Castro, V. M. R., da Mota Silva, M., de Souza, E. R. P., Guerra, A. F., Riger, C. J., Laureano-Melo, R., & Luchese, R. H.** (2021). Role of milk and honey in the tolerance of lactobacilli to oxidative stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 883-893.

**Cerning, J.** (1990). Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1-2), 113-130.

**Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S.** (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178-S180.

**Chen, J., Zhang, A., Xiang, Z., Lu, M., Huang, P., Gong, T., ... & Li, Y.** (2021). EpsR Negatively Regulates *Streptococcus mutans* Exopolysaccharide Synthesis. *Journal of Dental Research*, <https://doi.org/10.1177/00220345211000668>.

**Cheng, R., Cheng, L., Zhao, Y., Wang, L., Wang, S., & Zhang, J.** (2021). Biosynthesis and prebiotic activity of a linear levan from a new *Paenibacillus* isolate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(2), 769-787.

**Cheng, X., Huang, L., & Li, K. T.** (2019). Antioxidant activity changes of exopolysaccharides with different carbon sources from *Lactobacillus plantarum* LPC-1 and its metabolomic analysis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 1-13.

**Cui, Y., Jiang, X., Hao, M., Qu, X., & Hu, T.** (2017). New advances in exopolysaccharides production of *Streptococcus thermophilus*. *Archives of Microbiology*, 199(6), 799-809.

### D

**Daba, G. M., Elnahas, M. O., & Elkhateeb, W. A.** (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173 (2021), 79–89.

- Da Silva, D. P., Matwichuk, M. L., Townsend, D. O., Reichhardt, C., Lamba, D., Wozniak, D. J., & Parsek, M. R.** (2019). The *Pseudomonas aeruginosa* lectin LecB binds to the exopolysaccharide Psl and stabilizes the biofilm matrix. *Nature Communications*, *10*(1), 1-11.
- Deepak, V., Ram Kumar Pandian, S., Sivasubramaniam, S. D., Nellaiah, H., & Sundar, K.** (2016). Optimization of anticancer exopolysaccharide production from probiotic *Lactobacillus acidophilus* by response surface methodology. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, *46*(3), 288-297.
- De Vuyst, L., & Degeest, B.** (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, *23*(2), 153-177.
- Dilna, S. V., Surya, H., Aswathy, R. G., Varsha, K. K., Sakthikumar, D. N., Pandey, A., & Nampoothiri, K. M.** (2015). Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. *LWT-Food Science and Technology*, *64*(2), 1179-1186.
- Dinçer, E., & Kıvanç, M.** (2018). Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish pastırma. *Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology*, *7*(1), 12-19.
- Duar, R. M., Lin, X. B., Zheng, J., Martino, M. E., Grenier, T., Pérez-Muñoz, M. E., Leulier, F., Gänzle, M., & Walter, J.** (2017). Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Reviews*, *41*(1), 27-48.
- Duganath, N., Kumar, S. R., Kumanan, R., & Jayaveera, K. N.** (2010). Activity of traditionally used medicinal plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, *1*(2), 1-7.

£

- Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., de las Rivas, B., & Muñoz, R.** (2015). Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. *LWT-Food Science and Technology*, *60*(1), 246-252.

F

- Flik, E. A., Tyaglivaya, I. N., & Zhukova, I. Y.** (2021). Safe Technologies in the Oil Industry: Opportunities and Prospects for the Use of Polysaccharide Structure-Forming Agents in Drilling Fluids. *Earth and Environmental Science*, *666*(2), doi:10.1088/1755-1315/666/2/022062.



**Gargouch, N., Elleuch, F., Karkouch, I., Tabbene, O., Pichon, C., Gardarin, C., Rihouey, C., Picton, L., Abdelkafi, S., Fendri, I., & Laroche, C.** (2021). Potential of Exopolysaccharide from *Porphyridium marinum* to Contend with Bacterial Proliferation, Biofilm Formation, and Breast Cancer. *Marine Drugs*, *19*(2), <https://doi.org/10.3390/md19020066>.

**Gentès, M. C., St-Gelais, D., & Turgeon, S. L.** (2011). Gel formation and rheological properties of fermented milk with in situ exopolysaccharide production by lactic acid bacteria. *Dairy Science & Technology*, *91*(5), 645-661.

**Germond, J. E., Delley, M., D'Amico, N., & Vincent, S. J.** (2001). Heterologous expression and characterization of the exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus* Sfi39. *European Journal of Biochemistry*, *268*(19), 5149-5156.

**Gómez, N. C., Ramiro, J. M., Quecan, B. X., & de Melo Franco, B. D.** (2016). Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157: H7 biofilms formation. *Frontiers Microbiology*, *7*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00863>.

**Górska-Fraćzek, S., Sandström, C., Kenne, L., Paściak, M., Brzozowska, E., Strus, M., Heczko, P., & Gamian, A.** (2013). The structure and immunoreactivity of exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus johnsonii* strain 151. *Carbohydrate Research*, *378*, 148-153.

**Gotoh, Y., Maruo, T., Tanaka, K., Ohashi, S., Yoshida, K. I., & Suzuki, T.** (2021). Loss of the intrinsic plasmid-encoded eps genes in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC grown at elevated temperature abolishes exopolysaccharide biosynthesis. *Food Science and Technology Research*, *27*(2), 241-248.

**Grobben, G. J., Chin-Joe, I., Kitzen, V. A., Boels, I. C., Boer, F., Sikkema, J., ... & de Bont, J. A.** (1998). Enhancement of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 with a simplified defined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(4), 1333-1337.



**Han, K. I., Jung, E. G., Kwon, H. J., Patnaik, B. B., Baliarsingh, S., Kim, W. J., ... & Kang, S. W.** (2021). Gene expression analysis of inflammation-related genes in macrophages treated with  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 6)-D-glucan extracted from *Streptococcus mutans*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *166*, 45-53.

**Henry, D. E., Halami, P. M., & Prapulla, S. G. (2021).** *Lactobacillus plantarum* mcc2034, a novel isolate from traditional Indian lactic fermented preparation: molecular identification and evaluation of its in vitro probiotic potential. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 328-331.

**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.

**Hsu, T. H., Lee, C. H., Lin, F. Y., Wasser, S. P., & Lo, H. C. (2014).** The fruiting bodies, submerged culture biomass, and acidic polysaccharide glucuronoxylomannan of yellow brain mushroom *Tremella mesenterica* modulate the immunity of peripheral blood leukocytes and splenocytes in rats with impaired glucose tolerance. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4(1), 56-63.

**Hu, Y., & Gänzle, M. G. (2018).** Effect of temperature on production of oligosaccharides and dextran by *Weissella cibaria* 10 M. *International Journal of Food Microbiology*, 280, 27-34.

**Huang, Z., Lin, F., Zhu, X., Zhang, C., Jiang, M., & Lu, Z. (2020).** An exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* H31 in pickled cabbage inhibits pancreas  $\alpha$ -amylase and regulating metabolic markers in HepG2 cells by AMPK/PI3K/Akt pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 775-784.

**Hundscheil, C. S., Jakob, F., & Wagemans, A. M. (2020).** Molecular weight dependent structure of the exopolysaccharide levan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 398-405.

### J

**Ikhaddalene, S., Zibouche, F., Ponton, A., Irekti, A., & Carn, F. (2021).** Synthesis and Rheological Properties of Magnetic Chitosan Hydrogel. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 65(3), 378-388.

**Ismail, B., & Nampoothiri, K. M. (2010).** Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of Microbiology*, 192(12), 1049-1057.

### L

**Jain, N. E. H. A., & Mehta, A. R. C. H. A. N. A. (2017).** The unexplored roles of probiotic Bacteria: In vitro anti-inflammatory and anthelmintic activity of *Enterococcus faecium* Bm10

KY788342 and *Lactobacillus casei* GM10 KY794586. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(9), 117-119.

**Jiang, B., Wang, L., Zhu, M., Wu, S., Wang, X., Li, D., ... & Tian, B.** (2021). Separation, structural characteristics and biological activity of lactic acid bacteria exopolysaccharides separated by aqueous two-phase system. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 147, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111617>.

**Juwana, A., Seno, B. A., & Hartayanie, L.** (2020). Identification of probiotic potential *Lactobacillus* from Mandai using molecular technique. *Digital Press Life Sciences*, 2, <https://doi.org/10.29037/digitalpress.22324>.

*K*

**Kalita, D., & Joshi, S. R.** (2017). Study on bioremediation of Lead by exopolysaccharide producing metallophilic bacterium isolated from extreme habitat. *Biotechnology Reports*, 16, 48-57.

**Kansandee, W., Moonmangmee, D., Moonmangmee, S., & Itsaranuwat, P.** (2019). Characterization and *Bifidobacterium sp.* growth stimulation of exopolysaccharide produced by *Enterococcus faecalis* EJRM152 isolated from human breast milk. *Carbohydrate Polymers*, 206, 102-109.

**Karadeniz, D. G., Kaskatepe, B., Kiymaci, M. E., Tok, K. C., Gumustas, M., & Karaaslan, C.** (2021). Microbial exopolysaccharide production of *Streptococcus thermophilus* and its anti-quorum sensing activity. *Archives of Microbiology*, <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02313-7>.

**Kazeem, M. I., & Davies, T. C.** (2016). Anti-diabetic functional foods as sources of insulin secreting, insulin sensitizing and insulin mimetic agents. *Journal of Functional Foods*, 20, 122-138.

**Kim, Y., & Kim, S. H.** (2009). Released exopolysaccharide (r-EPS) produced from probiotic bacteria reduce biofilm formation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 379(2), 324-329.

**Koirala, P., Maina, N. H., Nihtilä, H., Katina, K., & Coda, R.** (2021). Brewers' spent grain as substrate for dextran biosynthesis by *Leuconostoc pseudomesenteroides* DSM20193 and *Weissella confusa* A16. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1-13.

**Konieczna, C., Słodziński, M., & Schmidt, M. T.** (2018). Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus rhamnosus* KL 53A and *Lactobacillus casei* Fyos affect their adhesion to enterocytes. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3), 273–281.

**Korcz, E., Kerényi, Z., & Varga, L.** (2018). Dietary fibers, prebiotics, and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: potential health benefits with special regard to cholesterol-lowering effects. *Food & Function*, 9(6), 3057-3068.

**Krishnaswamy, U. R., Lakshmanaperumalsamy, P., & Achlesh, D.** (2021). Microbial Exopolysaccharides as Biosurfactants in Environmental and Industrial Applications. *Advances in the Domain of Environmental Biotechnology*, [https://doi.org/10.1007/978-981-15-8999-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-15-8999-7_4).

**Kuppanan, N., Jeyaseelan, P., Chahar, S., Das, S., Channashettar, V., & Lal, B.** (2021). Bio-fermentative Production of Xanthan Gum Biopolymer and Its Application in Petroleum Sector. In *Microbial Polymers*, [https://doi.org/10.1007/978-981-16-0045-6\\_26](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0045-6_26).

### L

**Le, T. S., Nguyen, P. T., Nguyen-Ho, S. H., Nguyen, T. P., Nguyen, T. T., Thai, M. N., ... & Huu-Thanh, N. G. U. Y. E. N.** (2021). Transcriptional regulation of exopolysaccharide-related genes in *Lactiplantibacillus plantarum* VAL6 under environmental stresses. *Research Square*, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-459865/v1>.

**Lee, J., Hwang, K. T., Chung, M. Y., Cho, D. H., & Park, C. S.** (2005). Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): role for a metal ion chelating effect. *Journal of Food Science*, 70(8), 388-391.

**Lee, S. J., Rim, H. K., Jung, J. Y., An, H. J., Shin, J. S., Cho, C. W., ... & Lee, K. T.** (2013). Immunostimulatory activity of polysaccharides from Cheonggukjang. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 476-484.

**Leelaprakash, G., & Dass, S. M.** (2011). Invitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(3), 189-196.

**Leent, V. M. M., Beldman, T. J., Toner, Y. C., Lameijer, M. A., Rother, N., Bekkering, S., ... & Duivenvoorden, R.** (2021). Prosaposin mediates inflammation in atherosclerosis. *Science Translational Medicine*, 13(584), DOI: 10.1126/scitranslmed.abe1433.

**Li, B., Du, P., Smith, E. E., Wang, S., Jiao, Y., Guo, L., ... & Liu, F.** (2019). In vitro and in vivo evaluation of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* KLDS1. 8701 for the alleviative effect on oxidative stress. *Food and Function*, 10(3), 1707-1717.

- Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., & Dong, M.** (2014). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Polymers*, *102*, 351-359.
- Li, W., Mutuvulla, M., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M.** (2012). Isolation and identification of high viscosity-producing lactic acid bacteria from a traditional fermented milk in Xinjiang and its role in fermentation process. *European Food Research and Technology*, *235*(3), 497-505.
- Li, W., Xia, X., Tang, W., Ji, J., Rui, X., Chen, X., ... & Dong, M.** (2015). Structural characterization and anticancer activity of cell-bound exopolysaccharide from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(13), 3454-3463.
- Liu, Z., Zhang, Z., Qiu, L., Zhang, F., Xu, X., Wei, H., & Tao, X.** (2017). Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *Journal of Dairy Science*, *100*(9), 6895-6905.
- Luc, K., Schramm-Luc, A., Guzik, T. J., & Mikolajczyk, T. P.** (2019). Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *70*(6), 809-824.
- M*
- Malesevic, M., Stanisavljevic, N., Miljkovic, M., Jovicic, B., Filipic, B., Studholme, D. J., & Kojic, M.** (2021). The large plasmidome of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* S50 confers its biotechnological properties. *International Journal of Food Microbiology*, *337*, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108935>.
- Marcial, G., Villena, J., Faller, G., Hensel, A., & de Valdéz, G.** (2017). Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* CRL1190 reduces the inflammatory response caused by *Helicobacter pylori*. *Beneficial Microbes*, *8*(3), 451-461.
- Marinova, G., & Batchvarov, V.** (2011). Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, *17*(1), 11-24.
- Mayer, M. J., D'Amato, A., Colquhoun, I. J., Le Gall, G., & Narbad, A.** (2020). Identification of genes required for glucan exopolysaccharide production in *Lactobacillus johnsonii* suggests a novel biosynthesis mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*, *86*(8), <https://doi.org/10.1128/AEM.02808-19>.



- Midik, F., Tokath, M., Elmacı, S. B., & Özçelik, F.** (2020). Influence of different culture conditions on exopolysaccharide production by indigenous lactic acid bacteria isolated from pickles. *Archives of Microbiology*, 202(4), 875-885.
- Min, W. H., Fang, X. B., Wu, T., Fang, L., Liu, C. L., & Wang, J.** (2019). Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(6), 758-766.
- Mobarak, N. N., Jaafar, S. N. S., & Mohamed, M. A.** (2021). Patents on Polysaccharide Applications. *Polysaccharides: Properties and Applications*, <https://doi.org/10.1002/9781119711414.ch28>.
- Monsan, P., Bozonnet, S., Albenne, C., Joucla, G., Willemot, R. M., & Remaud-Siméon, M.** (2001). Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 675-685.
- Mostefaoui, A., Hakem, A., Yabrir, B., Boutaiba, S., & Badis, A.** (2014). Screening for exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian raw camel milk. *African Journal of Microbiology Research*, 8(22), 2208-2214.
- Muñoz-Garcia, J., Mazza, M., Alliot, C., Sinquin, C., Collic-Jouault, S., Heymann, D., & Huclier-Markai, S.** (2021). Antiproliferative properties of scandium exopolysaccharide complexes on several cancer cell lines. *Marine Drugs*, 19(3), <https://doi.org/10.3390/md19030174>.



- Nambiar, R. B., Sellamuthu, P. S., Perumal, A. B., Sadiku, E. R., Phiri, G., & Jayaramudu, J.** (2018). Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* HM47 isolated from human breast milk. *Process Biochemistry*, 73, 15-22.
- Nehad, E. A., & El-Shamy, A. R.** (2010). Physiological studies on the production of exopolysaccharide by fungi. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(6), 1303-1308.
- Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., & Faye, B.** (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*Annona reticulata* (Annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 14, 179-186.
- N'tcha, C., Haziz, S., Agbobatinkpo, P., Vieira-Dalodé, G., Boya, B., Codjia, J. C., Kayodé, P., Baba-Moussa, L., & Baba-Moussa, L.** (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from a beninese traditional beer's ferment. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 7(2), 314-330.



**Oleńska, E., Malek, W., Kotowska, U., Wydrych, J., Polińska, W., Swiecicka, I., ... & Vangronsveld, J.** (2021). Exopolysaccharide carbohydrate structure and biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii* strains inhabiting nodules of *Trifolium repens* growing on an old Zn–Pb–Cd-polluted waste heap area. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), <https://doi.org/10.3390/ijms22062808>.



**Patel, A., & Prajapat, J. B.** (2013). Food and health applications of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Advances in Dairy Research*, 1(2), 1-8.

**Panda, R., Das, M., & Nayak, S. K.** (2020). Estimation and optimization of exopolysaccharide production from rice rhizospheric soil and its interaction with soil carbon pools. *Rhizosphere*, 14, <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100206>.

**Pereira, R. P., Jadhav, R., Baghela, A., & Barretto, D. A.** (2021). In Vitro Assessment of Probiotic Potential of *Saccharomyces Cerevisiae* DABRP5 Isolated from Bollo Batter, a Traditional Goan Fermented Food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09734-8>.

**Pham, P. L., Dupont, I., Roy, D., Lapointe, G., & Cerning, J.** (2000). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2302-2310.

**Prihanto, A. A., Darius ., & Firdaus, M.** (2013). Proteolytic and fibrinolytic activities of halophilic lactic acid bacteria from two Indonesian fermented foods. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 2291-2293.



**Qiao, D., Ke, C., Hu, B., Luo, J., Ye, H., Sun, Y., Yan, X., & Zeng, X.** (2009). Antioxidant activities of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*. *Carbohydrate Polymers*, 78(2), 199-204.



**Rana, S., & Upadhyay, L. S. B.** (2020). Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, 577-583.

- Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D., & Dhulster, P.** (2018). Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*, 9, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.
- Razack, S. A., Velayutham, V., & Thangavelu, V.** (2013). Influence of various parameters on exopolysaccharide production from *Bacillus subtilis*. *International Journal of ChemTech Research*, 5(5), 2221-2228.
- Rendueles, O., Kaplan, J. B., & Ghigo, J. M.** (2013). Antibiofilm polysaccharides. *Environmental Microbiology*, 15(2), 334-346.
- Ruas-Madiedo, P., & De Los Reyes-Gavilán, C. G.** (2005). Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 843-856.
- Russo, R., Valletta, M., Rega, C., Marasco, R., Muscariello, L., Pedone, P. V., ... & Chambery, A.** (2019). Reliable identification of lactic acid bacteria by targeted and untargeted high-resolution tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 285, 111-118.



- Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., & Gargari, B. P.** (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 217, 79-89.
- Saber, A., Alipour, B., Faghfoori, Z., & Yari Khosroushahi, A.** (2017). Cellular and molecular effects of yeast probiotics on cancer. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(1), 96-115.
- Sanalibaba, P., & Çakmak, G. A.** (2016). Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria. *Applied Microbiology*, 2, <http://dx.doi.org/10.4172/2471-9315.1000115>.
- Sánchez, J. I., Martínez, B., Guillén, R., Jiménez-Díaz, R., & Rodríguez, A.** (2006). Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7495-7502.
- Sarwat, F., Qader, S. A. U., Aman, A., & Ahmed, N.** (2008). Production & characterization of a unique dextran from an indigenous *Leuconostoc mesenteroides* CMG713. *International Journal of Biological Sciences*, 4(6), 379-386.
- Savadogo, A., Ouattara, C. A., Savadogo, P. W., Barro, N., Ouattara, A. S., & Traoré, A. S.** (2004). Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples. *African Journal of Biotechnology*, 3(3), 189-194.

- Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P.** (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *71*(4), 394-406.
- Shu, C. H., & Lung, M. Y.** (2004). Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorata* in batch cultures. *Process Biochemistry*, *39*(8), 931-937.
- Song, Y., Sun, M., Feng, L., Liang, X., Song, X., Mu, G., ... & Qian, F.** (2020). Antibiofilm activity of *Lactobacillus plantarum* 12 exopolysaccharides against *Shigella flexneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, *86*(15), <https://doi.org/10.1128/AEM.00694-20>.
- Srikanth, R., Siddartha, G., Reddy, C. H. S., Harish, B. S., Ramaiah, M. J., & Uppuluri, K. B.** (2015). Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. *Carbohydrate Polymers*, *123*, 8-16.
- Stingele, F., Neeser, J. R., & Mollet, B.** (1996). Identification and characterization of the eps (exopolysaccharide) gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *Journal of Bacteriology*, *178*(6), 1680-1690.
- Surber, G., Spiegel, T., Dang, B. P., Pombo, A. W., Rohm, H., & Jaros, D.** (2021). Cream cheese made with exopolysaccharide-producing *Lactococcus lactis*: Impact of strain and curd homogenization pressure on texture and syneresis. *Journal of Food Engineering*, *308*, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110664>.

*J*

- Tallon, R., Bressollier, P., & Urdaci, M. C.** (2003). Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology*, *154*(10), 705-712.
- Tat, T. Q., & Khanh, N. D.** (2021). Isolation, identification and investigation some biochemical properties of lactic acid bacteria from “Mam sac chua” and “Com me” in Tien Giang province. *Engineering and Technology*, *11*(1), 11-20.
- Taylan, O., Yilmaz, M. T., & Dertli, E.** (2019). Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing immunostimulatory and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *136*, 436-444.
- Teng, H., Chen, L., Fang, T., Yuan, B., & Lin, Q.** (2017). Rb2 inhibits  $\alpha$ -glucosidase and regulates glucose metabolism by activating AMPK pathways in HepG2 cells. *Journal of Functional Foods*, *28*, 306-313.

**Teneva-Angelova, T., & Beshkova, D.** (2021). Genus salvia–ecosystem for isolation of lactic acid bacteria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 103-108, DOI:10.15414/jmbfs.2015.5.2.

**Thamacharoensuk, T., Taweechotipatr, M., Kajikawa, A., Okada, S., & Tanasupawat, S.** (2017). Induction of cellular immunity interleukin-12, antiproliferative effect, and related probiotic properties of lactic acid bacteria isolated in Thailand. *Annals of Microbiology*, 67(8), 511-518.

**Tsuda, H., Okuda, S., Haraguchi, T., & Kodama, K.** (2019). Influence of exopolysaccharide on the growth of lactic acid bacteria. *Italian Journal of Food Science*, 31(2), <https://doi.org/10.14674/IJFS-1317>.

U

**Ullah, M. W., Ul-Islam, M., Khan, T., & Park, J. K.** (2021). Recent developments in the synthesis, properties, and applications of various microbial polysaccharides. *Handbook of Hydrocolloids*, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820104-6.00032-2>.

V

**Van Kranenburg, R., & De Vos, W. M.** (1998). Characterization of multiple regions involved in replication and mobilization of plasmid pNZ4000 coding for exopolysaccharide production in *Lactococcus lactis*. *Journal of Bacteriology*, 180(20), 5285-5290.

**Van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., & de Vos, W. M.** (2000). Nucleotide sequence analysis of the lactococcal EPS plasmid pNZ4000. *Plasmid*, 43(2), 130-136.

**Van Kranenburg, R., Marugg, J. D., Van Swam, I. I., Willem, N. J., & De Vos, W. M.** (1997). Molecular characterization of the plasmid-encoded eps gene cluster essential for exopolysaccharide biosynthesis in *Lactococcus lactis*. *Molecular Microbiology*, 24(2), 387-397.

**Velasco, L., Loeffler, M., Torres, I., & Weiss, J.** (2021). Influence of fermentation temperature on in situ heteropolysaccharide formation (*Lactobacillus plantarum* TMW 1.1478) and texture properties of raw sausages. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1312-1322.

**Vidhyalakshmi, R., Valli, N. C., Kumar, G. N., & Sunkar, S.** (2016). *Bacillus circulans* exopolysaccharide: Production, characterization and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 405-414.

**Vijayabaskar, P., Babinastarlin, S., Shankar, T., Sivakumar, T., & Anandapandian, K. T. K.** (2011). Quantification and characterization of exopolysaccharides from *Bacillus subtilis* (MTCC 121). *Advances in Biological Regulation*, 5(2), 71-76.

W

- Wan, H., Yuan, J., Shan, X., Wu, Q., & Shi, N.** (2011). Structure and bio-properties of extracellular polysaccharide from *Bacillus sp.* strain LBP32 Isolated from LUOBOPO desert. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16(4), 761-768.
- Wang, H., Hu, H., Yang, H., & Li, Z.** (2021b). Hydroxyethyl starch based smart nanomedicine. *RSC Advances*, 11(6), 3226-3240.
- Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., & Yang, Z.** (2015). Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 119-126.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M.** (2014a). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 133-139.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M.** (2014b). Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 71-78.
- Wang, P. C., Zhao, S., Yang, B. Y., Wang, Q. H., & Kuang, H. X.** (2016). Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 148, 86-97.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., & Lü, X.** (2017). Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173-1184.
- Wang, Y., Liu, G., Liu, R., Wei, M., Zhang, J., & Sun, C.** (2021a). EPS364, a Novel Deep-Sea Bacterial Exopolysaccharide, Inhibits Liver Cancer Cell Growth and Adhesion. *Marine Drugs*, 19(3), 171.
- Walling, É., Gindreau, E., & Lonvaud-Funel, A.** (2001). La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin: mise au point d'outils moléculaires de détection. *Le Lait*, 81(1-2), 289-300.
- Web :** <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/3CoursdeBiochSTRUCT/7Transports/ITransports.htm>.

X

- Xu, D., Bechtner, J., Behr, J., Eisenbach, L., Geibler, A. J., & Vogel, R. F.** (2019). Lifestyle of *Lactobacillus hordei* isolated from water kefir based on genomic, proteomic and physiological characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 141-149.
- Xu, R., Ma, S., Wang, Y., Liu, L., & Li, P.** (2010). Screening, identification and statistic optimization of a novel exopolysaccharide producing *Lactobacillus paracasei* HCT. *African Journal of Microbiology Research*, 4(9), 783-795.
- Xu, W., Zhang, W., & Mu, W.** (2021). Characteristics of Levansucrase and Its Application for the Preparation of Levan and Levan-Type Oligosaccharides. *Novel Enzymes for Functional Carbohydrates Production: From Scientific Research to Application in Health Food Industry*, 175, <http://doi.org/10.1007/978-981-33-6021-1>.
- Xu, Y., Cui, Y., Wang, X., Yue, F., Shan, Y., Liu, B., ... & Lü, X.** (2019). Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 480-492.

Y

- Yang, W., Wang, Y., Li, X., & Yu, P.** (2015). Purification and structural characterization of Chinese yam polysaccharide and its activities. *Carbohydrate Polymers*, 117, 1021-1027.
- Ye, Z. W., Guo, T. F., Tang, C., Yuan, Y., Zhao, Y., Lu, J., ... & Guo, L. Q.** (2021). Transcriptional analysis for cholesterol-lowering effects of marine *Lactobacillus plantarum* Lp10 isolated from kelp. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 139, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110563>.
- You, X., Yang, L., Zhao, X., Ma, K., Chen, X., Zhang, C., ... & Li, W.** (2020). Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus pentosus* LZ-R-17 isolated from Tibetan kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 408-419.
- Yu, R., Zuo, F., Ma, H., & Chen, S.** (2019). Exopolysaccharide-producing *Bifidobacterium adolescentis* strains with similar adhesion property induce differential regulation of inflammatory immune response in Treg/Th17 axis of DSS-colitis mice. *Nutrients*, 11(4), 782.

Z

- Zajšek, K., Goršek, A., & Kolar, M.** (2013). Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food chemistry*, 139(1-4), 970-977.

- Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., & Arendt, E. K.** (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *100*(3), 1121-1135.
- Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., ... & Li, S.** (2013). Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal of Biological Macromolecules*, *54*, 270-275.
- Zhang, M., Lai, T., Yao, M., Zhang, M., & Yang, Z.** (2021). Interaction of the Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YW11 with Casein and Bioactivities of the Polymer Complex. *Foods*, *10*(6), <https://doi.org/10.3390/foods10061153>.
- 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.
- Zhao, H., Li, J., Zhang, J., Wang, X., Hao, L., & Jia, L.** (2017). Purification, in vitro antioxidant and in vivo anti-aging activities of exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *102*, 351-357.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, P., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S.** (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *70*(4), 2782-2858.
- Zidani, H.** (2015). Les exopolysaccharides des bactéries lactique: optimisation et cinétique de production. Thèse de Magistère : Université Ahmed Ben Bala-Oran.



# *Annexe*

**Milieux de culture****Milieu hypersaccharosé**

Composant :	Concentration :
Peptone	2.5g/l
Extrait de levure	03g/l
Extrait de viande	10g/l
Saccharose	150g/l
Phosphate dipotassique	02g/l
Sulfate de magnésium	0.2g/l
NaCl	01g/l
Agar	15g/l
pH 6.8	

**Bouillon MRS (Man-Rogosa Sharp)/MRS modifié**

Composant	Concentration
Peptone	10g/l
Extrait de levure	04g/l
Extrait de viande	08g/l
Glucose/Lactose/Galactose/Saccharose	20g/l
Phosphate dipotassique	02g/l
Acétate de sodium	05g/l
Citrate d'ammonium	02g/l
Sulfate de manganèse	0.05g/l
Sulfate de magnésium	0.2g/l
Tween 80	1ml/l
pH = 6.2	

**Tampon de phosphate de sodium (PBS)**

Composant	Concentration
NaCl	8g/l
KCl	0.2g/l
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.44g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.24g/l

**Tableaux de résultats****Tableau 01 :** Les résultats de la quantification des EPS produit par les trois souches.

Souches	DO (490nm)	[EPS] mg/l	Moyenne
N5	3.1554	138.0714	137.71 mg/l
	3.1440	137.5625	
	3.1462	137.5	
S10	3.2032	140.2053	139.96 mg/l
	3.1939	139.7901	
	3.1963	139.8973	
K2	3.1856	139.4196	138.81 mg/l
	3.1484	137.7678	
	3.1816	139.2410	

**Tableau 02 :** Les résultats de la capacité de piégeage des radicaux libres DPPH par les EPS.

Souches	Blanc	N5	S10	K2	Acide ascorbique
DO (517nm)	1.4863	1.4295	1.3730	1.4155	0.0870
Effet scavenger (%)	/	3.82	7.62	4.76	94.14

**Tableau 03 :** Les résultats de la capacité de piégeage des radicaux hydroxyles par les EPS de différentes souches.

	DO (536nm)	Effet scavenger (%)
A0	0.6808	/
Blanc	0.0111	/
Acide ascorbique	0.19	26.71
N5	0.0233	1.821
K2	0.0430	4.7633
S10	0.0471	5.375

**Tableau 04 :** Les résultats de l'activité de chélation des ions de fer par les EPS.

	DO (562nm)	Effet scavenger (%)
Blanc	0.0906	/
EDTA	0.0830	8.38
N5	0.1076	0
K2	0.0899	0.77
S10	0.1031	0

**Tableau 05 :** Les résultats de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine par les EPS.

	DO (416nm)	% d'inhibition
Blanc	0.007	/
Diclofénac	0.0037	47.14
N5	0.0048	31.43
K2	0.0034	51.43
S10	0.0044	37.14

**Tableau 06 :** Les résultats de l'activité anti-protéinase des EPS.

	DO (210nm)	% d'inhibition
Blanc	1.6937	/
N5	1.4955	11.7
K2	1.5995	5.56
S10	1.5508	8.44

**Tableau 07 :** Les résultats de la croissance de K2 dans différentes sources de carbone.

Le sucre	DO t <sub>0</sub>	DO t <sub>24</sub>
Lactose	0.1104	0.5586
Saccharose	0.0937	0.8036
Glucose	0.1344	0.7255
Galactose	0.0410	0.4327

**Tableau 08 :** Les résultats de la quantification des EPS produit par K2 dans différentes sources de carbones.

Le sucre	DO (490nm)	[EPS] mg/l
Glucose	2.9552	129.13
Saccharose	1.2913	54.85
Galactose	0.4306	16.42
Lactose	3.0474	133.25

**Tableau 09 :** Les résultats de la capacité de piégeage des radicaux libres DPPH en fonction de changement de la source de carbone.

Le sucre	Blanc	Glucose	Lactose
DO (517nm)	1.1012	0.3079	0.3642
Effet scavenger (%)	/	66.92	66.92

**Tableau 10 :** Les résultats de la croissance cellulaire de la souche K2 en fonction de temps.

Temps (heure)	DO (600nm)		
	Erlenmeyer 01	Erlenmeyer 02	Moyenne
0	0.1169	0.1173	0.1171
24	1.1159	1.1128	1.1143
48	1.1279	1.1884	1.1581
72	0.9845	0.9837	0.9841

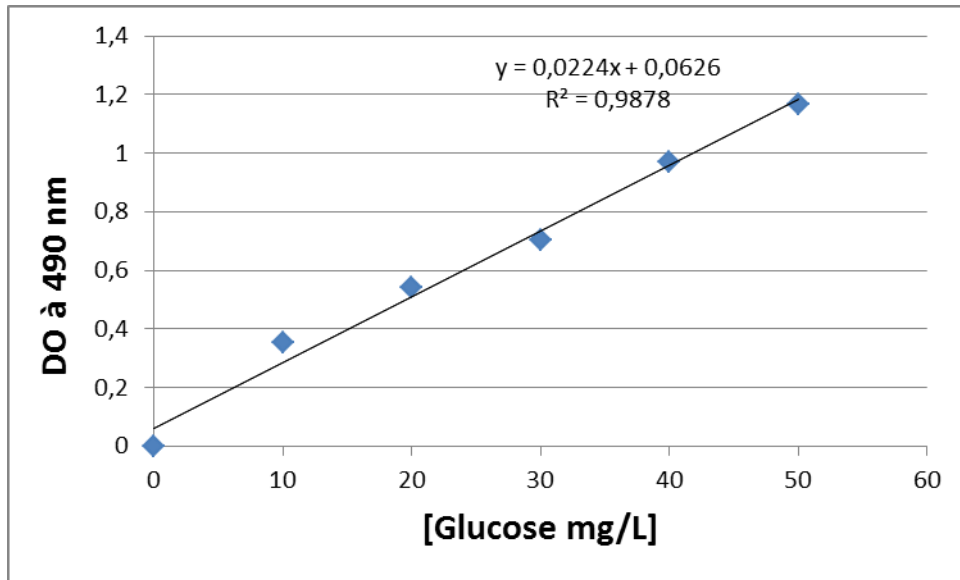
**Tableau 11 :** Les résultats de la concentration des EPS produits par la souche K2 en fonction de temps.

Temps (heure)	[EPS] mg/l		
	Erlenmeyer 01	Erlenmeyer 02	Moyenne
0	11.56	/	11.56
24	21.49	66.38	43.93
48	94.2	73.47	52.74
72	113.43	118.52	115.97

**Tableau 12 :** Les résultats de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase.

	DO (540nm)	Inhibition(%)
Blanc	0.3111	/
Acarbose	0.2764	11.15
N5	0.4689	0
K2	0.3656	0
S10	0.4209	0

## Figures



**Figure 01 :** Courbe d'étalonnage de glucose.

**Réalisé par :** M<sup>elle</sup> Houria Bounneche

**Encadreur :** Pr. Mohamed Sifour

**Date de soutenance :** 18/07/2021

**Thème :** Activités biologiques des exopolysaccharides des bactéries lactiques.

### Résumé

L'objectif du présent travail consiste à produire et à tester les activités biologiques (antioxydante et anti-inflammatoire) des EPS des souches de bactérie lactique du genre *Lactiplantibacillus*, ainsi que la mise en évidence de l'effet de la source de carbone et de la période d'incubation sur la production des EPS. Les résultats ont montré que les trois souches sont capables de produire les EPS et que l'EPS de *Lactiplantibacillus plantarum* S10 montre la meilleure activité antioxydante, les EPS de *Lactiplantibacillus* sp. K2 et *Lactiplantibacillus* sp. N5 ont montré la meilleure activité anti-inflammatoire (inhibitrice de la dénaturation de l'albumine et anti-protéinase, respectivement). Le lactose était la meilleure source de carbone pour la production des EPS à partir de la souche K2 après une incubation de 72h.

**Mots clés :** *Lactiplantibacillus*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, Exopolysaccharides.

### Abstract

The aim of this study was to produce and to test the biological activities (antioxidant and anti-inflammatory) of EPS of lactic acid bacterial strains of the genus *Lactiplantibacillus*, as well as the demonstration of the effect of the carbon source and of the incubation period on the production of exopolysaccharides. The results showed that the three strains are capable of producing EPS and that the EPS of *Lactiplantibacillus plantarum* S10 showed the best antioxidant activity, the EPS of *Lactiplantibacillus* sp. K2 and *Lactiplantibacillus* sp. N5 showed the best anti-inflammatory activity (inhibition of albumin denaturation and anti-proteinase, respectively). Lactose was the best carbon source for the production of EPS from strain K2 after 72h incubation.

**Key words:** *Lactiplantibacillus* sp., Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity, Exopolysaccharides.

### المخلص

يهدف هذا العمل إلى إنتاج واختبار الأنشطة البيولوجية (مضادة الأكسدة ومضادة الالتهاب) لمتعددات السكر الخارجية لسلاسل البكتيريا اللبنية من جنس *Lactiplantibacillus*، بالإضافة إلى توضيح تأثير مصدر الكربون وفترة الحضانة على إنتاج السكريات الخارجية. أظهرت النتائج أن السلالات الثلاثة قادرة على إنتاج متعددات السكر الخارجية وأن متعددات السكر الخارجية المنتجة من *Lactiplantibacillus plantarum* S10 أظهرت أفضل نشاط مضاد للأكسدة، وأظهرت متعددات السكر المنتجة من *Lactiplantibacillus* sp K2 و *Lactiplantibacillus* sp N5 أفضل نشاط مضاد للالتهابات (مثبط لمسح الألبومين و مضاد للبروتيناز، على التوالي). و كان اللاكتوز هو أفضل مصدر للكربون لإنتاج متعددات السكر من سلالة K2 بعد فترة حضانة لمدة 72 ساعة.

**الكلمات المفتاحية :** *Lactiplantibacillus* sp، مضاد الأكسدة، مضاد الالتهاب، متعددات السكر الخارجية.