

EXOPOLYSACCHARIDE CỦA VI KHUẨN LACTIC: SỬ DỤNG STRESS MÔI TRƯỜNG KIỂM SOÁT QUÁ TRÌNH SINH TỔNG HỢP CHO CÁC ÁP DỤNG CÔNG NGHIỆP

Nguyễn Phú Thọ^{1*}, Nguyễn Hữu Thanh²

EXOPOLYSACCHARIDES OF LACTIC ACID BACTERIA: THE MANIPULATION OF ENVIRONMENTAL STRESSES TO MODULATE BIOSYNTHESIS FOR INDUSTRIAL APPLICATIONS

Nguyen Phu Tho^{1*}, Nguyen Huu Thanh²

Tóm tắt – Exopolysaccharide là các polymer sinh học được sản xuất bởi vi sinh vật để đối phó với các điều kiện môi trường bất lợi. Exopolysaccharide của vi khuẩn lactic được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như thực phẩm, dược phẩm, y học. Trong nghiên cứu này, các thảo luận tập trung vào chức năng sinh học của exopolysaccharide được sản xuất bởi vi khuẩn lactic và đáp ứng sinh tổng hợp exopolysaccharide ở vi khuẩn lactic dưới tác động của các yếu tố stress môi trường. Stress môi trường có thể làm thay đổi sự biểu hiện của các gen EPS, kết quả dẫn đến những thay đổi trong năng suất và thành phần monosaccharide của exopolysaccharide thu được. Do đó, các đánh giá nhằm làm rõ tiềm năng sử dụng stress môi trường để thay đổi quá trình sinh tổng hợp exopolysaccharide ở vi khuẩn lactic cho các áp dụng khác nhau.

Từ khóa: exopolysaccharide, stress môi trường, vi khuẩn lactic.

Abstract – Exopolysaccharides are biopolymers produced by microorganisms in response to adverse environmental conditions. Exopolysac-

charides of lactic acid bacteria are applied in many different fields such as food, pharmaceuticals, and medicine. This review discusses the biological functions of the exopolysaccharide derived from lactic acid bacteria and their response to exopolysaccharide synthesis under environmental stresses. Environmental stress can alter the expression of eps genes, resulting in changes in yield and monosaccharide composition of obtained exopolysaccharides. Therefore, the evaluation aims to clarify the feasibility of using environmental stress to modify exopolysaccharide biosynthesis in lactic acid bacteria for various applications.

Keywords: environmental stress, exopolysaccharides, lactic acid bacteria.

I. GIỚI THIỆU

Exopolysaccharide (EPS) là các polymer sinh học tham gia trong thành phần cấu tạo của vách tế bào. EPS có thể được sản xuất bởi nhiều vi sinh vật khác nhau như tảo, nấm và vi khuẩn, bao gồm vi khuẩn lactic (LAB). Dựa theo thành phần cấu tạo hóa học, EPS được chia thành hai loại là homopolysaccharide (HoPS) và heteropolysaccharide (HePS). HoPS được cấu tạo từ cùng một tiểu đơn vị đường đơn trong cấu trúc đơn vị lặp lại. HePS được tạo thành từ các đơn vị lặp lại bao gồm hai hoặc nhiều loại tiểu đơn vị đường, dẫn xuất của đường, các phân tử hữu cơ và vô cơ khác [1, 2].

Ngày nay, EPS của LAB nhận được sự quan tâm đặc biệt trong các ứng dụng của thực phẩm,

^{1,2}Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 14/10/2022; Ngày nhận bài chỉnh sửa: 28/12/2022; Ngày chấp nhận đăng: 27/01/2022

*Tác giả liên hệ: nptho@agu.edu.vn

^{1,2}An Giang University, Viet Nam National University Ho Chi Minh City (VNUHCM)

Received date: 14th October 2022; Revised date: 28th December 2022; Accepted date: 27th January 2023

*Corresponding author: nptho@agu.edu.vn

được phẩm và y học. Trong công nghiệp thực phẩm, EPS được sử dụng như chất làm đặc, chất ổn định và chất nhũ hóa. Trong y học, EPS được chứng minh có khả năng chống oxy hoá, kích thích và điều chỉnh hệ thống miễn dịch, hoạt động chống viêm, thậm chí chống ung thư. Một số tuyên bố về sức khỏe còn báo cáo rằng EPS của LAB có thể làm giảm cholesterol trong máu [3].

Trong tự nhiên, EPS có vai trò bảo vệ LAB khỏi sự mất nước, tránh tác động tiêu cực của môi trường như nhiệt độ, pH, thẩm thấu, kháng sinh, thực bào. EPS còn liên quan đến sự hình thành màng sinh học (biofilm) và cơ chế bám dính của tế bào, cũng như quyết định đặc trưng tương tác giữa tế bào với vật chủ. Trên thực tế, để thích nghi với các thay đổi của môi trường, LAB phản ứng bằng nhiều cách khác nhau, trong đó có liên quan đến quá trình sinh tổng hợp EPS [4].

Các nghiên cứu và báo cáo trước đây đã tập trung vào EPS của LAB ở nhiều khía cạnh khác nhau liên quan đến cơ chế sinh tổng hợp; hay nghiên cứu sản xuất EPS bằng việc tối ưu hóa các điều kiện lên men, sử dụng các công cụ công nghệ sinh học liên quan đến kỹ thuật di truyền, sử dụng các cơ chất lên men giá rẻ. Trong bài báo này, chúng tôi tập trung làm sáng tỏ khả năng sử dụng stress môi trường trong việc điều khiển sản xuất EPS ở LAB cho các áp dụng khác nhau thông qua đánh giá tác động của stress môi trường lên quá trình sinh tổng hợp EPS.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

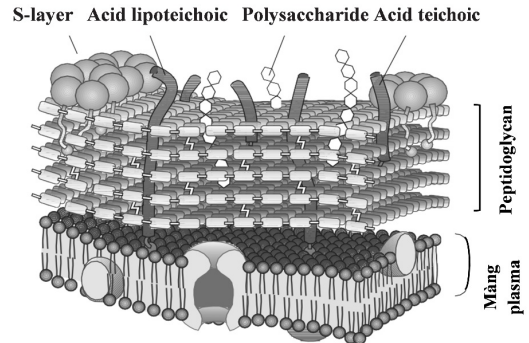
Nghiên cứu đánh giá tổng quan được thực hiện trên cơ sở tập hợp tài liệu đã được công bố liên quan đến vai trò chức năng sinh học của EPS, quá trình sinh tổng hợp EPS ở LAB dưới tác dụng của stress môi trường. Phân tích các tài liệu bằng cách so sánh, đối chiếu các nghiên cứu với nhau nhằm làm sáng tỏ tiềm năng sử dụng stress môi trường kiểm soát quá trình sinh tổng hợp EPS cho các ứng dụng công nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Cấu trúc vách tế bào của *Lactobacillus*

Vách tế bào của *Lactobacillus* bao gồm kiến trúc peptidoglycan (PG) dày (có nhiều lớp) được

gắn thêm các acid teichoic, polyphosphate, protein và polysaccharide (Hình 1). Đây cũng là đặc điểm chung của LAB và những thành phần này chỉ phối tương tác của LAB với môi trường.



Hình 1: Cấu trúc vách tế bào của vi khuẩn *Lactobacillus* [5]

Mỗi đại phân tử trên bề mặt tế bào đều có ảnh hưởng đến hoạt động probiotic của LAB vì nó có liên quan đến tương tác giữa vi khuẩn và vật chủ. Lớp PG là thành phần thiết yếu có chức năng bảo vệ tính toàn vẹn của tế bào và chống lại sự ly giải [6, 7]. Ngoài ra, các thành phần khác của vách tế bào như acid teichoic, acid lipoteichoic, protein và polysaccharide được liên kết cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị với PG, nơi làm khung cố định cho các thành phần này [6]. Cấu trúc hóa học của PG bao gồm các chuỗi glycan xen kẽ N-acetylglucosamine và acid N-acetylmuramic qua liên kết β -1,4. Chuỗi peptide được liên kết cộng hóa trị qua đầu N-xác định với nhóm lactyl của N-acetylmuramic. Các polymer có điện tích âm liên kết cộng hóa trị với PG được xác định là acid teichoic, hoặc gắn trực tiếp vào màng tế bào chất được xác định là acid lipoteichoic [8]. Cấu trúc cơ bản của acid teichoic bao gồm các đơn vị lặp lại của polyglycerol phosphate hoặc polyribitol phosphate nhưng tùy thuộc vào các điều kiện khác nhau như loài, giai đoạn hoặc tốc độ tăng trưởng, pH của môi trường, nguồn carbon, sự hiện diện của phosphate mà cấu trúc và sự phong phú của polymer này có thể khác nhau [5, 9].

Một thành phần quan trọng khác trong vách tế bào của vi khuẩn Gram dương là các protein bề mặt, chúng có thể lớn hoặc nhỏ và bao gồm các domain lặp lại hoặc các domain

riêng rẽ [7]. Một trong những protein bề mặt quan trọng được gọi tên là S-layer gắn chặt vào PG. Có ý kiến cho rằng S-layer có thể liên quan đến tính chất bám dính của LAB với biểu mô ruột và các thành phần phức hợp ngoại bào khác. Cuối cùng, bề mặt vách tế bào của LAB có chứa các polysaccharide [7]. Các polysaccharide này có thể liên kết cộng hóa trị với PG được gọi là capsule polysaccharide hoặc phóng thích trực tiếp ra môi trường bên ngoài gọi là exopolysaccharide. Đối với LAB nói chung, thuật ngữ EPS bao gồm cả hai loại polysaccharide này [7]. Bài báo sử dụng thuật ngữ EPS để mô tả các polysaccharide liên quan đến bề mặt tế bào. Vai trò của EPS đối với LAB chịu sự ảnh hưởng của cấu trúc, mức độ tích lũy và tương tác của nó với các phân tử bề mặt khác.

B. EPS được sản xuất bởi LAB

LAB là vi khuẩn Gram dương được tìm thấy nhiều trong môi trường sống, bao gồm cả đường tiêu hóa của người và động vật. LAB đóng vai trò quan trọng trong đời sống của con người, không chỉ giúp cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột, ngăn chặn rối loạn tiêu hóa, một số LAB còn có khả năng tổng hợp bacteriocin ức chế vi khuẩn gây bệnh [10]. Ngoài ra, LAB được chứng nhận an toàn GRAS (Generally Recognized as Safe) nên chúng được sử dụng nhiều trong thực phẩm. Hiện nay, hầu hết các chế phẩm probiotic thương mại là các chủng thành viên của LAB.

EPS có nguồn gốc từ LAB được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm như chất làm đặc, chất ổn định, chất nhũ hóa, thay thế chất béo và sử dụng cho các mục đích quan trọng khác. LAB có khả năng tổng hợp cả hai loại HoPS và HePS [11]. HoPS của LAB có thành phần cấu tạo bao gồm chỉ một loại đường là glucose (chẳng hạn glucan và dextran), hoặc fructose (chẳng hạn fructan và levan). Sự đa dạng của các liên kết glycoside, trọng lượng phân tử, cấu trúc và vị trí phân nhánh dẫn đến sự khác biệt giữa các HoPS ở các loài LAB khác nhau. HoPS của một số loài LAB được giới thiệu ở Bảng 1.

HePS của LAB thường khác nhau trong thành phần đường monosaccharide, bao gồm các loại đường galactose, glucose, mannose và rhamnose. Trong một vài trường hợp, N-acetylglycosamine,

N-acetylgalactosamine hoặc acid glucuronic cũng tham gia vào cấu tạo HePS. Đôi khi các nhóm thế phi carbohydrate như phosphate, acetyl và glycerol cũng xuất hiện trong thành phần HePS. Những sự thay đổi về thành phần, số lượng monosaccharide, đặc điểm liên kết giữa các monosaccharide cũng như sự hiện diện của các thành phần phi carbohydrate trong cấu trúc đơn vị lặp lại của HePS dẫn đến sự khác nhau của các EPS [12].

C. Chức năng sinh học của EPS

Trong tự nhiên, EPS có vai trò bảo vệ LAB khỏi sự mất nước, tránh tác động tiêu cực của môi trường như nhiệt độ, pH, thẩm thấu, kháng sinh, thực bào và sự tấn công của phage. EPS còn liên quan đến sự hình thành màng sinh học (biofilm) và cơ chế bám dính của tế bào [14], cũng như quyết định đặc trưng tương tác giữa tế bào với vật chủ [15]. Ngoài chức năng bảo vệ đối với bản thân LAB, nhờ có các đặc tính lí hóa và sinh học đặc biệt, EPS còn thể hiện nhiều chức năng sinh học độc đáo được khai thác làm chất phụ gia thực phẩm, thuốc điều trị và liệu pháp hỗ trợ trong điều trị viêm, thậm chí là ung thư [16]. Chức năng sinh học của EPS có nguồn gốc từ LAB được tóm tắt ở Hình 2.

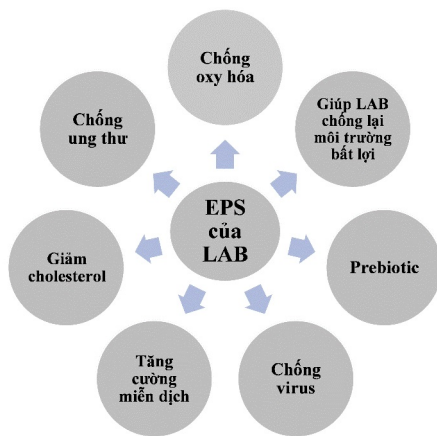
Có ý kiến cho rằng tác động tích cực của các sản phẩm sữa lên men đối với sức khỏe con người có thể bắt nguồn từ EPS do LAB sản xuất [17]. Độ nhớt và tính lưu biến tạo ra các đặc tính sinh học đặc trưng của EPS như khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh, thúc đẩy sự phát triển vi khuẩn probiotic và duy trì cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột. EPS của LAB cũng có khả năng kháng các mầm bệnh [18]. EPS-Ca6 được sản xuất bởi *Lactobacillus* sp. Ca6 thể hiện hoạt động kháng khuẩn đáng kể chống lại vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella enterica* ATCC 43972 và *Micrococcus luteus* [19]. EPS-DN1 từ *L. kefiranofaciens* DN1 có tác dụng kim hãm và diệt khuẩn đối với *Listeria monocytogenes* và *Salmonella enteritidis* và sự ức chế tăng tỉ lệ thuận với nồng độ EPS [20].

EPS có nguồn gốc từ LAB cũng liên quan đến việc giảm cholesterol. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận khả năng làm giảm cholesterol của EPS được sản xuất bởi *L. plantarum* [21]. Một số giả

Bảng 1: HoPS được sản xuất bởi LAB

EPS		Chủng vi khuẩn
α -D-glucans	Dextran	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>
	Mutan	<i>Streptococcus mutans</i>
		<i>S. sobrinus</i>
	Alternan	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Reuteran	<i>L. reuteri</i>	
β -glucans		<i>Pediococcus</i> spp.
		<i>Streptococcus</i> spp.
Fructans	Levan	<i>S. salivarius</i>
	Inulin-type	<i>S. mutans</i>
		<i>Leuconostoc citreum</i>
		<i>L. reuteri</i>
Polygalactan		<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> H414
		<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (CRL 406 và 142)

Nguồn: Torino María Inés et al., 2015 [13]



Hình 2: Chức năng sinh học của EPS được sản xuất bởi LAB

thuyết về cơ chế giảm cholesterol bởi EPS đã được đề xuất dựa trên các thử nghiệm *in-vitro* trên động vật. Những giả thuyết này bao gồm tác dụng loại bỏ acid mật, đồng hóa và chuyển đổi cholesterol, tác dụng đồng kết tủa (giữa muối mật và cholesterol) và thúc đẩy tạo acid béo mạch ngắn để giảm cholesterol [22, 23].

EPS có nguồn gốc từ LAB còn thể hiện hoạt tính chống oxy hóa rất tốt. EPS của *L. gasseri* FR4 cho thấy hoạt động bắt gốc 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) mạnh mẽ, trong khi hoạt động bắt gốc hydroxyl và superoxide phụ thuộc vào nồng độ EPS [24]. EPS từ *L. plantarum* cũng thể hiện hoạt tính chống oxy

hóa mạnh [25]. Cơ chế chống oxy hóa của EPS là do quá trình thủy phân các phân tử sinh học này khi tiếp xúc với môi trường acid tạo ra các hydroxyl hemiacet hoạt động. Các hydroxyl hemiacet này cho electron đến các gốc tự do, kết quả chuyển đổi các gốc tự do thành dạng ổn định [16]. Ngoài ra, trong thử nghiệm *in-vivo*, EPS của LAB được chứng minh làm tăng hoạt động của superoxide effutase, catalase trong huyết thanh và glutathione S-transferase ở gan, giảm nồng độ malondialdehyde trong huyết thanh và gan, giảm hoạt tính của monoamin oxydase. Đây là các bằng chứng cho thấy khả năng chống oxy hóa và chống lão hóa tuyệt vời của EPS. Tương tự, EPS-1 của *L. helveticus* KLDS1.8701 làm giảm đáng kể tình trạng oxy hóa như giảm chỉ số hữu cơ, tổn thương gan và stress oxy hóa gan [26].

Một số EPS có nguồn gốc từ LAB thể hiện đặc trưng phản ứng miễn dịch mạnh mẽ và cho thấy tiềm năng lớn để ứng dụng chống viêm và chống các khối u. Cả HoPS và HePS đều có khả năng điều chỉnh các phản ứng miễn dịch. Đối với HoPS, dextran từ *L. sakei* MN1 có thể điều chỉnh tăng biểu hiện của interferon-1 và interferon- γ ở thận cá hồi [27]. Liên quan đến HePS, một liều cao của EPS333 được phân lập từ *S. thermophilus* được chứng minh kích thích đại thực bào RAW 264.7 giải phóng oxit nitric (NO) giúp tăng đáp ứng miễn dịch tế bào [28]. Hoạt tính chống khối u của EPS có liên quan đến hoạt động điều hòa miễn dịch, nó không chỉ gián tiếp mà còn trực

tiếp tiêu diệt các tế bào khối u. Một số EPS có thể gián tiếp kích hoạt các đại thực bào để tăng cường khả năng thực bào của nó, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tổng hợp các yếu tố tiền viêm (ví dụ IL-1, IL-6 và IL-12) cũng như interferon (INF- λ) và ức chế sản xuất các yếu tố chống viêm (ví dụ IL-10), cuối cùng kích thích sự tương tác giữa tế bào miễn dịch và tế bào khối u [29]. Đối với hiệu quả tiêu diệt trực tiếp, một EPS từ *L. plantarum* 70810 có thể ức chế đáng kể sự tăng sinh của các tế bào khối u HepG-2, BGC-823, đặc biệt là tế bào HT-29 [30]. EPS được sản xuất bởi *L. plantarum* YW32 cũng thể hiện hoạt động ức chế mạnh chống lại các tế bào khối u HT-29 [31]. Nói chung, EPS được sản xuất bởi LAB được xem như là những loại thuốc có khả năng chống ung thư. EPS cho thấy tác dụng chống tăng sinh trên nhiều loại tế bào khối u từ ruột, gan, vú. Chúng điều chỉnh sự phát triển của khối u thông qua các cơ chế khác nhau [32].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh EPS của LAB có chức năng như một prebiotic. α -D-glucan được tổng hợp bởi *L. plantarum* DM5 có thể kích thích sự phát triển của vi khuẩn có lợi. Nó được tiêu hóa thấp bởi dịch dạ dày nhân tạo và làm chậm sự phát triển của vi khuẩn không có lợi như *Enterobacteriaceae* [33]. EPS có nguồn gốc từ *Weissella cibaria*, *Weissella confusa*, *L. plantarum* và *Pediococcus pentosaceus* có khả năng tăng cường tính chọn lọc của lợi khuẩn đường ruột, đặc biệt là bifidobacteria [34]. EPS từ LAB có thể thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn probiotic và duy trì sự cân bằng của hệ vi sinh đường ruột [35, 36].

Hoạt tính chống virus của EPS có nguồn gốc từ LAB cũng đã được kiểm chứng. EPS được sản xuất bởi *L. plantarum* LRCC5310 có thể kiểm soát hiệu quả nhiễm virus rota [37]. Bằng cách này hay cách khác, hiệu quả hoạt động chống virus của dẫn xuất EPS với sulphate có liên quan đến cấu trúc (tương tác với hệ thống nhận tín hiệu, các thụ thể nhận hoặc enzyme) và đặc tính tích điện âm của các polymer này [16]. Heparin sulphate là một thụ thể liên quan đến nhiễm virus, tồn tại rất nhiều trên bề mặt của các tế bào. Trong khi đó, EPS trong dẫn xuất với sulphate tương đồng với cấu trúc của Heparin sulphate. Do đó, nó có thể ức chế cạnh tranh trong quá trình kết

hợp giữa Heparin sulphate với virus [38].

D. Đáp ứng tổng hợp EPS ở LAB dưới các stress môi trường

Stress môi trường làm tăng sản xuất EPS

Sự sản xuất EPS có thể được kích thích bởi các điều kiện stress môi trường khác nhau như một phản ứng bảo vệ tế bào, cũng như tăng cường hình thành màng sinh học. Vi khuẩn tăng cường tổng hợp EPS tạo ra rào cản vật lý trên bề mặt nhằm bảo vệ tế bào khỏi các điều kiện môi trường bất lợi. Sự hình thành lớp màng sinh học với thành phần bao gồm các EPS bao quanh có thể giúp bảo vệ tế bào tốt hơn. Một nghiên cứu được thực hiện trên *L. plantarum* M606 khi xử lý bằng acid acetic 11% trong 30 phút đã chứng minh vi khuẩn tạo biofilm có khả năng kháng tốt hơn so với vi khuẩn ở trạng thái không có biofilm bảo vệ [39]. Nguyen et al. (2014) cũng đã chứng minh stress nhiệt dưới ngưỡng gây chết giúp tăng cường sản xuất EPS ở *B. bifidum* [4]. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng stress môi trường như nhiệt độ, pH, thẩm thấu là phương pháp hữu ích giúp cải thiện năng suất và làm thay đổi tích cực quá trình sinh tổng hợp EPS ở *L. plantarum*. Năng suất EPS cao hơn nhiều lần so với điều kiện không gây stress [40, 41]. Những bằng chứng này cho thấy stress môi trường có thể cải thiện tích cực năng suất EPS ở LAB.

Stress môi trường làm thay đổi thành phần monosaccharide của EPS

Thành phần và điều kiện môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng mạnh mẽ đến năng suất, thành phần cũng như hoạt tính sinh học của EPS được tổng hợp bởi vi khuẩn. Những thay đổi trong điều kiện môi trường là nguyên nhân làm thay đổi sản xuất EPS và định hướng cho sự tổng hợp một loại EPS mới [42]. Nhưng đối với hầu hết các vi khuẩn, thành phần monosaccharide trong EPS được xác định về mặt di truyền và thay đổi không đáng kể bởi điều kiện nuôi cấy bình thường. Tuy nhiên, một nghiên cứu trên *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CNRZ 1187 và *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CNRZ 416 cho thấy có sự khác nhau trong tỉ lệ các monosaccharide của EPS khi hai chủng này được nuôi cấy ở hai điều kiện pH có kiểm soát và không kiểm soát [43]. Có thể điều kiện không kiểm soát đã làm thay đổi pH môi

trường, đó như một yếu tố gây stress tác động lên thành phần monosaccharide của EPS. Trong các nghiên cứu đã được báo cáo gần đây, thành phần monosaccharide được tìm thấy có sự thay đổi khác nhau trong những điều kiện gây stress khác nhau. Có thể thấy việc gây stress ở các điều kiện nhiệt độ cao, pH, NaCl và tăng nồng độ CO₂ có thể kích hoạt việc lập trình lại cơ chế tế bào đối với con đường sinh tổng hợp EPS, dẫn đến những thay đổi về thành phần và đặc điểm EPS do sự tích tụ với tỉ lệ nhiều hơn của một số loại đường phổ biến và đường hiếm [41].

Trong một số điều kiện gây stress nhất định, các loại đường hiếm như fucose được tìm thấy trong thành phần monosaccharide của EPS. Các nghiên cứu trước đây ở LAB không có báo cáo nào về sự hiện diện của fucose trong thành phần đường của EPS khi được nuôi cấy ở điều kiện bình thường. Hầu hết các đường hiện diện trong thành phần monosaccharide của EPS được sản xuất bởi LAB là đường 6 carbon (hexose) như glucose, galactose, mannose [44]. Tuy nhiên, một nghiên cứu trên *L. plantarum* được nuôi cấy trong điều kiện stress nhiệt tìm thấy có sự xuất hiện của đường 5 carbon (ribose) như fucose trong thành phần EPS [41]. Điều này cho thấy khả năng có một con đường chuyển hoá khác trong quá trình sinh tổng hợp EPS ở LAB dưới tác động của stress môi trường. Các loại đường hiếm như fucose, rhamnose hoặc acid uranic trong thành phần EPS có thể cung cấp các đặc tính tốt hơn được ứng dụng cho các mục đích khác nhau. EPS giàu đường hiếm với hoạt tính sinh học cao đã được ứng dụng rộng rãi trong ngành thực phẩm, mỹ phẩm cũng như các ứng dụng lâm sàng [45]. Sự vượt trội của thành phần xylose trong EPS được sản xuất bởi *L. plantarum* WLPL04 làm tăng khả năng ức chế sự hình thành biofilm của một số vi khuẩn gây bệnh và hoạt động kháng u đối với tế bào HT-29 [46]. Kết quả này cung cấp bằng chứng thuyết phục rằng có thể điều khiển sinh tổng hợp EPS giàu đường hiếm bằng cách áp dụng stress môi trường.

Stress môi trường thay đổi sự biểu hiện của các gen liên quan tổng hợp EPS

Vi khuẩn phản ứng để thích nghi với các stress môi trường bằng cách kích hoạt các cơ chế điều hòa khác nhau, bao gồm: tình trạng liên quan đến các hoạt động chuyển hóa năng

lượng; các hoạt động liên quan đến phiên mã và dịch mã; tình trạng liên quan đến chuyển hóa nucleotide và hoạt động sinh tổng hợp acid amin và các hoạt động liên quan đến vách tế bào [47]. Quá trình thích ứng này chủ yếu được thực hiện qua trung gian bởi sự kết hợp của mạng lưới điều hòa phiên mã, cho phép vi khuẩn cảm nhận và chuyển đổi các kích thích ngoại bào (stress môi trường) thành một phản ứng tế bào cụ thể, dẫn đến thay đổi biểu hiện gen và hoạt động của các enzyme (truyền tín hiệu). Các nghiên cứu trước đây về EPS ở LAB thường tập trung vào phân tích cụm gen eps, xác định thành phần cấu trúc và tính chất sinh học của EPS. Quá trình sinh tổng hợp EPS được qui định bởi các gen eps. Tuy nhiên, một nghiên cứu cho thấy mặc dù vi khuẩn có chứa cả hai cụm gen quy định sản xuất HePS và HoPS, nhưng ở điều kiện nuôi cấy bình thường chỉ sản xuất một loại HoPS [48]. Điều này có nghĩa là sự tác động của yếu tố di truyền (gen) lên tính chất của EPS phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Nghiên cứu gần đây trên *L. plantarum* dưới các điều kiện stress môi trường đã tìm thấy có sự thay đổi trong mức độ biểu hiện mRNA của các gen kết quả làm thay đổi năng suất và thành phần monosaccharide của EPS thu được *cps4E* và *cps4F* là các gen mã hóa cho glycosyltransferase tham gia vận chuyển các tiền chất chứa đường để tổng hợp nên EPS [49]. Sự tăng biểu hiện của hai gen này làm tăng hàm lượng galactose trong thành phần EPS [50]. Tương tự, các enzyme được mã hoá bởi glmU bao gồm glucosamine-1-phosphate N-acetyltransferase (xúc tác chuyển đổi glucosamine-1-phosphate thành N-acetylglucosamine-1-phosphate) và N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase (xúc tác sự hình thành UDP-N-acetyl-D-glucosamine từ N-acetylglucosamine-1-phosphate) [51]. Sự tăng biểu hiện của gen glmU kết quả tăng tổng thành phần N-acetyl-D-glucosamine. Ngoài ra, có mối tương quan giữa năng suất EPS thu được và sự biểu hiện của gen *cps4H*, một gen mã hóa cho các enzyme liên quan đến quá trình trùng hợp và xuất EPS ra bên ngoài [50]. Như vậy, stress môi trường làm thay đổi tác động của gen lên thành phần EPS. Đây là những thông tin có giá trị để làm rõ hơn

mối quan hệ giữa sự điều hoà biểu hiện gen và sinh tổng hợp EPS ở LAB.

Tăng tổng hợp EPS giúp cải thiện khả năng sống sót của LAB

Sự thích nghi với stress môi trường có thể cải thiện khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic trong quá trình sấy đông khô. Để giải thích cho điều này, các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng có sự tăng cường tổng hợp những yếu tố kháng bên trong tế bào như các protein kháng stress (DnaK, GroEL, Csp) và các chất điều hoà (HrcA, CtsR) [52]. Tuy nhiên, phải thừa nhận rằng việc tăng sản xuất EPS bên ngoài tế bào dưới tác động của stress môi trường cũng là một yếu tố giúp cải thiện sống sót của LAB. Đã có bằng chứng cho thấy có sự liên quan giữa sản xuất EPS và tăng khả năng sống sót của tế bào *L. johnsonii* FI9785 (chủng đột biến tăng sản xuất EPS) cho thấy khả năng kháng stress acid cao hơn so với chủng hoang dại và sự giảm sản xuất EPS làm cho vi khuẩn ít có khả năng sống sót khi có sự hiện diện của muối mật, kháng sinh và stress nhiệt, nhưng làm tăng đáng kể quá trình tự kết dính của vi khuẩn; yếu tố quan trọng đối với sự xâm nhập của vi khuẩn đường ruột [53]. Fedorová et al. (2018) cũng tìm ra mối tương quan tích cực giữa sản xuất EPS và tính kháng của *L. reuteri* với stress pH thấp của đường tiêu hóa [54]. Các chủng *L. delbrusi* subsp. *bulgaricus* B3, G12 và *S. thermophilus* W22 sản xuất EPS cao có khả năng kháng với pH 2 tốt hơn so với các chủng sản xuất EPS thấp [55].

Tương tự, sự thích nghi với stress môi trường làm tăng khả năng sống sót của vi khuẩn trong quá trình sấy đông khô như stress nhiệt dưới ngưỡng gây chết giúp cải thiện khả năng sống sót của *B. bifidum* nhờ sự bao phủ của lớp EPS xung quanh tế bào [4]. Trong suốt quá trình sấy đông khô, EPS hoạt động như một chất bảo vệ lạnh giúp bảo vệ tế bào khỏi bị đóng băng và các ảnh hưởng gây stress của sự mất nước. Các kết quả nghiên cứu đã chứng minh hàm lượng EPS và khả năng sống sót của LAB có mối tương quan với nhau [56]. Hơn nữa, chúng ta biết rằng sự oxy hóa lipid màng trong quá trình sấy sẽ làm hư hỏng cấu trúc vách tế bào của vi khuẩn [57]. Dưới các điều kiện stress môi trường, EPS được tổng hợp với hoạt tính chống oxy hóa cao có thể ức chế hiệu quả quá trình oxy hóa màng, kết quả

làm tăng khả năng sống sót của LAB.

Như vậy, sự tăng tổng hợp EPS giúp tạo thành lớp vi bao xung quanh tế bào một cách chắc chắn hơn. Lớp vi bao này không chỉ bảo vệ làm tăng khả năng sống sót của LAB trong quá trình sấy đông khô mà còn bảo vệ nó khỏi các điều kiện môi trường khắc nghiệt của đường tiêu hóa một khi được sử dụng như một vi khuẩn probiotic. EPS giúp tăng cường sự kết dính của tế bào vi khuẩn vào niêm mạc ruột để thúc đẩy tác dụng điều hòa miễn dịch cũng như kích thích các chức năng trao đổi chất [58–60]. Do đó, stress môi trường có thể là một cách tiếp cận mới trong việc cải thiện khả năng sống sót của các chủng probiotic cho các ứng dụng thực phẩm và dược phẩm.

E. Tiềm năng sử dụng stress môi trường kiểm soát quá trình sinh tổng hợp EPS cho các áp dụng công nghiệp

EPS do LAB sản xuất thể hiện chức năng sinh học đầy hứa hẹn cho các áp dụng khác nhau trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm. Tuy nhiên, năng suất EPS thấp có thể là một vấn đề hạn chế các ứng dụng thương mại. Hiện nay, các nghiên cứu cải tiến sản xuất EPS thường tập trung vào việc tối ưu hóa môi trường nuôi cấy, sử dụng kỹ thuật di truyền cũng như cơ chất lên men giá rẻ [61]. Như đã thảo luận, EPS bảo vệ LAB khỏi các tác động tiêu cực của môi trường. Do đó, stress môi trường có thể thúc đẩy quá trình tổng hợp EPS trong LAB. Khai thác tính năng này hữu ích để cải thiện tính kháng của các probiotic thuộc nhóm LAB và năng suất sản xuất EPS.

Ngoài ra, các chức năng sinh học của EPS như prebiotic, chống oxy hóa, kháng viêm có liên quan đến thành phần monosaccharide của nó. Các thay đổi trong biểu hiện gen dưới tác động của stress môi trường sẽ dẫn đến các thay đổi trong thành phần EPS được tổng hợp. EPS với các thành phần monosaccharide đặc trưng khác nhau thì khác nhau trong hiệu quả điều trị bệnh [62]. Tỷ lệ monosaccharide (galactose > rhamnose > glucose) trong thành phần EPS do *L. reuteri* Mh-001 sản xuất được chứng minh có liên quan đến hoạt động kháng viêm của nó, cụ thể hàm lượng galactose giúp tăng cường tác dụng kháng viêm trên đại thực bào [63]. Tương tự, các EPS chứa

rhamnose đã được sử dụng trong các ứng dụng mĩ phẩm do hoạt tính nhũ hóa cao của chúng [45]. Trong các nghiên cứu xa hơn, kì vọng stress môi trường trở thành một phương pháp hiệu quả làm thay đổi tích cực quá trình sinh tổng hợp để sản xuất các EPS có hoạt tính sinh học nâng cao cho các ứng dụng công nghiệp.

IV. KẾT LUẬN

Stress môi trường kích thích tổng hợp EPS ở LAB tạo thành lớp vi bao bảo vệ giúp cải thiện khả năng sống sót của tế bào. Các enzyme xúc tác cho quá trình tổng hợp EPS được mã hóa bởi các gen eps có liên quan và tác động của yếu tố môi trường có thể làm thay đổi sự biểu hiện của các gen này, dẫn đến thay đổi trong thành phần EPS. Chức năng sinh học của EPS phụ thuộc vào thành phần monosaccharide tham gia cấu tạo nên nó. Sự khác biệt về tỉ lệ và thành phần monosaccharide dẫn đến những khác nhau trong hoạt tính sinh học của EPS. Do đó, nghiên cứu tác động của stress môi trường nhằm làm thay đổi quá trình sinh tổng hợp với mục đích tạo ra EPS mới có hoạt tính sinh học cao sẽ là một chiến lược nghiên cứu đầy hứa hẹn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Broadbent J, McMahon D, Welker D, Oberg C, Moineau S. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: A review. *Journal of Dairy Science*. 2003;86: 407–423.
- [2] Baruah R, Das D, Goyal A. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria: Current trends and applications. *Journal of Probiotics and Health*. 2016;4: 2.
- [3] Nakajima H, Suzuki Y, Hirota T. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. *Journal of Food Science*. 2006;57: 1327–1329.
- [4] Nguyen HT, Razafindralambo H, Blecker C, N'Yapo C, Thonart P, Delvigne F. Stochastic exposure to sub-lethal high temperature enhances exopolysaccharides (EPS) excretion and improves *Bifidobacterium bifidum* cell survival to freeze-drying. *Biochemical Engineering Journal*. 2014;88: 85–94.
- [5] Delcour J, Ferain T, Deghorain M, Palumbo E, Hols P. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1999;76(1): 159–184.
- [6] Kleerebezem M, Hols P, Bernard E, Rolain T, Zhou M, Siezen R, et al. The extracellular biology of the Lactobacilli. *FEMS Microbiology Reviews*. 2010;34: 199–230.
- [7] Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of Lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2008;72(4): 728.
- [8] Chapot-Chartier M-P, Kulakauskas S. Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microbial Cell Factories*. 2014;13(1): S9.
- [9] Neuhaus F, Baddiley J. A continuum of anionic charge: structures and functions of d-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2004;67: 686–723.
- [10] Nguyễn Thanh Huyền, Lê Thị Mai Anh, Nguyễn Thị Bích Thùy, Ngô Xuân Nghiễn, Trần Thị Đào, Phạm Thị Thu Trang và cộng sự. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong thử nghiệm chế biến tạo sản phẩm nấm sò lên men. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 2021;19(3): 379–388. [Nguyen Thanh Huyen, Le Thi Mai Anh, Nguyen Thi Bich Thuy, Ngo Xuan Nghien, Tran Thi Dao, Pham Thi Thu Trang, et al. Isolation, selection and application of lactic acid bacteria for testing process of producing fermented oyster mushroom. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*. 2021;19(3): 379–388].
- [11] Xu X, Peng Q, Zhang Y, Tian D, Zhang P, Huang Y, et al. A novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus coryniformis* NA-3 exhibits antioxidant and biofilm-inhibiting properties in vitro. *Food & Nutrition Research*. 2020;64: 1–13.
- [12] Badel-Berchoux S, Bernardi T, Michaud P. New perspective for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*. 2011;29: 54–66.
- [13] Torino M, Font de Valdez G, Mozzi F. Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6: 834.
- [14] Caggianiello G, Kleerebezem M, Spano G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016;100(9): 3877–3886.
- [15] Lee IC, Caggianiello G, Swam I, Taverne N, Meijerink M, Bron P, et al. Strain-specific features of extracellular polysaccharides and their impact on host interactions of *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016;82: 00306–00316.
- [16] Zhou Y, Cui Y, Qu X. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2019;207: 317–332.
- [17] Kitazawa H, Harata T, Uemura J, Saito T, Kaneko T, Itoh T. Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *International Journal of Food Microbiology*. 1998;40(3): 169–175.
- [18] Elova NA, Kutliyeva GD, Zakiryeva SI. Characterization of exopolysaccharide from *Lactobacillus casei*

- K7/3. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2020;7(7): 506–515.
- [19] Trabelsi I, Ktari N, Slima S, Triki M, Bardaa S, Mnif H, et al. Evaluation of dermal wound healing activity and in vitro antibacterial and antioxidant activities of a new exopolysaccharide produced by *Lactobacillus* sp. Ca 6. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;103: 194–201.
- [20] Jeong D, Kim DH, Kang IB, Kim H, Song KY, Kim HS, et al. Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir. *Food Control*. 2017;78: 436–442.
- [21] Alp AG. Probable Novel Probiotics: Eps production, cholesterol removal and glycocholate deconjugation of *Lactobacillus plantarum* Ga06 and Ga11 isolated from local handmade- cheese. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2020;10(1): 83–86.
- [22] Ishimwe N, Daliri E, Lee B, Fang F, Du G. The perspective on cholesterol lowering mechanisms of probiotics. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015;59(1): 94–105.
- [23] Michael D, Davies T, Moss J, Calvente D, Ramji D, Jr M, et al. The anti-cholesterolaemic effect of a consortium of probiotics: An acute study in C57BL/6J mice. *Scientific Reports*. 2017;7(1): 2883. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02889-5>.
- [24] Rani RP, Anandharaj M, David Ravindran A. Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasseri* FR4 and demonstration of its in vitro biological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;109: 772–783.
- [25] Adesulu-Dahunsi AT, Jeyaram K, Sanni AI, Banwo K. Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. *PeerJ*. 2018;6: e5326–e5326.
- [26] Li B, Du P, Smith EE, Wang S, Jiao Y, Guo L, et al. In vitro and in vivo evaluation of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* KLDS1.8701 for the alleviative effect on oxidative stress. *Food & Function*. 2019;10(3): 1707–1717.
- [27] Náchér-Vázquez M, Ballesteros N, Canales Á, Rodríguez Saint-Jean S, Pérez-Prieto SI, Prieto A, et al. Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate Polymers*. 2015;124: 292–301.
- [28] Ren W, Xia Y, Wang G, Zhang H, Zhu S, Ai L. Bioactive exopolysaccharides from a *S. thermophilus* strain: screening, purification and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;86: 402–407.
- [29] Guo Y, Pan D, Li H, Sun Y, Zeng X, Yan B. Immunomodulatory activity of selenium exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Food Chemistry*. 2013;138: 84–89.
- [30] Wang K, Li W, Rui X, Chen X, Jiang M, Dong M. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;63: 133–139.
- [31] Wang J, Zhao X, Yang Y, Zhao A, Yang Z. Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;74: 119–126.
- [32] Wu J, Zhang Y, Ye L, Wang C. The anticancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2021; 253. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117308>.
- [33] Das D, Baruah R, Goyal A. A food additive with prebiotic properties of an alpha-D-glucan from *Lactobacillus plantarum* DM5. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;69: 20–26.
- [34] Hongpattarakere T, Chertong N, Wichienchot S, Kolida S, Rastall RA. In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*. 2012;87(1): 846–852.
- [35] Balzaretta S, Taverniti V, Guglielmetti S, Fiore W, Minuzzo M, Ngo H, et al. A novel rhamnose-rich hetero-exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus paracasei* DG activates THP-1 human monocytic cells. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016;83: 02702–02716.
- [36] Bengoa A, Llamas-Arriba M, Iraporda C, Dueñas M, Abraham A, Garrote G. Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food Microbiology*. 2017;69: 212–218.
- [37] Kim K, Lee G, Thanh HD, Kim J-H, Konkitt M, Yoon S, et al. Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response. *Journal of Dairy Science*. 2018;101(7): 5702–5712.
- [38] Liu J, Thorp S. Cell surface heparan sulfate and its roles in assisting viral infections. *Medicinal Research Reviews*. 2002;22: 1–25.
- [39] Kubota H, Senda S, Nomura N, Tokuda H, Uchiyama H. Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2008;106(4): 381–386.
- [40] Nguyen P-T, Nguyen T-T, Vo T-N-T, Nguyen T-T-X, Hoang Q-K, Nguyen H-T. Response of *Lactobacillus plantarum* VAL6 to challenges of pH and sodium chloride stresses. *Scientific Reports*. 2021;11(1): 1–9.
- [41] Tho NP, Son LT, Tho NT, Cuong BD, Toan HP, Khanh HQ, Thanh NH. Enhancing the production and monosaccharide composition of exopolysaccharides of *Lactobacillus plantarum* VAL6 by applying thermal stress and increased carbon dioxide concentration. *Microbiology*. 2021;90(4): 527–537.
- [42] Nandal K, Sehrawat AR, Yadav AS, Vashishat RK,

- Boora KS. High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium* sp. (Cajanus). *Microbiology Research*. 2005;160(4): 367–373.
- [43] Petry S, Furlan S, Crepeau MJ, Cerning J, Desmazeaud M. Factors affecting exocellular polysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grown in a chemically defined medium. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66(8): 3427–3431.
- [44] Sanlibaba P, Çakmak G. Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria. *Applied Microbiology*. 2016;2(2). <https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000115>.
- [45] Kumar AS, Mody K, Jha B. Bacterial exopolysaccharides—a perception. *Journal of Basic Microbiology*. 2007;47(2): 103–117.
- [46] Liu Z, Zhang Z, Qiu L, Zhang F, Xu X, Wei H, Tao X. Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(9): 6895–6905.
- [47] Mills S, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross R. Enhancing the stress responses of probiotics for a lifestyle from gut to product and back again. *Microbial Cell Factories*. 2011;10(1): S19.
- [48] Vu THN, Quach NT, Nguyen NA, Nguyen HT, Ngo CC, Nguyen TD, Ho P-H, Hoang H, Chu HH, Phi Q-T. Genome mining associated with analysis of structure, antioxidant activity reveals the potential production of levan-rich exopolysaccharides by food-derived *Bacillus velezensis* VTX20. *Applied Sciences*. 2021;11(15). <https://doi.org/10.3390/app11157055>
- [49] Zeidan A, Kuzina V, Janzen T, Buldo P, Derkx P, Oregaard G, Neves A. Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017;41: S168–S200.
- [50] Le T-S, Nguyen P-T, Nguyen-Ho S-H, Nguyen T-P, Nguyen T-T, Thai M-N, Nguyen-Thi T-U, Nguyen M-C, Hoang Q-K, Nguyen H-T. Expression of genes involved in exopolysaccharide synthesis in *Lactiplantibacillus plantarum* VAL6 under environmental stresses. *Archives of Microbiology*. 2021;203(8): 4941–4950.
- [51] Li Y, Zhou Y, Ma Y, Li X. Design and synthesis of novel cell wall inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* GlmM and GlmU. *Carbohydrate Research*. 2011;346(13): 1714–1720.
- [52] Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich S, Maguin E. Stress response in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2002;82: 187–216.
- [53] Dertli E, Mayer M, Narbad A. Impact of the exopolysaccharide layer on biofilms, adhesion and resistance to stress in *Lactobacillus johnsonii* F19785. *BMC Microbiology*. 2015;15(1): 1–9.
- [54] Fedorová M, Nemcová R, Mudroňová D, Styková E, Brudňáková M, Reiffová K. Exopolysaccharides may increase gastrointestinal stress tolerance of *Lactobacillus reuteri*. *Folia Veterinaria*. 2018;62(4): 24–32.
- [55] Boke H, Aslim B, Alp Avci G. The role of resistance to bile salts and acid tolerance of exopolysaccharides (EPSS) produced by yogurt starter bacteria. *Archives of Biological Sciences*. 2010;62(2): 323–328.
- [56] Nguyen HT, Razafindralambo H, Blecker C, N'Yapo C, Thonart P, Delvigne F. Stochastic exposure to sub-lethal high temperature enhances exopolysaccharides (EPS) excretion and improves *Bifidobacterium bifidum* cell survival to freeze-drying. *Biochemical Engineering Journal*. 2014;88: 85–94.
- [57] Teixeira P, Castro H, Kirby R. Evidence of membrane lipid oxidation of spray-dried *Lactobacillus bulgaricus* during storage. *Letters in Applied Microbiology*. 1996;22(1): 34–38.
- [58] Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103(16): 6463–6472.
- [59] Carvalho FM, Teixeira-Santos R, Mergulhao FJM, Gomes LC. Effect of *Lactobacillus plantarum* biofilms on the adhesion of *Escherichia coli* to urinary tract devices. *Antibiotics*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080966>.
- [60] Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. Biofilm Matrixome: Extracellular components in structured microbial communities. *Trends in Microbiology*. 2020;28(8): 668–681.
- [61] Xu Y, Cui Y, Yue F, Liu L, Shan Y, Liu B, Zhou Y, Lü X. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and *Bifidobacteria*: Structures, physiochemical functions and applications in the food industry. *Food Hydrocolloids*. 2019;94: 475–499.
- [62] Wang Q, Wang F, Xu Z, Ding Z. Bioactive mushroom polysaccharides: A review on monosaccharide composition, biosynthesis and regulation. *Molecules*. 2017;22(6). <https://doi.org/10.3390/molecules22060955>.
- [63] Chen YC, Wu YJ, Hu CY. Monosaccharide composition influence and immunomodulatory effects of probiotic exopolysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;133: 575–582.

