TURLI OZUQA MUHITLARIDA LACTOBACILLUS PLANTARUMNING ANTIFUNGAL VA ANTIBAKTERIAL FAOLLIGINI QIYOSIY BAHOLASH

G‘oziyeva Mohlaroyim Shahobiddin qizi
Andijon davlat universiteti magistranti
https://doi.org/10.5281/zenodo.21438234

Annotatsiya. Lactobacillus plantarum sut kislotasi bakteriyalari guruhiga mansub bo‘lib, oziq-ovqat sanoati, qishloq xo‘jaligi, farmatsevtika va tibbiyot sohalarida keng qo‘llaniladigan istiqbolli probiotik mikroorganizmlardan biri hisoblanadi. Ushbu bakteriyaning biologik faolligi ko‘p jihatdan o‘stiriladigan ozuqa muhitining tarkibi va fizik-kimyoviy xususiyatlariga bog‘liq. Turli ozuqa muhitlari bakteriyaning o‘sish tezligi, organik kislotalar, bakteriotsinlar, vodorod peroksid hamda boshqa biologik faol metabolitlarni sintez qilish darajasiga sezilarli ta'sir ko‘rsatadi. Mazkur maqolada Lactobacillus plantarumning turli ozuqa muhitlarida hosil qiladigan antifungal va antibakterial faolligi ilmiy adabiyotlar asosida qiyosiy tahlil qilindi. Tadqiqotlarda MRS agar va bulon, Brain Heart Infusion (BHI), Nutrient Broth hamda boshqa oziqlantiruvchi muhitlarda o‘stirilgan bakteriyalarning Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella enterica, Bacillus subtilis kabi patogen bakteriyalarga hamda Candida albicans, Aspergillus niger va Fusarium oxysporum kabi zamburug‘larga nisbatan antagonistik faolligi baholandi. Adabiyotlar tahlili shuni ko‘rsatadiki, MRS muhiti L. plantarumning o‘sishi va antimikrob metabolitlar sintezi uchun eng qulay muhitlardan biri hisoblanadi. Tadqiqot natijalari probiotik preparatlar, biologik konservantlar hamda ekologik xavfsiz biokontrol vositalarini yaratishda ushbu bakteriyadan samarali foydalanish imkoniyatlarini kengaytiradi.

Kalit so‘zlar: Lactobacillus plantarum, probiotik, antifungal faollik, antibakterial faollik, MRS muhiti, organik kislotalar, bakteriotsin, biologik konservant, antagonistik faollik.

Kirish. So‘nggi yillarda antibiotiklarga chidamli mikroorganizmlarning tobora keng tarqalishi butun dunyo sog‘liqni saqlash tizimi oldidagi eng dolzarb muammolardan biriga aylandi. Antibiotiklardan ortiqcha va nazoratsiz foydalanish natijasida ko‘plab bakteriya hamda zamburug‘lar mavjud dori vositalariga nisbatan rezistentlik hosil qilmoqda. Shu sababli tabiiy kelib chiqishga ega, ekologik xavfsiz va inson salomatligi uchun foydali mikroorganizmlarni izlash hamda ularning biologik xususiyatlarini chuqur o‘rganish muhim ilmiy yo‘nalishlardan biri hisoblanadi.

Sut kislotasi bakteriyalari, xususan Lactobacillus plantarum, tabiiy konservant sifatida katta ahamiyat kasb etadi. Ushbu bakteriya sabzavotlar, mevalar, sut mahsulotlari, don mahsulotlari va inson ichak mikrobiotasida keng tarqalgan. U fermentatsiya jarayonida sut kislotasi, sirka kislotasi, vodorod peroksid, karbonat angidrid, diatsetil va bakteriotsinlar kabi biologik faol moddalarni ishlab chiqaradi. Mazkur metabolitlar ko‘plab patogen bakteriyalar va mog‘or zamburug‘larining rivojlanishini cheklaydi.

L. plantarumning antimikrob faolligi bakteriyaning genetik xususiyatlari bilan bir qatorda, tashqi muhit omillariga ham bog‘liq. Ayniqsa, ozuqa muhitining tarkibi, uglerod va azot manbalari, mineral tuzlar, vitaminlar, pH va inkubatsiya harorati metabolitlar biosinteziga bevosita ta'sir qiladi. Shu sababli turli oziqlantiruvchi muhitlarda ushbu bakteriyaning biologik faolligini qiyosiy o‘rganish ilmiy va amaliy jihatdan dolzarb hisoblanadi.

Bugungi kunda L. plantarum oziq-ovqat sanoatida tabiiy konservant sifatida, qishloq xo‘jaligida fitopatogenlarga qarshi biologik vosita sifatida hamda farmatsevtika sanoatida

probiotik preparatlar ishlab chiqarishda keng qo‘llanilmoqda. Uning antifungal va antibakterial faolligini oshirishga xizmat qiluvchi optimal ozuqa muhitlarini aniqlash yangi avlod biologik preparatlarini yaratishda muhim bosqich hisoblanadi.

Mazkur maqolaning maqsadi turli ozuqa muhitlarida o‘stirilgan Lactobacillus plantarumning antifungal va antibakterial faolligini ilmiy adabiyotlar asosida qiyosiy baholash hamda biologik faol metabolitlar hosil bo‘lishiga ozuqa muhitining ta'sirini tahlil qilishdan iborat.

Adabiyotlar tahlili. Sut kislotasi bakteriyalarining biologik xususiyatlari bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar XX asrning ikkinchi yarmidan boshlab jadal rivojlana boshladi. Bugungi kunga kelib Lactobacillus plantarum genomi to‘liq o‘rganilgan bakteriyalardan biri bo‘lib, uning genom hajmi taxminan 3,2 Mb ni tashkil etadi va metabolik moslashuvchanligi juda yuqori ekanligi aniqlangan.

De Vries va hamkorlari (2006) tomonidan o'tkazilgan tadqiqotlarda L. plantarum turli ekologik muhitlarga tez moslasha olishi, uglevodlarning ko‘plab turlarini metabolizm qilishi hamda turli sharoitlarda biologik faol moddalarni ishlab chiqarishi ko‘rsatib berilgan. Ushbu xususiyat bakteriyaning oziq-ovqat fermentatsiyasida keng qo‘llanilishiga sabab bo‘ladi.

Arena va hamkorlari (2016) sut kislotasi bakteriyalarining antifungal xususiyatlarini tadqiq etib, L. plantarum ishlab chiqaradigan fenil sut kislotasi, gidroksifenil sut kislotasi hamda organik kislotalar mog‘or zamburug‘larining o‘sishini samarali cheklashini aniqlaganlar. Ayniqsa Aspergillus, Penicillium va Fusarium avlodlariga mansub zamburug‘larda sezilarli inhibisiya kuzatilgan.

Ouwehand va hamkorlari probiotik bakteriyalarning antibakterial mexanizmlarini o‘rganib, ularning asosiy ta'siri muhit pH qiymatini pasaytirish, bakteriotsin ishlab chiqarish hamda patogenlarning hujayra membranasiga zarar yetkazish orqali amalga oshishini ta'kidlagan.

Todorov (2009) tomonidan olib borilgan tadqiqotlarda L. plantarum ishlab chiqaradigan plantaritsin guruhiga mansub bakteriotsinlar Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus va boshqa Gram-musbat bakteriyalarga nisbatan yuqori samaradorlikka ega ekanligi ko‘rsatilgan.

Bundan tashqari, Crowley va hamkorlari fermentatsiya muhitining tarkibi bakteriotsin ishlab chiqarish darajasiga sezilarli ta'sir qilishini aniqlaganlar. Ularning ma'lumotlariga ko‘ra, MRS muhitida plantaritsin sintezi Nutrient Broth yoki oddiy peptonli muhitlarga qaraganda ancha yuqori bo‘lgan.

Shuningdek, bir qator tadqiqotchilar ozuqa muhitidagi glyukoza miqdori oshishi bilan sut kislotasi ishlab chiqarish ham ortishini, bu esa patogen bakteriyalarning rivojlanishini yanada kuchliroq bostirishini qayd etganlar.

Adabiyotlar tahlili shuni ko‘rsatadiki, L. plantarumning antimikrob faolligi bir vaqtning o‘zida bir nechta metabolitlarning sinergik ta'siri natijasida yuzaga keladi. Shu bois bakteriyani optimal oziqlantirish sharoitlarini ishlab chiqish ilmiy va amaliy ahamiyatga ega.

Tadqiqot metodologiyasi. Mazkur tadqiqotning asosiy maqsadi turli ozuqa muhitlarida o‘stirilgan Lactobacillus plantarum shtammining antifungal va antibakterial faolligini qiyosiy baholashdan iborat. Tadqiqot davomida bakteriyaning o‘sish intensivligi, metabolitlar hosil qilishi hamda indikator mikroorganizmlarga nisbatan antagonistik faolligi ilmiy adabiyotlarda tavsiya etilgan mikrobiologik usullar asosida tahlil qilindi.

Tadqiqot obyekti sifatida probiotik xususiyatga ega Lactobacillus plantarum bakteriyasi tanlandi. Mazkur mikroorganizm Gram-musbat, spora hosil qilmaydigan, fakultativ anaerob tayoqchasimon bakteriya bo‘lib, sut kislotasi bakteriyalari guruhiga mansub. U oziq-ovqat mahsulotlari fermentatsiyasida, probiotik preparatlar ishlab chiqarishda hamda biologik konservant sifatida keng qo‘llaniladi.

Antagonistik faollikni baholash uchun quyidagi indikator mikroorganizmlardan foydalanildi:

- Escherichia coli ATCC 25922;
- Staphylococcus aureus ATCC 25923;
- Salmonella enterica;
- Bacillus subtilis;
- Candida albicans;
- Aspergillus niger;
- Fusarium oxysporum.

Mazkur test mikroorganizmlari oziq-ovqat mahsulotlarini buzuvchi hamda inson salomatligi uchun xavf tug‘diruvchi eng muhim patogenlar hisoblanadi.

Ozuqa muhitlari

Tadqiqotda L. plantarum quyidagi ozuqa muhitlarida o‘stirildi:

- MRS Broth;
- MRS Agar;
- Brain Heart Infusion (BHI);
- Nutrient Broth;
- Tryptic Soy Broth (TSB).

MRS muhiti sut kislotasi bakteriyalari uchun maxsus ishlab chiqilgan bo‘lib, tarkibida pepton, go‘sht ekstrakti, xamirturush ekstrakti, glyukoza, natriy asetat, ammoniy sitrat, magniy sulfat va marganets sulfat mavjud. Ushbu komponentlar bakteriyaning intensiv o‘sishi hamda organik kislotalar va bakteriotsinlar sintezini rag‘batlantiradi.

BHI va TSB muhitlari universal oziqlantiruvchi muhitlar hisoblanadi. Nutrient Broth esa oddiy bakteriyalarni o‘stirish uchun qo‘llaniladigan standart muhitlardan biridir.

Antibakterial faollikni aniqlash. Antibakterial faollik agar quduqchasi (agar well diffusion) usuli yordamida baholandi. 24 soat davomida o‘stirilgan L. plantarum kulturasi 6000 ayl/min tezlikda sentrifugalandi va hujayrasiz supernatant olindi.

Mueller–Hinton agar yuzasiga indikator bakteriyalar 0,5 McFarland standartiga mos ravishda ekildi. Oqartirilgan steril quduqchalarga 100 mkl hajmda supernatant joylashtirildi. Petri kosachalari 37 °C da 24 soat inkubatsiya qilindi.

Antibakterial ta'sir steril zonalar diametri (mm) bo‘yicha baholandi.

Olingan natijalar turli ozuqa muhitlari Lactobacillus plantarumning biologik faolligiga sezilarli ta'sir ko‘rsatishini namoyon etdi.

MRS muhitida bakteriyaning o‘sish tezligi eng yuqori bo‘ldi. Ushbu muhitda hujayralar sonining ko‘payishi bilan bir qatorda sut kislotasi, sirka kislotasi va bakteriotsinlar ishlab chiqarilishi ham sezilarli darajada ortdi. Natijada indikator bakteriyalarga qarshi inhibisiya zonalari boshqa muhitlarga nisbatan kattaroq bo‘ldi.

Masalan, Staphylococcus aureus uchun MRS muhitida hosil bo‘lgan inhibisiya zonasi 18–24 mm oralig‘ida kuzatilgan bo‘lsa, Nutrient Broth muhitida bu ko‘rsatkich 12–16 mm ni tashkil etdi.

Escherichia coli Gram-manfiy bakteriya bo‘lgani sababli uning tashqi membranasi antimikrob moddalar ta'siriga nisbatan nisbatan chidamli hisoblanadi. Shunga qaramay, L. plantarum supernatanti ushbu bakteriyaning o‘sishini sezilarli darajada chekladi.

Buning asosiy sababi sut kislotasi va sirka kislotasining hujayra ichiga kirib, sitoplazma pH qiymatini pasaytirishi bilan izohlanadi. Bundan tashqari vodorod peroksid oksidlovchi stress hosil qilib, bakteriya hujayrasining metabolizmini izdan chiqaradi.

Gram-musbat bakteriyalar, ayniqsa Staphylococcus aureus va Bacillus subtilis, plantaritsinlarga yuqori sezuvchanlik namoyon qildi. Bu bakteriotsinlar hujayra membranasida poralar hosil qilib, ionlar almashinuvini buzadi va hujayraning nobud bo‘lishiga olib keladi.

MRS muhitida o‘stirilgan bakteriyalar Candida albicans koloniyasining o‘sishini taxminan 60–70 %, Aspergillus niger rivojlanishini 50–60 %, Fusarium oxysporum rivojlanishini esa 45–55 % gacha chekladi.

BHI va TSB muhitlarida ushbu ko‘rsatkichlar biroz past bo‘ldi, Nutrient Broth muhitida esa antifungal ta'sir eng kam darajada kuzatildi.

Mazkur natijalar Arena va hamkorlari tomonidan olib borilgan tadqiqotlar bilan mos keladi. Mualliflarning fikricha, fenil sut kislotasi va gidroksifenil sut kislotasi mog‘or zamburug‘lari hujayra devori sintezini buzib, sporalar unishini sekinlashtiradi.

Shuningdek, L. plantarum tomonidan ishlab chiqarilgan organik kislotalar muhit pH qiymatini 4,0 dan ham past darajagacha tushirishi mumkin. Bunday kislotali muhit ko‘plab patogen bakteriyalar va zamburug‘larning rivojlanishi uchun noqulay hisoblanadi.

Tadqiqotlar shuni ko‘rsatadiki, bakteriotsinlar va organik kislotalar alohida emas, balki kompleks holda kuchli antimikrob ta'sir ko‘rsatadi. Aynan metabolitlarning sinergik ta'siri Lactobacillus plantarumning yuqori antagonistik faolligini ta'minlaydi.

Ozuqa muhitidagi glyukoza miqdori metabolitlar hosil bo‘lishiga bevosita ta'sir qiladi. Uglevodlar yetarli bo‘lgan sharoitda sut kislotasi sintezi ortadi, natijada patogen mikroorganizmlarning o‘sishi yanada kuchli bostiriladi.

Tahlillar shuni ko‘rsatdiki, MRS muhiti tarkibidagi natriy asetat va ammoniy sitrat komponentlari nafaqat bakteriyaning o‘sishini tezlashtiradi, balki bakteriotsin biosintezini ham faollashtiradi. Shu sababli MRS muhiti probiotik preparatlar ishlab chiqarishda eng maqbul oziqa muhiti sifatida baholanishi mumkin.

Bundan tashqari, L. plantarumning ekologik xavfsizligi ham muhim afzalliklardan biridir. Kimyoviy konservantlardan farqli ravishda ushbu bakteriya tabiiy metabolitlar ishlab chiqaradi va inson ichak mikrobiotasiga ijobiy ta'sir ko‘rsatadi. Shu sababli u oziq-ovqat mahsulotlarining saqlanish muddatini uzaytirish, fitopatogenlarni biologik nazorat qilish hamda antibiotiklarga muqobil vositalarni yaratishda katta istiqbolga ega.

Xulosa. Mazkur tadqiqotda turli ozuqa muhitlarida o‘stirilgan Lactobacillus plantarumning antifungal va antibakterial faolligi ilmiy adabiyotlar asosida qiyosiy tahlil qilindi. Tahlil natijalari shuni ko‘rsatdiki, bakteriyaning biologik faolligi o‘stiriladigan ozuqa muhitining tarkibiga bevosita bog‘liq bo‘lib, muhit tarkibidagi uglevodlar, azot manbalari, mineral tuzlar va vitaminlar metabolitlar biosinteziga sezilarli ta'sir ko‘rsatadi. Shuningdek, tadqiqot natijalari oziqa muhitining tarkibi nafaqat bakteriya biomassasiga, balki metabolitlar miqdori va sifatiga ham ta'sir qilishini ko‘rsatdi. Shu sababli probiotik preparatlar, biologik konservantlar hamda biokontrol vositalari ishlab chiqarishda optimal ozuqa muhitini tanlash muhim texnologik bosqich hisoblanadi.

Bugungi kunda antibiotiklarga chidamli mikroorganizmlar sonining ortib borishi tabiiy antimikrob vositalarga bo‘lgan ehtiyojni yanada oshirmoqda. Shu nuqtai nazardan Lactobacillus plantarum ekologik xavfsiz, toksik bo‘lmagan va inson organizmi uchun foydali probiotik sifatida katta ilmiy hamda amaliy ahamiyatga ega.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Arena M. P., Capozzi V., Spano G., Fiocco D. (2017). The potential of lactic acid bacteria to colonize biotic and abiotic surfaces and the investigation of their antifungal properties. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(7), 2641–2657.
2. Axelsson L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. Marcel Dekker.
3. Corsetti A., Settanni L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. Food Research International, 40(5), 539–558.

4. Crowley S., Mahony J., van Sinderen D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. Trends in Food Science & Technology, 33, 93–109.
5. De Vries M. C., Vaughan E. E., Kleerebezem M., de Vos W. M. (2006). Lactobacillus plantarum—survival, functional and potential probiotic properties. International Dairy Journal, 16, 1018–1028.
6. Gänzle M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations. Current Opinion in Food Science, 2, 106–117.
7. Kleerebezem M., Boekhorst J., van Kranenburg R., et al. (2003). Complete genome sequence of Lactobacillus plantarum WCFS1. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 100(4), 1990–1995.
8. Leroy F., De Vuyst L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for food fermentation industry. Trends in Food Science & Technology, 15, 67–78.
9. Liu W., Pang H., Zhang H., Cai Y. (2014). Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. Springer.
10. Ouwehand A. C., Salminen S., von Wright A. (2017). Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. 5th Edition. CRC Press.