

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI

MİKROBİOLOGİYA İNSTİTUTU

Əlyazması hüququnda

TANNAZ MİRHADİ ZADİ

**“İRAN ƏRAZİSİNDƏ TURŞSÜD MƏHSULLARINDAN
AYRILMIŞ SÜD TURŞUSU BAKTERİYALARI
TƏRƏFİNDƏN BAKTERİOSİN SİNTEZİNİN
OPTİMALLAŞDIRILMASI”**

2414.01-Mikrobiologiya

**Biologiya üzrə
fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim olunan dissertasiyanın**

AVTOREFERATI

BAKİ – 2014

Dissertasiya işi BDU-nun biokimya və biotexnologiya kafedrasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: b.ü.e.d.,prof. A.Ə.Quliyev

Rəsmi opponətlər: b.e.d., prof. N.M.İsmaylov
b.ü.f.d.,dos. T.Q.Abdullayeva

Aparıcı təşkilat: Azərbaycan Tibb Universiteti,
mikrobiologiya və immunologiya kafedrası

Müdafiə “30” iyun 2014-cü il tarixində saat _____-da
AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdindəki FD 01.222
Dissertasiya Şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: Az1073, Bakı ş., Badamdar şosesi, 40 .

Dissertasiya ilə AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun
kitabxanasında tanış olmaq olar.

Avtoreferat “__” may 2014-cü ildə göndərilmişdir.

**FD 01.222 Dissertasiya
Şurasının elmi katibi,
b.ü.f.d., dos.**

F.X.Qəhrəmanova

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı. Qida emalı texnologiyalarında indiyə qədər əldə edilmiş təkmilləşmələrə baxmayaraq, qida məhsullarının təhlükəsizliyi hələ də aktual və müzakirə olunan məsələdir. Qida emalı xərclərinin və ərzaq zayı ilə əlaqəli iqtisadi zərərlərin azaldılması, patogen mikroorqanizmlərin qida vasitəsilə ötürülməsinin qarşısının alınması, istehlakçıların yüksək qidalılıq keyfiyyətinə malik məhsullarla təmin edilməsi müasir qida sənayesinin qarşısında duran əsas problemlərindir.

Qida məhsullarının "biomühafizəsi" qidaların təhlükəsizliyini və saxlanma müddətini artırmaq üçün onların tərkibindəki təbii və ya əlavə edilən mikrobiotanın özünün və ya onların sintez etdiyi antibakterial məhsulların istifadəsini özündə etiva edir [Stiles et al., 1996]. Ərzaq məhsullarında mövcud olan mikroorqanizmlər arasında süd turşusu bakteriyaları (STB) geniş yayılmışdır və təbii qida konservantları olaraq böyük tətbiqi potensiala malikdirlər. STB-ı turşsüd məhsullarının dad və aromatik xüsusiyyətlərinin yaranmasında böyük rol oynayır. Bundan başqa, onlar qida məhsullarının mikrobioloji təhlükəsizliyini təmin edə bilən bir sıra antimikrob maddələr, məsələn, üzvi turşular, diasetil, hidrogen peroksidi, reuterin, reuterisiklin, antifunqal peptidlər və bakteriosinlər [Holtzel et al., 2000; Magnusson et al., 2001] ifraz edir. Bakteriosinlər ribosomlarda sintez olunan antimikrob peptidlərdir [Jack və Sahl, 1995]. STB-ı tərəfindən bakteriosinin sintezi son on il ərzində geniş tədqiq edilmişdir [Ahmadova et al., 2013; Gulahmadov et al., 2006; Todorov et al., 2005] ki, bunların da əsas məqsədi bakteriosinlərin təbii konservantlar kimi istifadə potensialının araşdırılması və qiymətləndirilməsi olubdur. Bakteriosinlərin qida sənayesində tətbiqi bakteriosin sintez edən maya kulturalarının özündən və ya onlardan alınmış təmiz bakteriosin preparatlarından istifadəsi vasitəsilə həyata keçirilə bilər. Bakteriosinlərin sənaye miqyasında tətbiqini həyata keçirmək üçün yüksək məhsuldarlığı təmin etmək lazımdır. Bunun üçün bakteriosin sintezinə və hüceyrənin biokütlə artımına təsir edən amillərin hərtərəfli tədqiqi zəruridir. Hal-hazırda STB-ı tərəfindən bakteriosin sintezini artırmaq üçün mühit və inkubasiya şəraitlərinin optimallaşdırılması sahəsində tədqiqatlar məhduddur.

Məlumdur ki, bakteriyaların böyüməsi və bakteriosini sintez etməsi bir çox amillərdən (karbon və azot mənbəyi, pH, temperatur) asılıdır [Qənbərov və həm., 2007; Trinetta et al., 2008; Wiese et al., 2010]. Bakteriosin sintezini optimallaşdırmaq sənaye üçün iqtisadi cəhətdən mühümdür, belə ki, qida emalı şəraitlərində produsent ştammların funksionalığı hələ də tam aydın deyil.

Bakteriosinlər haqda ədəbiyyatda olan geniş məlumatlara baxmayaraq, bu sahədə tədqiqatlar hələ də aktualdır. Müxtəlif coğrafi ərazilərdə hazırlanmış ənənəvi turşsüd məhsullarından yeni bakteriosinogen ştammların ayrılması və tədqiqi bakteriosinlərin müxtəlifliyi və ekologiyası haqda yeni məlumatları əldə etməyə imkan verir. Bu cür ənənəvi qida məhsullarındakı mikrobiota çox fərqli ola bilər və onun müxtəlifliyi yerli istehsal texnologiyalarından və məhsulun hazırlandığı coğrafi ərazidən asılıdır. Mövcud bakteriosinlərin davam edən tədqiqi və yeni bakteriosinlərin kəşfi qida sənayesi üçün geniş perspektivlər açır.

İranda mövcud olan müxtəlif iqlim şəraitləri və ənənəvi turşsüd məhsullarının çoxsaylı çeşidi bakteriosin ifraz edən yeni ştammların ayrılması üçün geniş imkanlar açır. Bu cür ənənəvi məhsullar həm xam, həm də pasterezə edilmiş qoyun və ya inək südündən hazırlanır. Bu ərazilərdə yaşayan istehlakçılar ənənəvi süd məhsullarına onların gözəl təbii dad xüsusiyyətlərinə görə üstünlük verir. Sadalananları nəzərə alaraq, bu cür ənənəvi turşsüd məhsulları sənaye miqyasında istifadə edə biləcək yeni bakteriosinogen ştammların ayrılması üçün yaxşı obyekt hesab edilə bilər.

Tədqiqatın məqsədi İranda istehsal olunmuş ənənəvi turşsüd məhsullarından bakteriosin ifraz edən STB-in ayrılması, ayrılmış ştammlar tərəfindən bakteriosin sintezinin optimallaşdırılması və ştammların təbii qida konservatları kimi potensialının müəyyən edilməsidir.

Qarşıya qoyulan məqsədə nail olmaq üçün aşağıdakı vəzifələrin həll edilməsi nəzərdə tutulmuşdur:

- ənənəvi turşsüd məhsullarından antimikrob subtansiyalar ifraz edən STB ştammlarının ayrılması, antimikrob aktivliyin xarakterizə edilməsi;
- geniş ingibirləşdirici təsir spektrinə malik bakteriosinogen ştammların seçilməsi, bakteriosinlərin biokimyəvi və genetik səviyyədə xarakterizasiyası və qida konservantları kimi potensialının müəyyən edilməsi;
- ayrılmış ştammların biokütlə çıxımı və bakteriosin sintezinin üçün optimal mühitin tapılması;
- Produzent kimi seçilən ştammların xarakterizə edilməsi və onların qida istifadəsi üçün təhlükəsizliyin müəyyən edilməsi.

İşin elmi yeniliyi. Təqdim olunan dissertasiya işində İranın ənənəvi turşsüd məhsullarından bakteriosin sintez edən STB-in skriningi aparılmış və yeni bakteriosinogen ştammlar əldə edilmiş, bakteriosinlərin və producent ştammlar ətrafı şəkildə genetik, mikrobioloji və biokimyəvi aspektdə xarakterizə edilmişdir. Bundan əlavə, ayrılmış ştammlar tərəfindən

maksimal bakteriosin sintezinə nail olmaq üçün optimal inkubasiya şəraitləri və qida mühiti müəyyən edilmişdir. Tədqiqat nəticəsində bakteriosin sintezinə təsir edən amillər barədə yeni məlumatlar əldə edilmişdir. Eyni zamanda produsent ştammin artım parametrləri və bakteriosin sintezi arasında əlaqə tədqiq edilmiş və müəyyən edilmişdir ki, hüceyrələrin artımı və bakteriosin sintezi karbon və nitrogen mənbəyi, mühitin pH qiymətləri, fermentasiya temperaturu kimi parametrlərdən asılıdır. Bundan əlavə, müəyyən edilmişdir ki, bakteriosin sintezi bəzi hallarda hüceyrə sıxlığından asılı olmayan bir parametrdir və artım üçün optimal olan şərait bakteriosin sintezi üçün əlverişli olmaya bilər. Müəyyən edilmişdir ki, bakteriosin sintezi induksiya olunan bir prosesdir və inkubasiya şəraitindən, qida mühitinin tərkibindən və s. amillərdən asılı olaraq növ və hətta ştam daxilində dəyişə bilər.

İşin praktiki əhəmiyyəti. Aparılan tədqiqat nəticəsində bakteriosin sintez edən yeni STB ştammları əldə edilmişdir. Bu ştammlar güclü antibakterial aktivliyə malik bakteriosinlərin produsentləridir. Ştammlar və onların sintez etdiyi bakteriosinlər qida sənayesində ərzaq məhsullarının saxlanma müddətini, mikrobioloji təhlükəsizliyini və keyfiyyətini artırmaq üçün təbii konservantlar və qida əlavələri kimi geniş istifadə potensialına malikdir. Bundan əlavə, tədqiqatda ayrılmış ştammlar tərəfindən bakteriosin sintezi üçün mühit və inkubasiya şəraitlərinin optimallaşdırılması həyata keçirilib və bu, bakteriosinlərin və ştammların sənaye miqyasında tətbiqi üçün faydalı ola bilər.

Dissertasiya işində yeni protokollar və metodlar hazırlanmışdır, hansılar ki, gələcək tədqiqatlarda da istifadə oluna bilər.

İşin aprobasiyası. Dissertasiyanın əsas nəticələri «XXI əsrdə biologiyanın aktual problemləri» Respublika elmi konfransında (Bakı, 2010), «Bakteriosinlər və antimikrob peptidlər» mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransında (Slovakiya, Kosice ş., 2012), «Ərzaq mikrobiologiyasının qlobal məsələləri» mövzusunda 23-cü Beynəlxalq ICFMH Simpoziumunda (Türkiyə C., İstanbul, 2012), «Bakteriofaqlar və probiotiklər – antibiotiklərə alternativ» mövzusunda beynəlxalq elmi konfransında (Gürcüstan, Tibilisi, 2012), «Müasir biologiyanın innovasiya problemləri» mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransında (Bakı, 2013) məruzə edilmişdir.

Dissertasiyanın strukturu və həcmi. Dissertasiya işi girişdən, ədəbiyyat xülasəsindən (I Fəsil), tədqiqatın material və metodlarının təsvirindən (II Fəsil), əldə edilmiş nəticələrin təqdimatı və müzakirəsindən (III Fəsil), əsas nəticələrdən və istifadə olunmuş ədəbiyyat siyahısından

ibarətdir. İşin ümumi həcmi 13 cədvəl və 37 şəkil də daxil olmaqla 150 kompüter səhifəsini əhatə edir.

MATERIAL VƏ METODLAR

Tədqiqatda istifadə olunmuş STB şammları İran İslam Respublikasının müxtəlif şəhərlərində ənənəvi üsullarla ev şəraitində istehsal edilmiş iyirmi iki turşsüd məhsullarının nümunələrindən ayrılmışdır. Antimikrob fəallığa malik STB-nin ilkin skriningi replika üsulu ilə aparılmışdır [Tagg et al., 1976]. Pozitiv koloniyaların bakteriosin aktivliyi aqara diffuziya metodu ilə yoxlanmışdır [Schillinger and Lucke, 1989]. İzolə edilmiş şammların ingibirləşdirici təsir spektrini müəyyən etmək üçün onların müxtəlif şərti patogen və patogen bakteriyalara qarşı antimikrob aktivliyi analoji olaraq tədqiq edilmişdir. Bakteriosin aktivliyin titri aqarlı lövhədə ləkə üsulu ilə təyin olunmuşdur [Yamamoto et al., 2003].

Şammların fenotipik identifikasiyası standart mikrobioloji testlər (Qrama görə rənglənmə, katalaza test, mikroskopiya, fizioloji xüsusiyyətlər və s.) vasitəsilə aparılmışdır. Genotipik identifikasiya 16S-rRNT fraqmentinin amplifikasiyası və sekvensiyası vasitəsilə həyata keçirilmişdir. DNT-nin ekstraksiyası DNeasy purification kit (Qiagen, Hilden, Germany) vasitəsilə aparılmış və bakterial şammların 16S-rRNT fraqmentləri universal praymerlərlə PCR vasitəsilə amplifikasiya olunmuşdur [Weisburg et al., 1991]. Amplikonlar QIAquick PCR purification kit (Qiagen) vasitəsilə təmizlənmiş, MilleGen servisi tərəfindən sekvensiya olunmuş və nukleotid ardıcılıqlar blast alqoritm [<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>] vasitəsilə NCBI bazadakı müxtəlif bakterial növlərin 16S-rDNT fraqmentlərinin nukleotid ardıcılıqları ilə müqayisə edilmişdir.

Antibakterial komponentlərin biokimyəvi təbiətini, termo-və pH stabilliyini müəyyən etmək məqsədilə antimikrob aktivliyə müxtəlif proteolitik, amilolitik və lipolitik fermentlərin, müxtəlif temperaturların (60 və 80 °C / 30 dəq.; 100°C / 5, 15 və 30 dəq), mühitin pH-ın (pH 3.0–10.0 arası) müxtəlif surfaktantların və digər kimyəvi maddələrin təsiri yoxlanılmışdır. Bakteriosin genlərinin mövcudluğu müxtəlif növ bakteriosin-spesifik praymer dəstlərini tətbiq edərək PCR analiz vasitəsilə müəyyən edilmişdir. Bakteriosinlər ammonium sulfat presipitasiya və SepPakC18 kartıdc vasitəsilə ekstraksiya edilmiş və onların təxmini molekulyar kütləsinin və zimoqram vasitəsilə aktivliyinin müəyyən edilməsi Tris SDS-PAGE vasitəsilə həyata keçirilmişdir. Bakteriosinlərin təsir üsulunu müəyyən etmək üçün onların həssas mikroorqanizmin inkişafına

təsiri [Todorov et al., 2010], həmçinin prodüsent və həssas hüceyrələrə adsorbsiyası tədqiq edilmişdir [Todorov et al., 2008; Yang et al., 1992].

Tədqiq edilən STB ştammları tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal şəraitləri müəyyən etmək məqsədilə müxtəlif temperatur və pH qiymətlərində bakteriosin sintezinin səviyyəsi qiymətləndirilmişdir. Tədqiq edilən STB ştammları tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal şəraitləri müəyyən etmək məqsədilə müxtəlif temperatur (10, 30, 37 və 45°C) və pH qiymətlərində (4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 və 7.0) bakteriosin sintezinin səviyyəsi və ştammların biokütlə artımı, yəni böyüməsi qiymətləndirilmişdir. Maksimal bakteriosin sintezinə nail olmaq üçün qida mühitinin tərkibinin optimallaşdırılması həyata keçirilmişdir. Bunun üçün bakteriosin sintezinin səviyyəsi müxtəlif karbon (laktoza, qlükoza, sukroza, fruktoza, maltoza, qalaktoza, ksiloza, arabinoza, mannoza və ya raffinosa) və azot mənbəli (ət ekstraktı, maya ekstraktı, tripton, kaziton və pepton) birləşmələr əlavə edilmiş qida mühitlərində qiymətləndirilərək müqayisə edilmişdir.

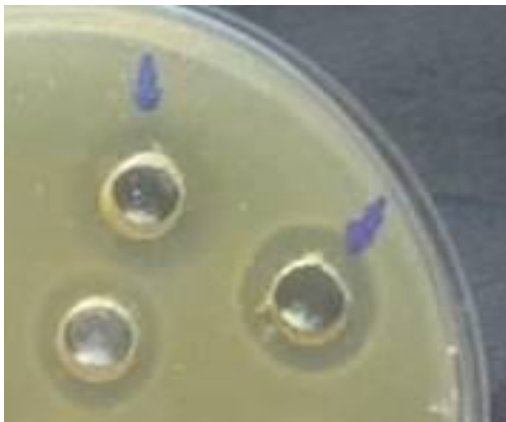
Ştammların müxtəlif antibiotiklərə həssaslığı disk diffuziya metodu ilə yoxlanılmışdır. Virulent faktorları kodlaşdıran genlərin skriningi PCR analiz vasitəsilə aparılmışdır. Bütün təcrübələr üç təkrarda aparılmış və nəticələrin statistik təhlili aparılmışdır.

İŞİN ƏSAS MƏZMUNU

1. Antimikrob aktivliyə malik STB ştammlarının ayrılması

Antimikrob aktivliyin ilkin skriningi ətrafında ingibirləşmə zonası müşahidə olunan 23 koloniyanın seçilməsi ilə nəticələndi. Bu koloniyalar ilkin olaraq antimikrob maddə sintez edən kimi qəbul edilmiş və onların antimikrob aktivliyi digər üsulla - aqara diffuziya metodu ilə yoxlanılmışdır. Bu zaman 23 izolyatdan yalnız 8-i antimikrob aktivliyə malik olduğu müəyyən edildi. Fenotipik identifikasiya nəticəsində izolyatların hamısının STB olduğu müəyyən edilmiş və 8 izolyatdan 6-sı Qram-müsbət, katalaza-mənfi kokklar, ikisi isə Qram-müsbət, katalaza-mənfi basillər kimi təsnif edilmişdir.

Ayrılmış izolyatların ingibirləşdirici təsir spektrini müəyyən etmək üçün onların antimikrob aktivliyi aqara diffuziya üsulu ilə müxtəlif növ mikroorqanizmlərə, həmçinin STB-ə qarşı yoxlanılmışdır. 8 izolyatdan 2-si (T23 və T54) geniş ingibirləşdirici təsir spektri nümayiş etdirərək *Enterococci* və *Lactobacilli* cinslərinə aid yaxın ştammlarla yanaşı patogen *Listeria* ştammlarına da ingibirləşdirici təsir göstərmişdir (Şəkl.1).



Şək.1. T23 və T54 izolyatların *Listeria monocytogenes* EGDe107776 indikator ştammina qarşı antimikrob aktivliyi

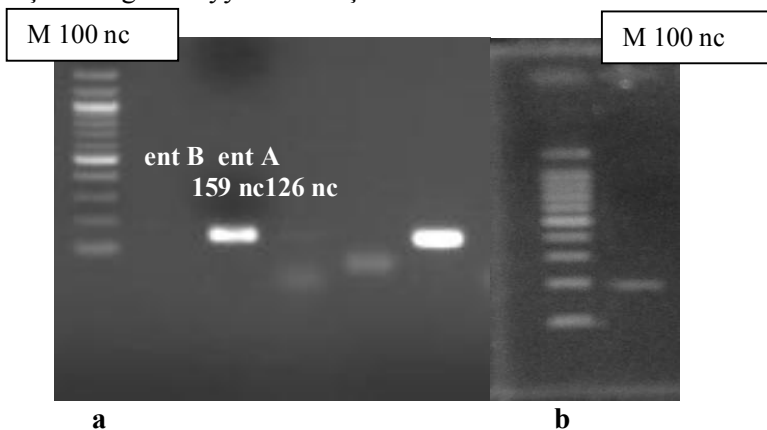
Genotipik identifikasiya vasitəsilə T23 izolyatın *Enterococcus faecalis*, T54 izolyatın isə *Lactobacillus sakei* (99% identik) növünə aid olduğu müəyyən edilmişdir.

2. Bakteriosinlərin biokimyəvi xarakterizasiyası

Antibakterial komponentlərin biokimyəvi təbiətini müəyyən etmək məqsədilə izolə olunmuş aktiv ştammların supernatantı müxtəlif proteolitik, amilolitik və lipolitik fermentlərin təsirinə məruz qoyulmuşdur. Supernatantların katalaza ilə inkubasiyasından sonra aktivlik dəyişməmişdir. Fəal komponentlər əsas proteolitik fermentlərin – α -ximotripsin, proteinaza K və pronazanın təsiri altında öz fəallığını tamamilə itirmişdir. Bu fakt onların peptid təbiətli olmasını göstərir. Ayrılmış ştammların antimikrob substansiyaları yüksək termostabillik nümayiş etdirmişdir. Belə ki, supernatantları 60, 80 və 100°C temperaturalarda 30 dəq saxladıqdan sonra antimikrob aktivlik dəyişməmişdir. Supernatantların antimikrob aktivliyi pH-ın 3.0 –10.0 qiymətlərində də stabil qalmışdır. Bu nəticələr bakteriosinlər haqqında ədəbiyyatdakı məlumatlara uyğundur, belə ki, bakteriosinlər yüksək termostabilliyə malik peptidlərdir və geniş pH diapozonunda aktivlik göstərilirlər. Aktiv maddələrə surfaktantların və digər kimyəvi maddələrin təsiri tədqiq olunmuş və müəyyən edilmişdir ki, supernatantda olan

bakteriosinlərin aktivliyi Tween 20, Tween 80, Triton X-20, Triton X-80, Triton X-100, β -merkaptotanol, Na-EDTA, SDS və NaCl – un təsiri altında dəyişməyərək stabil qalır. Qismən təmizlənmiş bakteriosin fraksiyaların Trisin SDS-PAGE vasitəsilə analizibakteriosinlərin molekulyar kütləsinin 4 - 6 kDa arasında olduğunu göstərdi.

Tədqiq olunan ştammların genomunda bakteriosinləri kodlaşdıran genlərin müxtəlif bakteriosin genlərinə spesifik praymer dəstləri vasitəsilə PCR amplifikasiyası *E. faecalis* T23 ştamında enterosin B və enterosin A bakteriosinlərini kodlaşdıran genlərin (*entB* və *entA*) mövcud olduğunu göstərdi (Şək. 2 a). *Lactobacillus sakei* T54 ştamında sakasin P bakteriosinini kodlaşdıran struktur gen (*sak P*) müəyyən edildi (Şək.2 b). Hər iki ştam üçün əldə edilmiş ampikonların nukleotid ardıcılığı analiz edilmiş və müvafiq genlərin GenBank databazadakı nukleotid ardıcılığı ilə 99% oxşar olduğu müəyyən edilmişdir.

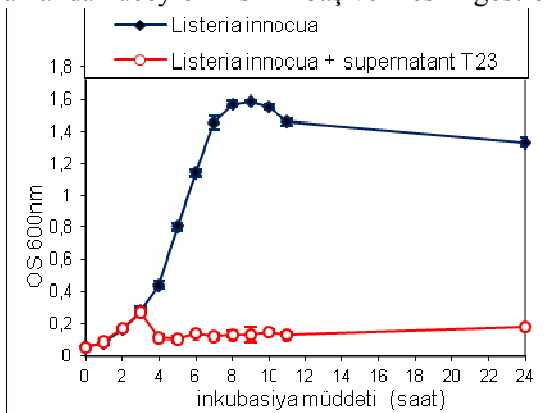


Şəkil 2. *E. faecalis* T23 ştamında *entA* və *entB* struktur genlərin(a), *Lactobacillus sakei* T 54 ştamında *sak P* struktur genin(b) PCR analiz vasitəsilə amplifikasiyası(2.0%-li aqaroza gelində).

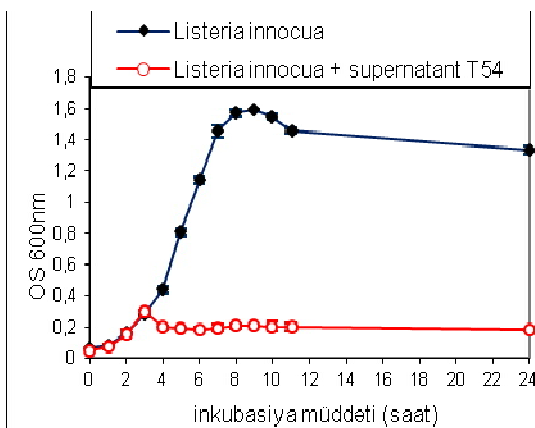
3. Bakteriosinlərin təsir üsulunun tədqiqi

Bakteriosinlərin hədəf hüceyrələrə təsir üsulunu tədqiq etmək üçün supernatantlar erkən eksponensial artım mərhələsində (inkubasiya başlayandan 3 saat sonra) olan indikator ştamın *Listeria innocua* CIP80.11 kulturasına əlavə edilmiş və ştamın artımı optik sıxlığı (600 nm dalğa uzunluğunda) ölçməklə müşahidə edilərək kontrol kulturanın (supernatant

əvəzinə qida mühiti əlavə edilmiş indikator ştam) artım səviyyəsi ilə müqayisə edilmişdir. *E. faecalis* T23 ştamının supernatantını əlavə etdikdən sonra *Listeria innocua* CIP 80.11 indikator ştamının artımı dərhal dayanmış (Şək.3.a) və hətta hüceyrələrin optik sıxlığı 0.27-dən 0.12-ə qədər azalmışdır ki, bu da eyni zamanda hüceyrə lizisinin baş verməsini göstərir.



a



b

Şək. 3. *E. faecalis* T23 (a) və *Lb. sakei* T54 (b) ştamlarından alınmış supernatantın *Listeria innocua* CIP 80.11 indikator ştamının inkişafına təsiri

Lb. sakei T54 ştamminın supernatantını indikator ştammin kulturasına əlavə etdikdə də oxşar nəticələr müşahidə edilmişdir (Şək.3.b). Supernatantı əlavə etdikdən sonra erkən eksponensial fazaya çatmış *Listeria* hüceyrələrinin artımı dayanmış və hətta 24 saatdan sonra hər hansı bir artım müşahidə edilməmişdir. Supernatant əlavə edilən anda hüceyrələrin qismən lizisi baş verib, belə ki, optik sıxlıq 0.29-dan 0.19-a qədər azalmışdır.

Tədqiqatımızda alınan nəticələrə əsasən hər iki ştammin bakteriosinləri hüceyrə lizisi ilə müşahidə olunan bakteriosid təsirə malikdir.

Lb. sakei T54 və *E. faecalis* T23 ştammlarının qismən təmizlənmiş bakteriosinlərinin müxtəlif indikator ştammların hüceyrələrinə, və həmçinin öz produsentin hüceyrələrinə adsorbsiyasını tədqiq edilmişdir. Hər iki ştammin bakteriosinlərlərə həssas indikator ştammların (*Listeria innocua* CIP 80.11 və *Listeria ivannovi*) hüceyrələrinə yaxşı adsorbsiya olunmuşdur (75-87.5%). Eyni zamanda, bakteriosinlərlərə davamlı indikator ştammların (*Escherichia coli* ATCC 23355 və *Staphylococcus aureus* ATCC 9144) hüceyrələrinə də müəyyən dərəcədə adsorbsiyası müşahidə olunmuşdur (25-50%). *Lb. sakei* T54 və *E. faecalis* T23 ştammlarının hasil etdiyi bakteriosinlər öz produsentin hüceyrələrinə adsorbsiya olunmamışdır.

4. Bakteriosin sintezi üçün şəraitin optimallaşdırılması

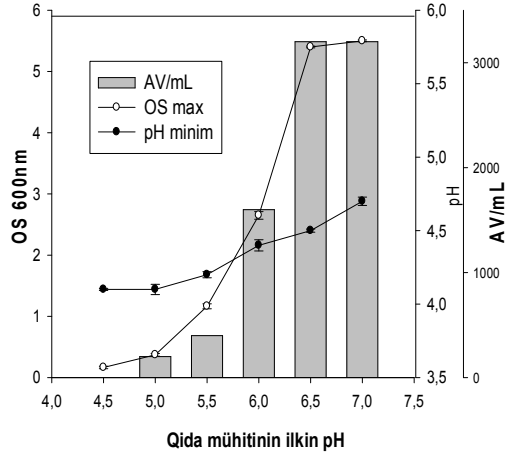
Müxtəlif temperaturların (10, 30, 37 və 45 °C) bakterial artım və bakteriosin sintezinə təsiri tədqiq edilmişdir. 10 °C temperaturda tədqiq olunan ştammların hər ikisinin böyüməsi zəif olmuş (OS 600nm 0.8-dən az) və antimikrob aktivlik, yəni bakteriosin sintezi müşahidə edilməmişdir. *E. faecalis* T23 ştammi MRS mühitdə 37 °C temperaturda bitdikdə bakteriosin sintezi inkubasiya başladıqdan 2 saat sonra müşahidə edilmiş, maksimal səviyyəyə (3200 AV/mL) eksponensial fazanın ortasında, inkubasiya başladıqdan 4 saat sonra çatmışdır. Aktivlik stasionar fazanın sonuna qədər stabil olaraq bu səviyyədə qalmış, lakin inkubasiyanın 24 saat nöqtəsində 400 AV/mL-ə qədər azalmışdır. 30 °C temperaturda MRS mühitində ştammin artımı daha zəif olmuş və maksimal bakteriosin titri cəmi 800 AV/mL təsbit edilmişdir. 45 °C temperaturda MRS mühitdə *E. faecalis* T23 ştammi daha sürətli artım göstərmiş və eksponensial fazaya daha erkən keçmişdir. Bakteriosin sintezinin maksimal səviyyəsi (3200 AV/mL) 4 saat artım nöqtəsində qeydə alınmış, lakin aktivlik cəmi 2 saat ərzində bu səviyyədə sabit qalaraq sonradan stasionar fazada azalmış (1600 AV/mL) və 24 saat inkubasiyadan sonra tamamilə itmişdir.

M17 mühitdə 30 °C və 45 °C temperaturlarda *E. faecalis* T23 ştamının artımı və bakteriosin sintezinin səviyyəsi eyni temperaturlarda MRS mühitdə müşahidə edilənlə oxşar idi. M17 mühitdə 37 °C temperaturda *E. faecalis* T23 ştamını eksponensial fazaya MRS mühitdəkindən daha erkən girir. Bakteriosin sintezi inkubasiya başlayandan 4 saat sonra aşkar edilmiş və stasionar mərhələnin əvvəlində (8 s sonra) maksimuma (3200 AV/mL) çatmışdır. 24 saat inkubasiyadan sonra bakteriosin titrinin maksimal səviyyədə sabit qaldığı (3200 AV/mL) müşahidə edildi. Bakteriosin titrinin maksimal səviyyəsi ştamının MRS mühitdə eyni temperaturda bitdiyi zaman müşahidə olunan bakteriosin titrinin maksimal səviyyəsi ilə eyni olsa da, M17 mühitdə aktivlik daha stabil olmuşdur. Beləliklə, belə bir nəticəyə gəlmək olar ki, *E. faecalis* T23 ştamını tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal mühit M17 və optimal temperatur 37 °C-dir. Bu nəticələrə əsasən *E. faecalis* T23 ştamını tərəfindən bakteriosin sintezinin optimallaşdırılmasına yönəlmiş bütün sonrakı eksperimentlər M17 mühitində aparılmışdır.

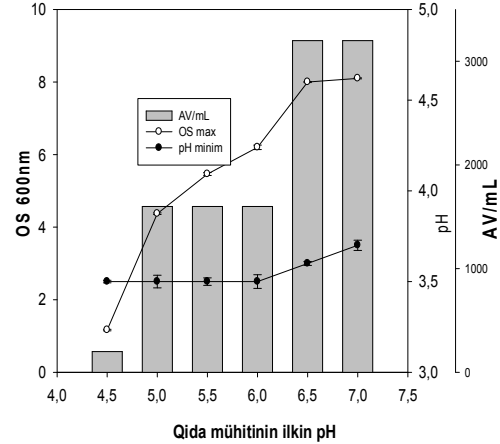
Lb. sakei T54 ştamını tərəfindən bakteriosin sintezinin müxtəlif temperaturlarda tədqiqi laktobasillər üçün selektiv sayılan MRS mühitində aparılıb. Aparılan tədqiqatlar nəticəsində bu ştam tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal temperaturun 30 °C olduğu təsbit edilmişdir. Bakteriosin sintezi (400 AV/mL) 4 saat artım nöqtəsində aşkar edilmiş və maksimal səviyyəyə (3200 AV/mL) eksponensial fazanın sonunda (inkubasiya başlayandan 8 saat sonra) çatmışdır. İnkubasiya temperaturu 37 °C qədər artırıldıqda *Lb. sakei* T54 ştamının artımı və bakteriosin sintezi azalmışdır (maksimal səviyyəcəmi 1600 AV/mL) və 45 °C temperaturda bakteriosin aktivliyin titri cəmi 200 AV/mL olmuşdur.

E. faecalis T23 ştamını ilkin pH-ı 7.0 və 6.5 olan M17 mühitlərdə bitdikdə artım və bakteriosin aktivliyin səviyyəsində (3200 AV/mL) əhəmiyyətli fərqlər müşahidə edilməyib, lakin mühitin ilkin pH-ı azaldıqca həm aktivlik, həm də hüceyrələrin artma parametrləri azalmışdır (şək. 4a). Belə ki, mühitin ilkin pH qiyməti 6.0 olduqda bakteriosin titrinin maksimal səviyyəsi 1600 AV/mL, pH-ı 5.5 və 5.0 olan mühitdə 400 AV/mL, və ilkin pH 4.5 olduqda isə heç bir aktivlik aşkar edilməmişdir. Bakteriosin aktivliyin səviyyəsi və OS qiymətləri arasında əlaqə müşahidə olunub.

Lb. sakei T54 ştamını üçün də ilkin pH-ı 7.0 və 6.5 olan MRS mühitlərdə artım və bakteriosin aktivliyin səviyyəsində (3200 AV/mL) əhəmiyyətli fərqlər müşahidə edilməyib (şək. 4b). Mühitin ilkin pH-ı 6.0-ya qədər azaldıqda aktivlik və artma parametrləri azalmışdır. Belə ki, MRS mühitin ilkin pH qiyməti 6.0, 5.5 və 5.0 olduqda bakteriosin titrinin



A



B

Şəkil 4. Qida mühitinin ilkin pH-nın *E. faecalis* T23 (A) və *Lb.sakei* T 54 (B) şammlarının artımına, mühiti turşutma qabiliyyətinə və bakteriosin sintezinə təsiri

maksimal səviyyəsi 1600 AV/mL olmuş, pH-ı 4.5 olan mühidə ştam az da olsa bitmiş və hətta cüzi səviyyədə (200 AV/mL) bakteriosin sintez etmişdir.

Beləliklə, hər iki ştam üçün həm artım, həm də bakteriosin sintezi mühitin ilkin pH-dan asılıdır və maksimal aktivlik səviyyəsi ilkin pH-ı 6.5 və 7.0 olan mühidə müşahidə edilmişdir.

5. Bakteriosin sintezi üçün qida mühitinin tərkibinin optimallaşdırılması

Bakteriosin sintezinə karbon mənbələrinin təsirini müəyyən edən zaman tədqiq olunan produsent ştammlar laktoza, qlükoza, sukroza, fruktoza, maltoza, qalaktoza, ksiloza, arabinoza, mannoza və ya raffinosa ilə zənginləşdirilmiş qida mühitlərində əkilmiş və ştammların artım parametrləri (OS, pH) və bakteriosin sintezinin səviyyəsi (AV/mL) qiymətləndirilmişdir. *E. faecalis* T23 ştamı üçün bakteriosin aktivlik tərkibinə 1.0 və 2.0% qlükoza əlavə edilmiş mühidə iki dəfə artmışdır (6400 AV/mL). Qlükozanın qatılığının sonrakı artımı bakteriosin aktivliyinin azalmasına səbəb olur. Saxaroza və raffinosa əlavə edilmiş qida mühitində bakteriosin sintezi azalmışdır. Ştamın artım parametrlərinə gəldikdə, fruktoza və maltoza əlavə edilmiş qida mühitində ştamın artımı bir qədər azalmış, qlükoza, qalaktoza və raffinosa əlavə edilmiş mühidə isə artım daha intensiv olmuşdur.

Lb. sakei T54 ştamı tərkibinə 2.0 və 3.0% laktoza əlavə edilmiş mühidə bitdikdə bakteriosin sintezinin səviyyəsi iki dəfə artmışdır (6400 AV/mL). Digər karbon mənsəli birləşmələr bakteriosin sintezinə təsir göstərməmişdir. Ştamın artım parametrlərinə gəldikdə, müəyyən edilmişdir ki, bakteriosin sintezinin artırmasına baxmayaraq, laktoza hüceyrə artımına heç bir təsir göstərmir. Digər karbon mənsəli birləşmələr də artıma təsir göstərməmiş, lakin qalaktoza və ksiloza əlavə edilmiş mühidə hüceyrələrin OS-ı bir qədər azalmışdır.

Bakteriosin sintezinə azot mənbəyinin təsirini müəyyən edilməsi zamanı tədqiq olunan produsent ştammlar tərkibinə ət ekstraktı, maya ekstraktı, tripton, pepton və kaziton əlavə edilmiş qida mühitlərində əkilmiş və ştammların artım parametrləri (OS, pH) və bakteriosin sintezinin səviyyəsi (AV/mL) qiymətləndirilmişdir.

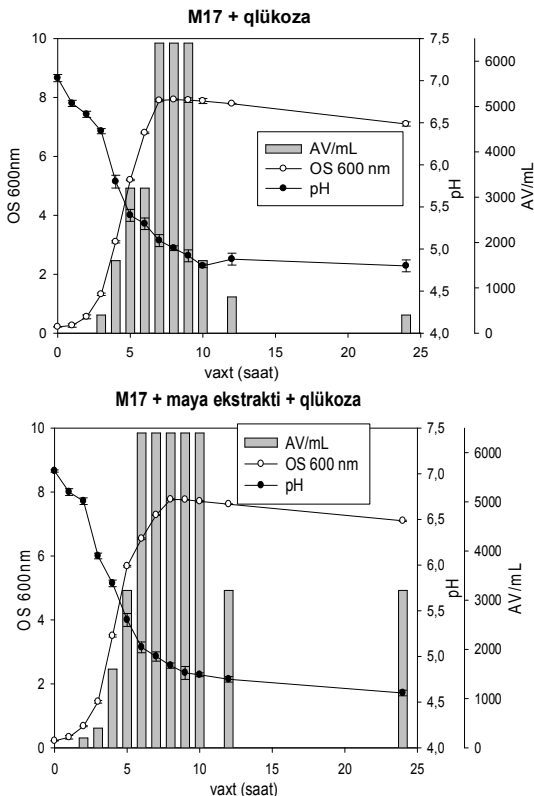
E. faecalis T23 ştamı üçün bakteriosin aktivliyin ən yüksək səviyyəsi tərkibinə maya ekstraktı (3.0, 4.0 və 5.0 %) əlavə edilmiş

mühitdə müşahidə olunub. Bu zaman bakteriosin aktivliyin titri kontrollə müqayisədə iki dəfə artmışdır (6400 AV/mL). Digər azot birləşmələrin istifadəsi zamanı bakteriosin sintezində yüksəlmə müşahidə olunmur, lakin onların hamısı hüceyrə artımına müsbət təsir göstərmişdir.

Lb. sakei T54 ştammi tərəfindən ən yüksək səviyyədə bakteriosin sintezi (6400 AV/mL) tərkibinə 1.0 % qatılıqda maya ekstraktı əlavə edilmiş mühitdə qeydə alınıb və maya ekstraktının 5.0 % qatılığına qədər eyni səviyyədə saxlanılıb. Digər azot mənşəli birləşmələrin iştirakında bakteriosin sintezinin artımı müəyyən edilməmişdir. Yoxlanılmış azot mənbələri arasında artıma müsbət təsir göstərən yalnız maya ekstraktı və kaziton olubdur.

Mühütün yekun optimallaşdırılması üçün ayrılmış şammların artım və bakteriosin sintezinin kinetikası tərkibinə optimal karbon və optimal azot mənbələrinin birgə əlavə edildiyi qida mühitində tədqiq edilmişdir. Yalnız karbon mənbəyi (qlükoza 1.0%) əlavə edilmiş qidalı mühitdə *E. faecalis* T23 ştammi üçün bakteriosin aktivliyin maksimal səviyyəsi (6400 AV/ml) 7 saat inkubasiyadan sonra müşahidə edilmiş və cəmi 3 saat ərzində bu səviyyədə stabil qalmışdır; 24 saat inkubasiyadan sonra bakteriosin aktivliyin titri çox aşağı səviyyədə olmuşdur (400 AV/ml) (Şək 5a). Eyni şəkildə, yalnız azot mənbəyi (maya ekstraktı 3.0%) əlavə edilmiş qida mühitində bakteriosin aktivliyin 6400 AV/mL titri cəmi 2 saat ərzində stabil qalmış və sonradan azalaraq 24 saat inkubasiyadan sonra tamamilə itmişdir. Qida mühitinə həm qlükoza, həm də maya ekstraktı birlikdə əlavə edildikdə bakteriosin titrinin maksimal səviyyəsi inkubasiya başlayandan 6 saat sonra müəyyən edilmiş (6400 AV/ml) və daha uzun müddət ərzində (5 saat) stabil qalmışdır (Şək. 5b). 5 saatdan sonra aktivlik 3200 AV/ml qədər azalmış və hətta 24 saat inkubasiyadan sonra yaxşı səviyyədə aktivlik müşahidə olunmuşdur. Alınan nəticələrə əsasən *E. faecalis* T23 tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal mühit tərkibinə maya ekstraktı (3.0%) və qlükoza (1.0%) əlavə edilmiş M17 bulyondur.

Lb. sakei T54 ştammi üçün yalnız karbon mənbəyi (laktosa 2.0%) və ya yalnız azot mənbəyi (maya ekstraktı 1.0%) əlavə edilmiş MRS mühitdə inkubasiya zamanı bakteriosin aktivliyin maksimal titri (6400 AV/ml) inkubasiyanın 7 saat nöqtəsində müəyyən edilmiş və 4 saat ərzində stabil qalmışdır (Şək. 6a). 24 saat inkubasiyadan sonra bakteriosin aktivliyin səviyyəsi çox aşağı ənmış (400 AV/ml), lakin MRS mühitə azot

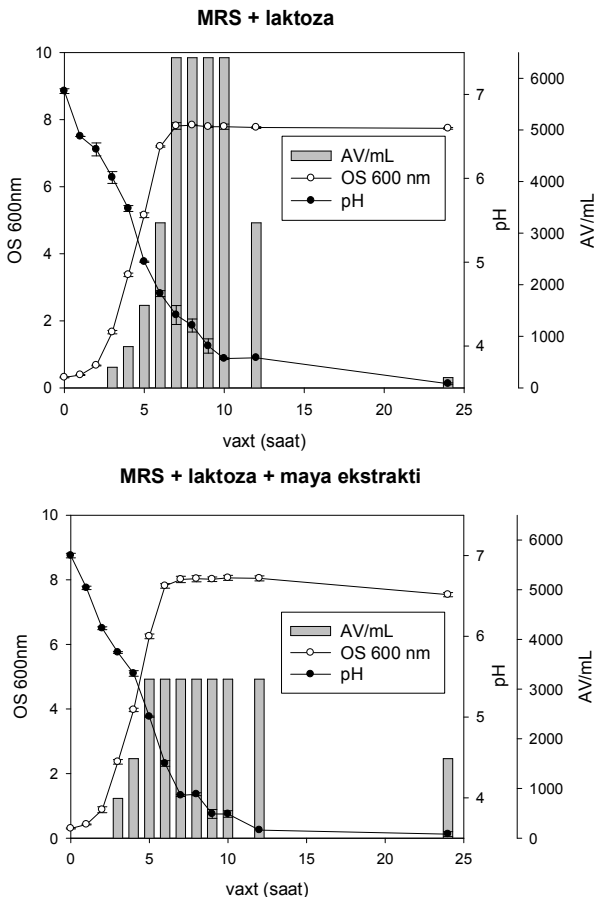


Şək. 5. Tərkibinə 1.0 % qlükoza (a) və 1.0 % qlükoza və 3.0 % maya ekstraktı birgə əlavə edilmiş M17 mühitdə (b) *E. faecalis* T23 ştamının artımı və bakteriosin sintezinin kinetikası

və karbon mənbəyi birlikdə əlavə edildikdə bakteriosin aktivliyin səviyyəsi azalmışdır və sadə mühitdə müşahidə olunan aktivliklə eyni səviyyədə olmuşdur (3200 AV/ml) (Şək. 6 b). Alınan nəticələrinə görə, *Lb. sakei* T54 ştamı tərəfindən bakteriosin sintezi üçün optimal mühit tərkibinə maya ekstraktı (1.0%) və ya laktosa (2.0%) əlavə edilmiş MRS bulyondur.

6. Bakteriosin sintez edən STB ştamlarının təhlükəsizliyinin müəyyən edilməsi

Ştamların antibiotiklərə qarşı həssaslığı tədqiq edilən zaman müəyyən edildi ki, *E. faecalis* T23 ştamı siprofloksainə, penisillinə,



Şəkil 6. Tərkibinə 2.0 % laktoza (a), 2.0 % laktoza və 1.0 % maya ekstraktı birgə əlavə edilmiş M17 mühitdə (b) *Lb. sakei* T54 ştamının artımı və bakteriosin sintezinin kinetikası

xloramfenikola, tetrasiklinə, ampisillinə və vankomisinə qarşı həssas, gentamisinə qarşı isə davamlıdır. *Lb. sakei* T54 ştamı isə bütün sadalanan antibiotiklərə həssasdır.

E. faecalis T23 ştamının patogenlik potensialını müəyyən etmək üçün onun genomunda sitolizin (*cylA*), enterokokların səthi proteini (*esp*), adgeziya proteini (*efaAfs*), aqqreçasiya substansiyası (*asaI*) və kollagenə

adgeziya proteini (*ace*) kimi virulent faktorları kodlaşdıran genlərin mövcudluğu PCR analiz vasitəsilə tədqiq edilmişdir. Eksperiment nəticəsində *E.faecalis* T23 ştamında kollagenə adgeziya proteinini kodlaşdıran struktur genin(*ace*) mövcudluğu müəyyən edildi. Digər virulent faktorları kodlaşdıran genlər müəyyən edilməyib.

ƏSAS NƏTİCƏLƏR

1. Ənənəvi İran turşsüd məhsullarından güclü antilisterial aktivliyə malik iki südturşusu bakteriyası ayrılmış və onlar *Enterococcus faecalis* T23 və *Lactobacillus sakei* T54 kimi identifikasiya edilmişdir.
2. *E. faecalis* T23 ştamında enterosin B və enterosin A, *Lb.sakei* T54 ştamında isə sakasin P bakteriosinlərinin struktur genləri müəyyən edilib. Hər iki ştamın bakteriosinləri həssas mikroorqanizmlərə hüceyrə lizisi ilə müşahidə olunan bakterisid təsir göstərir.
3. *E. faecalis* T23 və *Lb.sakei* T54 ştamlarının bakteriosinləri termostabil, pH-a, Tween 20, Tween 80, Triton X-20, Triton X-80, Triton X-100, β-mercaptoetanol, Na-EDTA, SDS və NaCl kimi birləşmələrin təsirinə davamlıdır və onların aktivliyi 3 ay ərzində -4°C temperaturda saxlanma zamanı dəyişməz qalır.
4. *E. faecalis* T23 və *Lb.sakei* T54 ştamları üçün artım və bakteriosin sintezi parametrləri inkubasiya şəraitlərindən (mühitin ilkin pH-ı və inkubasiya temperaturu) asılı olaraq dəyişir. Bakteriosin sintezi üçün optimal temperatur *E. faecalis* T23 ştamı üçün M17 mühidə 37 °C, *Lb.sakei* T54 ştamı üçün isə MRS mühidə 30 °C olub. Hər iki ştam tərəfindən maksimal bakteriosin sintezi ilkin pH-ı 6.5 və 7.0 olan mühidə müşahidə olunur.
5. Qida mühitinin tərkibi (karbon və azot mənbələrinin tipi və qatılığı) ayrılmış ştamların bakteriosin sintezinə təsir göstərir. Bakteriosinin maksimal sintezinə nail olmasına görə optimal mühit *E. faecalis* T23 ştamı üçün maya ekstraktı (3.0 %) və qlükoza (1.0 %) əlavə edilmiş M17 qida mühiti, *Lb. sakei* T54 ştamı üçün isə maya ekstraktı (1.0 %) və ya laktoza (2.0 %) əlavə edilmiş MRS qida mühitidir.
6. *Lb. sakei* T54 ştamı yoxlanılan bütün antibiotiklərə qarşı həssasdır, *E. faecalis* T23 ştamının qida istifadəsi üçün təhlükəsizliyi tam olaraq təsbit olunmayıb, belə ki, ştam gentamisinə qarşı rezistentdir və kollagenə adgesiya proteinini kodlaşdıran genə malikdir.

**Dissertasiya mövzusunə dair dərc olunmuş
elmi əsərlərin siyahısı**

1. Rəhimova R., Mirhadi Zadi T.B. Sud turşusu bakteriyalarının abtimikrob xüsusiyyətlərinə temperatur və pH-in təsiri / Akad.A.Qarayevin 100 illik yubileyinə xəsr olunmuş «XXI əsrdə biologiyanın aktual problemləri» Respublika Elmi Konfransının materialları. Bakı, 2010, s.367-368.
2. Gulahmedov S.G., Quliyev A.A., Abdullayeva N.A., Mirhadi Zadi T.B. Characterization of a bacteriosin-like inhibitory substance (BLIS) produced by *Enterococcus faecium* Q1.// BDU-nun Xəbərləri, Təbiət elmləri seriyası, 2010, № 2, s.70-76
3. Mirhadi Zadi T.B., Quliyev A.A. Effect of Temperature and Growth Media Composition on Kinetics of BLIS production by *Enterococcus faecalis* T23 //AMEA-nın Xəbərləri, biologiya elmləri seriyası, 2011, c.66, № 3, s.142-145.
4. Mirhadi Zadi T.B., Abdullayeva N.A., Quliyev A.A.PCR amplification of sakacin p structural gene in *Lactobacillus sakei* T54 isolated from Iranian cheese // BDU-nun Xəbərləri, Təbiət elmləri seriyası, 2012, № 1, s.36-41.
5. Mirhadi Zadi T.B., Ahmadova A.F., Abdullayeva N.A., Quliyev A.A. Characterization of antimicrobial activity of bacteriocinogenic *Enterococcus faecalis* strain isolated from Iranian cheese / Proceedings of «International scientific conference on bacteriocins and antimicrobial peptides». Kosice, 2012, p. 51-52.
6. Mirhadi Zadi T.B. Application of PCR based methods for characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria isolated from Iranian dairy products / «Müasir biologiyanın innovasiya problemləri» mövzusunda beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 2012, səh. 52-53.
7. Mirhadi Zadi T.B., Mustafayeva R.S., Quliyev A.A. Characterization and genetic identification of lactic acid bacteria isolated from Iranian and Azerbaijani fermented dairy products //AMEA-nın Məruzələr jurnalı, 2012, №1, s.90-98.
8. Ahmadova A.F., Mirhadi Zadi T.B., Quliyev A.A., Haertle T. et al. Antimicrobial activity, probiotic properties and safety of strain *Enterococcus faecium* AQ71 from Azerbaijani mozzarella cheese

- /Proceedings of 23 rd International ICFMH symposium Food Micro 2012 «Global issues in food microbiology». İstanbul, 2012, p.748
9. Ahmadova A.F., Mirhadi Zadi T.B., Quliyev A.A., Haertle T. et al. Study of antimicrobial activity and probiotic properties of *Lactobacillus curvatus* strain isolated from artisanal Azerbaijani cheese / Proceedings of International conference dedicated to 120th birth anniversary of professor George Eliava «Bacteriophages and probiotics – alternative to antibiotics», Tbilisi, 2012, p.20.
 10. Mirhadi Zadi T.B., N.F.Abdullayeva, A.A.Quliyev. Study of bacteriocins produced by strain *Enterococcus faecalis* T23, isolated from Iranian cheese // Вестник Московского государственного областного университета, серия «Естественные науки», 2013, № 1, с. 17-21
 11. Ahmadova, A., Todorov, S.D., Mirhadi Zadi T.B., Kuliyeu. A. et al. Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese // Food control(IF: 2.849), Elsevier, 2013, vol. 30, issue 2, p. 631-641.DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.08.009>
 12. Mustafayeva R.S. Mirhadi Zadi T.B., Characterization and genetic identification of lactic acid bacteria isolated from Iranian and Azerbaijani fermented dairy products /“Müasir biologiyenin innovasiya problemləri” mövzusunda III beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 2013, s.38-39.

Танназ Мирхади Зади
ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА БАКТЕРИОЦИНА
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НА ТЕРРИТОРИИ ИРАНА

Целью настоящего исследования было выделение и характеристика продуцирующих бактериоцины штаммов МКБ от традиционных кисломолочных продуктов, произведенных в Иране, оптимизация условий для синтеза бактериоцина этими штаммами и оценка возможности применения полученных продуцирующих бактериоцины штаммов или синтезируемых ими бактериоцинов, как естественных пищевых консервантов.

Для изоляции МКБ были использованы двадцать два образца традиционных кисломолочных продуктов, полученных из местных домашних хозяйств или рынка Ирана. В результате скрининга отобраны два штамма, активно синтезирующие бактериоцины, которые идентифицированы как *Enterococcus faecalis* T23 и *Lactobacillus sakei* T54. Выделенные бактериоциногенные штаммы ингибируют рост тесно связанных штаммов МКБ, а также показывают сильную антимикробную активность против патогенных штаммов листерий. Антибактериальные вещества, синтезируемые штаммами термостабильны и активны в широком диапазоне pH.

Для оптимизации эффективности условий культивирования при синтезе бактериоцина исследуемыми штаммами, на уровне производства бактериоцина, оценивали среды композиций. Рост и производство бактериоцина в исследованных штаммах зависит от условий культивирования (начальной pH среды и температуры).

Для синтеза бактериоцина на среде M17 оптимальная температура составляет 37 °C для *E. faecalis* T23 и 30 °C на среде MRS для *Lb. sakei* T54. Максимальный синтез бактериоцина обеими штаммами, был достигнут на средах с начальной pH 6,5 и 7,0. Состав питательной среды (тип и концентрация источников углерода и азота) также влияет на синтез бактериоцина исследованными штаммами.

Lb. sakei T54 был чувствителен ко всем антибиотикам и может рассматриваться как потенциально безопасный для применения с пищевыми продуктами. Безопасность штамма *E. faecalis* T23 нуждается в дальнейшей оценке, поскольку штамм был резистентен к гентамицину.

Tannaz Mirhadi Zadi
OPTIMISATION OF BACTERIOICIN PRODUCTION BY
LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM IRANIAN
FERMENTED DAIRY PRODUCTS

The aim of the present study was isolation and characterisation of bacteriocin-producing LAB strains from traditional fermented milk products manufactured in Iran, optimisation of conditions for bacteriocin production by these strains and evaluation of application potential of obtained bacteriocin-producing strains or their bacteriocins as natural food preservatives.

LAB isolation was done twenty two samples of traditional fermented dairy products obtained from the local households or markets of strains were isolated and identified as *Enterococcus faecalis* T23 and *Lactobacillus sakei* T54. The isolated bacteriocinogenic strains inhibited the growth of closely related LAB strains, and also exhibited strong antimicrobial activity against pathogenic strains of *Listeria monocytogenes*. Antimicrobial substances produces by strains are heat stable and active in broad pH range.

In order to optimize bacteriocin production by studied strains the effect of cultivation conditions, as well as media composition on bacteriosin production level was evaluated. Both growth and bacteriocin production by the studied strains were influenced by culture conditions (initial pH of the media and temperature).

The optimal temperature for bacteriocin production was determined to be 37 °C in M17 media for *E. faecalis* T23 and 30 °C in MRS media for *Lb. sakei* T54. Maximal bacteriocin production by both of the strains was achieved in media with initial pH 6.5 and 7.0. Composition of growth media (type and concentration of carbon and nitrogen sources) also influenced the bacteriocin production by studied strains.

Lb. sakei T54 was sensitive to main classes of antibiotics and could be considered as potentially safe for food application. The safety of strain *E. faecalis* T23 needs further evaluation as the strain was resistant to gentamicin.

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

На правах рукописи

ТАННАЗ МИРХАДИ ЗАДИ

**ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА БАКТЕРИОЦИНА
МОЛОЧНОКИСЛЫЙ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ В ТЕРРИТОРИЙ
ИРАНА**

2414.01 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации представленной на соискание
ученой степени доктора философии по биологии

БАКУ - 2014