



## ISOLATION OF LACTOBACILLUS ISOLATES FROM LOCAL SOURCES

**Khadjimetova Sevara Raupovna**

Tashkent Pharmaceutical Institute

Sevarahadjimetova8@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15581797>

### ARTICLE INFO

Received: 26<sup>th</sup> May 2025

Accepted: 30<sup>th</sup> May 2025

Online: 31<sup>st</sup> May 2025

### KEYWORDS

*Lactobacillus*, strain,  
probiotic, SAB, isolate,  
antibacterial activity.

### ABSTRACT

Currently, the concept of "probiotic" includes groups of live non-pathogenic microorganisms that are essential for the intestinal microbiota of a healthy person or animal. Molecular mechanisms underlying the antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, and detoxifying properties of SAB are currently expanding the selection of probiotics. There is a long history of data on antimicrobial metabolites synthesized by lactic acid bacteria (LABs), which have been used to prepare lactic acid products. Information on low molecular weight antimicrobial substances that are the main or by-products of lactic acid fermentation is summarized. SAB fungicides and bacteriocins are reviewed in relation to their use as food preservatives. The properties and classification of bacteriocins depend on their synthesis and mechanism of action. The main promising areas of application of antimicrobial metabolites of SABs in industry and medicine are presented.

## LACTOBACILLUS IZOLYATLARINI MAHALLIY MANBALARDAN AJRATIB OLISH

**Xadjimetova Sevara Raupovna**

Toshkent farmatsevtika instituti

Sevaraxadjimetova8@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15581797>

### ARTICLE INFO

Received: 26<sup>th</sup> May 2025

Accepted: 30<sup>th</sup> May 2025

Online: 31<sup>st</sup> May 2025

### KEYWORDS

*Lactobacillus*, shtamm,  
probiotik, SAB, izolyat,  
antibakterial faolligi.

### ABSTRACT

Hozirgi kunda "probiotik" tushunchasi sog'lom odam yoki hayvonning ichak mikrobiotasi uchun zarur bo'lgan tirik patogen bo'lmagan mikroorganizmlar guruhlarini o'z ichiga oladi. SAB ning antioksidant, antimikrob, yallig'lanishga qarshi va detoksifikatsiya qiluvchi xususiyatlariga asoslangan molekulyar mexanizmlar hozirgi vaqtda probiotiklar tanlovini kengaytirmoqda. Uzoq vaqtdan beri sut kislotasi mahsulotlarini tayyorlash uchun ishlatilgan sut kislotasi bakteriyalari (SAB) tomonidan sintez qilingan antimikrobial metabolitlar bo'yicha ma'lumotlar mavjud. Sut kislotasi fermentatsiyasining asosiy yoki qo'shimcha mahsuloti bo'lgan past molekulyar og'irlikdagi mikroblarga qarshi moddalar



*haqida ma'lumotlar umumlashtiriladi. SAB fungitsidlari va bakteriotsinlari ularning oziq-ovqat konservantlari sifatida ishlatilishi bilan bog'liq holda ko'rib chiqiladi. Bakteriotsinlarning xususiyatlari va tasnifi, ularning sintezi va ta'sir qilish mexanizmiga bog'liq. SABlarni mikroblarga qarshi metabolitlari sanoat va tibbiyotda qo'llashning asosiy istiqbolli yo'nalishlari keltirilgan.*

**KIRISH.** Yangi istiqbolli probiotik shtammlarni izlash, ularning probiotikli xususiyatlarini aniqlash, shuningdek, allaqachon ma'lum bo'lgan probiotik shtammlarni o'rganish fundamental fanning muhim vazifasi hisoblanadi. SABlarining yangi shtammlarini ajratish va o'rganishga qaratilgan tadqiqotlar butun dunyoda keng tarqalgan dolzarbd masala. Istiqbolli shtammni izlash va tanlashning birinchi va muhim bosqichlaridan biri uning taksonomikligini aniqlash, shtammni tur darajasida to'g'ri ajratilgan mikroorganizmning xavfsizligi, kelib chiqishi, yashash muhiti va fiziologik xususiyatlari haqida oldindan tushunchaga ega bo'lish imkonini beradi. Laktobakteriyalar streptokokklar, laktokokklar va enterokokklar bilan bir qatorda SABlar guruhining eng ko'p o'rganilgan vakillaridan biri. Bakteriyalarning zamonaviy filogenetik tasnifiga ko'ra, Lactobacillus jinsi bir yuz ellikdan ortiq tur va kichik turga ega. Tadqiqotchilar 16S rRNK gen sekvensiyasi yordamida SABlarining 14 ta izolatini : Enterococcus mediterraneensis, Lactobacillus fermentum va Streptococcus lutetiensis deb aniqlashdi. Izolyatlarning probiotik xususiyatlarini o'rganishdi. Mualliflarning ishlarida Lactobacillus spp ning antibakterial faolligi va probiotik xususiyatlari o'rganilgan, bu shtammlar bu shtammlar ampitsillinga sezgir bo'lgan.

**ADABIYOTLAR TAHLILI VA METODOLOGIYASI.** SAB izolyatlarini ajratib olish uchun sut mahsulotlaridan foydalanildi. Boyitilgan MRS-ozuqa (Hi-Media, India) muhiti tayyorlandi, steril fiziologik eritmada (0,85%, pH 7) gomogenlashtirildi. Gomogenat  $10^{-5}$  darajagacha suyultirildi va MRS-agar ozuqa muhiti solingan 2 tadan Petri likopchalariga ekilib anaerob va aerob sharoitda 24-48 soat davomida  $37-40^{\circ}\text{C}$  haroratda inkubasiya qilindi. Ajratib olingan izolyatlar "Berdji aniqlagichi" da ko'rsatilgan ko'rsatkichlar bo'yicha morfologik- kultural, fiziologik-biokimyoviy xossalari bo'yicha amalga oshirildi. Mikroskopda tayoqcha va ko'k shaklidagi hujayralarga ega bo'lgan, Grammusbat va katalaza salbiy namunalar tanlandi va MRS-sho'rva ozuqa muhitiga (HiMedia, India) ekildi.

**MUHOKAMA.** SAB izolyatlarini ajratib olish uchun oziqa muhiti tayyorlashda quyidagi tarkib tuzildi. MRS-sho'rva ozuqa muhiti tarkibi (g/l);

pepton -10,0;  
go'sht ekstrakti -10,0;  
achitqi ekstrakti -5,0;  
tvin 80-1,0 ml;  
sirka kislotaning natriyli tuzi-5,0;  
ammoniy sitrat- 2,0;  
glyukoza -20;  
 $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  -0.2;



$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -0,05;

L-sistein -0,2;

pH- 6,2-6,5., 15 daqiqa davomida 121 °C haroratda 1 atm bosim ostida avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

1. MRS-agar ozuqa muhiti tarkibi (g\l);

pepton -10,0;

go'sht ekstrakti -10,0;

achitqi ekstrakti -5,0;

tvín 80-1,0 ml;

sirka kislotaning natriyli tuzi-5,0;

ammoniy sitrat- 2,0;

glyukoza -20;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  -0.2;

$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -0,05;

L-sistein -0,2;

agar-agar-18;

pH- 6,2-6,5., 15 daqiqa davomida 121 °C haroratda 1 atm bosim ostida avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

2. Uglevod qo'shilmagan MRS-1 ozuqa muhiti tarkibi, (100 ml);

pepton - 1 g;

achitqi ekstrakti - 0,5 g;

limon kislotaning ammoniyli tuzi - 0,2 g;

sirka kislotaning natriyli tuzi - 0,5 g;

$\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2 g;

$\text{MgSO}_4$  -0,02 g;

$\text{MnSO}_4$  - 0,005 g;

Tvin 80-0,1ml;

pH 6,8-7,0.

Indikator sifatida bromkrezol binafsha rang (Reaxim, Rossiya) (1 l muhitga 1,6%-li spirtli eritmada 1,4 ml solinadi) xizmat qildi. Ushbu indikator laktobakteriyalar tomonidan uglevodlar parchalanganida hosil bo'ladigan kislotali mahsulotlar ta'sirida dastlabki binafsha rangini sariqqa o'zgartiradi. Tayyorlangan MRS-1 muhitini uglevodlar qo'shmasdan 5 ml probirkalarga qoyib 1 atm bosim ostida 15 minut davomida avtoklav qilinadi.

Mikrob kulturasidan surtmani yog'sizlangan shisha oynasiga qo'yiladi va olovda quritiladi. Kimyoviy gramm usulda bo'yaladi. Gram bo'yalgan namuna mikroskop ostida gram-manfiy va gramm-musbat bakteriyalarni aniqlash uchun tekshiriladi; Ziehl-Nielsen usuli bo'yicha - kislotaga chidamli bakteriyalarni bo'yash va sporalarni aniqlash uchun; Burri yoki Gins usuli bo'yicha - kapsulalar mavjudligini aniqlash. O'rganilayotgan mikroorganizmlarda kapsulalarning mavjudligi suyuq qora siyoh yoki nigrozinning 10% suvli eritmasidan foydalangan holda salbiy kontrast bilan ham aniqlanadi. Ushbu bo'yoqlar kapsulaga kirmaydi va shuning uchun preparatning umumiy qorong'i fonida aniq ko'rinadi. Mikroorganizmlarning o'rganilayotgan suspenziyasining bir tomchisi fuksinning suyultirilgan eritmasi tomchisiga solinadi, bir tomchi siyoh bilan aralashtiriladi, qopqoq bilan qoplanadi va ob'ektiv bilan



ko'riladi ( $\times 40$ ). Kulturalarni aniqlash uchun spora hosil bo'lish turini, hujayradagi sporalarning joylashishini va ularning o'lchamlarini tavsiflash kerak.

### ***Shtammning kultural xususiyatlarini o'rganish***

Kultural xususiyatlar bakteriyalarning har bir turi uchun xarakterlidir, shuning uchun ular muhim farqlovchi xususiyatdir. Bakteriyalarning kultural xususiyatlari ularning zich, suyuq va yarim suyuq selektiv va sanoat oziq muhitida o'sishi tabiati bilan belgilanadi. Izolyatsiya qilingan koloniyalarni olish uchun zich ozuqa muhitida ekish izolyatlarni Drigalskiy usulida amalga oshiriladi.

Shtammning pasportida koloniyalarning o'lchami, shakli, chekka konturining tabiati, koloniyaning relyefi va yuzasi, koloniyaning rangi, tuzilishi va konsistensiyasi tasvirlangan bo'lishi kerak. Suyuq va yarim suyuq muhitda kultura o'sishi xarakterini batafsil tavsiflab o'tiladi. Izolyatlarning o'sishi aerob, anaerob yoki shartli anaerob sharoitlarda o'stirilganda minimal, optimal va maksimal o'sish haroratida o'rganilishi kerak.

**Xulosa:** Ushbu maqolada *Lactobacillus* izolyatlarini mahalliy manbalardan ajratib olindi. kulturaning (hujayralar va koloniyalar) ajralish belgilari bo'lmasligi kerak va o'rganilayotgan kulturalarda morfologik xususiyatlari bo'yicha taklif qilingan shtammning hujayralari va koloniyalaridan farq qiladigan hujayralar va koloniyalarning mavjudligi ruxsat berilmagan. *Lactobacillus* izolyatlarini mahalliy manbalardan ajratib olish va o'stirish uchun ozuqa muxitlarini tayyorlash SAB izolyatlarini ajratib olish uchun sut mahsulotlaridan foydalanildi. Laktobakteriyalarni uglevodlarni biyog'itishi spektri bo'yicha identifikatsiya qilish. Har bir izolyatlarni uglevodlarga nisbatan fermentativ faolligini aniqlash uchun laktobakteriya izolyatlarining hayotchanligi MRS-sho'rva ozuqa muhitiga 2-3 marta qayta ekish yo'li bilan tiklandi va agarli muhitga ekildi. O'sib chiqqan koloniyalar tanlab olindi. Ajratib olingan izolyat namunalari MALDI-TOF Mass spectrophotometry EXS 2600 (Zybio) uskunasi (3-rasm) yordamida identifikatsiya qilindi.

### **References:**

1. V S. Kaewnopparat, N. Dangmanee, N. Kaewnopparat, T. Srichana, M. Chulasiri, S. Settharaksa /In vitro probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* SK5 isolated from vagina of a healthy woman / Anaerobe. - 2013. - V. 22. - P. 6-13
2. Al-Shimaa Ibrahim Ahmed<sup>1</sup>, Gihan Mohamed El Moghazy<sup>1</sup>, Tarek Ragab Elsayed<sup>2</sup>, Hanan Abdel Latif Goda<sup>3</sup>, Galal Mahmoud Khalafalla<sup>2</sup> Molecular identification and in vitro evaluation of probiotic functional properties of some Egyptian lactic acid bacteria and yeasts J Genet Eng Biotechnol 2021 Aug 5;19(1):114.
3. Dalia Cizeikiene<sup>1</sup>, Jolita Jagelaviciute<sup>2</sup> Investigation of Antibacterial Activity and Probiotic Properties of Strains Belonging to *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Genera for Their Potential Application in Functional Food and Feed Products Probiotics Antimicrob Proteins 2021 Oct;13(5):1387-1403.
4. Н. А. Алдобаева, С. Ю. Метасова. Перспективы использования пробиотиков и пребиотиков в промышленном птицеводстве / Сетевой научный журнал. – 2016. – №2 (7)– С. 34.
5. Occurrence and Dynamism of Lactic Acid Bacteria in Distinct Ecological Niches: A Multifaceted Functional Health Perspective., Fanny G., Catherine D.2, Muriel T.3, Elisabeth S.,



Axel G.,Frédéric J. T.1, Anne-Marie Revol-Junelles., Frédéric B. and Benoît F.: Frontiers in Microbiology: November 2018,volume 9, pp 1-15.

6. Мечников И.И. Молочные микробы и их польза для здоровья. СПТ: Изд. Зворыкин, 1911. С. 30.

7. Leroy F., Verluyten J., Luc De Vuyst // Int. J. Food Microbiol. 2006. V. 106. P. 270–285.