



QURUTILGAN YAPON LAMINARIYASIDAN SUT ACHITUVCHI BAKTERIYA AVLODLARINI AJRATISH VA ULANING ANTIOKSIDANT FAOLLIGI ANIQLASH

Koziyev B.U.

O'zRFA Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti

Elova N.A.

O'zRFA Mikrobiologiya instituti katta ilmiy xodimi

Malikova D.

O'zbekiston Milliy Universiteti biologiya fakulteti o'qituvchisi:

<https://www.doi.org/10.5281/zenodo.10418193>

ARTICLE INFO

Received: 15th December 2023

Accepted: 20th December 2023

Online: 21th December 2023

KEY WORDS

Sut achituvchi bakteriyalar, yapon laminariyasi, antioksidantlik, *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactisi*, DPPH (2,2-difenil, 1-pikrilgidrozil), MALDI-TOF MS.

ABSTRACT

*Antioksidant faollik organizmdagi muhim jarayonlardan biri hisoblanadi. Bunda tanadagi erkin radikallar elektronlar bilan to'yinishi hisobiga ular zararsizlantiriladi. Hozirgi kunda bir qancha sut achituvchi bakteriyalar antioksidant moddalar ishlab chiqarishi ma'lum. Ulardan *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactisi* va boshqalar antioksidantlik ko'rsatgichlari yuqori bo'lganligi sababli alohida e'tiborga sazovor. Ushbu tadqiqotda quritilgan dengiz karami "Yapon laminariyasi" dan sut achituvchi bakteriyalar ajratib olindi, MALDI-TOF MS usulida identifikatsiyalandi va shtammlarning antioksidant faolligi DPPH (2,2-difenil, 1-pikrilgidrozil) moddasi yordamida o'rganildi.*

KIRISH

Sut kislotasi bakteriyalari (LAB) organizmda, xususan, oshqozon-ichak yalig'lanishida muhim ahamiyatga ega, ular turli muhim funksiyalarni bajaradilar:

- *Ovqat hazm qilish tizimi salomatligi:* LAB oziq-ovqatning parchalanishi va hazm bo'lishiga yordam beradi. Ular fermentatsiyalangan shakar yon mahsuloti sifatida sut kislotasini ishlab chiqaradi, bu zararli bakteriyalarning ko'payishiga to'sqinlik qiladi va ichak mikroflorasining sog'lom muvozanatini saqlashga yordam beradigan kislotali muhitni yaratadi.
- *Immunitetni oshirish:* Bu bakteriyalar ma'lum antikorlarni ishlab chiqarish orqali immunitetni rag'batlantiradi va tananing infeksiyalarga qarshi himoya mexanizmlarini kuchaytiradi.
- *Oziq moddalarning so'rilishi:* Sut achituvchi bakteriyalar oziq-ovqatning parchalanishiga yordam beradi hamda ichaklarda vitaminlar va minerallar kabi ozuqa moddalarining so'rilishiga hissa qo'shadi.
- *Ichak to'sig'i funksiyasini saqlash:* Ular ichak to'sig'ining yaxlitligini saqlashga yordam beradi, zararli moddalarning qon oqimiga o'tishini oldini oladi va shu bilan umumiy ichak sog'lig'ini qo'llab-quvvatlaydi.



Antioksidantlar tanani erkin radikallarning zararli ta'siridan himoya qilishga yordam beradigan molekulalardir. Erkin radikallar metabolik jarayonlar natijasida yoki ifloslanish, ultrabinafsha nurlanishi va ba'zi kimyoviy moddalar kabi tashqi manbalar natijasida organizmda tabiiy ravishda ishlab chiqariladigan beqaror molekulalardir. Erkin radikallar tanada to'planganda, ular hujayralarga, oqsillarga va DNKga zarar yetkazadigan oksidlovchi stressni keltirib chiqarishi mumkin, bu turli kasalliklarga olib keladi va qarish jarayonlarini tezlashtiradi.

Antioksidantlar erkin radikallarni zararsizlantirish orqali ishlaydi, shuning uchun ularning zararli ta'sirini kamaytiradi. Ular elektronlarni beqaror erkin radikallarga beradi, ularni barqarorlashtiradi va hujayralarga zarar yetkazishining oldini oladi.

Ko'pgina moddalar yuqori antioksidant faollik ko'rsatganligi aniqlangan. Masalan: vitamin-C, vitamin-E, selen (birikmalari) va boshqalar. Dengiz mahsulotlarida yod va selen miqdori yuqori bo'lganligi uchun ushbu tadqiqotda yapon laminariyasidan sut achituvchi bakteriyalar ajratildi va ularning antioksidant faolligi tadqiq qilindi.

MATERIAL VA METODLAR

Ishni *Yapon laminariyasidan Lactobacillus* shtammlari ajratib olishdan boshlaymiz va bu shtammlar o'zini MRS ozuqa muhitida juda yaxshi his qiladi va tez o'sadi. MRS agar tayyorlash uchun quyidagicha amallar bajariladi.

MRS ozuqa muhiti bu laboratoriya tadqiqotlari uchun Laktobakteriyalarning serhosil o'sishiga yordam berish uchun mo'ljallangan tanlab olingan muhit. 1960 yilda ishlab chiqilgan ushbu vosita ixtirochilar uchun nomlangan - Johannes Cornelis de Man, Morrison Rogosa va Margaret Elisabet Sharpe. Uning tarkibida ko'plab raqobatdosh bakteriyalarning o'sishini bostiradigan natriy asetat mavjud (garchi ba'zi bir boshqa *Lactobacillus*, masalan *Leuconostoc* va *Pediococcus* o'sishi mumkin). Ushbu vosita ochiq jigarrang rangga ega.

MRS agar tarkibida odatda tarkibi quyidagicha mavjud:

1,0% pepton

1,0% mol go'shti ekstrakti

0,4% xamirturush ekstrakti

2,0% glyukoza

0,5% natriy asetat trigidrat

0,1% polisorbat 80 (Tween 80 nomi bilan ham tanilgan)

0,2% dipotiyli vodorod fosfat

0,2% triamonium sitrat

0,02% magnezium sulfat geptagidrat

0,005% marganes sulfat tetragidrat

1,0% agar

pH qiymati 25 ° C da 6,2 ga sozlanadi.

Tegishli tartibda tayyorlangan MRS ozuqa muhiti ma'lum qoidalar asosida avtoklavda sterillanadi. Namuna olishimiz kerak bo'lgan mahsulotlardan oz miqdorda ajratib olamiz va oldindan tayyorlab olingan (5ml miqdorda MRS solingan) kolbalarga joylanadi va 37°C da 24 soat termostatda qoldiriladi. Bunda o'sgan bakteriyalar albatta aralashma holatida bo'ladi. Biz aralashma orasidan aynan biz tajriba uchun kerakli bo'lgan shtammlarni ajratib olish uchun petri chashkasiga quyuvchi ozuqa muhitiga qayta har xil chiziqlar holatida ekamiz. Bunda

birinchi chiziqda har xil bakteriyalar aralashmasi, qolganlarida esa tegishli tartibda yakka holatda biz uchun kerakli shtammlar o'sishni boshlaydi (24 soat 37°C). Tarqoq joylashgan kaloniyalardan bittasini qayta ekamiz va shu kaloniyani yanada aniqroq tekshirish uchun mikroskopda uni tekshirib olamiz. Agar shubha paydo bo'ladigan bo'lsa, tegishli kaloniyalarni identifikatsiyaga topshiramiz va ular bizga shtammlarimizning biologik, fizologik, morfologik va boshqa bir qator ma'lumotlariga asoslanib aniq natijalarni berishadi. Biz identifikatsiyalash uchun MALDI-TOF MS usulidan foydalandik.



Biz har bir tanlab olingan shtammlarimizning 2 ta qismidan (lizat va supernatant) tekshirish ishlarini olib boramiz. Shtammlarimizda lizat va supernatantlarni ajratib olish uchun bizga (3000 va 10000 rpm) sentrafuga va 1×10^8 tiniqlik darajasiga ega tayyor eritma kerak bo'ladi. Sentrafuga qilishdan oldin DPPH ni tayyorlab olamiz. Uning uchun qattiq holatdagi DPPH ning 1mg miqdorini 25 ml 96 % li (etanol yoki metanol) eritmasida eritib olamiz va 30 min qorong'u joyda saqlaymiz. "Eslatma DPPH ni qaysi spirt bilan eritgan bo'lsak tajribaning oxirigacha faqat o'sha spirtidan foydalanish tavsiya qilanadi".

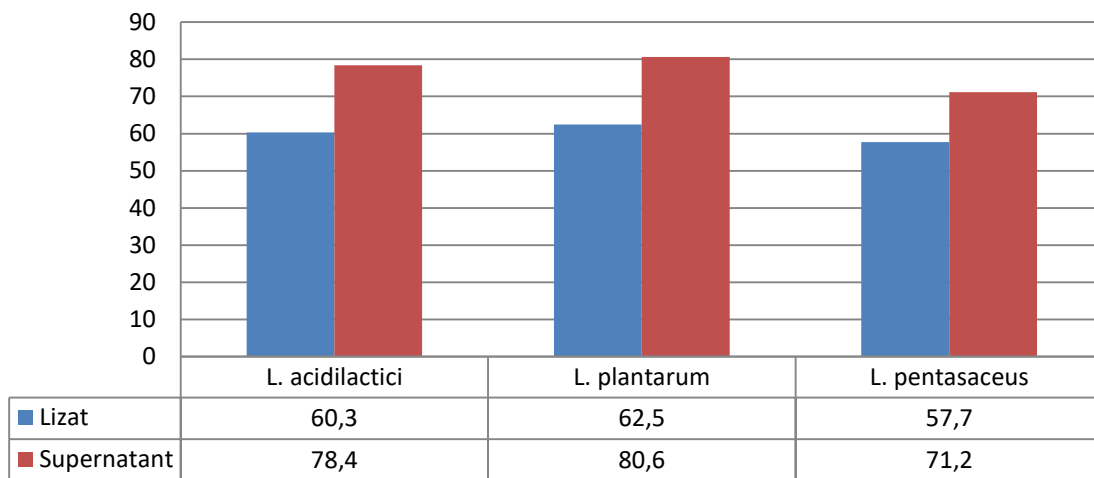
Sentrafuga qilib olingan shtammlarimizni ehtiyotkorlik bilan (ko'p saqlamagan holatda) lizat va supernatantini ajratib olamiz. "Eslatma sentrafuga ishlari ikki marotaba amalga oshiriladi". Lizatni tekshirish uchun fiziologik eritma quyamiz va saqlab qo'yamiz. Supernatantni esa, filtr qog'oz yordamida filtrlab bitta idishga yig'ib olamiz. Qilayotgan tajribamizning aniqlik darjasini oshirish uchun iloji boricha ko'p va har xil konsentratsiyada bajarish kerak va biz 5 xil (1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml) namunada tanlab oldik. Har bir supernatant solingan (1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml) idishchalar 10ml bo'lgungacha 96% li spirt solamiz va yaxshilab aralashtiramiz. Aralashmaning har biridan 1ml miqdorda boshqa idishga solamiz (ya'ni yana boshqa 5ta idishga 1ml dan). Shundan so'ng har bir idishga 3ml dan qorong'u joyda saqlangan DPPH dan solamiz. Ularning ustidan umumiy eritmalar 10ml bo'lguncha (ya'ni 6 ml dan) 96% li spirt solamiz. Yaxshilab aralashtiramiz va 30 min qorong'u joyda saqlashga qoldiramiz. Bu paytda spektrofotometrni ish holatiga keltiramiz (A - 517nm). Qorong'u joyda saqlangan supernatant aralashmasini 2 ml dan kyuvetalarga solamiz (berilgan tartibda). Birinchi kyuvetaga DPPH (2 ml) qolganlariga aralashmalardan solingan kyuvetalarni joylashtiramiz. Olingan natijalarni quyidagi formula yordamida hisoblaymiz.

$$\omega = \frac{A_{kontrol} - A_{sample}}{A_{kontrol}} \times 100 \%$$

Har bir shtammlarning natijalari olinadi va Excel dasturi yordamida diagramma ishlanadi.

NATIJA VA MUHOKAMA

Lactobacillus avlodi shtammlarining antioksidant ko'rsatgichlari



Natijalar shuni ko'rsatdiki, o'rganilgan shtammlar ichida L. plantarum shtammi eng yuqori natijalar qayt etdi va bundan tashqari ko'rishimiz mumkinki, umuman olganda shtammlarning lizatiga nisbatan supernatantlarida antioksidant faollik yuqori bo'lar ekan.

References:

1. Reid G., Sanders M.E., Gaskins H.R. et al. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics // J. Clin. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 37. – P. 105-118.
2. Гучок Ж.Л. Разработка технологии бактериально -ферментного препарата // Молочное Дело. – 2007. – №5. – С. 18-19.
3. Доронин А.Ф., Шендеров Б.А. Функциональное питание. – М.: Грантъ, 2002. – 296 с.
4. Vinderola C.G., Reinheimer J.A. Lactic acid starter and probiotic bacteria: A comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance // Food Research International. – 2003. – Vol. 36, №9-10. – P. 895-904.