

Gullol A. BEKMURODOVA ¹, Dildora A. AMIRSAIDOVA ¹,
Mavluda X. DJALILOVA², Munisa K. Kalandarova²

1 O'zRFA Mikrobiologiya instituti, beegull@mail.ru

2 O'zMU Biologiya va ekologiya fakulteti Biotexnologiya va mikrobiologiya kafedrası

SELECTION OF PROMISING STRAINS ENHANCING GLUTATHIONE SYNTHESIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY AGAINST OXIDATIVE STRESS IN LACTIC ACID BACTERIA

Abstract

This study investigated the antioxidant activity of lactic acid bacteria, particularly glutathione synthesis and its protective role against oxidative stress through the redox system. The in vitro scavenging activity of DPPH, superoxide anion, and hydroxyl radicals was evaluated in 18 strains. The quantitative composition of free amino acids in the culture supernatants of selected strains was analyzed using HPLC. The results demonstrated that *Lactoplantibacillus plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3, and *Apilactobacillus kunkeei* 1 exhibited high antioxidant and glutathione-producing activity, indicating their potential as promising probiotic strains for the development of functional foods and probiotic preparations.

Keywords: glutathione, antioxidant activity, lactic acid bacteria, *Lactobacillus*, oxidative stress.

ОТБОР ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, УСИЛИВАЮЩИХ СИНТЕЗ ГЛУТАТИОНА И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Аннотация

В данном исследовании изучалась антиоксидантная активность молочнокислых бактерий, в частности синтез глутатиона и его защитная роль против окислительного стресса через редокс-систему. У 18 штаммов in vitro оценивали способность ингибировать радикалы DPPH, супероксид-анион и гидроксильные радикалы. Количественный состав свободных аминокислот в культуральной жидкости отобранных штаммов анализировали методом ВЭЖХ. Результаты показали, что штаммы *Lactoplantibacillus plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3 и *Apilactobacillus kunkeei* 1 обладают высокой антиоксидантной и глутатион-синтезирующей активностью и являются перспективными для разработки функциональных пищевых продуктов и пробиотических препаратов.

Ключевые слова: глутатион, антиоксидантная активность, молочнокислые бактерии, *Lactobacillus*, окислительный стресс.

SUT KISLOTASI BAKTERIYALARIDA GLUTATION SINTEZI VA OKSIDLOVCHI STRESSGA QARSHI ANTIOKSIDANT FAOLLIKNI OSHIRUVCHI ISTIQBOLLI SHTAMMLARNI TANLASH

Annotatsiya

Mazkur tadqiqotda sut kislotasi bakteriyalarining antioksidant faolligi va glutation sintezi orqali oksidlovchi stressga qarshi himoya mexanizmlari o'rganildi. 18 ta shtammda DPPH, superoksid anioni va gidroksil radikallarini ingibirlash faolligi in vitro sharoitida baholandi hamda erkin aminokislotalar tarkibi YuSSX usulida tahlil qilindi. Natijalar *Lactoplantibacillus plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3 va *Apilactobacillus kunkei* 1 shtamlari yuqori antioksidant va glutation sintezlash xususiyatiga ega bo'lib, funksional oziq-ovqat va probiotik preparatlar yaratishda istiqbolli ekanligini ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: glutation, antioksidant faollik, sut kislotasi bakteriyalari, *Lactobacillus*, oksidlovchi stress.

Kirish. Glutation (GSH) hujayra ichki muhitida oksidlovchi stressga qarshi asosiy himoya tizimlaridan biri bo'lib, eng muhim endogen antioksidant tripeptid hisoblanadi. U glutamat, sistein va glitsin aminokislotalaridan tashkil topgan bo'lib, hujayralarda redoks muvozanatini saqlash, reaktiv kislorod turlarini (ROT) neytrallash, toksik moddalarni detoksifikatsiya qilish hamda hujayra membranalari, oqsillar va DNKni oksidlovchi shikastlanishdan himoya qilishda muhim rol o'ynaydi. Glutationning biologik ahamiyati uning qaytarilgan (GSH) va oksidlangan (GSSG) shakllari o'rtasidagi dinamik redoks aylanishi bilan chambarchas bog'liq [1,2].

Glutation sintezi hujayra sitozolida ikki bosqichda amalga oshadi va bu jarayon ATPga bog'liq hisoblanadi. Dastlab glutamat va sistein glutamat-sistein ligaza fermenti yordamida γ -glutamilsistein hosil qiladi, keyingi bosqichda esa glitsin ishtirokida glutation sintetaza orqali GSH shakllanadi. Ushbu fermentlar faoliyati hujayraning oksidlovchi holatiga bog'liq bo'lib, Nrf2 kabi redoks-sezgir transkripsiya omillari orqali tartibga solinadi. Glutation hujayrada oksidlovchi stress ta'sirida ROT bilan reaksiyaga kirishib, GSSG ga aylanadi, so'ngra glutathion reductaza fermenti ishtirokida NADPH hisobiga qayta tiklanadi. Bu mexanizm hujayra ichki muhitining barqarorligini saqlashda markaziy ahamiyat kasb etadi [3].

Oksidlovchi stress reaktiv kislorod turlarining ortiqcha hosil bo'lishi va ularni zararsizlantiruvchi antioksidant tizimlar faoliyatining etarli bo'lmasligi natijasida yuzaga keladi. Bunday holat lipidlarda peroksidlanish, oqsillar denaturatsiyasi va DNK shikastlanishiga olib keladi. Glutation esa glutation peroksidaza, glutation S-transferaza va glutation reduktaza kabi fermentlar bilan birgalikda ushbu jarayonlarning oldini olishda muhim rol o'ynaydi. Shu sababli

glutation tizimi hujayraning oksidlovchi stressga moslashuvida universal himoya mexanizmi sifatida qoraladi [2,3,4,].

So‘nggi yillarda sut kislotasi (SKB) bakteriyalarida, xususan, *Lactobacillus* turkumiga mansub probiotik shtamlarda glutation sintezi va uning redoks faolligi aniqlanishi katta ilmiy qiziqish uyg‘otmoqda. Sut kislotasi bakteriyalarida glutationning mavjudligi ularning oksidlovchi stress, kislorodning yuqori konsentratsiyasi va boshqa noqulay tashqi omillarga nisbatan chidamliligini oshiradi. Bu esa bakteriyalarning yashovchanligini yaxshilab, ularning probiotik xususiyatlarini kuchaytiradi [2,3].

Ayniqsa, *Lactobacillus fermentum* ME-3 shtammida glutationni sintez qilish, uni tashqi muhitdan o‘zlashtirish hamda oksidlangan shaklini qayta tiklash qobiliyatining mavjudligi aniqlangan. Ushbu shtammda to‘liq glutation redoks tizimining faol bo‘lishi uning kuchli antioksidant faolligini ta‘minlaydi va uni istiqbolli probiotik mikroorganizmlar qatoriga kiritish uchun muhim ilmiy asos bo‘lib xizmat qiladi. Tadqiqotlar shuni ko‘rsatadiki, glutation ishlab chiqaruvchi probiotiklar organizmda umumiy antioksidant holatni yaxshilab, oksidlovchi stress bilan bog‘liq patologik jarayonlarni kamaytirishi mumkin [5]. Sut kislotasi bakteriyalarining antioksidant faolligi faqat glutation ishlab chiqarish bilan cheklanib qolmay, balki ularning polifenollar bilan o‘zaro ta‘siri orqali ham kuchayadi. SKB tomonidan polifenollarning fermentativ parchalanishi natijasida hosil bo‘ladigan biofaol metabolitlar yallig‘lanishga qarshi, antioksidant va immunomodulyator ta‘sir ko‘rsatadi. Bu jarayonlar funksional oziq-ovqat mahsulotlari va nutrasevtik qo‘shimchalarni ishlab chiqishda katta amaliy ahamiyatga ega [4,6,7].

Umuman aytganda, glutation sintezi va uning redoks aylanishi hujayralarning oksidlovchi stressga qarshi asosiy himoya mexanizmlaridan biri hisoblanadi. Sut kislotasi bakteriyalarida, ayniqsa *Lactobacillus fermentum* ME-3 shtammida glutation tizimining mavjudligi ularning biologik barqarorligini oshirib, probiotik sifatidagi samaradorligini kuchaytiradi. Oksidlovchi stress bilan bog‘liq kasalliklar sonining ortib borayotganini inobatga olgan holda, glutation ishlab chiqaruvchi boshqa turdagi probiotiklarni o‘rganish va ulardan amaliyotda foydalanish muhim ilmiy va amaliy ahamiyat kasb etadi.

Tadqiqotning **maqsadi**. Yuqori antioksidant salohiyat namoyon etuvchi hamda glutation sintezlash faolligiga ega bo‘lgan funksional oziq-ovqat va probiotik preparatlar ishlab chiqish uchun istiqbolli hisoblangan probiotik shtamlarni aniqlash.

Materiallar va usullar. Tadqiqot ob‘ekti sifatida turli manbalardan, jumladan dorivor o‘simliklardan hamda fermentlangan oziq-ovqat **mahsulotlaridan** ajratilgan sut kislotasi bakteriya shtamlari tanlandi. Barcha izolyatlar “Probiotiklar mikrobiologiyasi va

biotexnologiyasi” laboratoriyasi kolleksiyasida 20% glyserinli eritmada saqlanib, -80°C haroratda muzlatilgan.

Tadqiqotning **predmeti** sut kislotasi bakteriyalarining **antioksidant faolligi** va **erkin aminokislotalar sintezlash qobiliyati** asosida, **glutation sintezlash faolligiga ega istiqbolli probiotik shtammlarni aniqlashdan** iborat.

DPPH (DFPG) radikallarini ingibirlash faolligini aniqlash. Tadqiqilayotgan sut kislotasi bakteriyalari (SKB) shtammlari **suspenziya shaklida** tayyorlandi. Buning uchun bakteriyalar ikki marotabalik faollashtirish va sintrafugalash asosda supernatant va butun hujayralarga ajratildi, so`ngra hujayralar fosfat buferida suspenziyalandi va hujayra zichligi standart sharoitda moslashtirildi. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikallarini ingibirlash faolligi Li S. va hamkorlarining usuli qisman modifikatsiya qilingan holda aniqlandi [8,22]. Tayyorlangan SKB suspenziyalari va ularning supernatantlari probirkalarga 1 ml dan ikki qator shaklida quyildi.

Birinchi qatordagi namunalar ustiga 1 ml yangi tayyorlangan DPPH eritmasi (0,05 mM, etanolda) qo`shildi. Ikkinchi qatordagi blank namunalariga esa 1 ml fosfat buferi qo`shildi. Aralashmalar yaxshilab chayqatilib, xona haroratida qorong`i joyda 30 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Inkubatsiyadan so`ng namunalar 13 000 rpm da 10 daqiqa davomida sentrifugalandi va supernatantning optik zichligi 517 nm to`lqin uzunligida spektrofotometr yordamida o`lchandi. radikalning ingibirlanish faolligi quyida keltirilgan formula asosida hisoblandi. Tadqiqot uch marotaba amalga oshirilib o`rtacha miqdorlari olindi.

$$\text{Ingibirlash faolligi (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blind}}) / A_{\text{blank}}] \times 100$$

bu erda

A_{blind} — fosfat buferining optik zichligi,

A_{blank} — DPPH eritmasining optik zichligi,

A_{sample} — namuna ishtirokidagi DPPH eritmasining optik zichligi.

SKB kultural suyuqliklarida antioksidant erkin aminokislotalarni aniqlash.

Tekshirilayotgan sut kislotasi bakteriyalari (SKB) shtammlari 5 ml to`liq aniqlangan muhit (TTAM) bulyoniga 50 μl inokulyatsiya qilinib, 37°C da 18 soat davomida inkubatsiya qilindi. TTAM tarkibi quyidagilardan iborat edi: distillangan suv, natriy asetat, ammoniy xlorid, vitaminlar, aminokislotalar, nukleotidlar, Tween 80, magniy sulfat, temir sulfat, marganes sulfat va glyukoza, pH = 6,14. Barcha komponentlar membrana filtridan (0,22 μm) o`tkazilib, steril qilindi [19].

Oqsil va peptidlarni cho`ktirish uchun 1 ml SKB suspenziyasiga 1 ml 20% uchxlorsirka kislotasi (UXSK) eritmasi qo`shildi va 15 daqiqa 8000 rpm da sentrifugalandi. Supernatantning 0,1 ml qismi liofilizatsiya qilinib, trietilamin:asetonitril:suv (1:7:1) aralashmasida eritilib, qayta

quritish jarayoni amalga oshirildi. Ushbu jarayon kislotani neytrallash uchun ikki marotaba takrorlandi. Erkin aminokislotalar feniltiozotsianat bilan reaksiyaga kirgizilib, feniltiokarbamil (FTK) hosilalari Steven A. va Cohen Daviel usuli bo'yicha tekshirildi [20]. Aminokislotalar hosilalarini aniqlash yuqori samaradorlik suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX) usuli yordamida amalga oshirildi.

YuSSX shartlari: DAD-detektorli Agilent Technologies 1200 xromatografi, kolonka 75 × 4,6 mm Discovery HS C18. Eritma A: 0,14 M CH₃COONa + 0,05% TEA, pH 6,4; Eritma B: CH₃CN. Oqim tezligi 1,2 ml/daqqa, aniqlash 269 nm. Gradient (% B/daqqa): 1–6%/0–2,5 daqiqa; 6–30%/2,51–40 daqiqa; 30–60%/40,1–45 daqiqa; 60–60%/45,1–50 daqiqa; 60–0%/50,1–55 daqiqa.

Erkin aminokislotalarning sifat va miqdoriy tahlili standart aminokislotalarning FTK hosilalari saqlanish vaqti hamda cho'qqilar maydonlarini taqqoslash orqali amalga oshirildi [21,23].

Olingan natijalar va ularning tahlili. Tekshirilgan sut kislotasi bakteriyalari shtammlarining antioksidant faolligi turli radikallarni ingibirlash qobiliyati bo'yicha baholandi. Jadvalda DPPH (DFPG) erkin kislorod radikallarini, superoksid anionlarni va gidroksil radikallarini ingibirlash bo'yicha supernatant va butun hujayra namunalariidagi foiz ko'rsatgichlari taqdim etilgan. Nazorat sifatida vitamin C ishlatilgan (1-jadval).

1-jadval

Sut kislotasi bakteriya shtammlarining antioksidant faolligi

№	Shtammlar	Antioksidant ko'rsatgichi (%)					
		DFPG erkin kislorod radikalini ingibirlash		Superoksid anionlarni ingibirlash		Gidroksil radikalini ingibirlash	
		Supernatant	Butun hujayra	Supernatant	Butun hujayra	Supernatant	Butun hujayra
1	2	3	4	5	6	7	8
	Nazorat (vitamin C)	99		91,37		88,21	
1	<i>L. plantarum mal1</i>	80	93	70,2	85	80,2	74
2	<i>P. acidilactici</i> Suz	89	14	54,2	84	24	72,5
3	<i>L. plantarum</i> TK1	77	85	80,5	77,6	76,8	70
4	<i>L. plantarum</i> KA3	62	87	82,4	76,4	77,7	72
5	<i>L. plantarum</i> K2	75	86	72	77,4	67,9	71,4
6	<i>L. plantarum</i> Kp1	82,3	0	67,5	88,3	30,2	81,2
7	<i>L. plantarum</i> Kp2	71,4	16	65,5	78,5	32,0	79,6
8	<i>L. plantarum</i> Kp3	62,4	0	68,0	70,6	12	80,4
9	<i>A. kunkeei</i> 1	82	64	86,4	75	80	78
10	<i>P. acidilactici</i> B	89,9	8,4	63,2	84,6	22,4	78,5
1	2	3	4	5	6	7	8
11	<i>P. acidilactici</i> S	83,6	0	86,5	75,68	10,6	75,2
12	<i>L. plantarum</i> R1	75	0	68,4	74,36	45,7	68,9
13	<i>L. plantarum</i> R2	67,54	48,83	89,9	70,23	40,2	56,0
14	<i>L. plantarum</i> R3	64,24	52,68	74,23	75,9	38,5	64,2
15	<i>L. plantarum</i> R4	68,33	48,10	72,29	77,9	36,2	36,5
16	<i>P. acidilactici</i> IS	68,4	78,6	56,4	70,4	56,2	65,5
17	<i>L. rhamnosus</i> 2	56,8	58,4	52,68	75,7	45,6	56,4
18	<i>L. plantarum</i> TK2	60,4	53,4	55,6	54,4	59,8	55,4

DFPG (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) erkin kislorod radikallarini ingibirlash nazorat namunalarida (vitamin C) 99% ni tashkil etdi. Tekshirilgan bakteriyalarda esa butun hujayra va supernatant namunalarining ba'zi shtammlarida bu ko'rsatgich past yoki yo'qligi kuzatildi. Supernatantlarning antioksidant faolligi 18 ta shtammdan 6 tasida 80% dan yuqori, 11 tasida 60% dan yuqori bo'ldi, *L. rhamnosus* 2 shtammi esa 60% dan past antioksidant faollik ko'rsatdi. Butun hujayralarda DFPG ga nisbatan antioksidant faollik pastroq bo'ldi; faqat *L. plantarum* mal1 shtammi butun hujayrasida 93% faollik ko'rsatdi. *L. plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3 va *L. plantarum* K2 shtammlari butun hujayralarida 80% dan yuqori, *A. kunkeei*1 da 64%, *P. acidilactici* IS da 78,6%, boshqa 6 shtammlarda 60% dan yuqori, 2 shtammlarda esa 20% dan past antioksidant faollik kuzatildi.

Superoksid anionlarini ingibirlash nazoratda 91,37% ni tashkil etdi. Tekshirilgan SKB larda supernatant ko'rsatgichi *L. plantarum* R2 da 89,9% bo'lib, nazoratga eng yaqin natija qayd etildi. Shuningdek, *L. plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3, *A. kunkeei*1 va *P. acidilactici* S supernatantlari 80% dan yuqori faollik ko'rsatdi. Supernatantlarda *P. acidilactici* IS,

P. acidilactici Suz va *L. plantarum* TK2 shtammlarida esa 60% dan past ingibirlanish kuzatildi (56,4%, 54,2% va 55,6%).

Butun hujayralarda superoksid anionini ingibirlash faolligi DFGP ga nisbatan yuqori bo'lib, eng yuqori ko'rsatkich *L. plantarum* Kp1 da 88,3% ni tashkil etdi, 18 ta shtammdan 13 tasida 70% dan yuqori faollik qayd etildi, eng past ko'rsatkich *L. plantarum* TK2 da 54,4% bo'ldi.

Superoksid dismutaza (SOD) hujayralarda erkin radikallarning toksik ta'siridan himoya qilishning asosiy elementi hisoblanadi. Bu metalloprotein oksidlanish jarayonlarini regulatsiya qiladi, metall ionlari (Fe, Cu, Zn, Mn) markaziy rol o'ynaydi va superoksid radikalini (O_2^-) kislorod va vodorod peroksidga aylantirishda ishtirok etadi [Munteanu va Apetrei, 2021]. SOD hujayralarda oksidlanishli stressni, lipid almashinuvini va yallig'lanishni tartibga soladi hamda o'smalarning shakllanishi bilan bog'liq jarayonlarda antioksidant faollikni namoyon qiladi. Shuningdek, SOD turli shakllari oziq-ovqat va farmatsevtika sanoatida qo'llanilishi, saratonga qarshi antioksidant himoya va qon aylanishini tartibga solishda muhimdir [15–17]. Ichak mikroflorasida mavjud SKB lari SOD va katalaza (KAT) antioksidant fermentlarning mahalliy manbai bo'lib, ularning probiotik sifatida qo'llanilishi samarali natijalar beradi [16–17]. Shu munosabat bilan, tadqiqotda aniqlangan superoksid anionlarini ingibirlash qobiliyati yuqori SKB shtammlari SOD ishlab chiqaruvchilar sifatida probiotik preparatlar uchun istiqbolli hisoblanadi.

Organizm va uning mahalliy mikrobiotasi ko'plab o'zaro manfaatli va simbiotik ta'sirlarni namoyon qiladi. Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, ichak mikrobiotasi oshqozon–ichak traktida erkin aminokislotalarning tarqalishini modulyatsiya qiladi [20]. Qiziqarli jihati shundaki, aminokislotalar bakteriyalar tomonidan qisqa zanjirli yog' kislotalari (QZYOK) sintezi uchun substrat sifatida ishlatiladi, bu esa mikrobial faollik bilan mezbanning aminokislota va QZYOK gomeostazi o'rtasidagi o'zaro bog'liqlikni ko'rsatadi. Shu bilan birga, semirish, insulin qarshiligi va 2-toifa diabet kasalliklari odamlarda aminokislotalarning kichik klasterlari hamda tarmoqlangan zanjirli aminokislotalarning yuqori tizimli konsentratsiyasi bilan bog'liq ekanligi aniqlangan [21]. Olingan natijalarga ko'ra sinovda, uch ta erkin radikallarni ingibirlanish faolligi 70% dan yuqori bo'lgan SBK shtammlari kultural suyuqliklarida erkin aminokislotalar miqdoriy tahlili amalga oshirildi (2-jadval)

2-jadval

Sut kislotasi bakteriyalarning KS tarkibidagi erkin aminokislotalarning miqdoriy tarkibi

Aminokislotalar	Nazorat	<i>L.plantarum</i> TK1	<i>L.plantarum</i> KA3	<i>A.kunkeei</i> 1
Erkin aminokislotalar konsentrasiyasi mkg/mkl				
Asparagin kislota	2,742692	4,364313	4,276062	3,612796
Glutamat kislota	1,530007	12,97017	13,53629	7,818388
Serin	1,971316	5,116704	5,182087	1,489033
Glitsin	1,636846	7,466066	4,871668	5,831071
Asparagin	1,820143	7,419872	4,027983	5,758136
Glutamin	6,949738	2,130777	3,317056	1,861601
Sistein	1,473747	3,206046	3,625696	1,040175
Treonin	4,138648	7,042879	1,742539	5,329618
Arginin	1,71508	5,92195	4,780879	3,163046
Alanin	2,226049	0,652019	0,680127	0,652415
Prolin	0,782363	1,806661	2,216171	0,588605
Tirozin	16,70839	9,9171	5,894018	7,342328
Valin	5,440613	3,44934	5,323542	7,759685
Metionin	5,283618	1,002578	2,213407	2,262991
Izoleysin	4,907595	10,41519	13,84937	15,61139
Leysin	13,22239	11,56866	12,73134	15,26716
Gistidin	0,536616	3,950758	0,32197	0,434343
Triptofan	9,400496	0,855843	9,951764	10,64223
Fenilalanin	20,10651	9,794142	1,401065	13,8898
Lizin HCl	0,552351	0,211846	0,340506	0,197427
Umumiy	103,1452	109,2629	100,2835	110,5522

L.plantarum TK1 - asparagin va glutamin kislotalar, serin, glitsin, asparagin, sistein, treonin, arginin, prolin, izoleysin va gistidinni; *L.plantarum* KA3 - asparagin va glutamin kislotalar, serin, glitsin, asparagin, sistein, treonin, arginin, prolin, izoleysin va ma'lum darajada – triptofanni; *A.kunkeei* 1 - asparagin va glutamin kislotalar, glitsin, asparagin, treonin, arginin, valin, izoleysin, leysin, triptofanni faol ravishda ishlab chiqargan. Tekshirilgan 20 ta erkin aminokislotalar orasida *sistein* miqdori nazoratga nisbatan *L. plantarum* TK1 va *L. plantarum* KA3 shtammlarida nazorat ko'rsatkichlariga nisbatan sezilarli darajada oshgan (mos ravishda 1,474, 3,206 va 3,626 µg/µl). Shu bilan birga, *A. kunkeei*1 nazoratga nisbatan pasaygan miqdorni qayd etdi (1,040 µg/µl).

Arginin aminokislotasining miqdori barcha tekshirilgan shtamlarda nazoratga nisbatan ortganligi kuzatildi (nazorat: –1,715 µg/µl; *L. plantarum* TK1: 5,922 µg/µl; *L. plantarum* KA3: 4,781 µg/µl; *A. kunkeei*1: 7,120 µg/µl), bu shtamlarning erkin aminokislota biosintezidagi yuqori faolligini ko'rsatadi. *Gistidin* miqdori *L. plantarum* TK1 shtammida nazoratga nisbatan oshgan (mos ravishda –0,537, 3,951 µg/µl), *L. plantarum* KA3 va *A. kunkeei*1 esa nazoratga nisbatan kamayish kuzatildi (0,322 va 0,434 µg/µl).

Triptofan aminokislotasining miqdori *L. plantarum* KA3 va *A. kunkeei*1 shtammlarida nazoratga nisbatan oshgan (mos ravishda –9,401, 9,952 va 10,642 µg/µl), *L. plantarum* TK1 esa nazoratga nisbatan kamayish ko‘rsatdi (0,856 µg/µl).

Shuningdek, *glutamat kislota* miqdori *L. plantarum* TK1, *L. plantarum* KA3, *A. kunkeei*1 shtammlarida mos ravishda 8,6, 9 va 5,2 barobar, *glitsin* miqdori esa 4,6, 3, va 3,6 barobar oshgani kuzatildi. Ushbu aminokislotalar, sistein bilan birgalikda, tabiiy antioksidant *glutation* tripeptidining tarkibiy qismlarini tashkil qiladi [13].

Bu natijalar shuni ko‘rsatadiki, *L. plantarum* TK1 va *L. plantarum* KA3 shtammlari sistein, glitsin va glutamat ishlab chiqarish orqali *glutation* biosinteziga sezilarli hissa qo‘shadi, bu esa ularni nafaqat farmatsevtika, balki oziq-ovqat sanoatida antioksidant potentsialga ega probiotik shtammlar sifatida muhim qiladi.

Olingan natijalarning umumiy tahlili. DFPG radikallarini ingibirlash nazoratda (vitamin C) 99% ni tashkil etdi. Tekshirilgan SKB shtammlarida supernatant va butun hujayralarda farqlar kuzatildi: supernatantlarning 6 tasida 80% dan yuqori, 11 tasida 60% dan yuqori, *L. rhamnosus* 2 da esa 60% dan past faollik qayd etildi. Butun hujayralarda DFPG ga nisbatan faollik pastroq bo‘ldi; faqat *L. plantarum* mal1 shtammi 93% bilan eng yuqori ko‘rsatkichni namoyish etdi. *L. plantarum* TK1, KA3 va K2 shtammlari 80% dan yuqori, *A. kunkeei*1 va *P. acidilactici* IS mos ravishda 64% va 78,6% faollik ko‘rsatdi. Superoksid anionlarini ingibirlash nazoratda 91,37% ni tashkil qildi. *L. plantarum* R2 supernatantida 89,9% faollik, *L. plantarum* TK1, KA3, *A. kunkeei*1 va *P. acidilactici* S esa 80% dan yuqori ko‘rsatkichlar berdi. Butun hujayralarda *L. plantarum* Kp1 eng yuqori faollik (88,3%) ko‘rsatdi, 13 shtammlar 70% dan yuqori, eng past ko‘rsatkich *L. plantarum* TK2 da 54,4% bo‘ldi. Bu natijalar SKB larning SOD faolligi bilan bog‘liqligini tasdiqlaydi. Aminokislotalar tahlilida *L. plantarum* TK1 va KA3, *A. kunkeei*1 asparagin, glutamat, glitsin, sistein va boshqa aminokislotalarni faol sintezladi, bu esa tabiiy antioksidant *glutation* biosinteziga hissa qo‘shadi. Ayniqsa, *L. plantarum* TK1 va KA3 sistein, glitsin va glutamat ishlab chiqarish orqali *glutation* biosintezini sezilarli darajada qo‘llab-quvvatlaydi.

Natijalar shuni ko‘rsatadiki, ba’zi SKB shtammlari nafaqat *in vitro* erkin radikallarni samarali ingibirlashi, balki aminokislota metabolizmi orqali *glutation* ishlab chiqarishga qodir. Bu ularni farmatsevtika va oziq-ovqat sanoatida antioksidant potentsialga ega probiotik shtammlar sifatida istiqbolli qiladi va boshqa tadqiqotlar bilan mos keladi. Olingan natijalar bir qator olimlarning tadqiqotlari bilan mos kelib, natijalarning ishonchliligi va baholanish darajasini tasdiqlaydi. [14,20–21].

Xulosa. Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, *L. plantarum* TK1 va KA3 shtammlari eng yuqori antioksidant faollikka ega bo‘lib, DFPG, superoksid va gidroksil radikallarini ingibirlash

hamda glutation biosintezi uchun zarur aminokislotalarni ishlab chiqaradi, bu ularni farmatsevtika va oziq-ovqat sanoatida istiqbolli probiotik sifatida ko'rsatadi.

ADABIYOTLAR

1. Al-Madboly LA, et al. Stress-Based Production and Characterization of Glutathione Peroxidase and Glutathione S-Transferase Enzymes From *Lactobacillus plantarum*. *Fron. in Bioeng. and Biotech.* 2020; 8:78.
2. Zhao J, Yu L, Zhai Q, Tian F, Zhang H, Chen W. *Effects of probiotic administration on hepatic antioxidative parameters depending on oxidative stress models: a meta-analysis of animal experiments.* *Journal of Functional Foods.* 2020.
3. Feng T, Wang J. *Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review.* *Gut Microbes.* 2020;12(1).
4. Łepecka A, et al. *Antioxidant Properties of Food-Derived Lactic Acid Bacteria.* *Microbial Cell Factories.* 2025.
5. Kullisaar T., Songisepp E., Aunapuu M., et al. Complete glutathione system in probiotic *Lactobacillus fermentum* ME-3. *Applied and Environmental Microbiology.* 2010;76(15):4812–4818.
6. Piekarska-Radzik L, Klewicka E. *Mutual influence of polyphenols and Lactobacillus spp. bacteria in food: a review.* *European Food Research and Technology.* 2021;247(1):9–24.
7. Yang X, Hong J, Wang L, et al. *Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Plant-Based Products.* *Fermentation.* 2024;10(1):48.
8. Li C, Ding Q, Nie SP, et al. Carrot juice fermented with *Lactobacillus plantarum* NCU116 ameliorates type 2 diabetes in rats. *J Agric Food Chem.* 2014;62(49):11884-91
9. Kim S., Lee J.Y., Jeong Y., Kang C.H. Antioxidant activity and probiotic properties of lactic acid bacteria. // *Fermentation*, 8 2022, p. 29.
10. Kang C.H., et al. Antioxidant activity and short-chain fatty acid production of lactic acid bacteria isolated from Korean individuals and fermented foods. // *Biotech*, 11 2021, p. 1-8.
11. Kim K.T., et al. Antioxidant and anti-inflammatory effect and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from canine and feline feces. // *Microorganisms*, 9 2021, p. 1971.
12. Su J., et al. Antioxidant properties of wine lactic acid bacteria: *Oenococcus oeni*. // *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 (2015), p. 5189-5202
13. Unban K., W. Chaichana, S. Baipong, A.D. Abdullahi, A. Kanpiengjai, K. Shetty, et al. Probiotic and antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from indigenous fermented tea leaves (Miang) of north Thailand and promising application in synbiotic formulation. // *Fermentation*, 7 2021, p. 195.

14. Kuo H.C., et al. Enhanced antioxidant activity of *Chenopodium formosanum* Koidz. by lactic acid bacteria: Optimization of fermentation conditions. // *PLoS One*, 16 2021 p 2424-2434.
15. Wang, Y.; Branicky, R.; Noë, A.; Hekimi, S. Superoxide Dismutases: Dual Roles in Controlling ROS Damage and Regulating ROS Signaling. *J. Cell Biol.* **2018**, *217*, 1915–1928.
16. Le Blanc J.G., et al. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. // *Journal of Medical Microbiology*. 2011; 57(1); p 100-105.
17. Kocsis T. *et al.* Probiotics have beneficial metabolic effects in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized clinical trials // *Sci Rep* 2020. P-12148-65
18. Al-Temimi, A.A., et al. Glutathione for Food and Health Applications with Emphasis on Extraction, Identification, and Quantification Methods: A Review. *Metabolites* 2023, *13*, 465.
19. Zhang Q et al. Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicina (Kaunas)*. 2016;52(1):28-34,
20. Macfarlane G.T., C.Allison S.A. Gibson W., Cummings J.H.. Contribution of the microflora to proteolysis in the human large intestine.// *J. Appl. Bacteriol.* 1988, *64*, 37–46.
21. Wang Larson T.J., *et al.* Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat. Med.* 2011, *17*, 448–453
22. Wang Y., et al. Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry // *Front Bioeng Biotechnol.* 9:p- 612285.
23. Бекмуродова Г.А. Выделение штамма молочнокислых бактерий из растения одуванчика и оценка его пробиотической и биологической активности. *Научный вестник НамГУ*. 2025й 5 сон. 304-310 с.
24. G. Bekmurodova and S. Miralimova, "Isolation of Lactic Acid Bacteria from Local Medicinal Plants and Formulation of A Biologically Active Supplement Based on Them," 2025 *IEEE XVII Int. Sci. and Tech. Conf. on APEIE*, Novosibirsk, Russian Federation, 2025, pp. 1-7