





## Résumé :

Les exopolysaccharides (EPS) sont des polymères naturels synthétisés par plusieurs microorganismes, notamment les bactéries lactiques (LAB). Ils se caractérisent par une grande diversité structurale, ce qui leur confère des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes. En effet, comme ils sont biosynthétiques, biocompatibles et biodégradables, ils peuvent être exploités pour des applications biomédicales notamment, en ingénierie tissulaire. Dans cette perspective, la combinaison d'EPS avec d'autres biomatériaux, tels que les verres bioactifs, s'impose comme une stratégie intéressante pour la conception de matériaux multifonctionnels. A cela s'ajoutent les progrès technologiques dans les procédés de fabrication qui permettront de développer des biomatériaux nanofibreux dont la structure ressemble à celle des tissus biologiques. Dans ce contexte, l'objectif principal de la présente thèse est le développement de membranes multifonctionnelles à base d'EPS et de bioverres antibactériens par la technique de l'électrofilage. Le présent travail s'intéresse dans un premier temps à la production d'EPS à partir de *Lactocaseibacillus rhamnosus* P14 isolé à partir de lait cru. Ensuite, la caractérisation physico-chimique et biologique des EPS produits a été étudiée pour explorer leurs applications potentielles. Leurs groupes fonctionnels, leurs liaisons chimiques et leurs propriétés thermiques et morphologiques ont été déterminés par les spectroscopies FT-IR, RMN et XRD, ainsi que les analyses TGA, DSC, SEM et TLC. Les résultats ont montré que l'EPS-P14 est un polysaccharide poreux et amorphe, thermiquement stable avec une température de dégradation de 307 °C. De plus, l'EPS est constitué de  $\alpha$ -D-glucan avec une liaison glycosidique  $\alpha$ -(1→6) et la présence de quelques branches de type  $\alpha$ -(1→3). D'un point de vue fonctionnel, c'est un polysaccharide soluble dans l'eau et un puissant émulsifiant et stabilisant. De plus, ses capacités antioxydantes ; DPPH et pouvoir réducteur sont significatives par rapport au témoin positif.

D'autre part, deux séries de verres bioactifs dopés avec une faible concentration de cuivre ( $70\text{SiO}_2-(20-x)\text{CaO}-10\text{P}_2\text{O}_5-x\text{CuO}$  ; où  $x = 0, 0,5, 1, 1,5$ ) et d'argent ( $70\text{SiO}_2-(20-x)\text{CaO}-10\text{P}_2\text{O}_5-x\text{Ag}_2\text{O}$  ; où  $x = 0, 0,5, 1, 1,5$ ) ont été synthétisés par la méthode sol-gel et sont respectivement nommés CuBG et AgBG. Leurs caractérisations physiques et structurales ont été réalisées par FT-IR, TGA, XRD et SEM-EDX, indiquant que les poudres obtenues sont des nanoparticules de verre silicaté et amorphe. Leur capacité de biominéralisation a été confirmée par la bioactivité *in vitro* dans la solution SBF. De plus, l'activité antibactérienne des deux séries a été évaluée, confirmant l'effet antibactérien de tous les échantillons préparés contre deux souches de bactérie pathogènes, à savoir *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Concernant le développement des membranes composites, trois nouvelles formulations ont été élaborées à base d'EPS-P14 ( $\alpha$ -D-glucane) et de CuBG/AgBG en utilisant la technique d'électrofilage. Ces membranes ont été préparées en utilisant le polyéthylène oxide comme copolymère avec l'optimisation des paramètres de solution et d'électrofilage. Les propriétés physicochimiques et morphologiques de toutes les nanofibres préparées ont été étudiées. De plus, les propriétés biologiques des nanofibres, y compris les activités antioxydantes et antibactériennes, ont également été étudiées. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de deux tests différents, indiquant des capacités significatives de piégeage des radicaux DPPH et de pouvoir réducteur ferrique des nanofibres. De plus, les membranes nanofibreuses chargées avec les nanoparticules de BG ont démontré aussi un effet antibactérien contre *E. coli* et *S. aureus*. Sur la base des résultats obtenus dans cette thèse, les membranes développées à base d'EPS/PEO/CuBG et d'AgBG peuvent être considérées comme des biomatériaux prometteurs pour la régénération tissulaire en raison de leurs caractéristiques multifonctionnelles et structurelles intéressantes.

## Mots clés :

*Lactocaseibacillus rhamnosus*, exopolysaccharides, verres bioactifs, électrofilage, ingénierie tissulaire.



## Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, characterization, and elaboration of multifunctional composite nanofibers for biomedical applications

### Abstract :

Exopolysaccharides (EPS) are natural polymers synthesized by several microorganisms, among which, lactic acid bacteria (LAB). They are characterized by a great structural diversity, which gives them interesting biological and pharmacological properties. Indeed, as they are biosynthetic, biocompatible, and biodegradable, they can be exploited for biomedical applications particularly, in tissue engineering. In this perspective, the combination of EPS with other biomaterials, such as bioactive glasses, stands out as an attractive strategy for the design of multifunctional biomaterials. This strategy can also make use of the technological progress in manufacturing processes, which will help to develop nanofibrous membranes whose structure resembles that of biological tissues. In this context, the main objective of the present thesis is the development, by the electrospinning technique, multifunctional membranes based on EPS and antibacterial bioglasses. The present work interest initially on the EPS production from *Lactocaseibacillus rhamnosus* P14 isolated from Moroccan raw cow's milk. Then, the physicochemical and biological characterization of the produced EPS was investigated to explore their potential uses. Their functional groups, chemical bonds, and thermal and morphological properties were determined using FT-IR, NMR, and XRD spectroscopies, as well as TGA, DSC, SEM, and TLC analysis. The results showed that EPS-P14 is a porous and amorphous polysaccharide, thermally stable with a degradation temperature of 307 °C. In addition, EPS was identified as a homogeneous polysaccharide, mainly composed of glucose. It consists of  $\alpha$ -D-glucan with  $\alpha$ -(1→6) type glycosidic bond and the presence of some  $\alpha$ -(1→3) branches. From a functionality point of view, it is a water-soluble polysaccharide and a powerful emulsifier and stabilizer. Furthermore, the DPPH and ferric-reducing antioxidant capacities of the EPS achieved a significant effect compared to the positive control.

On the other hand, two series of bioactive glasses with the same basic composition doped with a low concentration of copper (70SiO<sub>2</sub>- (20-x) CaO-10P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-xCuO; where x = 0, 0.5, 1, 1.5) and silver (70SiO<sub>2</sub>-(20-x) CaO-10P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>- xAg<sub>2</sub>O; where x = 0, 0.5, 1, 1.5) were synthesized by the sol-gel method and are named CuBG and AgBG respectively. The physical and structural characterizations were carried out by FTIR, TGA, XRD, and SEM-EDX, indicating that the obtained powders are amorphous silicate glass nanoparticles. Their biomineralization capacity was confirmed by *in vitro* bioactivity in the SBF solution. Furthermore, the antibacterial activity of the two sample series was evaluated, confirming the antibacterial effect of all prepared samples against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Concerning the development of composite membranes, three new formulations were designed based on the EPS-P14 ( $\alpha$ -D-glucan) and CuBG/AgBG using the electrospinning process. These membranes were prepared using PEO as a copolymer under optimized solution and electrospinning parameters. The physicochemical and morphological properties of all the prepared nanofibers were performed. Moreover, the biological properties of the nanofibers, including antioxidant and antibacterial activities, were also studied. The antioxidant activity was assessed using two different assays, indicating significant DPPH radicals scavenging and ferric-reducing power capacities of the nanofibers. In addition, the BG charged nanofibrous membranes were found to provide a high antibacterial effect. Based on the results obtained in this thesis, the developed nanofibers comprised of EPS/PEO/CuBG and AgBG can be considered promising biomaterials for tissue regeneration owing to their interesting multifunctional and structural characteristics.

### Key Words :

*Lactocaseibacillus rhamnosus*, exopolysaccharides, bioactive glass, electrospinning, tissue engineering.