Evaluation of the cytotoxic, antioxidant, and antitumor effects of Exopolysaccharide extracted from *Lactobacillus plantarum* isolated from traditional dairy products of Guilan province

Farshid Farajollah Nia[1], **Masoumeh Anvari**[1*], Khosro Issazadeh[2]

1. Department of Biology, Ra.C., Islamic Azad University, Rasht, Iran
2. Department of Microbiology, La.C., Islamic Azad University, Lahijan, Iran

Received Date:2025.07.28 Accepted Date:2025.8.21

Abstract

Exopolysaccharides derived from lactic acid bacteria have proven beneficial and nutritional properties. Therefore, this study aimed to evaluate the anticancer, antioxidant, and antitumor effects of polysaccharides extracted from lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products in Guilan province in order to select exopolysaccharide-producing strains for therapeutic and industrial purposes. In this study, bacteria isolated from traditional dairy products in Guilan province. Exopolysaccharides extraction was performed and the presence of their producing genes was confirmed. Also, their antioxidant and anticancer properties were evaluated on breast cancer cell line (MCF7) using MTT assay. In this study, 7 bacteria isolated from traditional dairy products of Guilan province that had probiotic properties and were capable of producing exopolysaccharides were screened and phenotypic and genotypic identification were performed. Also, antioxidant and antitumor properties were evaluated by the free radical assay method of 1 and 1-dimethyl-2-pyridylhydrazine and lactate dehydrogenase enzyme, respectively, and their anticancer effect on breast cancer cell line (MCF7) was evaluated by the MTT test. The results indicated that all seven isolates had probiotic properties. The best isolate with the highest exopolysaccharide production in molecular identification was *Lacnobacillus plantarum*. The presence of exopolysaccharide-producing genes in the isolates was. The highest toxicity against the MCF7 breast cancer cell line by the best sample IC50 was 7.83 mg/L. Also, the extracted exopolysaccharide of the best isolate showed strong antioxidant and antitumor properties. The use of extracted exopolysaccharide after confirmation and supplementary tests in the inventory is recommended for therapeutic uses.

Keywords: antioxidant; antitumor; exopolysaccharide; Lactobacillus

* Anvari@iau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

Evaluation of the cytotoxic, antioxidant, and antitumor effects of Exopolysaccharide extracted from *Lactobacillus plantarum* isolated from traditional dairy products of Guilan province

EXTENDED ABSTRACT

Introduction:

Chemotherapy and radiotherapy are the main cancer treatments that have many side effects and damage normal organs including bone marrow, kidneys, oral mucosa and other important tissues. In addition, these common treatments often lead to inflammation and lymphadenopathy. Lactic acid bacteria have anticancer properties because they induce apoptosis in cancer cells. Exopolysaccharide is one of the lactic acid products and various studies indicate its antitumor effect on gastric, liver and breast cancer masses. Therefore, they are candidates for use as a complementary or alternative to conventional treatments. Exopolysaccharide of lactic acid bacteria has antioxidant and antitumor, antiangiogenic and anti-inflammatory properties. Considering the diversity of dairy products and their high consumption in the province, this research aimed to isolate and identify types of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria and also to investigate the antioxidant and antitumor properties of the extracted exopolysaccharide.

Material and methods:

The samples were prepared and after dilution were cultuered on MRS broth medium after 24 anaerobic incubation and then all of them were subcultured on MRS agar with the same incubation conditions. After bacterial isolation the evaluation of probiotic and safety properties such as salt and acid tolerance, antagonistic effect against some bacterial pathogenes and antibiotic resistance were assayed.From all of isolates 7 bacteria from traditional dairy products of Guilan province with probiotic properties. Extraction, isolation, and purification of exopolysaccharide culture medium of lactic acid bacteria was also performed. The extracted EPS was collected and dialyzed (Mw cut-off: 8,000-14,000 Da) with three changes of water per day for 3 days. The dialysate was then lyophilized, and collected as crude EPS. In primary screening Those were capable of exopolysaccharides were selected, phenotypic and genotypic identification also were done with amplification of 16SrRNA gene. Then the presence of the exopolysaccharide producing genes was confirmed. Also, antioxidant properties were evaluated using the 1- and 1-dimethyl-2-pyridylhydrazine free radical determination.The ability of EPS to scavenge DPPH radicals was determined using the procedures described by Kao and Chen (2006)

Ascorbic acid has traditionally been utilized as a free radical scavenger. The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT) test was used to assess cytotoxicity. The cells (100 ml, MCF7, CaCo2, and HepG2) were seeded at a density of 6 × 104 cells/ml in 96-well microplates and treated with different EPS preparations at various concentrations (0.625–20 mg/ml). The optical density of the formazan solution was determined using a BIORAD Micro-Plate ELISA Reader

at 490 nm. Additionally, to ensure that the extrated EPSs are safe for normal cells, their inhibitory effects on the normal HEK 293 cell line were determined. Because MTT decreases only in metabolically active cells, activity is a proxy for cell viability. The EPS extracts were tested in triplicate on the five cell lines, and the viability of the cells was estimated the IC50 values for EPS were calculated using the graphpad prism 9 program and indicate a 50% reduction in growth when compared to control cells (untreated cells).

Also, the lactate dehydrogenase enzyme assay, was used for antitumor effect analysis of exopolysaccharid., and their anticancer effect on breast cancer cell line (MCF7) was evaluated using the MTT assay.

In order to analyze the chemical groups of the produced exopolysaccharides, the FTIR analysis was performed in Advanced Materials Testing Laboratory in Islamic Azad University of Rasht branch.

Results:

The amount of exopolysaccharide produced by different isolates was different. 19 isolates were isolated from traditional dairy products, of which 7 isolates were capable of producing exopolysaccharides, and this number of isolates was selected as the best in terms of production amount and tested for the next stages. The overall statistical analysis showed a significant difference in EPS production between this and the other isolates ($P<0.05$). 7 isolates were exopolysaccharide producers. They were numbered from L1 to L7, respectively. After purification and quantitative measurement of production, the results showed that all producing strains showed exopolysaccharide production rates between 3.102 and 8.771 g/L. The best production was related to isolate E6 and the lowest production was related to isolate E2. All isolates were gram positive, without the ability to produce endospore and

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

catalase negative, and the best producer was L2. The results indicated that all of seven isolates had probiotic properties. The best isolate with the highest exopolysaccharide production in molecular identification was Lacnobacillus plantarum. The presence of exopolysaccharide-producing genes in the isolates were confirmed. The highest toxicity against the MCF7 breast cancer cell line by the best sample, IC50 was 7.83 mg/L. he highest antioxidant property of the polysaccharide isolate was at a concentration of 20 mg/ml, at 63.20 ± 2.00. With increasing exopolysaccharide concentration, antioxidant activity also increased ($P<0.05$). Also, the extracted exopolysaccharide of the best strain showed strong antitumor properties. The results of the evaluation of the exopolysaccharides of the two superior isolates L1 and L2 using IC50 determination in treated and untreated MCF7 cell lines indicated a more than twofold increase in the release of lactate dehydrogenase enzyme in both types of exopolysaccharides compared to the control ($p<0.05$).

Discussion:

The exopolysaccharide produced by the best strain isolated from traditional dairy products of Guilan shows a wide range of biological activities including antioxidant, antitumor and proliferative properties and as a result it can be considered as a potential natural agent for the development of new therapeutic strategies. In addition, due to its extraordinary cytotoxic effect at IC50 value in cancer cells, EPS5 can be used in medical research as a potential antitumor agent. As a result, its potential to replace chemotherapy drugs in the future should be considered along with safety issues. Overall, the exopolysaccharide of lactic acid bacteria has significant therapeutic potential especially in antioxidant, antitumor fields, however, further research is necessary to fully understand its mechanism of action in each case.

.

.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

ارزیابی اثرِ سمیت سلولی، آنتی اکسیداتیو وضد توموری پلی ساکارید استخراج شده از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جدا شده از لبنیات سنتی استان گیلان

فرشید فرج الله نیا [۱]، **معصومه انوری***[۱]، خسرو عیسی زاده [۲]

۱) گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

۲) گروه زیست‌شناسی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۵/۳۰

چکیده

اگزوپلی ساکارید مشتق از باکتریهای اسید لاکتیک دارای خواص درمانی و تغذیه ای مفید و ثابت شده ای می باشند. لذا این تحقیق با هدف ارزیابی اثرِ ضد سرطانی آنتی اکسیداتیو وضد توموری پلی ساکارید استخراج شده از باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از لبنیات سنتی استان گیلان بمنظور انتخاب سویه های مولد اگزوپلی ساکارید برای اهداف درمانی وصنعتی انجام شد. در این تحقیق ۷ باکتری جدا شده از لبنیات سنتی استان گیلان که از خواص پروبیوتیکی برخوردار وقادر به تولید اگزوپلی ساکارید بودند، غربالگری وشناسایی فنوتیپی ژنوتیپی شدند. سپس تولید فنونیپی و استخراج اگزوپلی ساکارید انجام وتایید حضور ژنهای مولدانجام شد.همچنین خواص آنتی اکسیدانیووضد توموری بترتیب با روش ارزیابی سنجش رادیکال آزاد ۱ و ۱-دی متیل-۲پیریدیل هیدرازین وآنزیم لاکتات دهیدروژناز ارزیابی و اثرضد سرطانی آنها برروی رده سلول های سرطانی پستان (MCF7) با آزمون MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که هر هفت جدایه از خواص پروبیوتیکی برخوردارند .بهترین جدایه با بیشترین تولید اگزوپلی ساکارید در شناسایی مولکولی باکتری لاکنوباسیلوس پلانتاروم بود.حضور ژنهای مولد اگزوپلی ساکارید در جدایه ها بود .بیشترین میزان سمیّت علیه رده سلولی سرطان پستان MCF7 توسط بهترین نمونه IC50 برابر با ۷/۸۳ میلی گرم بر لیتربود. همچنین اگزوپلی ساکارید استخراجی بهترین جدایه خاصیت آنتی اکسیدانی , ضد توموری قوی از خود نشان داد. استفاده از اگزوپلی ساکارید استخراجی پس از آزمایشات تاییدی وتکمیلی درون موجودی جهت مصارف درمانی توصیه میگردد.

کلید واژه ها : لاکتوباسیلوس ، اگزوپلی ساکارید،آنتی اکسیداتیو،ضد تومور

* Anvari@iau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مقدمه

پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم هایی زنده هستند که استفاده از مقادیر کافی از آنها سبب بهبود سلامتی میزبان شده و باعث پیشگیری از بیماری ها می گردد.(۱). اغلب این باکتری ها به جنسهای لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند ودر کنترل التهاب مانند سندروم روده ملتهب[1] ، بیماری التهابی روده[2] ، برخی انواع آلرژی حائز اهمیت هستند. (۲).. همچنین نقش آنها در هموستازی اپی تلیال و نیز پاسخ های ایمنی و همچنین فعالیت ضد توموری اثبات شده است.(۳).

در حال حاضر محققان به دنبال یافتن روش هایی برای درمان کم خطر و کم عارضه سرطان ها هستند. لذا خواص ضدتوموری باکتری های اسیدلاکتیک در این خصوص بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۴).

شیمی درمانی و پرتودرمانی از درمان های اصلی سرطان هستند که عوارض سوء بسیاری دارند و به ارگانهای طبیعی شامل مغز استخوان ، کلیه ها ، مخاط دهان و سایر بافتهای مهم آسیب وارد می کنند. بعلاوه این شیوه های درمانی رایج غالباً منجر به التهاب و لفنودنو پاتی می شوند(.5) .

باکتری های اسید لاکتیک خواص ضد سرطانی دارند زیرا آپاپتوز را در سلولهای سرطانی القا می کنند.(۶).اگزوپلی ساکارید از ترکیباتی است که توسط آنها تولید می شود و تحقیقات مختلف حاکی از اثر ضد توموری آن بر توده های سرطانی معده، کبد و پستان است. لذا آنها را کاندید استفاده به عنوان درمان مکمل یا جایگزین درمان های رایج، می سازد. اگزوپلی ساکارید باکتریهای اسید لاکتیک دارای خواص آنتی اکسیدانی و آنتی تومورال ضد رگزایی و ضد التهابی است (7).

با توجه به تنوع محصولات لبنی استان گیلان و میزان مصرف بالای آنها در سطح استان، این تحقیق با هدف جداسازی و شناسایی انواع باکتری های اسید لاکتیک تولید کننده اگزوپلی ساکارید و نیز بررسی خواص آنتی اکسیدانی و آنتی تومورال اگزوپلی ساکارید استخراج شده، صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

تهیه نمونه

در ظروف یکبار مصرف استریل، از نمونه محصولات لبنی تولید شده در استان گیلان مانند ماست، پنیرو شیر، نمونه برداری صورت پذیرفت .بر اساس فرمول کوکران تعداد ۵۰ نمونه تهیه و در دمای یخچال (۴ درجه سانتی گراد) تا زمان انتقال به آزمایشگاه نگهداری شد.

جداسازی باکتریهای اسید لاکتیک

از نمونه های تهیه شده لبنیات پس از هموژن سازی با سرم فیزیولوژی استریل با استفاده از فیلدوپلاتین استریل به محیط MRS Broth کشت داده شد. نمونه ها به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری شدند. همچنین با استفاده از فیلدوپلاتین استریل شده از نمونه لبنیات هموژن در محیط(de Man Rogosa Sharp Agar) MRS Agar حاوی کلو تریمازول یک درصد کشت چهار منطقه ای داده شد و نمونه ها به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت در اینکوباتور ۳۷.۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند.

غربالگری جدایه های مولد اگزوپلی ساکارید

بدین منظور ۱۰۰ سی سی از این محیط کشت، ۶.۸ گرم MRS Agar، ۰.۵ گرم کربنات کلسیم و ۱۰ گرم سوکروز (۱۰ ٪ حجمی) به همراه ۰.۵ گرم عصاره مخمر توزین شد. بعد از جوشاندن و شفاف شدن محیط استریل گردید و در پلیت ها تقسیم شد. محیط کشت حاصل یه محیط کدر است که شفاف شدن محیط بعد از رشد باکتری و ایجاد کلنی های

[1] IBS inflammatory bowel syndrome

[2] IBD inflammatory bowel disease

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

کشسان و مخاطی به منزله توانایی باکتری در تولید اگزوپلی ساکارید در نظر گرفته شد.(8) پس از تایید اولیه تولید غربالگری مولکولی تولید وحضور ژنها واندازه گیری میزان تولید انجام شد.

ذخیره سازی باکتریها

ذخیره سازی باکتری در گلیسرول ۲۰ درصد انجام شد در میکروتیوپ ها به میزان و در تعدادی به میزان (۰.۲ سی سی) گلیسرول و ۰.۸ سی سی آب مقطر ریخته و میکروتیوپ ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی گراد استریل شدند. سپس کلنی های خالص باکتری با فیلدوپلاتین استریل به آن ها تلقیح و تا زمان مصرف در فریز -۲۰نگهداری شدند.

شناسایی فنوتیپی وژنوتیپی باکتریها

کلنی های رشد کرده از نظر قطر، اندازه کلنی، رنگ کلنی و نوع کلنی مورد بررسی قرار داده شدند و باکتری های مشکوک به لاکتیک اسید شناسایی گردیدند.رنگ امیزی گرم وازمایش کاتالازو همولیز ،تحمل غلظتهای مختلف نمک ونیز تحمل pH اسیدی ونیز تست تخمیر قند های مختلف بر اساس پروتکل استاندارد انجام شد.. (۹) .

پس از استخراج DNA ژنومی بر اساس پروتکل کیت جهت شناسایی باکتری های جدا شده، از پرایمر 16s rRNA با توالی ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد:

جدول۱- توالی پرایمر مورد استفاده برای تکثیر ژن کد کننده *16srRNA*

F: 5`CCAGCAGCCGCGGTAATACG3
R: 5`ATCGGCTACCTTGTTACGACTTC3`

بر اساس جدول ۲ حجم مورد نیاز از محصول برای انجام برنامه PCR تهیه گردید:

جدول2 حجم مورد نیاز از مواد برای انجام برنامه PCR

مسترمیکس	۱۰ میکرولیتر
پرایمر Forward	۰.۴ میکرولیتر
پرایمر Reverse	۰.۴ میکرولیتر
DNA	۰.۵ میکرولیتر

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

واکنش PCR طبق برنامه دمایی جدول ۳ صورت پذیرفت:

جدول ۳- برنامه دمایی واکنش PCR

دناتوراسیون اولیه	دمای ۹۴ درجه سانتی گراد	۵ دقیقه	۳۵ چرخه
دناتوراسیون ثانویه	دمای ۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۵ چرخه
دمای اتصال	۵۷ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۵ چرخه
گسترش	۷۲ درجه سانتیگراد	۷۵ ثانیه	۳۵ چرخه
طویل شدن نهایی	۷۲ درجه سانتیگراد	۵ دقیقه	

الکتروفورز محصول بر روی ژل آگارز

محصول حاصل شده از واکنش PCR بر روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شد. با استفاده از بافر TBE ژل تهیه و به وسیله safe stain رنگ آمیزی شد. نمونه ها رد چاهک های موجود در ژل ریخته شد و الکتروفورز با ولتاژ ۹۰ برای مدت ۰.۵ ساعت صورت پذیرفت. سپس باندهای حاصل از الکتروفورز در زیر دستگاه آشکار ساز UV بررسی شد. محصولات حاصل جهت تعیین توالی به شرکت رهپویان ویستا کاوش ژن در چین ارسال شد.

تست بررسی عدم همولیز

برای انجام این تست ۲.۸ گرم از محیط کشت Nutrient agarوزن شده و در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید، پس از جوشاندن و شفاف شدن محیط در ۱۲۱ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو و استریل شد، پس از خنک شدن محیط و قبل از بسته شدن آگار، خون گوسفندی استریل به محیط افزوده شد و سپس در پلیت ها تقسیم گردید.

از نمونه های براث حاوی کدورت مناسب باکتری در پلیت های آگار بسته شده با استفاده از لوپ استریل کشت خطی کوتاه داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷.۵ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. با در نظر گرفتن این مورد که باکتری های اسیدلاکتیک معرف یک پروبیوتیک، همولیز منفی هستند، انتظار میرود که عدم همولیز توسط این باکتری ها مشاهده شود (۱۰).

تست مهار رشد پاتوژن ها

اثر بازدارندگی رشد پاتوژن ها توسط روش انتشار چاهک انجام شد. برای این منظور کشت تازه MRS براث ۲۴ ساعته از باکتری های اسیدلاکتیک تهیه و با دور ۳۵۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از باکتری های اشریشیا کلی (ATCC 25922)، سودوموناس ائروزینوزا (ATCC۲۷۸۵۳)، اسینتو باکتر بومانی (ATCC1605) واستافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) تهیه شده از بانک میکروبی سازمان پژوهشهای علمی وصنعتی ایران قرار داده شدند در محیط کشت نوترینت آگار کشت چمنی تهیه شد و چاهک هایی به عمق ۵ میلی متر در آگارها ایجاد گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژ شده به هر چاهک افزوده شد و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوبارتور ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند.

ایجاد هاله ی روشن در اطراف چاهک ها به منزله اثر بازدارندگی یا مهار رشد پاتوژن ها توسط باکتری های اسیدلاکتیک در نظر گرفته شد.(11)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

تست دیسک دیفیوژن

محیط کشت MRS Agar تهیه و در پلیت های ۱۰ سانتی تقسیم شدند. سپس از تک کلنی های خالص، سوسپانسون میکروبی با رقت ۰.۵ مک فارلند تهیه و با استفاده از سوآپ استریل در محیط کشت MRS Agar به صورت چمنی کشت داده شدند.

بر اساس استاندارد CLSIبعد از کشت در هر پلیت ۱۲ دیسک آنتی بیوگرام (آمپی سیلین ۱۰ µg، استرپتومایسین ۱۰ µg، جنتامایسین ۱۰ µg، کانامایسین ۱۰ µg، لینزولید ۳۰ µg، تتراسایکلین ۳۰ µg، ونکومایسین ۳۰ µg ، سیپروفلوکساسین ۵ µg، کلرامفنیکل ۳۰ µg، ریفامپین ۵ µg، کلیندامایسین ۲ µg و اریترومایسین ۱۵ µg) تحت شرایط استریل و با استفاده از پنس استریل به کشت منتقل شدند. پلیت های حاوی دیسک های آنتی بیوگرام با استفاده از پارافیلم بسته شدند و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷.۵ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. بعد از ۴۸ ساعت پلیت ها بررسی و با استفاده از خط کش قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد. این آزمایش در ۲ تکرار انجام شد.(12)

ارزیابی فنوتیپی تولید اگزوپلی ساکارید

برای انجام این آزمایش باکتری های مورد نظر در محیط کشت سنتتیک حاوی کربنات کلسیم کشت چمنی داده شدند، سپس به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت پلیت ها در در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اینکوبه گردیدند. شفاف شدن محیط آگار به منزله توانایی تولید اگزوپلی ساکارید توسط این باکتری ها در نظر گرفته شد.

جداسازی،ارزیابی کمی وتخلیص اگزوپلی ساکارید

محیط کشت باکتری‌های اسید لاکتیک به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش حرارت داده شد تا آنزیم‌ها غیرفعال شوند، سپس در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد محیط قرار داده شدند. سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه، ۵۵۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتیگراد) برای حذف سلول‌ها و پروتئین‌های منعقد شده انجام شد و سپس مایع رویی جمع‌آوری شد. تری کلرواستیک اسید (۸۰٪، w/v) به مایع رویی اضافه شد تا غلظت نهایی ۴٪ (w/v) با هم زدن ملایم به دست آید و محلول به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. پروتئین‌های رسوب‌شده با سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه، ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) حذف شدند و محلول رویی با اضافه کردن آهسته چهار حجم از الکل اتیلک خالص از پیش سرد شده و انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب رسوب داده شدو با سانتریفیوژ در توضیح داده شد (۱۵ دقیقه، ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد جمع‌آوری شد. رسوبات دیالیز شدند (Mw cutoff:8000-14000Da) و به مدت ۳ روز سه بار آب در روز تعویض شد. سپس محصول به عنوان EPS خام جمع‌آوری شد (۳۲).

بررسی ژنوتیپی تولید اگزوپلی ساکارید

برای بررسی ژنوتیپی تولید اگزوپلی ساکارید در نمونه های حاصل از لبنیات، پرایمرهای مربوطه پس از مرور منابع از شرکت زیست فناوری پیشگام تهیه شد(جدول۴) (۱۳).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

جدول ۴ – لیست پرایمرهای مربوط به ژن های اگزوپلی ساکارید (۱۳)

نام ژن	پرایمر مربوط به ژن های اگزو پلی ساکارید
esp A	F:TAGTGACAACGGTTGTACTG R: GATCATTATGGACTGTCAC
esp B	F: CGTACGATTCGTACGACCAT R: TGACCAGTGACACTTGAAGC
Glucansucrase genes	F:GAYAAYWSIAAYCCIRYIGTIC R:ADRTCICCRTARTAIAVIYKIG
Fructansucrase genes	F: GAYGTITGGGAYWSITGGC R: TCITYYTCRTCISWIRMCAT

از باکتری استاندارد لاکتو باسیلوس کازیی PTCC 1608به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

اندازه گیری ویسکوزیته

محلول دو درصد وزنی/حجمی اگزوپلی ساکارید تهیه و وسکوزیته آن در دمای C ۲۵ با استفاده از دستگاه ویسکوزیته متر در دو pH متفاوت (۴.۶ و ۷) اندازه گیری شد و همزمان ویسکوزیته محیط کشت مایع در فواصل زمانی مختلف اندازه گیری شد، انجام شد (خصوصیات دستگاه) و در محدوده بین cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ خصوصیات اگزوپلی ساکارید بررسی گردید. (14)

سنجش FTIR

طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR) یکی از روش‌های پیشرفته و پرکاربرد در شناسایی ترکیبات شیمیایی و تعیین ساختار مولکولی مواد است. این روش بر اساس جذب پرتوهای مادون قرمز توسط پیوندهای شیمیایی موجود در مولکول‌ها عمل می‌کند. هر پیوند شیمیایی انرژی مشخصی از پرتوهای مادون قرمز را جذب می‌کند که این انرژی‌ها به صورت پیک‌های مشخص در طیف FTIR ظاهر می‌شوند. تحلیل این پیک‌ها اطلاعات دقیقی درباره گروه‌های عاملی و ساختار شیمیایی ماده ارائه می‌دهد.

در این روش، نمونه (جامد، مایع یا گاز) آماده‌سازی شده و در مسیر پرتو مادون قرمز قرار می‌گیرد. پرتو مادون قرمز از نمونه عبور کرده یا از سطح آن منعکس می‌شود و بخشی از آن جذب می‌گردد. داده‌های حاصل توسط دستگاه FTIR جمع‌آوری و با استفاده از تبدیل فوریه(Fourier Transform) به طیفی تبدیل می‌شوند که محور افقی آن طول موج یا عدد موج و محور عمودی آن شدت جذب یا انتقال است.

روش FTIR در شناسایی ترکیبات آلی و معدنی، بررسی ساختار و خلوص مواد، آنالیز پلیمرها، کنترل کیفیت در صنایع مختلف، و مطالعات زیستی و محیط‌زیستی کاربرد گسترده‌ای دارد. به منظور انالیز گروههای شیمیایی اگزوپلی ساکاریهای تولیدی از ذستگاه موجود در آزمایشگاه پیشرفته سنجش مواد در واحد رشت استفاده شد.(15)

کشت سلولی

ازمحیط کشت DMEM و رده سلولی HEK 293 به عنوان شاهد استفاده شد و نیز از رده سلولی MCF7 تهیه شده توسط شرکت تحقیقاتی بهتا در استان گیلان به عنوان رده سلولی سرطان پستان استفاده گردید. تمامی کشت ها در محیط حاوی ۲ میلی مول L– کلوتامین، سرم جنین گوساله (1%) (FBS)، و نیز میزان ۱٪ ترکیب پنی سیلین و استرپتومایسین در دمای C ˚۳۷ به مدت ۲۴ ساعت در حضور ۵٪ دی اکسید کربن، کشت داده شدند (16).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با سنجش رادیکال آزاد ۱ و ۱-دی متیل-۲پیریدیل هیدرازین انجام شد.

توانایی اگزوپلی ساکارید در پاکسازی رادیکال DPPH با روش Kao و همکاران (2006) ارزیابی شد. ۵ میلی لیتر از محلول ۲٪ درصد این رادیکال آزاد به ۵ میلی لیتر از محلول اگزوپلی ساکارید با غلظت بین 0.625-20 mg/ml اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه لوله ها در اتاق تاریک قرار داده شد و سپس جذب نوری مخلوط با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵/۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل 2401 شیماتسو ژاپن اندازگیری شد. آزمایش ۳ بار تکرار شد و میانگین ثبت گردید و توانایی پاکسازی از فرمول زیر محاسبه شد. همچنین ا ز اسکوربیک اسید به عنوان کنترل استفاده شد.

$$\text{میزان پاکسازی رادیکال آزاد} = 100 \times \left[1 - \frac{A_c - A_s}{A_c}\right]$$

A_c= میزان جذب نوری کنترل

A_s= میزان جذب نوری محلول استاندارد/ یا نمونه

نتایج در مقایسه با نمونه استاندارد، تحلیل گردید.(17)

ارزیابی سمیت سلولی

آزمایش MTT با استفاده از ماده ۳-(۴ و ۵ دی متیل تیازول-۲- میل) -۲ و۵- دی فنیل تترازولیوم بروماید (ساخت کارخانه مرک) به منظور تعیین غلظت ممانعت کننده پنجاه درصد انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی MCF7 با دانسیته ۶۸/۰۴ سلول در هر میلی لیتر در میکروپلیتهای ۹۶ خانه ریخته و به آن غلظتهای مختلف اجزوپلی ساکارید اضافه شد. (0.625-20mg/ml)

همچنین به طور مشابه برای حصول اطمینان از عدم سمیت اگزوپلی ساکارید بر سلول های سالم پلیت های حاوی سوسپانسیون سلولی HEK293 نیز در میکروپلیت ریخته شده و عصاره پلی ساکارید با همان غلظت ها اضافه گردید. از آنجا که MTT تنها در سلول های در حال متابولیسم فعال کاهش می یابد لذا فعالیت نشانه زنده مانی سلول است. درصد زنده مانی سلولها از طریق معادله زیر با استفاده از روش خوانش الیزا در میکروپلیتهای ۹۶ خانه در طول موج ۴۹ نانومتر اندازگیری شد. (18)

$$\text{درصد زنده مانی} = \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

ارزیابی عملکرد آنزیم لاکتات دهیدروژناز

به منظور ارزیابی اثر آنتی تومورال اگزوپلی ساکارید از ارزیابی میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز استفاده شد. پس از تیمار سلول های سرطانی با اگزوپلی ساکارید میزان نشست آنزیم از عرض غشاء ، در واقع میزان آسیب وارد به غشاء سلول سرطانی را مشخص می کند. سلول های سرطانی ۲۴ ساعت در معرض غلظت IC_{50} اگزوپلی ساکارید قرار گرفتند و سپس فعالیت آنزیم LDH در کشت ارزیابی شد. ارزیابی کمی براساس تغییر رنگ پس از افزودن مراحل مختلف کیت تعیین فعالیت آنزیم انجام شد. پس از عمل آنزیم NAD در طول موج ۴۵۰ نانومتر احیا و به NADH تبدیل شد و تغییر رنگ توسط Reader خوانش می شود و فعالیت آنزیم براساس فرمول زیر محاسبه می گردد.(19)

$$\text{سطح فعالیت آنزیم (نانومول/ لیتر)} = \frac{B}{\text{دقت نمونه} \times (\Delta T \times V)}$$

B= مقدار NADH تولید شده حاصل از تغییرات T $(T_2 - T_1 = \Delta T)$

T_1= زمان اولین خوانش بر حسب دقیقه

T_2=زمان دومین خوانش بر حسب دقیقه

V= حجم نمونه تیمار شده در تست واکنش بر حسب میلی لیتر

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

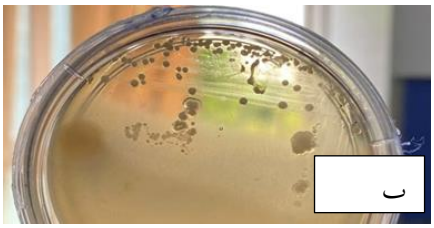
نتایج

میکروارگانیسم

مقدار اگزوپلی ساکارید تولید توسط جدایه های مختلف متفاوت بود. ۱۹ جدایه از محصولات لبنی سنتی جداسازی گردید که ۷ جدایه قابلیت تولید اگزوپلی ساکارید داشتند و این تعداد جدایه بهتراز نظر مقدار تولیدانتخاب و برای مراحل بعدی مورد آزمایش قرار گرفت. آنالیز آماری کلی از اختلاف معنادار تولید EPS بین این جدایه با سایر جدایه ها بود ($P<0.05$) .۷ جدایه مولد اگزوپلی ساکارید بودند. که به ترتیب از L_1 تا L_7 شماره گذاری گردیدند تمامی جدایه ها گرم مثبت، بدون توانایی تولید اندوسپور و کاتالاز منفی بودند و بهترین جدایه مولد L_2 بود.

شکل ۱ به ترتیب تصویر کلنی باکتر ی مولد اگزوپلی ساکارید در محیط MRS AGARوشفافیت اطراف کلنیها را در محیط MRS AGARحاوی سوکرزرا نشان میدهد.تشکیل هاله شفاف نشانه تاییدی بر تولید است





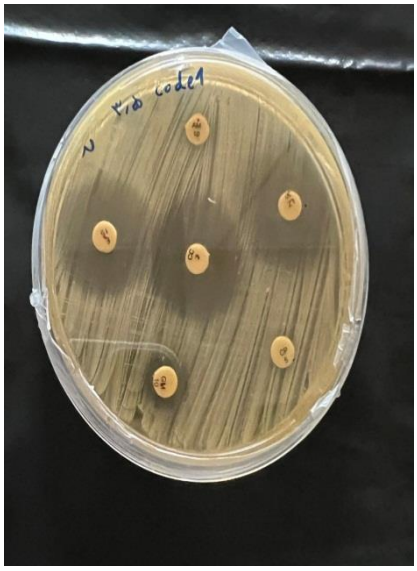
شکل ۱ –الف کلنی باکتر ی مولد اگزوپلی ساکارید در محیط MRS آگار

ب شفافیت اطراف کلنیها در محیط MRS AGARحاوی سوکرز

نتایج آزمون دیسک دیفیوژن

باکتری های اسیدلاکتیک دارای مقاومت ذاتی به خانواده آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین)، کینولون ها (سیپروفلوکساسین)، لینکوزآمیدها (کلیندامایسین) و گلیکوپپتیدها (ونکومایسین) هستند. اکثر نمونه های جدایه ها حاصل از لبنیات سنتی به آنتی بیوتیک وانکومایسین وسیپروفلوکساسین مقاومت نشان دادند.نتایج اندازه گیری قطر هاله های عدم رشدوتفسیر نتایج در جدول ۵آورده شده است.هچنین نمونهای از نتایج آزمایش دیسک دیفیوژن جدایه ها در شکل ۲ ارائه شده است.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل۲-نمونهای از تست آنتی بیوگرام جدایه ها

همانطور که در تصویر مشاهده میشود قطر هاله های بیش از ۱۴ میلیمتر نشانه حساسیت به آنتی بیوتیکهای مورد نظر میباشد

جدول ۵ - اندازه قطر هاله های تست دیسک دیفیوژن بر حسب میلی متر

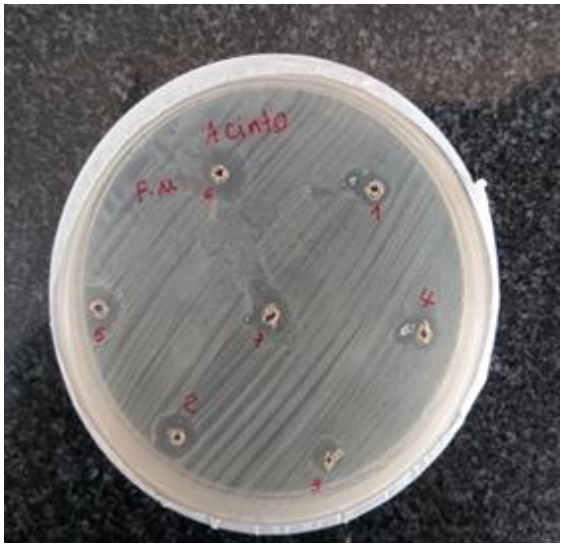
S	GM	AM	CP	RA	LZ	E	CC	K	V	TE	C	کد باکتری
0	10	15	0	29	28	27	29	0	0	20	30	L1
17	14	18	15	29	37	35	33	16	0	32	29	L2
0	15	12	0	27	25	26	15	0	0	28	28	L3
16	17	16	0	28	36	30	22	15	0	20	31	L4
12	13	15	0	22	38	29	10	0	0	21	32	L5
0	18	17	0	29	40	33	0	0	0	28	40	L6
0	8	21	0	27	34	28	0	0	0	20	30	L7

توضیح: (S: استرپتومایسین، GM: جنتامایسین، AM: آمپی سیلین، CP: سیپروفلوکساسین، RA: ریفامپین، LZ: لینزولید، E: اریترومایسین، CC: کلیندامایسین، K: کاناماسین، V: ونکومایسین، TE: تتراسایکلین، C: کلرامفنیکل)

نتایج تست مهار رشد پاتوژن ها

. مطابق شکل ۳ ایجاد هاله شفاف در اطراف چاهک ها به منزله مهار رشد پاتوژن ها توسط باکتری های اسیدلاکتیک در نظر گرفته شد.نتایج از ۱+ تا ۴+ بترتیب قطر هاله های ۴و۸و۱۲ و۱۶ میلیمتر یادداشت شد. .بیشترین اثر مهاری مربوط به جدایه L2 با قطر هاله ۱۶ میلیمترعلیه باکتری اسینتو باکتر بومانی (ATCC1605)ثبت گردید.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل ۳ – نمونه ای از اثر مهاری اگزوپلی ساکارید استخراجی علیه باکتری *استیتو باکتر بومانی*

ویسکوزیته

ویسکوزیته محیط های کشت طی ۲۴ ساعت از ۱۰ به ۳۸ افزایش یافت و میان تولید اگزوپلی ساکارید و این افزایش رابطه معنا دار وجود داشت.

شناسایی مولکولی جدایه ها

براساس شناسایی با روش 16srDNA رپلیکون سایز با اندازه bp۱۵۰۰ حاصل و جنس و گونه های سویه برتر مشخص گردید. نتایج حاکی از آن بود که بهترین جدایه مولد به جنس و گونه لاکتوباسیلوس پلانتاروم تعلق داشت.

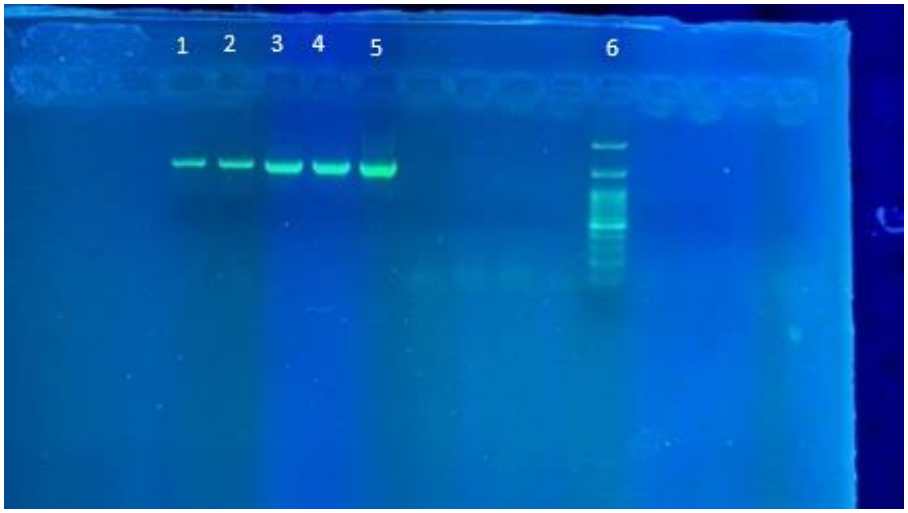
تولید اگزوپلی ساکارید

پس از خلوص واندازه گیری کمی تولید نتایج نشان داد تمامی سویه های مولد میزان تولید اگزوپلی ساکارید ی بین ۳.۱۰۲ تا ۸.۷۷۱ گرم بر لیتر از خود نشان داد. بهترین تولید مربوط به جدایه E_6 و کمترین تولید مربوط به جدایه E_2 بود.

شناسایی مولکولی بهترین جدایه

نتیجه حاصل از الکتروفورز باکتری های اسیدلاکتیک با پرایمر 16s rRNA بر روی ژل الکتروفورز در شکل ۳و درخت فیلوژنی حاصل از تعیین توالی در شکل ۴آورده شده است

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل ۴- ژل حاصل از الکتروفورز با پرایمر ژن

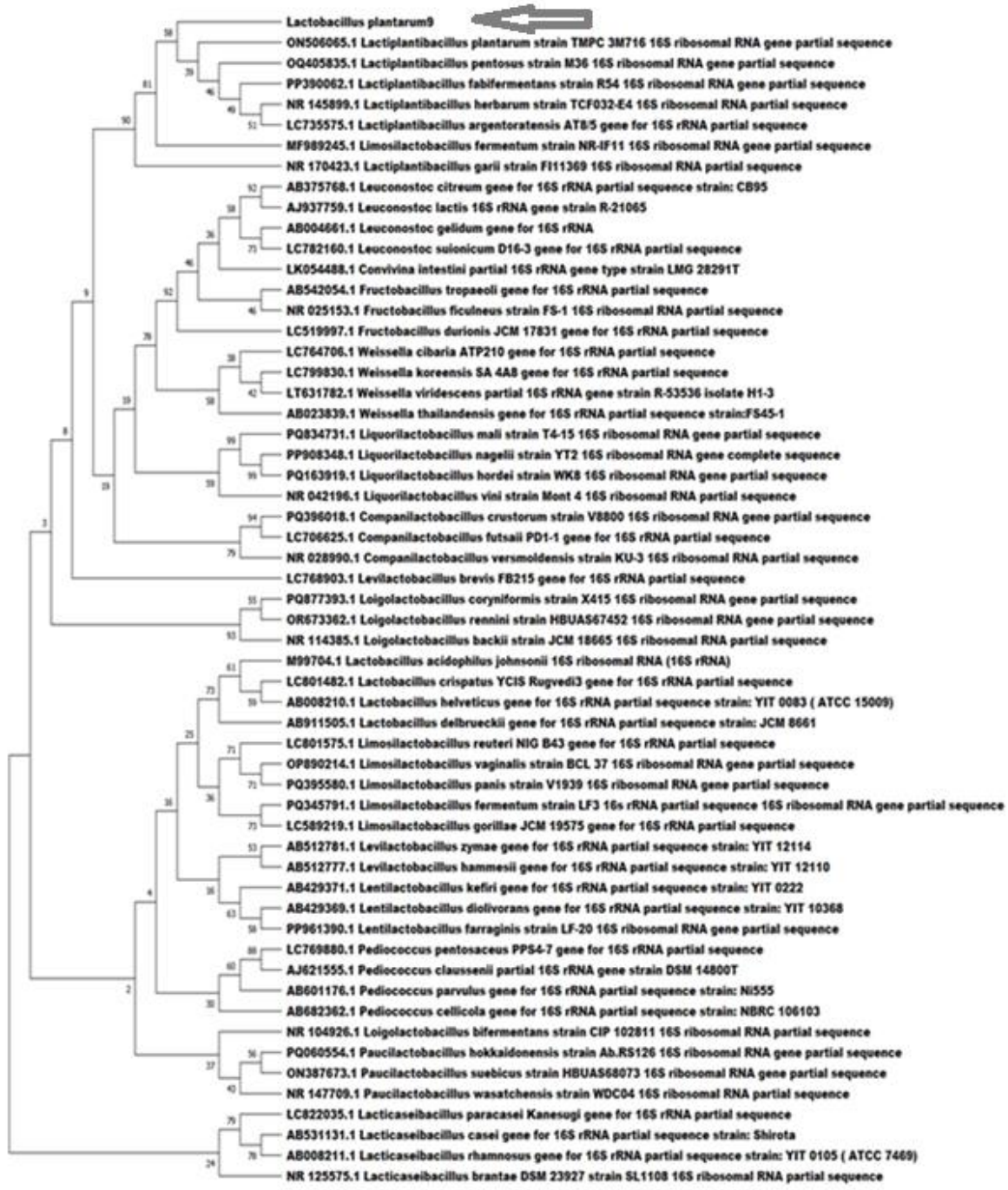
16sr RNA

۱تا ۵ نمونه ها در محدوده ۱۵۰۰ جفت باز ۶ مارکر 2000-100جفت بازی

بهترین جدایه که برخوردار است از تمامی خواص پروبیوتیکی با ابالاترین میزان تولید اگزوپلی ساکارید جدایه L2 بود و پس از آن جدایه L4 قرار داشت.

براساس شکل۵ باکتری L2تحت عنوان *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* شناسایی شد.تاریخچه تکاملی با استفاده از روش Neighbor-Joining استنباط شد.مجموع طول شاخه = ۱.۷۳۶۵۸۵۱۷ نشان داده شده است. درصد درخت‌های تکرار که در آن گونه‌های مرتبط در آزمون بوت‌استرپ (۱۰۰۰ تکرار) با هم خوشه‌بندی شده‌اند، در کنار شاخه‌ها نشان داده شده است. فواصل تکاملی با استفاده از روش ۲ پارامتری Kimura محاسبه شدند و بر حسب تعداد جایگزینی بازها در هر جایگاه هستند. تغییر نرخ بین جایگاه‌ها با توزیع گاما مدل‌سازی شد. نسبت جایگاه‌هایی که حداقل ۱ باز بدون ابهام در حداقل ۱ توالی برای هر کلاد وجود دارد، در کنار هر گره داخلی در درخت نشان داده شده است. این تجزیه و تحلیل شامل ۵۷ توالی نوکلئوتیدی بود. تمام موقعیت‌های حاوی شکاف‌ها و داده‌های از دست رفته حذف شدند (گزینه حذف کامل). در مجموع ۲۳۷ موقعیت در مجموعه داده‌های نهایی وجود داشت. تجزیه و تحلیل‌های تکاملی در MEGA X انجام شد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

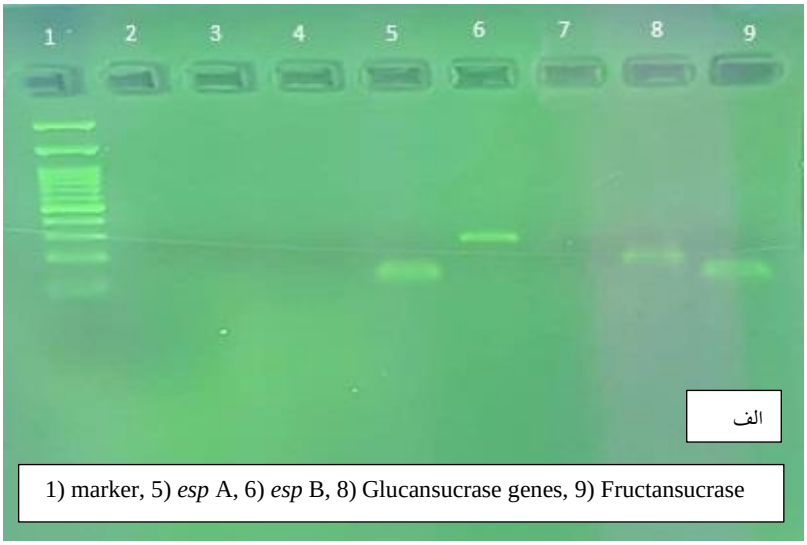


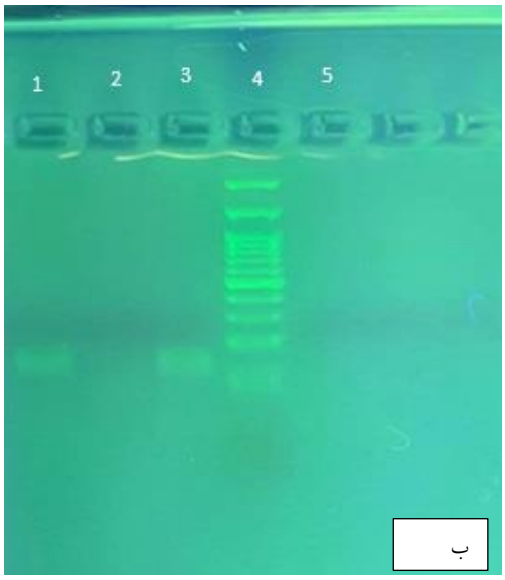
شکل ۵-درخت فیلوژنتیک جدایه برتر

نتایج بررسی ژنوتیپی تولید اگزو پلی ساکارید

نتایج حاصل از بررسی ژنوتیپی ژن های اگزوپلی ساکارید نشان داد که همه باکتری ها حاوی یکی از ۴ ژن تولید اگزو پلی ساکارید در مقایسه با کنترل مثبت باکتری PTCC 1601 *Lactobacillus casei* بودند.(شکل ۶)

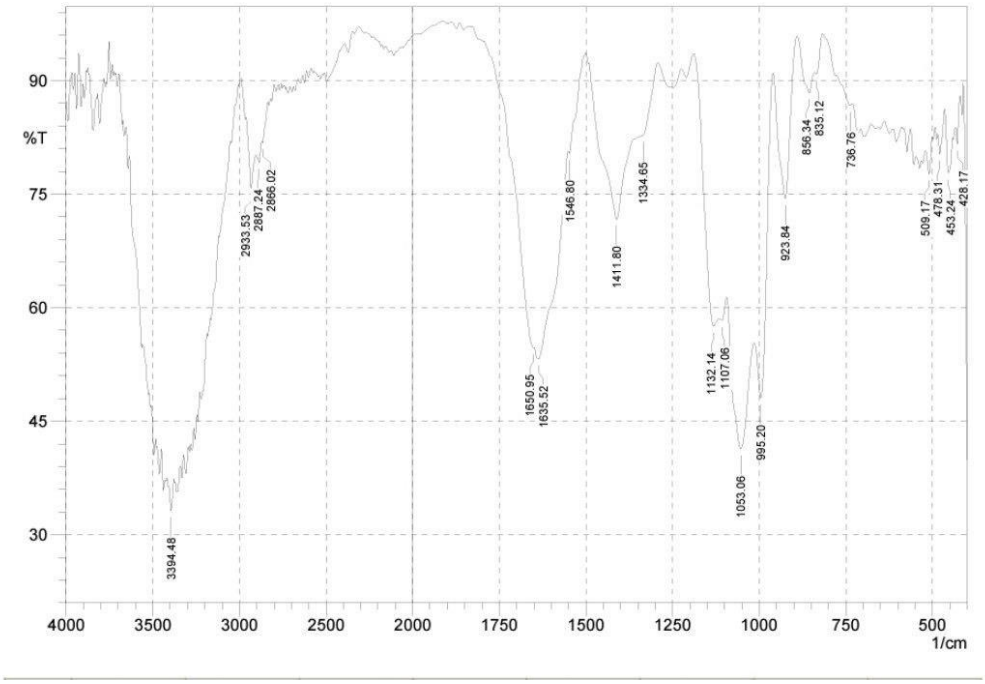
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]





شکل ۶- تصاویر حاصل از (الف) بررسی ژنوتیپی ژن های اگزو پلی ساکارید(کنترل مثبت: *Lactobacillus casei*) (ب) مربوط به ژن بهترین جدایه

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل۷-طیف FTIR جذایه برتر

سنجش FTIR

شکل۷ نتیجه آنالیز**FTIR** را نشان میدهد. طیف FTIR ارائه‌شده محدوده ۴۰۰۰–۴۰۰ cm^{-1} را پوشش می‌دهد و شامل چندین پیک جذبی مهم است که به گروه‌های عاملی مختلف نسبت داده می‌شوند:

۱- پیک ۳۳۴۸:cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی (stretching)پیوند.O–H . نشان‌دهنده حضور گروه‌های هیدروکسیل در الکل‌ها، فنول‌ها یا آب جذب‌شده است.

۲- پیک‌های ۲۹۳۰.۵۳ cm^{-1} و ۲۸۵۹.۰۲:cm^{-1}مربوط به ارتعاش کششی C–H در ترکیبات آلکانی (CH_2 وCH_3)

۳- پیک ۱۶۴۶.۸۰:cm^{-1} نشان‌دهنده ارتعاش کششی پیوند C=Oدر کربونیل‌ها (کتون‌ها، آلدهیدها، استرها یا آمیدها). همچنین می‌تواند به ارتعاش C=C در ترکیبات آروماتیک و آلکن‌ها مرتبط باشد.

۴- پیک‌های ۱۴۱۱.۸۹ cm^{-1} و ۱۳۸۴.۵۶:cm^{-1} مربوط به ارتعاشات خمشی (bending) گروه‌های متیل ($-CH_3$) و متیلن.($-CH_2-$)

۵-پیک‌های ۱۱۲۴.۲۴ cm^{-1} و ۱۰۳۵.۰۶:cm^{-1} نشان‌دهنده ارتعاشات کششی C–O در الکل‌ها، اترها، استرها یا کربوکسیلیک اسیدها.

۶- پیک‌های ۸۰۶.۳۴ cm^{-1} و ۷۲۰.۸۴:cm^{-1} معمولاً مرتبط با ارتعاشات خمشی خارج از صفحه (out-of-plane bending)پیوندهای C–H در ترکیبات آروماتیک.

۷- پیک‌های ۵۹۹.۷۴ cm^{-1} و ۴۵۹.۱۷:cm^{-1} احتمالاً مربوط به ارتعاشات گروه‌های معدنی یا پیوندهای فلز-اکسیژن(M–O).

حضور پیک ۳۳۴۸ cm^{-1} تأییدکننده گروه‌های هیدروکسیل (O–H)است.پیک‌های ۲۹۳۰ و ۲۸۵۹ cm^{-1} به گروه‌های آلکانی (C–H) تعلق دارند.پیک ۱۶۴۶ cm^{-1} نشان‌دهنده گروه‌های کربونیل (C=O) یا آلکنی (C=C) است.پیک‌های ۱۱۲۴ و ۱۰۳۵ cm^{-1} وجود گروه‌های C–O را تأیید می‌کنند.نواحی پایین‌تر از ۱۰۰۰ cm^{-1} می‌توانند مربوط به ساختارهای آروماتیک یا ترکیبات معدنی باشند.این طیف می‌تواند نشان‌دهنده حضور ترکیبات آلی حاوی گروه‌های کربونیل، الکلی و آلکانی باشد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

جدول شماره ۶ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دو جدایه برتر را در غلظتهای مختلف اگزوپلی ساکارید نشان می دهد.

جدول ۶- فعالیت آنتی اکسیدانی اگزوپلی ساکارید

غلظت اگزوپلی ساکارید (میلی گرم بر میلی لیتر) / باکتری	0.625	1.25	2.5	5	10	20
باکتری ۱	0.00 ± 0.00	8 ± 0.3	17.40 ± 1.3	20.5 ± 0.98	27.3 ± 1.4	34.50 ± 0.02
باکتری ۲	15.03 ± 0.87	16.06 ± 2	21.0 ± 0.8	27.0 ± 2.1	53.01 ± 0.78	63.20 ± 2.00

همانطور که مشاهده می شود بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی پلی ساکارید جدایه .برتردر غلظت 20mg/ml به میزان 63.20 ± 2.00 اختصاص داشت.با افزایش غلظت اگزوپلی ساکارید فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش نشان داد.($P<0.05$).

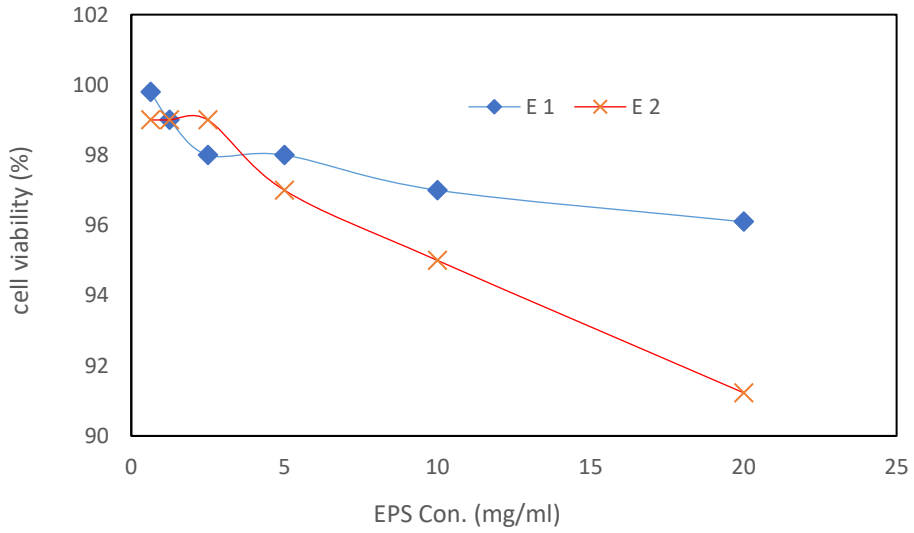
ارزیابی سمیت سلولی

نتایج حاصل از سمیت اگزوپلی ساکارید بر سلول پستان MCF7 در شکلهای ۸ الف وب نشان داده شده است. در تمام موارد سمیت وابسته به غلظت بود. پس از ۲۴ ساعت تیمار میزان زنده مانی برای بالاترین دوز اگزوپلی ساکارید (20mg/ml) برای دو جدایه در رده سلولی HEK293 به ترتیب 96.17 , 91.23 درصد بود. (جدول۸) اما این میزان زنده مانی برای سلول های سرطانی MCF7 برای اگزوپلی ساکارید به ترتیب 54.83,63.07 درصد بود. در تمامی غلظتها نسبت به شاهد برای اگزوپلی ساکارید به نسبت اختلاف معناداری مشاهده شد ($P<0.05$). در غلظت 20mg/ml سلول های رده MCF7 در مقایسه با کنترل بیش از ۲۷ و ۳۳ درصد کاهش زنده مانی نشان دادند. میزان IC50 برای دو نوع اگزوپلی ساکارید ۱و ۲ به ترتیب ۱۱/۲۱ و ۷/۸۳ میلی گرم بر لیتر بود.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

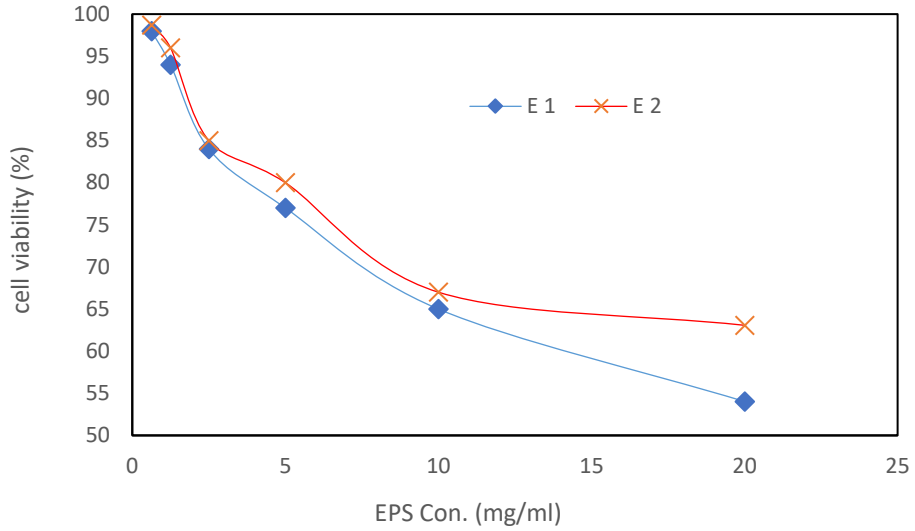
جدول ۷–درصد زنده مانی دو جدایه برتر در غلظتهای مختلف اگزوپلی ساکاریددر رده سلولی HEK293

غلظت اگزوپلی ساکارید (mg/ml) / درصد زنده مانی	۲۰	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۲۵
E1	۹۶/۱۷	۹۹	۹۸	۹۸	۹۹	۹۹/۸
E2	۹۱/۲۳	۹۵	۹۷	۹۹	۹۸	۹۹

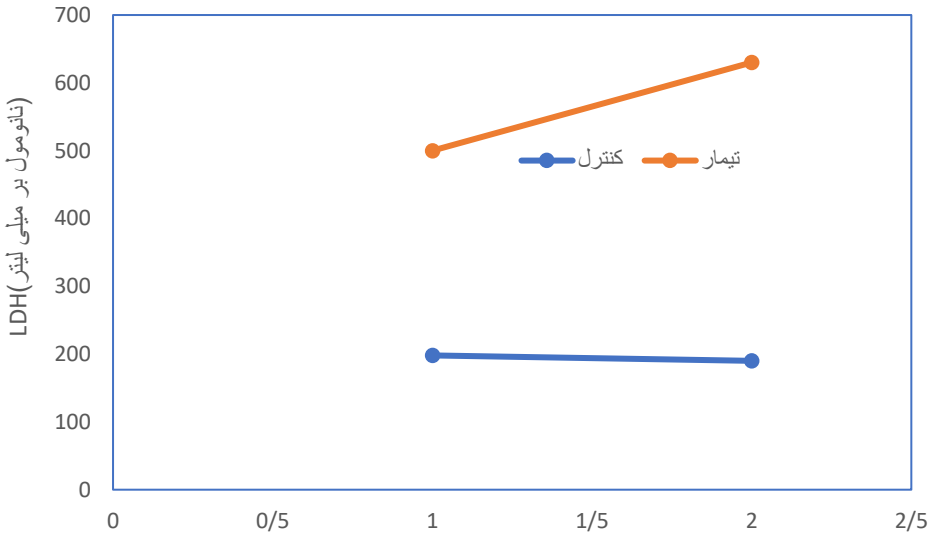


شکل ۸ الف رزیابی سمیت سلولی برای اگزوپلی ساکارید دو جدایه برتردر رده سلولی شاهد HEK293

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل۸ ب ارزیابی سمیت سلولی برای اگزوپلی ساکارید دو جدایه برتردر رده سلولی MCF7



شکل ۸ارزیابی فعالیت ضد توموری اگزوپلی ساکارید های استخراج شده دو جدایه برتر

فعالیت ضد توموری

فعالیت ضد توموری دو اگزوپلی ساکارید برتر در شکل ۹ نشان داده شده است. نتایج حاصل از ارزیابی اگزوپلی ساکارید دو جدایه برتر L1 و L2 با استفاده از تعیین IC50 در رده سلولی MCF7 تیمارشده و تیمار نشده حاکی از افزایش آزاد سازی بیش از دو برابر آنزیم لاکتات دهیدروناز در هر دو نوع اگزوپلی ساکارید در مقایسه با شاهد بود ($p<0.05$). شکل ۹)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

بحث

در این مطالعه، پس از غربالگری جدایه های باکتری های اسید لاکتیک، دو جدایه انتخاب و اگزو پلی ساکارید تولیدی توسط آنها استخراج گردید. اساساً میزان اگزوپلی ساکارید تولیدی بستگی زیادی به نوع سویه دارد. میزان تولید گزارش شده توسط محققان مختلف متفاوت بوده و ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر متغیر است. (21-20)

رادیکال های سمی اکسیژن و نیز رادیکالهای آزاد حاوی اکسیژن کروی محصولات متابولیکی تولید شده در بدن هستند و تجمع آنها در بافت ها منجر به آسیب و سوء عملکرد آنها می شود که می تواند منجر به کارسینوی آترواسکلروز و آسیب های عصبی شود .آنتی اکسیدانها موادی هستند که از این تخریب جلوگیری می کنند. (22)

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد با محوریت اکسیژن، محصولات جانبی تعدادی از فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی در بدن هستند. افزایش سطح ROS پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها را تجزیه می‌کند و باعث آسیب بافتی بیشتر و اختلال عملکرد اندام‌ها می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که از اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند یا آن را به تعویق می‌اندازند. سلول‌های تومور در نتیجه‌ی افزایش فعالیت متابولیک و انواع دیگر فرآیندهای تومورزایی، ROS تولید می‌کنند که تکثیر و بقای سلول‌های تومور، مهاجرت و نفوذ مزانشیمی، جهش‌های ژنتیکی و رگ‌زایی را افزایش می‌دهد. درمان مبتنی بر آنتی‌اکسیدان که تولید ROS را کاهش می‌دهد، ممکن است برای به تأخیر انداختن یا حتی جلوگیری از توسعه تومور استفاده شود. تحقیقات متعددی روی EPS مشتق شده از باکتری‌های پروبیوتیک انجام شده است که ممکن است دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی باشند. طبق یافته‌های این تحقیق بطور قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اگزوپلی ساکارید استخراجی را تایید نمود (۲۴).

سلول های تومورال با ایجاد متابولیت های سمی اکسیژن که در نتیجه سوخت و ساز تولید می کنند، روند بقاء و تکثیر خود را تسریع می کنند و استفاده از آنتی اکسیدانها می تواند روند پیشروی، مهاجرت، نفوذ بافتی، تغییرات مولکولی و رگزایی را در این سلول ها کند یا متوقف سازد. (۲۳)

محققان بسیاری بر این باورند که اگزوپلی ساکارید باکتری های پروبیوتیک خواص آنتی اکسیدانی دارد .براساس یافته های این تحقیق اگزوپلی ساکارید جدایه ۱ ، ۳۴/۵٪ و جدایه ۲، ۶۳/۲٪ اثر آنتی اکسیدانی نشان دادند. در گزارش Adebayo-Tayo در سال 2020 این ظرفیت برای دو جدایه لاکتوباسیلوس دلبروکئی ۷۳ و ۶۵ گزارش شد. طبیعی است که هر چه غلظت اگزوپلی ساکارید بیشتری تولید و استفاده گردد، اثر آنتی اکسیدانی قویتر خواهد بود. (۲۴)

در گزارش Li و همکاران در سال 2014 اثر آنتی اکسیدانی اگزوپلی ساکارید در غلظت 70mg/ml ، ۹۴/۴۹٪ عنوان گردید. (۲۵)

گزارشات مختلف حاکی از تاثیر عوامل مختلف مانند وزن مولکولی، نوع و محتوای منو ساکاریدهای تشکیل دهنده و نسبت مولی منو ساکارید ها و باندهای گیلیکوزیدی در میزان قدرت آنتی اکسیدان اگزوپلی ساکارید است . (۲۶) لذا درصد بالای خاصیت آنتی اکسیدان جدایه دوم به گروههای شیمیایی خصوصاً گروه هیدروکسیل آن و نیز گروههای سولفاته بر می گردد.

سرطان بیماری کنترل نشده است که برحسب نوع، درمانی سخت دارد و در برخی موارد علیرغم درمان به مرگ بیمار می انجامد. روش های مرسوم درمان با توجه به آنکه انتابی نیستند، روی سلول های سالم هم اثرات نامطلوب دارند (۲۷). در این تحقیق اثرات ضد سرطانی اگزوپلی ساکاریدهای استخراج شده و دو رده سلولی سرطان پستان و سلول های سالم، مورد ارزیابی قرار گرفت.

آمار مرگ و میر ناشی از انواع مختلف سرطان سال به سال به طور پیوسته در حال افزایش است. شیمی‌درمانی و پرتودرمانی فعلی برای بیماران سرطانی به سلول‌های تومور و سلول‌های طبیعی آسیب می‌رساند. هدف از تحقیق حاضر، تولید عوامل

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

ضد توموری است که عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای مصنوعی موجود در حال حاضر دارند. در نتیجه، خواص ضد توموری EPS به عنوان یک درمان بالقوه سرطان در این مطالعه بررسی می‌شود. سمیت سلولی EPSها در برابر سلول‌های سرطانی سینه، روده بزرگ و کبد انسان و همچنین نقش آنها در بیان ژن آپوپتوز تعیین شد. نشان داده شده است که اکثر داروهای ضد سرطان برای سلول‌های سالم سمیت سلولی دارند و این امر نیاز مبرم به جایگزین‌های ایمن را در زیست‌پزشکی برجسته می‌کند (۳۳). Mohanta و همکاران. (۲۰۱۷) نشان دادند که آزمایش MTT یکی از پیشرفته‌ترین روش‌ها برای تعیین اثرات سیتوتوکسیک سلول‌های سرطانی است. این آزمایش بر اساس کاهش MTT به فورمازان توسط سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی در میتوکندری سلول‌های فعال متابولیکی است. نتایج آزمایش‌های سیتوتوکسیسیته در این آزمایش نشان داد که درمان با EPSها بسته به علت مرگ سلولی و حساسیت درمان، پاسخ‌های سلولی متفاوتی را ایجاد می‌کند. به طور خاص، مقادیر IC50 برای EPSها روی سلول‌های پستانداران طبیعی (HEK 293) از ۸۵.۷ تا ۲۹.۶۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متغیر است (۳۴). نامی و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که ترشحات انتروکوک لاکتیس IW5 هیچ اثر منفی بر سلول‌های طبیعی ندارد و ۹۵٪ از سلول‌ها به طور طبیعی رشد می‌کنند (۳۵).

Liu و همکارانش اثر ضد تکثیری اگزوپلی ساکارید *L. casei* را بر روی رده سلولی HT-29 نشان دادند (۳۶). همچنین اگزوپلی ساکارید *L. plantarum* 70810 فعالیت ضد توموری قابل توجهی را بر روی سلول‌های سرطانی HepG-2، BGC-823، به ویژه سلول‌های سرطانی HT-29 نشان داد (۳۷). EPS های *L. casei*، *L. plantarum* و *L. acidophilus* خواص ضد توموری را در برابر رده‌های سلولی مختلف به صورت وابسته به دوز نشان داده‌اند (۳۸). مکانیسم اثر ضد توموری پلی‌ساکاریدها شامل تحریک اجزای خاصی از سیستم ایمنی، عمدتاً لنفوسیت‌های T و B، ماکروفاژها و القای آزادسازی اینترلوکین توسط سلول‌های NK است. فعالیت زیستی گسترده بالقوه پلی‌ساکاریدها به عنوان ادجوانت‌های ضد سرطان با فعالیت‌های بیولوژیکی آنها در رابطه با اثرات آپوپتوز و ضد رگ‌زایی ناشی از برجسته می‌شود (۳۹).

Nami و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که ترشحات انتروکوکوس لاکتیس IW5 هیچ اثر منفی بر سلول‌های طبیعی ندارد و ۹۵٪ از سلول‌ها به طور طبیعی رشد می‌کنند. علاوه بر این، نشان داده شد که دوز ۲ تا ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از EPS خالص جدید *L. acidophilus* 20079 در سلول‌های پستانداران سالم، شاخص انتخابی ۱.۹۶ تا ۵۱.۳ را برای از بین بردن سلول‌های سرطانی دارد (۳۵).

Ma و همکاران، نشان دادنداگزوپلی ساکاریدهای جدا شده از *L. pantheris* TCP102 فعالیت ضد توموری علیه سلول‌های HCT-116، A-2780 و BCG-803 از متوسط تا قوی دارند. EPS3 قوی‌ترین فعالیت ضد تکثیری را نشان داد. سایر خواص فیزیکوشیمیایی پلی ساکاریدها، مانند وجود اسید اورونیک، پیرانوز، گلوکز و پیوندهای گلیکوزیدی نوع b، نیز در افزایش فعالیت ضد سرطانی آنها مؤثر هستند (Ma و همکاران، ۲۰۱۳). تفاوت در فعالیت‌های ضد توموری بین آنها ممکن است مربوط به ترکیب مونوساکارید، Mw و انواع پیوندهای گلیکوزیدی آنها باشد (۴۰).

هیالاشمی و والیناچیار (۲۰۱۳) نشان دادند که EPS مشتق شده از باسیلوس sp. در غلظت‌های پایین پتانسیل بالایی برای سمیت سلولی علیه سلول‌های MCF7 دارد، در حالی که هیچ تاثیری بر سلول‌های طبیعی ندارد (۴۱). علاوه بر این، Liu و همکاران دریافتند که *L. casei* 01 EPS در دوزهای ۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، رشد HT29 را مهار می‌کند (۳۶). عصاره‌های *L. fermentum* رشد سلول‌های سرطانی روده بزرگ را مهار می‌کنند در حالی که رشد سلول‌های غیرسرطانی روده بزرگ را افزایش می‌دهند. یافته‌های Kahouli و همکاران در مورد سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد که وجود پروپیونات و بوتیرات ممکن است به انتخاب‌پذیری باکتری‌های پروبیوتیک کمک کند، زیرا مهارکننده‌های هیستون داستیلاز (HDACs) تکثیر سلول‌های

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

روده بزرگ سالم را تحریک می کنند اما سلول‌های سرطانی را از بین می‌برند (۴۲). Nami و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که محصولات جانبی E. lactis IW5، زیست‌پذیری چندین نوع سلول سرطانی، از جمله HeLa، MCF7، AGS و HT-29 را کاهش می‌دهند و مکانیسم اصلی این اثر، فعال‌سازی آپوپتوز در سلول‌های سرطانی است (۳۵).

مهم‌ترین فرآیند بیوشیمیایی که در طول آپوپتوز اولیه رخ می‌دهد، انتقال فسفاتیدیل‌سرین است. چندین مسیر بیوشیمیایی در طول آپوپتوز همگرا می‌شوند و منجر به فعال شدن خانواده‌ای از پروتئازهای وابسته به سیستئین (کاسپازها) می‌شوند. اگرچه مکانیسم‌های وابسته به کاسپاز یا مستقل از کاسپاز می‌توانند آپوپتوز را تنظیم کنند، اما مورد دوم شایع‌تر است زیرا اکثر سلول‌ها آپوپتوز را از طریق فعال سازی کاسپازها آغاز میکنند (۴۳).

IC50در این تحقیق برای اگزوپلی ساکاریدهای این مطالعه برای سلول های نرمال در محدوده ۷ تا ۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

میزان اثر ضد سرطانی اگزوپلی ساکارید به مسیر نابودی سلول ها بستگی دارد و رده های سلولی مختلف یکسان نیست. میزان IC_{50} برای سلول های MCF7 بسیار پایین بود که حاکی از وجود عوامل فعال ضد سرطانی در آن هاست و به ترتیب ۱۱/۲۱ و ۷/۸۳ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

آنزیم لاکتات دهیدروژناز آنزیمی محلول در سیتوپلاسم است که میزان آزاد سازی آن بعنوان معیاری برای تعیین درجه تخریب سلول های سرطانی بعنوان اثر آنتی تومورال سنجیده می شود. فعالیت بیش از ۲ برابری آنزیم در سلول های سرطانی تیمار شده حاکی از اثر قوی ضد توموری اگزوپلی ساکاریدهای استخراج شده بود.

اساساً سلول های طبیعی به مراتب کمتر تحت تأثیر عوامل ضد تکثیر و مهارکننده قرار می گیرند. فعالیت بالای آنزیم لاکتات د هیدروژناز در سلول های سرطانی تیمار شده با اگزوپلی ساکارید حاکی از تخریب غشایی بالای این سلولها تحت تأثیر اگزوپلی ساکارید است. (۳۱).

این نتایج نشان دهنده ی تخریب غشاء سلول های سرطانی و خروج آنزیم LDH به فضای خارج سلولی است.

اساساً اگزوپلی ساکارید فعالیت های بیولوژیک متفاوتی داراست که به دلیل تعامل گروه های شیمیایی آن با یکدیگر می باشد.(۳۲).

EPSها عملکردهای زیست فعال متنوعی را انجام می‌دهند و در نتیجه، این عملکردها معمولاً تحت تأثیر مثبت خواص فیزیکوشیمیایی EPS قرار می‌گیرند (۴۴). این نشان دهنده تمایز بین گروه‌های عاملی تعریف شده در EPS5 هنگام بحث در مورد نتایج FT-IR است. قوی‌ترین باندها در ناحیه ۳۴۱۰ سانتی‌متر-۱ نشان‌دهنده وجود ارتعاش کششی هیدروکسیل EPS5 هستند. باندها در ۲۹۳۱ سانتی‌متر-۱ توسط ارتعاشات کششی CH2 تولید می‌شوند، در حالی که باندها در ۱۶۵۰ سانتی‌متر-۱ توسط ارتعاشات خمشی –OH تولید می‌شوند. جذب در ۱۳۸۱ سانتی‌متر-۱ ممکن است به دلیل خمش متقارن CH3 باشد. در ۱۱۳۶ cm−1، ارتعاشات کششی پیوند گلیکوزیدی (C–O–C) مسئول جذب قوی بودند. علاوه بر این، جذب‌های قوی مادون قرمز در ۸۷۲ cm−1 نشان داد که EPS5 بتا-آنومری است (۴۵).

نتایج آنالیز FT-IR قوی ترین باند را در ناحیه ۳/۴۱۷۶۱ نشان داد که منطقه ویبراسیون گروه هیدروکسیل می باشد. در نواحی 1656.74 و 1631.37 گروه الدنیدل و ناحیه 1.80006 حاکی از پیوند گیلیکوزیدی است که جذب بالایی را به خود اختصاص می دهد.

اگزوپلی ساکارید تولیدی توسط سوش جداسازی شده از لبنیات سنتی گیلان طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری و تکثیری را نشان می‌دهد و در نتیجه آن میتواند به عنوان یک عامل طبیعی احتمالی برای توسعه استراتژی‌های جدید درمانی مد نظر قرار گیرد. علاوه بر این، به دلیل اثر سیتوتوکسیک فوق‌العاده آن

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

در مقدار IC50 در سلول‌های سرطانی، EPS5 می‌تواند در تحقیقات پزشکی به عنوان یک عامل ضد تومور بالقوه مورد استفاده قرار گیرد. در نتیجه، پتانسیل آن برای جایگزینی داروهای شیمی درمانی در آینده باید در کنار مسائل ایمنی مدر نظر قرار گیرد. به طور کلی، اگزوپلی ساکارید باکتریهای اسید لاکتیک پتانسیل به ویژه در زمینه‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری درمانی قابل توجهی دارد، با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک کامل مکانیسم عمل آن در هر مورد ضروری است.

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه قابل توجهی در خصوص اگزوپلی ساکاریدهای باکتری های اسید لاکتیک بومی انجام نشده است. لذا این مطالعه ارزشمند صفات آنتی اکسیدان، سمیت و ضد توموری آن را تأیید می نماید و می تواند در صورت انجام آزمایشات تکمیلی درون موجودی آن را به عنوان ماده طبیعی جدید در کنار درمان های رایج سرطان مطرح سازد.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

منابع

1. Ouwehand AC, A review of dose-responses of *probiotics in human studies.* Beneficial Microbes. 2017, *8: 143–151. doi: 10.3920/bm2016.0140.*
2. *Quigley EM, Gut bacteria in health and disease.* Gastroenterology Hepatology. 2013, *9: 560–569.*
3. Chang, C. J., Lin, J. F., Chang, H. H., Lee, G. A., and Hung, C. F. Lutein protects against methotrexate-induced and reactive oxygen species-mediated apoptotic cell injury of IEC-6 cells. PLoS One. 2013, 8:e72553. doi: 10.1371/journal. pone.0072553
4. Norouzi, Z., Salimi, A., Halabian, R., and Fahimi, H. Nisin, a potent bacteriocin and anti-bacterial peptide, attenuates expression of metastatic genes in colorectal cancer cell lines. Microbial Pathogenesis. 2018, 123, 183–189. doi: 10.1016/j. micpath.2018.07.006
5. Adebayo-Tayo, B., Ishola, R., and Oyewunmi, T. Characterization, antioxidant and immunomodulatory potential on exopolysaccharide produced by wild type and mutant Weissella confusa strains. Biotechnology Reports. 2018, 19:e00271 doi: 10.1016/j.btre.2018.e00271
6. Wu, J., Zhang, Y., Ye, L., and Wang, C. The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: a review. Carbohydrate Polymers. 2021. 253:117308. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.117308
7. Milner, E., Stevens, B., An, M., Lam, V., Ainsworth, M., Dihle, P., et al. Utilizing probiotics for the prevention and treatment of gastrointestinal diseases. Frontiers in Microbiology. 2021, 12:689958. doi: 10.3389/fmicb.2021.689958
8. Wang J, Xiao Z, Zheng T, Congcong H, Yawei Y, Zhennai Y. Isolation and characterization of exopolysaccharide-producing Lactobacillus plantarum SKT109 from Tibet Kefir. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2015, 65:269-279.
9. Dunislawska, A., Slawinska, A., Stadnicka, K., Bednarczyk, M., Gulewicz, P., Jozefiak, D., et al. Synbiotics for broiler chickens-in vitro design and evaluation of the influence on host and selected microbiota populations following in Ovo delivery. PLoS One. 2017, 12:e0168587. doi: 10.1371/journal.pone.0168587
10. Zhang, Q., Wang, M., Ma, X., Li, Z., Jiang, C., Pan, Y., et al. In vitro investigation on lactic acid bacteria isolated from yak faeces for potential probiotics. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2022, 12:984537. doi: 10.3389/fcimb.2022.984537
11. Hawaz E. Isolation and identification of probiotic lactic acid bacteria from curd and in vitro evaluation of its growth inhibition activities against pathogenic bacteria. African Journal of Microbiology Research. 2014; 8: 1419-425
12. Sharma P, Tomar SK, Goswami P, Sangwan V, Singh R Antibiotic resistance among commercially available probiotics. Food Research International. 2014, 57:176–195. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.025
13. Van der MeulenR et al .Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products.for exopolysaccharide production and genes involved. International Journal of Food Microbiology. 2007, 118: 250–258
14. Shao LZ, Wu H, Zhang W, Chen L, Ai B, Guo B. Partial characterization and immunostimulatory activity of exopolysac-charides from Lactobacillus rhamnosus KF5. Carbohydrate Polymers. 2014; 107: 51-56
15. Patel S, Majumder A, Goyal A. Potential of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. Indian Journal of Microbiology. 2012, 52: 3-12.
16. Liu, C.-T., Chu, F.-J., Chou, C.-C., and Yu, R.-C. Antiproliferative and anticytotoxic effects of cell fractions and exopolysaccharides from *Lactobacillus casei*. Mutation Research. 2011, 721, 157–162. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.01.005
17. Kao, T. H., and Chen, B. H. Functional components in soybean cake and their effects on antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006, 54, 7544–7555. doi: 10.1021/jf061586x
18. Khalil, M. A., El-Shanshoury, A.-E. R. R., Alghamdi, M. A., Alsalmi, F. A., Mohamed, S. F., Sun, J., et al. Biosynthesis of silver nanoparticles by Marine actinobacterium Nocardiopsis dassonvillei and exploring their therapeutic potentials. Frontiers in Microbiology. 2022, 12:705673. doi: 10.3389/fmicb.2021. 705673
19. Gurunathan, S., Han, J. W., Eppakayala, V., Jeyaraj, M., and Kim, J. H. Cytotoxicity of biologically synthesized silver nanoparticles in MDA-MB-231 human breast cancer cells. BioMed Research International. 2013, 535796. doi: 10.1155/2013/ 535796.
20. Tukenmez, U., Aktas, B, Aslim, B., and Yavuz, S. The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

cancer cells in vitro. Scientific Reports. 2019, 9:8268. doi: 10.1038/s41598- 019-44753-8

21. Sungur, T., Aslim, B., Karaaslan, C., and Aktas, B. Anaerobe impact of exopolysaccharides (EPSs) of Lactobacillus gasseri strains isolated from human vagina on cervical tumor cells (HeLa) Anaerobe. 2017, 47, 137–144. doi: 10.1016/j. anaerobe.2017.05.013
22. Thibessard, A., Borges, F., Fernandez, A., Gintz, B., Decaris, B., and LeblondBourget, N. Identification of Streptococcus thermophilus CNRZ368 genes involved in defense against superoxide stress. Applied and Environmental Microbiology. 2004, 70, 2220–2229. doi: 10.1128/aem.70.4.2220-2229.200.
23. Liou, G. Y., and Storz, P. Reactive oxygen species in cancer. Free Radical Research. 2010, 44, 479–496. doi: 10.3109/10715761003667554
24. Adebayo-Tayo, B., and Fashogbon, R. In vitro antioxidant, antibacterial, in vivo immunomodulatory, antitumor and hematological potential of exopolysaccharide produced by wild type and mutant *Lactobacillus delbureckii* subsp. bulgaricus. Heliyon. 2020, 6:e03268. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03268.
25. Li, C., Li, W., Chen, X., Feng, M., Rui, X., Jiang, M., et al. Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains. LWT Food Science Technology. 2014, 57, 477–485.
26. Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., and Yang, Z. Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. International Journal of Biological Macromolecules. 2015, 74, 119–126. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.12. 006.
27. Zhang, F., Shi, J.-J., Thakur, K., Hu, F., Zhang, J.-G., and Wei, Z.-J. Anticancerous potential of polysaccharide fractions extracted from peony seed dreg on various human cancer cell lines via cell cycle arrest and apoptosis. Frontiers in Pharmacology. 2017, 8:102. doi: 10.3389/fphar.2017.00102.
28. Manivasagan, P, Venkatesan, J, Senthikumar, K, Sivakumar, K, and Kim, S. K. Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel Nocardiopsis sp. MBRC-1. BioMed Research International. 2013, 2013:287638. doi: 10.1155/2013/287638.
29. Nami, Y., Haghshenas, B., Haghshenas, M., Abdullah, N., and Khosroushahi, A. The prophylactic effect of probiotic Enterococcus lactis IW5 against different human cancer cells front. Microbiology. 2015, 6:1317. doi: 10.3389/fmicb. 2015.01317.
30. Idhyalakshmi, R., and Vallinachiyar, C. Apoptosis of human breast cancer cells (MCF-7) induced by polysaccharides produced by bacteria. Journal of Cancer Science and Therapy. 2013, 5, 31–34.
31. Li, C., Li, W., Chen, X., Feng, M., Rui, X., Jiang, M., et al. Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains. LWT Food Science Technology. 2014, 57: 477–485.
32. M. Polak-Berecka, A. WAśko, H. SkrzyPek and ﬁA. Kreft. PRODUCTION OF exopolysaccharides by a probiotic strain of lactobacillus rhamnosus: biosynthesis and purification methods. Acta Alimentaria, Vol. 42 (2), pp. 220–228 (2013).
33. Hu, Y. Q., Zhang, S., Xu, Z., Lv, Z. S., Liu, M. L., and Feng, L. S. (2017). 4-Quinolone hybrids and their antibacterial activities. Eur. J. Med. Chem. 141, 335–345.
34. Mohanta, Y. K., Panda, S. K., Bastia, A. K., and Mohanta, T. K. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles from Protium serratum and investigation of their potential impacts on food safety and control. Front. Microbiol. 8:626.
35. Nami, Y., Haghshenas, B., Haghshenas, M., Abdullah, N., and Khosroushahi, A. (2015). The prophylactic effect of probiotic Enterococcus lactis IW5 against different human cancer cells front. Microbiology 6:1317.
36. Liu, C. F., Tseng, K. C., Chiang, S. S., Lee, B. H., Hsu, W. H., & Pan, T. M. (2011). Immunomodulatory and antioxidant potential of Lactobacillus exopolysaccharides. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91(12), 2284–2291.
37. Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from Lactobacillus plantarum 70810. International Journal of Biological Macromolecules, 63, 133–139.
38. 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
39. Ismail, B., & Nampoothiri, K. M. (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

produced by a probiotic Lactobacillus plantarum MTCC 9510. Archives of Microbiology, 192(12), 1049–1057.
40. Ma, L., Qin, C., Wang, M., Gan, D., Cao, L., Ye, H., et al. (2013). Preparation, preliminary characterization and inhibitory effect on human colon cancer HT-29 cells of an acidic polysaccharide fraction from Stachys floridana Schuttl. ex Benth. Food Chem. Toxicol. 60, 269–276.
41. Vidhyalakshmi, R., and Vallinachiyar, C. (2013). Apoptosis of human breast cancer cells (MCF-7) induced by polysaccharides produced by bacteria. J. Cancer Sci. Ther. 5, 31–34.
42. Kahouli, I., Malhotra, M., Alaoui-Jamaliand, M., Prakash S. (2015). Invitro characterization of the anticancer activity of the probiotic bacterium Lactobacillus fermentum NCIMB 5221 and potential against colorectal Cancer. Cancer Sci. Ther. 7, 224–235.
43. Gamal-Eldeen, A. M., Ahmed, E. F., and Abo-Zeid, M. A. (2009). In vitro cancer chemopreventive properties of polysaccharide extract from the brown alga, Sargassum latifolium. Food Chem. Toxicol. 47, 1378–1384.
44. Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., and Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from Lactobacillus plantarum 70810. Int. J. Biol. Macromol. 63, 133–139.
45. Adebayo-Tayo, B., and Fashogbon, R. (2020). In vitro antioxidant, antibacterial, in vivo immunomodulatory, antitumor and hematological potential of exopolysaccharide produced by wild type and mutant Lactobacillus delbureckii subsp. bulgaricus. Heliyon 6:e03268.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]