

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

SÜD VƏ MODEL TURSSÜD MƏHSULLARINDA BAKTERİOSİNLƏRİN *İN SİTU* EFFEKTİVLİYİNİN TƏDQIQI

İxtisas: 2422.01 – Biotexnologiya (o cümlədən,
bionanotexnologiyalar)

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Vüsalə Şahin qızı Zülfiqarova**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün təqdim edilmiş
dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

BAKI – 2025

Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin Biologiya fakültəsinin Molekulyar biologiya və biotexnologiyalar kafedrasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: biologiya üzrə elmlər doktoru, dosent
Saib Qurban oğlu Güləhmədov

Elmi məsləhətçi: biologiya elmləri doktoru, professor
Mixail Alekseyeviç Yeqorov

Rəsmi opponentlər: AMEA-nın müxbir üzvü
İbrahim Vahab oğlu Əzizov



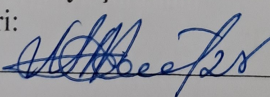
AMEA-nın müxbir üzvü
İlham Əyyub oğlu Şahmuradov

biologiya üzrə elmlər doktoru, dosent
Nizami Rza oğlu Namazov

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən BFD 1.07/1 Dissertasiya Şurası.

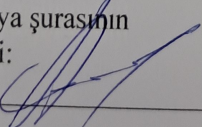
Dissertasiya şurasının

sədri:


AMEA-nın müxbir üzvü
Pənah Zülfiqar oğlu Muradov

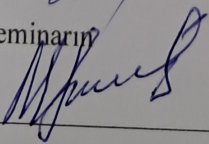
Dissertasiya şurasının

elmi katibi:


Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Günəl Əli qızı Qasımova

Elmi seminarın

sədri:


AMEA-nın müxbir üzvü
Saleh Heydər oğlu Məhərrəmov

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı və işlənmə dərəcəsi. Müasir dövrdə ekoloji tarazlığın tədricən pozulması səbəbindən ildə təxminən 80 mln nəfər artan və, artıq miqdarı 8 mlrd nəfəri ötən dünya əhalisinin təhlükəsiz ərzaq məhsulları ilə təminatı qlobal çağırış kimi səciyyələndirilir. Bu problemin ən bariz nümunəsi “*qida məhsullarının dünya əhalisi arasında qeyri bərabər paylanması nəticəsində 2 mlrd nəfərə yaxın insanın qida çatışmazlığından əziyyət çəkməsidir*”¹. Ona görə də ərzaq məhsullarının saxlama müddətinin artırılması və onların bioloji təhlükəsizliyinin qorunması istiqamətində elmi-tədqiqat işləri müasir dövrdə əksər laboratoriyalarda diqqət mərkəzindədir.

Məlumdur ki, hazırda qida məhsullarının korlanmaması üçün müxtəlif sintetik qoruyuculardan geniş istifadə edilir. Onların əksəriyyəti kimyəvi yolla sintez olunur və insan sağlamlığına zərərli təsir göstərir. Bu səbəbdən istehlakçıların kimyəvi qatqılardan istifadə edilmədən, yaxud da cüzi miqdarda istifadə edilərək istehsal edilən ərzaq məhsullarına tələbatı gündən günə artmaqdadır. Nəticədə məhsulların qorunub saxlanması üçün təbii, zərərsiz alternativ qoruyucuların araşdırılmasına ehtiyac yaranmışdır. Bu istiqamətdə aparılan tədqiqat işlərində xüsusilə maraqlı olan bakteriosinlərdir. Onlar məhdud sayda aminturşu qalıqlarından ibarət olub bakteriya hüceyrələrində ribosomların iştirakı ilə sintez edirlər. Bioloji təkamül prosesində bu fəal peptidlər qrupunun genlərinin və ekspressiya məhsullarının meydana gəlməsi canlılar arasında mövcud olan ontoqonistik qanunauyğunluqların formalaşmasında önəmli rol oynayır.

Bakteriosinlər ərzaq məhsullarının korlanmasına səbəb olan mikroorqanizmlərin inkişafının qarşısını almaq potensialına malikdirlər. Bu məqsədlə zərərsiz və istehlak üçün təhlükəsiz hesab olunan süd turşusubakteriyalarının (STB) bakteriosinlərindən istifadə olunmasının geniş perspektivləri vardır.

¹Fətəliyev, H. Biotexnologiya / H. Fətəliyev, Ş.Əliyeva, T.Musayev,- Bakı; Ekoprint, - 2019. - 360 s.

“Bakteriosinlər pH və temperaturun geniş diapazonunda fəallıq nümayiş etdirirlər”². Onlar, klassik antibiotiklərdən fərqli olaraq, “hədəf hüceyrələrinin membranında və ya divarında hər hansı konkret reseptorlara ehtiyac duymadıqlarından hüceyrə divarının istənilən nöqtəsinə birləşə və antimikrob təsirini reallaşdırma bilirlər”³. Bunun üçün antibiotiklərlə müqayisədə bakteriosinlərin çox cüzi miqdarı kifayət edir. Bakteriosinlər geniş miqdarda antibiotiklərə qarşı davamlı olan “zərərli, şərti patogen və patogen mikroblara qarşı ciddi mübarizə apara bilir və onlara qarşı davamlı mikrobların yaranma təhlükəsi yoxdur”⁴.

Bakteriosinlərin bəziləri klassik antibiotiklərlə sinergik təsir göstərərək axırıncıların daha aşağı dozalarda tətbiq olunmasına şərait yaradırlar. Nəticədə, “həm antibiotiklərin yan təsirlərinin qarşısı alınır, həm də ştamların dərmanlara davamlı formalarının inkişafına mane olurlar”⁵⁻⁶.

Qeyd etmək lazımdır ki, bakteriosinlərin Azərbaycanda ilk tədqiqatçıları doktorantı olduğum Bakı Dövlət Universitetinin sabiq Biokimyə və biotexnologiya kafedrasının əməkdaşları olmuş və onların fəaliyyəti nəticəsində “xeyli fəal ştamlar əldə edilmişdir”⁷⁻⁸. Həmin ştamların həm özlərinin probiotik

²Ramu, R. Bacteriocins and their applications in food preservation / R.Ramu, P. S. Shirahatti, A.T. Devi [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition, - 2015. 60 (18), <https://doi.org/10.1080/10408398>.

³ Bonhi, K.L.R. Role of bacteriocin in tackling the global problem of multi-drug resistance: An updated review / K.L.R. Bonhi, S.Imran // Bioscience Biotechnology Research Communication, - 2019. 12, - p. 601–608.

⁴Cotter, P. D. Bacteriocins – A viable alternative to antibiotics? / P.D.Cotter, R.P.Ross, C.Hill // Nature Reviews Genetics, - 2013. (11), - p. 95–105

⁵ Cavera, V.L. Bacteriocins and their position in the next wave of conventional antibiotics / V.L. Cavera, T.D. Arthur, D. Kashtanov [et al.] // International Journal of Antimicrobial Agents, - 2015. 46, - p. 494–501.

⁶ Гусейнова, Н.Ф. Частичная очистка и характеристика бактериоцина штамма *Enterococcus faecium* S5, изолированного из Азербайджанского сыра / Н.Ф.Гусейнова, С.Г.Гюльяхмедов, А.Ф.Ахмедова [и др.] // Доклады НАНА, -Баку: - 2009, Т. LXV, №.5, - с. 95-103.

⁷Гюльяхмедов, С.Г. Антимикробные свойства штамма *Lactobacillus paracasei* BN ATS 8W / С.Г. Гюльяхмедов, Н.Ф.Абдуллаева, А.А.Кулиев // Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, - Bakı: -2016, №.4, - s. 62-71.

⁸Гюльяхмедов С.Г. Метаболиты молочнокислых бактерий Азербайджана с

xassələri, həm də onların bakteriosinlərinin antimikrob və molekulyar xassələri ətraflı tədqiq edilmiş və kolleksiya şəklində saxlanılmışdır⁸. Lakin həmin ştamların *in-situ* şəraitdə fəallıqları, başqa sözlə, ərzaq məhsullarının patogen mikroblardan qorunması istiqamətində xüsusiyyətləri tədqiq edilməmişdir.

Tədqiqatın obyektı və predmeti. Tədqiqat obyektı olaraq ana südü nümunələri, onlardan izolə edilmiş və kafedran kolleksiyasında olan bakteriosinogen STB ştamları və onların bakteriosin preparatları, inək südü, süni uşaq qidası, model pendir nümunələri, həmçinin patogen və şərti patogen bakteriya ştamlarından istifadə edilmişdir.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Tədqiqat işinin məqsədi insanın rezident mikrobiotasından potensial bakteriosinogen STB ştamı izolə etmək, onun və digər bakteriosinogen ştamların bakteriosinlərinin süd və model turşsüd məhsullarında *in situ* effektivliyini tədqiq etməkdən ibarət olmuşdur.

Tədqiqat işinin məqsədinə nail olmaq üçün aşağıdakı vəzifələrin həlli nəzərdə tutulmuşdur:

1. Ana südü nümunələrindən bakteriosinogen süd turşusu bakteriyaları izolə edərək onun antimikrob fəallığını xarakterizə etmək;
2. Ayrılmış fəal süd turşusu bakteriyalarının xarakterik texnoloji xassələrini tədqiq etmək;
3. Onların antimikrob təbiətli metabolitlərinin biokimyəvi və molekulyar xassələrini öyrənmək;
4. Ayrılmış ştam(lar)ın və kolleksiyamızda mövcud olan digər bakteriosinogen ştamların müxtəlif süd məhsullarında patogen və şərti patogen mikroorqanizmlərin inkişafına nəzarət potensialını müəyyən etmək;
5. Model pendir nümunələrinin hazırlanması dövründə fəal ştamların osinlərinin *in situ* effektivliyini tədqiq etmək;
6. Süd və model turşsüd məhsullarının (pendir nümunələri timsalında) uzunmüddətli qorunması məqsədi ilə osinlərin biomühafizə potensialını müəyyən etmək.

Tədqiqat metodları. Tədqiqatlar skrining, peplika, diffuziya, fermentasiya, API 50 test, mikroskopiya, sentrifuqa, adsorbsiya-desorbsiya,

антимикробными свойствами и их практическое значение: / Дис. доктора наук по биологии. / -Баку, 2016.- 376с

elektroforez, statistik məlumatların işlənməsi və kompyüter metodları ilə həyata keçirilmişdir.

Müdafiyyə çıxarılan əsas müddəalar:

- Ana südündən izolə edilmiş bakteriyalar arasında perspektivli probiotik xassələrə malik süd turşusu bakteriyaları mövcuddur;

-*L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının bakteriosin sintezi induktiv proses olub, mühitdə karbon, azot mənbələrinin növündən və digər amillərdən asılıdır;

-A7 ştamı *L. delbrueckii* spp. *lactis* növünün lantibiotik sintez edən nadir nümayəndəsidir;

-Qismən təmizlənmiş preparatın alınması üçün nəzərdə tutulan adsorbsiya-desorbsiya üsulunun müxtəlif bakteriosinlərə tətbiqi zamanı ciddi metodiki modifikasiya tələb olunur;

-Bakteriosinogen süd turşusu bakteriyaları və onların osinləri süddə və turşsüd məhsullarında patogen mikrofloranın inkişafının qarşısını alan süni kimyəvi qoruyuculara təhlükəsiz və etibarlı alternativlərdir;

-Qida məhsullarının uzunmüddətli təhlükəsizliyini qorumaq məqsədi ilə bakteriosin preparatı ilə müqayisədə onun produsentinin istifadə edilməsi daha məqsədəuyğundur.

Tədqiqatın elmi yeniliyi. İlk dəfə ana südü nümunələrinin tərkibində bakteriosinogen STB axtarışı həyata keçirilmiş və onların məqsədəuyğun xassəyə malik 6 nümayəndəsi aşkar edilmişdir. Ən geniş antimikrob təsir spektrinə malik olan perspektivli A7 ştamı və onun antimikrob təbiətli metaboliti ətraflı xarakterizə edilmişdir. Kafedramızın kolleksiyasında 10 ildən artıq müddətdə saxlanılan *L.paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8w və *E. faecium* S5 ştamlarının bakteriosin sintezi qabiliyyəti ilkin səviyyəyə qədər bərpa (reanimasiya) edilmiş və A7 ştamı ilə bərabər hər üçünün model turşsüd məhsullarında təhlükəli patogenlərə qarşı ayrı-ayrılıqda *in situ* effektivliyi tədqiq edilmişdir ki, bu da Azərbaycan Respublikasında həyata keçirilən ilk belə tədqiqat işidir.

Tədqiqatın nəzəri və praktiki əhəmiyyəti. Ana südündən izolə edilmiş *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının insanın normal rezident mikrobiotasının bir nümayəndəsi olduğunu və təcrübələrimizlə sübut edilmiş geniş probiotik xassələrini nəzərə alaraq, onun süd, görpə uşaq qidası, turşsüd məhsulları, fermentləşdirilmiş tərəvəz növləri və s. kimi

qiymətli qida məhsullarına əlavə etmək və insanların sağlamlığına əhəmiyyətli dərəcədə müsbət təsirə nail olmaq olar.

Tədqiq etdiyimiz 3 müxtəlif bakteriosinogen ştamdan və onların təbii, antimikrob təbiətli peptidlərindən, kimyəvi konservantlardan fərqli olaraq, insan sağlamlığına heç bir zərər vermədən, qida məhsullarını *Staphilococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* və *Esheria coli* kimi patogen və şərti patogen mikroblardan qısa və uzunmüddətli qorumaq üçün istifadə etmək olar.

Ciddi modifikasiya etdiyimiz ucuz və effektiv adsorbsiya-desorbsiya metodundan A7 ştamının bakteriosin preparatının qismən təmizlənməsi məqsədi ilə laboratoriya şəraitində istifadə etmək mümkündür.

Nəşr, dissertasiyanın aprobasiyası və tətbiqi. Dissertasiya işinin mövzusunə aid 20 elmi əsər dərc edilmişdir. Dissertasiyanın əsas nəticələri “Ekologiya: təbiət və cəmiyyət problemləri” mövzusunda Beynəlxalq Elmi Konfransda (Bakı, 2017), “Müasir biologiyada innovativ yanaşmalar” mövzusunda Beynəlxalq Konfransda (Bakı, 2018), “Müasir biologiyada innovativ yanaşmalar” mövzusunda IX Beynəlxalq Elmi Konfransda (Bakı, 2019), “Biologiyada elmi nailiyyətlər və çağırışlar” adlı X Beynəlxalq Konfransda (Bakı, 2021), “Təbiət elmləri” üzrə keçirilən I Beynəlxalq Elmi Konfransında (ICNAS-2021, Türkiyə C., Ərzurum, 2021), “Scientific Advances And Challenges In Biology” adlı Beynəlxalq elmi Konfransda (Bakı, 2022) və “Təbiət elmləri və tibb: nəzəriyyə və praktika” mövzusunda LXXVI beynəlxalq elmi-praktiki konfransda (Rusiya F., Novosibirsk, 2024) məruzə edilmişdir.

Dissertasiyanın yerinə yetirildiyi təşkilat. Dissertasiya işinin yerinə yetirilməsinə əvvəlcə Bakı Dövlət Universitetinin Biologiya fakültəsinin Biokimya və biotexnologiya kafedrasında başlanılmış, 2019-cu ildən sonra isə Molekulyar biologiya və biotexnologiyalar kafedrasında iş sona çatdırılmışdır.

Dissertasiyanın strukturu və həcmi. Dissertasiya işi giriş, ədəbiyyat icmalı, tədqiqatın material və metodları və şəxsi tədqiqatların nəticələri və onların müzakirəsi, yekun, nəticələr, praktik tövsiyələr və ədəbiyyat siyahısından ibarətdir ki, bunlarda ümumilikdə 235298 işarədən ibarətdir.

FƏSİL I

SÜD TURŞUSU BAKTERİYALARI, ONLARIN BAKTERİOSİNLƏRİNİN XARAKTERİK CƏHƏTLƏRİ VƏ TƏTBİQİ ƏHƏMİYYƏTİ

Bu fəsildə STB, onların xarakterik cəhətləri və əhəmiyyəti, bakteriosinlər, onların təbiəti, təsir mexanizmi və təsnifatı, həmçinin bakteriosinlərin praktiki və tətbiqi potensialı haqqında əsasən son 10 ildə nəşr edilmiş məlumatlar toplanmış və analiz edilərək 3 paragrafda ümumiləşdirilmişdir.

FƏSİL II

TƏDQIQATIN MATERIAL VƏ METODLARI

Ana südü nümunələrindən fəal STB durulaşdırma üsulu ilə, onların antimikrob fəallığı “*aqar-diffuziya*”⁹, şamların böyüməsinə antibiotiklərin təsiri “*disk-diffuziya*”¹⁰, produsent şamların antioksidant xassələri “*Son*”¹¹, bakteriosin preparatının qismən təmizlənməsi ciddi modifikasiya edilmiş “*Yang*”¹², onun elektroforetik analizi isə “*Schägger*”¹³ üsulu ilə həyata keçirilmişdir.

⁹Parente, E. A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity /E. Parente, C. Brienza, M. Moles [et al.] // J. Microbiol Methods, - 1995. 22 (1) – p.95–108

¹⁰Charteris, W. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species/ W.Charteris, P.Kelly, L. Morelli [et al.] // J. Food Prot., - 1998. 61, - p.1636–1643.

¹¹Son, S. Free radical scavenging and anti-oxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: Structure-activity relationship / S.Son, B.A.Lewis // J. Agric. Food Chem., - 2002. 50, - p. 468-472.

¹²Yang, R. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria / R.Yang, M.C.Johnson, B.Ray // Appl. Environ. Microbiol., - 1992. 58, - p. 3355-3359.

¹³Schägger, H. Tricine sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa / H.Schägger, G. von Jagow // Anal.Biochem., - 1987. v.166, - p. 368-379.

A7 ştamı Sharpe və əməkdaşlarının sxemi (1996) və API 50 CH (L) sisteminin (bioMerieux, Lyon, France) köməyi ilə “*identifikasiya edilmişdir*”¹⁴.

FƏSİL III ALINAN NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

3.1. Ana südü nümunələrindən antimikrob xassəli ştamların izolə edilməsi və onların xarakterik cəhətləri

Fəal bakteriosinogen ştam mənbəyi kimi 16 müxtəlif ana südü nümunələrindən istifadə edilmişdir. Həmin nümunələr MRS-aqar mühitində əkildikdən sonra Petri qablarında bütövlükdə 148 koloniya formalaşmışdır. Onların replika üsulu ilə antimikrob fəallığı təyin edilmiş və 64 koloniyada *L. bulgaricus* 340 ştamına qarşı belə fəallıq aşkar edilmişdir.

Bakteriyaların yanaşı populyasiyalarla antoqonistik fəallığını təmin edən çoxsaylı metabolitlər arsenalı mövcuddur. Buna görə də, süd nümunələrindən əldə edilmiş fəal bakteriyaların antimikrob təbiətli metabolitlərinin biokimyəvi təbiəti tədqiq edilmişdir. Alınan nəticələr cədvəl 1-də öz əksini tapmışdır. İzolə

Cədvəl 1

Ana südü nümunələrindən izolə edilmiş fəal bakteriyaların antimikrob xassəli metabolitlərinə bəzi mühit amillərinin təsiri

Antimikrob xassəli komponentlərə təsir variantları	Antimikrob fəallığını saxlayan ştamların sayı
Kontrol (steril kultura mayesi)	64 (64)*
Neytral pH	24 (64)
Katalaza (1mq/ml)	46 (64)
Proteolitik fermentlər (1 mq/ml)	58 (64)

* - tədqiqata cəlb edilmiş koloniyaların ümumi sayı

¹⁴Sharpe, M. In “Identification methods for microbiologists” / M.Sharpe, T.Fryer, D. Smith - New-York: Acad. Press. – 1996. - 419 p.

edilmiş bakteriyaların antimikrob xassəli metabolitlərinə müxtəlif amillər fərqli təsir göstərmişlər. Belə ki, mühitin fəal turşuluğunun (faktiki pH göstəricilərinin) neytrallaşdırılması nəticəsində tədqiqata cəlb edilmiş 64 koloniya hüceyrələrindən yalnız 24 ədədi öz antimikrob fəallığını saxlaya bilmiş, qalan 40 koloniya hüceyrələri isə passiv formaya keçmişlər. Bu nəticə həmin bakteriya hüceyrələrinin antimikrob fəallığının üzvi turşularla əlaqədar olmasını nümayiş etdirir.

Kultura mayesinin antimikrob xassəli komponentlərinin 1 mq/ml qatılıqlı katalaza fermenti ilə 2 s müddətində inkubasiyasından sonra öz antimikrob fəallığını qoruyan bakteriya koloniyalarının sayı 46 ədəd olmuşdur. Buradan da belə nəticəyə gəlmək olar ki, qalan 18 koloniya hüceyrələrinin müvafiq fəallığı onların mühitə ifraz etdikləri hidrogen peroksidlə əlaqədardır.

Tədqiq olunan kulturaların fəal komponentlərinə proteinaza K və tripsin VIII fermentlərinin təsiri də öyrənilmişdir. Həmin proteolitik fermentlərin iştirakı ilə 64 kultura mayesi inkubasiya edildikdən sonra onlardan cəmi 6 ədədi öz antimikrob fəallığını itirmişdir. Bu isə həmin kulturaların antimikrob xassəli metabolitlərinin peptid təbiətli olmasına, başqa sözlə, bakteriosinəbənzər maddə olmasına işarədir.

Növbəti mərhələdə həmin ştamların antimikrob təsir spektri tədqiq olunmuşdur. Müxtəlif ana südü nümunələrindən izolə edilmiş 6 ədəd bakteriosinogen ştamların antimikrob təsir spektri biri birindən fərqli olmuşdur. Belə ki, L2 və T8 ştamlarının antimikrob təsir spektri eyni olmuş və onların bakteriosinəbənzər metaboliti 2 qrammüsbət ştamın (*L. bulgaricus* 340 və *L. lactis* sub. *lactis* DF04) inkişafını tormozlamışdır. E5 və R1 ştamlarının fəal metabolitləri *L. bulgaricus* 340 ştamından başqa, heç bir digər passiv mikroorqanizmlərə təsir edə bilməmişlər. G9 ştamın bakteriosinəbənzər metaboliti 2 qrammüsbət (*L. bulgaricus* 340 və *L. brevis* F145) və 1 qrammənfi (*E. coli* ATCC 25922) bakteriya olmaqla 3 passiv ştamın inkişafına ləngidici təsir göstərmişdir. İzolə edilmiş ştamlardan heç birinin bakteriosinləri göbələklərə təsir etməmişdir.

İzolə edilmiş bakteriosinogen ştamların ən zəngin fəallıq spektri A7 ştamında müşahidə edilmişdir. Bu ştamın bakteriosini yoxlanılan 22 passiv mikroorqanizm nümunələrindən 6-sının bitməsini əngəlləmişdir.

Növbəti mərhələdə A7 ştamının Sharpe və əməkdaşlarının təklif etdikləri üsul (1996) və API 50 CH (L) sisteminin (bioMerieux, Lyon, France) köməyi ilə ilkin fenotipik identifikasiyası həyata keçirilmiş onun *Lactobasillus delbrueckii* spp. *lactis* yarım növünə aid olması qənaətinə gəlinmişdir.

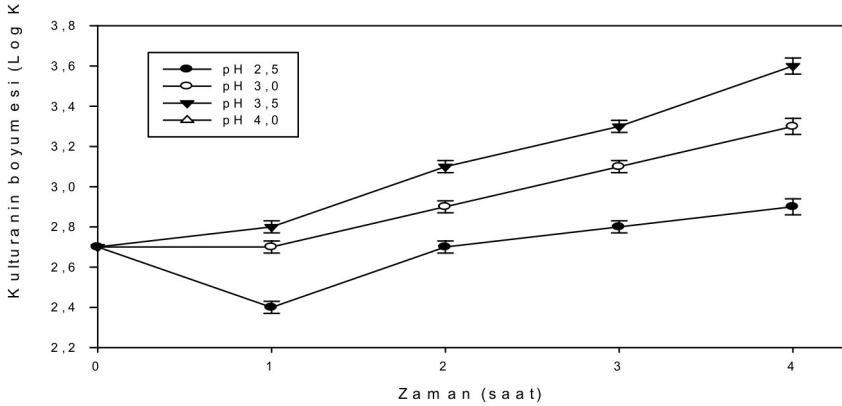
3.2. *Lactobasillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının probiotik xassələri

Probiotik bakteriyalar “*insanın mədə-bağıracaq sisteminin orqanlarından keçərkən mədədə turşuluq stresinin, 12-barmaq bağırsaqda öd turşularının təsirinə məruz qalırlar*”¹⁵. Onların “*antibiotiklərə qarşı davamlı olması təhlükəlidir*”¹⁶.

Müxtəlif turşuluq stressi şəraitində A7 ştamının böyümə dinamikası bir-birindən fərqlənmişdir. Belə ki, pH 2.5 qiymətində ilk saatda populyasiyanın sayı qismən azalsa da növbəti saatlarda hüceyrələrin sayı bərpa edilmişdir. Bu zaman nəzərə çarpacaq artım müşahidə edilməmişdir. Lakin pH 3.0 və daha yuxarı olan mühitdə bakteriya populyasiyasında əhəmiyyətli artım müşahidə edilmişdir (şək.1).

¹⁵Maryam, T.E. Traditional Iranian dairy products: A source of potential probiotic Lactobacilli / T.E. Maryam, C.O. Arthur, A.H. Mohamad [et al.] // Afr. J. Microbiol. Res., - 2011. 5, - p. 20-27.

¹⁶Hassan, M. Natural antimicrobial peptides from bacteria: Characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance / M.Hassan, M.Kjos, I. F. Nes, [et al.] // Journal of Applied Microbiology, - 2012. 113, - p. 723–736

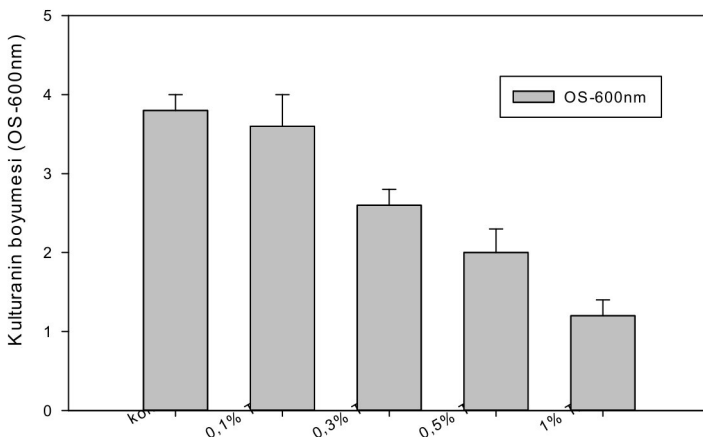


Şəkil. 1. Mühitin pH-nın *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyüməsinə təsiri

Növbəti mərhələdə A7 ştamının böyüməsinə taurodezoksihol turşusunun Na duzunun (NaTDHT) təsiri araşdırılmışdır (şək.2).

Öd turşusunun qatılığı artdıqca tədqiq olunan ştamın optiki sıxlığı aşağı düşmüşdür. Belə ki, NaTDHT-nin 0,1% qatılığı ştamın böyüməsini çox cüzi zəiflətməmiş, populyasiyanın sıxlığına praktiki olaraq təsir etməmişdir. İnsanın nazik bağırsağında öd turşusunun qatılığı 0,3% olduğunu nəzərə alaraq onun qatılığını fizioloji qatılığa, yəni 0,3%-ə qaldırdıqda müəyyən edilmişdir ki, A7 ştamının populyasiyasının optiki sıxlığı kontrol variantla (MRS variantı) müqayisədə 30% aşağı olmuşdur. Lakin, təcrübi ekspozisiyanın 5-cü saatından başlayaraq mühitə adaptasiya nəticəsində A7 ştamının ekstensiv böyüməsi müşahidə edilmişdir.

Daha sonra A7 ştamının böyüməsinə 12 fərqli antibiotiklərin təsiri yoxlanılmışdır. Müəyyən edilmişdir ki, A7 ştamı müasir tibbdə geniş istifadə olunan ampisillin, penisillin, vankomisin, eritromisin, gentomisin, kanamisin, rifamisin və metrodinazol kimi 8 antibiotikə qarşı həssaslıq nümayiş etdirmişdir.



Şəkil 2. *L.delbrueckii spp. lactis* A7 ştamının böyüməsinə müxtəlif qatılıqda taurodeoksihol turşusunun Na duzunun təsiri:

-İnkubasiya müddəti - 12 s;

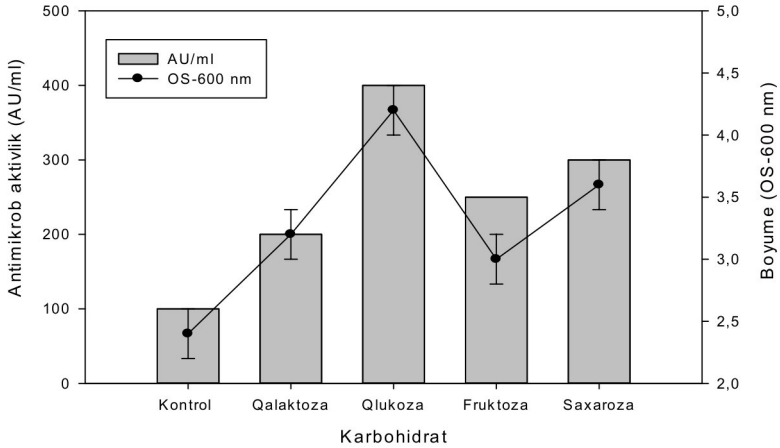
-İlkin inokulyatın optiki sıxlığı – 0,3

Bununla belə, A7 ştamı streptomisin, sefotaksim, xloramfenikol və ofloksasinə qarşı davamlı olmuşdur.

A7 ştamının və *in situ* tədqiqatlarımıza cəlb edilən digər ştamların – BN ATS 8w və S5 ştamlarının antioksidant xassələri tədqiq edilmişdir. Ştamların üçü də DPPH-ın fəallığını tormozlamışlar. Lakin onların antioksidant fəallığı bir-birindən fərqli olmuşdur. Belə ki, MRS-də becərilən kultura mayesində ən yüksək fəallıq (31,2%) *Lactobacillus paracasei* BN ATS 8w ştamında, 21,9% *Lactobacillus delbrueckii* A7 ştamında, 11,2 % isə *Enterococcus faecium* S5 ştamında müşahidə edilmişdir.

Qarşımızda duran növbəti vəzifə izolə edilmiş fəal STB-nin antimikrob fəallığını xarakterizə etməkdən ibarət olmuşdur.

Bakteriosinogenez induktiv proses olduğundan biz induktiv mühit amillərini müəyyən etmiş və onların optimal parametrlərini təyin etməyə çalışmışıq. Mühitdə karbon mənbəyinin ştamın böyüməsinə və bakteriosin titrinə təsirinə tədqiqi göstərmişdir ki, ən effektiv karbon mənbəyi qlükoza olmuşdur (şək.3).

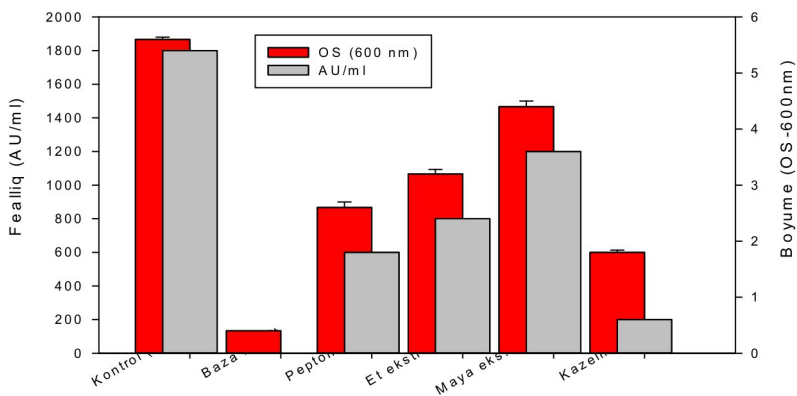


Şəkil 3. Müxtəlif karbohidratların *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyüməsinə və bakteriosin sintezinə təsiri

Qlükozanın optimal qatılığı 0,6 q/l olmuş və bu zaman bakteriosin titri 1800 ŞV/ml olmuşdur.

Ştamın böyüməsi və bakteriosin sintezi üçün ən uğurlu azot mənbəyi maya ekstraktı olmuşdur (şək.4). Onun optimal qatılığı 3% olmuş və bu zaman bakteriosin titri 2400 ŞV/ml olmuşdur.

Təcrübələrimizin növbəti hissəsində *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyüməsinə və antimikrob fəallığına mineral duzların, vitaminlərin və qliserolun təsiri öyrənilmişdir. Bu zaman ən çox diqqəti cəlb edən manqan-sulfatın induktiv təsiri olmuşdur.



[Azot mənbəyi]

Şəkil 4. Üzvi azot mənbələrinin *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyüməsinə və bakteriosin sintezinə təsiri

MnSO₄·H₂O duzunun cüzi qatılığını (0,005 q/l) mühitə əlavə etdikdə bakteriosin titri xeyli artmış və kulturanın optiki sıxlığı kontrol variantla müqayisədə əhəmiyyətli dərədə yüksəlmişdir. MnSO₄ duzunun fərqli qatılıqlarının *in vitro* şəraitdə *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyüməsinə və bakteriosin sintezinə təsiri tədqiq edilmişdir.

Mühitdə Mn ionları olmadıqda böyümə kəskin azalmış, bakteriosin sintez olunmamışdır (baza mühit). Lakin onun qatılığı 4 dəfə artırıldıqda suspenziyanın sıxlığı 11%, bakteriosin titri təxminən 28% artmışdır. İnduktorun qatılığının sonrakı artımı hər iki göstəriciyə təsir etməmişdir.

Mn ionunun stimullaşdırıcı təsiri bir neçə səbəblə bağlıdır. Belə ki, bu ion qlükozanın parçalanmasını təmin edən fermentlərin tərkibinə daxil olmaqla enerji tələbatının ödənilməsində əhəmiyyət kəsb edir. Bundan başqa, Mn ionu superoksid-dismutaza fermentinin tərkibində hüceyrəni oksidləşmə stressindən qoruyur. Bu ionun analogi stimullaşdırıcı təsiri "*L. sakei*"¹⁷,

¹⁷Aasen I., Moretro T., Katla T., et al. Influence of complex nutrients, temperature and pH on bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CCUG 42687 / Appl Microbiol Biotechnol., 2000, v.53, pp.159–166

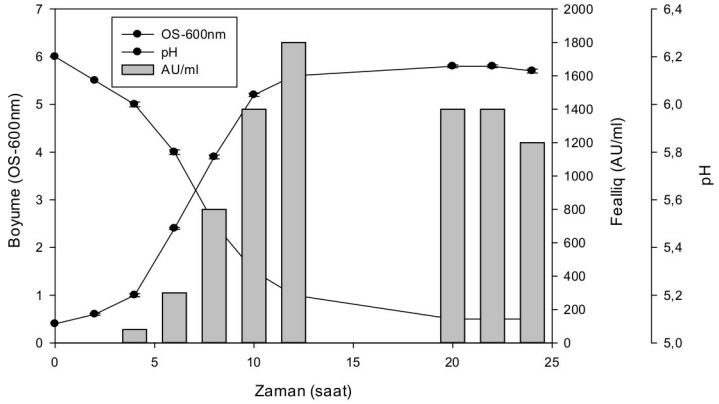
“*Pediococcus acidilactici*”¹⁸ və “*L. Acidophilus*”¹⁹ bakterialarında da müşahidə edilmişdir. A7 ştamının antimikrob fəallığına induktiv amillərin təsirini öyrəndikdən sonra bakteriosin sintezini stimullaşdıran mühit amillərinin optimal qiymətlərindən istifadə etməklə yenidən onun sutkalıq becərilməsi həyata keçirilmiş və tədqiq olunan parametrlər adi MRS mühitdə müşahidə olunanlarla müqayisə edilmişdir. Nəticələr şəkil 5 və 6-də əks etdirilmişdir. Şəkillərdən göründüyü kimi, modifikasiya olunmuş MRS mühitdə bakteriosin titri 3600 ŞV/ml olmuşdur ki, bu da standart MRS mühitdə becərilən zaman müəyyən edilən analogi göstəricidən 2 dəfə artıqdır.

3.3. A7 ştamının bakteriosinin qismən təmizlənməsi və elektroforetik analizi

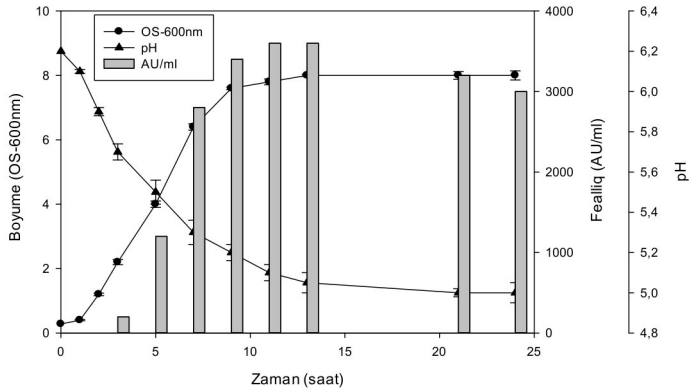
A7 ştamının bakteriosinəbənzər maddəsinin qismən təmizlənmiş preparatının alınması məqsədi ilə istifadə etdiyimiz adsorbsiya - desorbsiya üsulu Yang və əməkdaşlarının (1992)¹² təklif etdiyi formada müsbət nəticə verməmişdir. Bu səbəbdən də həmin üsulun müxtəlif parametrləri kifayət qədər ciddi modifikasiyaya məruz qoyulmuşdur.

¹⁸Abo-Amer, A. E. Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus acidophilus* AA11, a strain isolated from Egyptian cheese // *Annals of Microbiology*, - 2011. v.61, - p. 445–452.

¹⁹Anastasiadou S., Papagianni M., Ambrosiadis I., Koidis P. Rapid quantifiable assessment of nutritional parameters influencing pediocin production by *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627 // *Bioresour Technol.*, 2008, v.99, p.6646–6650



Şəkil 5. MRS mühitində *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyümə, üzvi turşular və bakteriosin sintezi proseslərinin dinamikası: Passiv kultura – *L. bulgaricus* 340



Şəkil 6. Tərkibi dəyişdirilmiş MRS mühitində *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının böyümə, üzvi turşular və bakteriosin sintezi proseslərinin dinamikası: Passiv kultura – *L. bulgaricus* 340, becərilmə temperaturu – 37°C.

Alınan nəticələr cədvəl 2-də öz əksini tapmışdır. İlk produsent titrinin qatılığı 3 log/ml (üsulda göstəriləndən 2 dəfə aşağı) olduqda fermentasiya zamanı mühitdə bakteriosinin titri 24% artmışdır. Produsent ştamın becərilmə müddəti 20 saatdan 16 saata endirilmişdir. Çünki, *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının maksimal bakteriosin sintezi kulturanın inkişafının stabil fazasının ortasına təsadüf edir və bu fazaya ştam məhz 14-16 s müddətində çatır. Alınan nəticələr göstərmişdir ki, soyuq mühitdə 10 s (üsulda göstərilən müddət) müddətində kulturanın qarışdırılmasından sonra supernatantda bakteriosinin titri kifayət qədər yüksək olur. Bu səbəbdən də, bu müddətin daha da uzadılması ilə optimal vaxtın 16 s olması müəyyən edilmişdir. Bu zaman supernatantda ilkin bakteriosin titri 86% reduksiya edilmiş və produsent hüceyrələrin səthinə adsorbsiya etmişdir.

Modifikasiya olunan parametrlərdən biri də suspenziya mühitində ion qüvvəsi yaratmaq məqsədi ilə istifadə olunan 0,5M NaCl duzunun 1M KCl duzu ilə əvəzlənməsi olmuşdur. Nəticədə desorbsiya olunan peptidlərin miqdarı NaCl-la müqayisədə 64% artmışdır (Cədvəl 3). Yalnız bu əvəzlənmədən sonra elektroforetik analiz zamanı tədqiq olunan bakteriosinin PAA gelində zolağı görünmüşdür. Alınan nəticə şəkil 7-də öz əksini tapmışdır. Elektroforeqramdan görüldüyü kimi, antimikrob təbiətli polipeptid zəncirin molekul çəkisi 3,49 kD -dan aşağıdır.

Belə kiçikmolekullu bakteriosinlər I sinif bakteriosinlərə aid olub lantibiotiklər adlanır. Onların “molekul çəkiliəri adətən 2-4 kDa intervalında olur”²⁰. Bu sinifə aid olan bakteriosinlər STB-lərin *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* kimi bəzi növləri tərəfindən sintez olunaraq əsasən qrammənfi və qrammüsbət

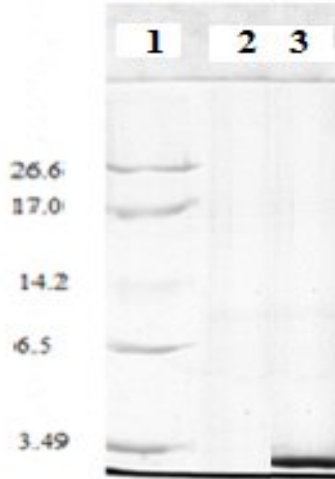
²⁰Bari M. L, Ukuku D. O, Kawasaki T, Inatsu Y, Isshiki K, Kawamoto S. (2005) Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the *Listeria monocytogenes* population of inoculated fresh-cut produce. J Food Prot 68(7):1381–1387

Adsorbsiya-desorbsiya (Yang, et all. 1992) metodunun modifikasiya edilmiş parametrlərinin mühitdə bakteriosin titrinin dəyişmə dinamikasına (BTD) təsiri

Produsentin ilkin titri (log/l)			Becərilmə müddəti (saat)			4 ⁰ C-də suspenziyanın qarışd. müddəti (saat)			İon qüvvəsi yaradan duz (mol/l)		
Yung metodu	Modifikasiya	BTD	Yung metodu	Modifikasiya	BT D	Yung metodu	Modifikasiya	BTD	Yung metodu	Modifikasiya	BTD
6 log/ml	2 log/ml	10% ^c	20s	12s	0	10s	12s	11% >	NaCl -0,5M	KCl - 0,5M	13%>
	3 log/ml	24%>		14s	33% >		14s	28% >		KCl - 1M	64%>
	4 log/ml	18%>		16s	33% >		16s	46% >		KCl - 1,5M	58%>

***S. aureus* CIP 9973 və *E. coli* BAS23355 hüceyrələrinin miqdarının müxtəlif mühitlərdə 23 s sonra artım göstəriciləri (log KƏV/ml)**

Qıçqırma mühiti	<i>S. aureus</i> CIP 9973					
	8 s			23 s		
	<i>S.aur.</i> (tək)	<i>S.aur</i> + <i>L.p.</i> 8 w	<i>S.aur.</i> + Bak. 8 w	<i>S.aur.</i>	<i>S.aur.</i> + <i>L.p.</i> 8 w	<i>S.aur.</i> + Bak. 8 w
BHİ -qid.mühit	4,4±0,012	4,4±0,011	3,2±0,021	5,4±0,023	3,6±0,019	3,0±0,011
Üzsüz süd	3,3±0,011	3,1±0,012	2,5±0,021	4,5±0,021	3,8±0,018	2,2±0,011
Təbii inək südü	3,2±0,012	3,1±0,011	2,6±0,021	4,2±0,019	3,2±0,014	2,0±0,013
“Kabrita l Gold” uşaq yeməyi	3,8±0,013	3,4±0,012	3±0,021	5,1±0,023	3,6±0,012	3,1±0,012



Şəkil 7. *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının bakteriosinəbənzər maddəsinin elektroforeqramı:

1.Marker zülallar;

2.0,5M NaCl iştirakı ilə desorbsiya fraksiyası;

3.1M KCl iştirakı ilə desorbsiya fraksiyası.

“*Bakteriyaların inkişafının qarşısını alırlar*”²¹, lakin, *L. delbrueckii* spp. *lactis* növü tərəfindən antibiotiklərin sintezi barədə məlumata ədəbiyyat mənbələrində rast gəlinməmişdir.

3.4. Müxtəlif süd məhsullarında patogen mikrofloranın sutkalıq inkişafına fəal ştamların və onların osinlərinin təsiri

Dissertasiya işimizin növbəti məqsədi bakteriosinogen ştamların *in situ* şəraitdə süd və model turşsüd məhsullarında patogen və şərti patogen mikroorqanizmlərin inkişafına nəzarət potensialını müəyyən etməkdən ibarət olmuşdur. Əvvəlcə MRS mühitdə və sadalanan süd məhsullarında *L. paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8w ştamının böyümə və bakteriosin sintezi dinamikaları öyrənilmişdir. Təcrübə obyektini kimi eksperimentlərə cəlb olunmuş süd məhsullarında istər produsent ştamın böyüməsi, istərsə də onun bakteriosin

sintezi intensivlikləri MRS mühitlə müqayisədə əhəmiyyətli dərəcədə zəif olmuşdur.

Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən, bakteriya populyasiyalarında böyümə və inkişaf prosesləri, adətən “*bir sıra endogen və ekzogen amillərdən asılı olaraq dəyişə bilir*”¹⁷⁻¹⁸. Mühitdə bakteriyaların inkişafı üçün zəruri olan qida maddələrinin miqdarı, keyfiyyəti, mühitin pH-ı və temperaturu həmin amillərin əsaslarını təşkil edir. Tədqiq olunan mühitdə produsent ştam bütün mühitlərdə onun üçün optimal temperatur şəraitində becərilərsə də, becərlmə mühitlərinin tərkib komponentləri arasında hətta cüzi fərq belə özünü onların tədqiq olunan parametrlərində mütləq büruza verməlidir və alınan nəticələr də bir daha onu təsdiq edir.

Bu təcrübələrimizin növbəti hissəsində *in situ* təcrübələr üçün cəlb olunan patogen və şərti patogen ştamların yuxarıda sadalanan mühitlərdə sərbəst böyüməsi (kontrol variant kimi), fəal produsent ştamın hüceyrələrinin iştirakı ilə böyüməsi və, həmçinin, həmin ştamın qismən təmizlənmiş bakteriosin preparatının əlavə edildiyi mühitdə böyüməsinin xarakteri izlənilmişdir.

Əvvəlcə *S. aureus* CIP 9973 ştamı ilə həmin təcrübələr həyata keçirilmiş və alınan nəticələr cədvəl 3-də ümumiləşdirilmişdir. Buradan görüldüyü kimi, adətən *Staphylococcus* cinsinin nümayəndələri üçün istifadə olunan BHİ qidalı mühitində *S. aureus* CIP 9973 ştamı təkə kultivasiyanın ilk 8 s ərzində inkişaf edərək böyümüş və mühitə əlavə edilmiş 3 log KƏV/ml miqdarında ilkin əkin materialının miqdarı təxminən 1,5 dəfə artaraq 4,4 log KƏV/ml səviyyəsinə qalxmışdır. Maraqlıdır ki, eyni sıxlıqda *L. paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8w fəal ştamının hüceyrələri ilə birgə kultivasiyası patogenin inkişafına praktiki olaraq təsir etməmişdir. Lakin, mühitə bakteriosin 8w əlavə etməklə onun becərlməsi zamanı populyasiya sıxlığında kifayət qədər ciddi (1,2 log vahid) azalma müşahidə edilmişdir. Bu isə, bakteriosin iştirakı ilə *in vitro* şəraitdə patogenin cüzi artımı deməkdir. Eyni parametrlərin 23 s kultivasiyadan sonra tədqiqi zamanı müəyyən edilmişdir ki, patogenin inkişafı həm produsent ştamla birgə kultivasiya zamanı, həm də fəal ştamın bakteriosininin iştirakı ilə becərlməsi zamanı əhəmiyyətli dərəcədə ləngimışdir. Bu dövrdə passiv ştam hüceyrələrinin sayı BHİ mühitində 5,4 log KƏV/ml, fəal ştamla birgə variantda 4,6 log KƏV/ml, bakteriosin 8w ilə birlikdə isə, başlanğıc miqdarını heç dəyişməyərək 3 log KƏV/ml səviyyəsində qalmışdır.

S. aureus CIP 9973 ştamının fəal ştamın bakteriosin preparatı ilə birgə becərilməsi zamanı inkişafdan praktiki olaraq qalması bakteriosin 8w-nin bu ştama qarşı effektiv bakteriostatik təsirindən xəbər verir.

S. aureus CIP 9973 ştamı ilə həyata keçirilən təcrübələrimiz yekunlaşdıqdan sonra analoji qaydada *E. coli* BAS23355 ştamı ilə də həmin təcrübələr aparılmış və oxşar nəticələr əldə edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, bakteriosin 8w *in situ* təcrübələrdə bu ştamın inkişafına bakteriostatik təsir göstərir.

Növbəti təcrübələrimizdə *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və *E. faecium* S5 ştamlarının və onların osinlərinin müxtəlif süd nümunələrində *L. monocytogenes* 302 və *E. coli* CIP 104368 ştamlarına qarşı *in situ* fəallıqları tədqiq edilmişdir. Alınan nəticələr cədvəl 4-də ümumiləşdirilmişdir. Cədvəldən görüldüyü kimi, tədqiq olunan hər iki süd nümunəsində *E. coli* CIP 104368 ştamının inkişaf tempi digər patogen ştamın - *L. monocytogenes* 302 -nin inkişaf tempini qabaqlamışdır. Belə ki, təbii süddə və “KabritaGold” uşaq yeməyində *L. monocytogenes* 302 populyasiyası öz sıxlığını, uyğun olaraq, 0,6 log vahid və 0,8 log vahid artırdığı halda, *E. coli* CIP 104368 ştamı həmin göstəricini, müvafiq olaraq, 1,3 log vahid və 1,1 log vahid artırmışdır. Lakin, hər iki fəal ştamla birgə becərmə tədqiq olunan süd nümunələrində patogenlərin miqdarının əhəmiyyətli dərəcədə azalması ilə müşayiət olunmuşdur. *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının olduğu inək südü və uşaq yeməyində listeriya hüceyrələrinin sayı kontrola nisbətən orta hesabla 1,25 log vahid, *E. coli* hüceyrələrinin sayı isə 1,05 log vahid azalmışdır. Bu zaman listeriya hüceyrələrinin ilkin populyasiya sıxlığı 0,55 log vahid azaldığı halda, *E. coli* hüceyrələrinin sayı kontrola nisbətən azalaraq ilkin sıxlığa maksimum yaxınlaşmışdır. Becərmə mühitinə produsent ştam əvəzinə onun bakteriosini (bak. A7) əlavə edildikdə, hər iki süd nümunəsində patogen hüceyrələrin hər ikisində kəskin azalma müşahidə edilmişdir. Belə ki, bak. A7 iştirakı ilə becərilən listeria kulturası orta hesabla 1,7 log vahid, *E. coli* kulturası isə, 1,45 log vahid seyrəlmişdir.

Patogen kulturaların *E. faecium* S5 ştamı və onun enterosini ilə birgə becərilməsi zamanı maraqlı nəticələr əldə edilmişdir (cədvəl 4). Fəal ştam hüceyrələri ilə *Listeriya* populyasiyasının birgə becəriləndiyi hər iki süd nümunələrində passiv hüceyrələrin miqdarı 1 log vahid azalaraq 2 log KƏV/ml səviyyəsinə düşmüşdür. Lakin, ştamın özünü yox, onun enterosinini mühitə

əlavə edərək becərilməni həyata keçirəndə, 14 s sonra kulturada canlı listeriya hüceyrələri müşahidə edilməmişdir. Bu hal həm inək südündə, həm də uşaq yeməyində özünü göstərmişdir.

Cədvəl 4

L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və *E. faecium* S5 ştamlarının və onların osinlərinin müxtəlif süd nümunələrində *L.monocytogenes* 302 və *E. coli* CIP 104368 ştamlarına qarşı *in situ* fəallıqları

Variantlar	Süd nümunəsi	Təbii inək südü	“Kabrita1Gold” uşaq yeməyi
	<i>L.monocytogenes</i> 302 (tək kultura)	3,6±0,017	3,8±0,024
	<i>L.monocytogenes</i> 302+ <i>L.del.</i> A7	2,4±0,011	2,5±0,012
	<i>L.monocytogenes</i> 302+ Bak. A7	1,2±0,005	1,4±0,004
	<i>L.monocytogenes</i> 302+ <i>E.faec.</i> S5	2,0±0,010	2,0±0,010
	<i>L.monocytogenes</i> 302+Enteros.S5	-•	-
	<i>E. coli</i> CIP 1043-68 (tək kultura)	4,3±0,012	4,1±0,024
	<i>E. coli</i> CIP 1043-68+ <i>L.del.</i> A7	3,2±0,015	3,1±0,013
	<i>E. coli</i> CIP 1043-68+Bakt. A7	1,6±0,006	1,5±0,005
	<i>E. coli</i> CIP 1043-68+ <i>E.faec.</i> S5	2,2±0,015	2,0±0,009
	<i>E. coli</i> CIP 1043-68+ Enteros.S5	1,4±0,005	1,2±0,005

*İlkin əkin materialının miqdarı 3 Log KƏV/ml. Bakteriosin titri – 1200 ŞV/ml. Becərmə müddəti 14 s.

*Müşahidə edilməmişdir.

E.faecium S5 ştamının *E. coli* hüceyrələrinə qarşı *in situ* effektivliyinə gəlincə, ştamın şərti patogenlə birgə becərilməsi nəticəsində ikincinin hüceyrələrinin sayı, orta hesabla 0,9 Log KƏV/ml azalmışdır. Mühitdə enterosin S5 olduqda isə, *E.coli* hüceyrələrinin miqdarı daha da azalaraq, 1,3 KƏV/ml səviyyəsinə düşmüşdür.

Beləliklə, təcrübələrimizin bu hissəsini yekunlaşdıraraq qeyd edə bilirik ki, *in situ* effektivliyi tədqiq olunan hər üç bakteriosinogen ştam və onların osinləri müxtəlif süd məhsulu nümunələrində sınaqdan keçirilən və

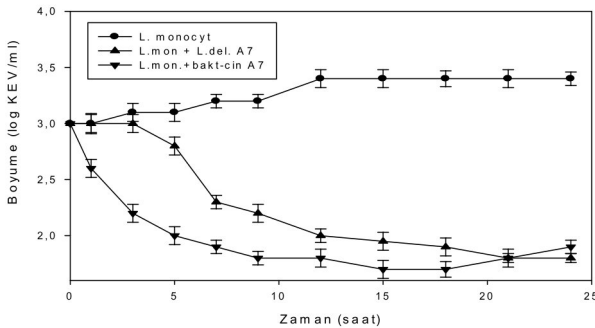
həmin şamların antimikrob təsir spektrinə daxil olan passiv patogen və şərti patogen şamların inkişafını tormozlamışlar. Bu zaman, *L. paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8w şamı və onun bakteriosini *S. aureus* CIP 9973 və *E. coli* BAS 23355 şamlarına *in vitro* və *in situ* şəraitdə bakteriostatik, *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və *E. faecium* S5 şamları və onların osinləri isə *L.monocytogenes* 302 və *E. coli* CIP 104368 şamlarına qarşı bakterisid təsir göstərmişlər.

3.5. Model pendir nümunələrində bakteriosinogen şamların zərərli bakteriyalara qarşı sutkalıq *in situ* effektivliyi

Bu təcrübələrimizdə *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının *in situ* şəraitdə model pendir nümunələrinin tərkibində *L. monocytogenes* 302 ştamının böyüməsinə təsiri tədqiq edilmişdir. Alınan nəticələr şəkil 8-də əks etdirilmişdir.

Kontrol variantda *L. monocytogenes* 302 sutkalıq böyüməsi 0,46 KƏV/q olmuşdur.

İkinci porsiyaya *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 əlavə edilmiş və qarışıq kulturada patogenin inkişafı izlənilmişdir. İlk 3 s müddətində bu porsiyada patogenin miqdarında dəyişiklik nəzərə çarpmamışdır, lakin, 12 s sonra patogenin miqdarı 2,2 log KƏV/q



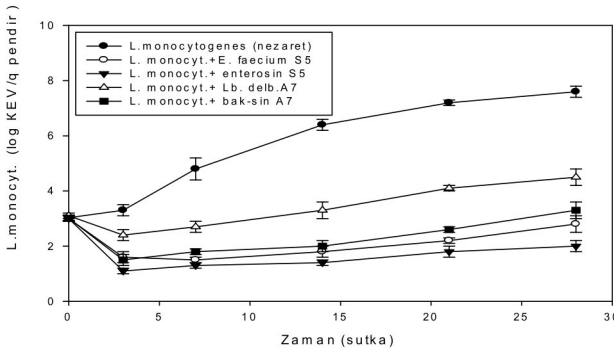
Şəkil 8. *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və onun bakteriosinin əlavə edildiyi pendir nümunələrinin hazırlanması dövründə *L. monocytogenes* 302 ştamının miqdarının dəyişmə dinamikası

səviyyəsinə düşmüşdür. Sonrakı dövrdə fəal polipeptidin bakterisid təsiri davam etmiş və təcrübənin sonunda *Listeriya* populyasının sıxlığı 1,3 log KƏV/q qalmışdır.

Hazırlanan 3-cü porsiyaya *L. monocytogenes* 302 hüceyrələri ilə eyni anda A7 bakteriosinin 1600 ŞV/ml fəallığa malik preparatı əlavə edilmişdir. Bu zaman inkubasiyanın birinci saatinın sonunda *Listeriya* hüceyrələrinin sayı 0,4 log, 3-cü saatda 0,8 log vahid azalmışdır. Sonrakı saatlarda bu tendensiya davam etmiş və 15-18-ci saatlar arasında onun miqdarı munumum səviyyəyə enərək cəmi 1,2 log vahidi qalmışdır. Lakin bundan sonra bakteriosinin bakterisid təsiri zəifləmiş və nəticədə patogenin sıxlığı artmağa başlamışdır. 24 s tamam olduqda mühitdə patogenin qatılığı 2 log vahidə çatmışdır.

3.6. Pendir nümunələrinin yetişməsi dövründə patogen mikrobiotanın inkişafına fəal ştamların və onların osinlərinin təsiri

Model pendir nümunələrinin yetişməsi dövründə (1 ay) *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və *E. faecium* S5 ştamlarının və onların osinlərinin *L. monocytogenes* 302 ştamının böyüməsinə təsiri tədqiq edilmişdir (şəkil 9). Bu müddət ərzində kontrol variantda *L. monocytogenes* 302 sürətlə böyümüş və miqdarı 2,5 dəfə artaraq 7,6 log vahidə yüksəlmişdir.



Şəkil 9. Pendirlərin yetişməsi dövründə *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7, *E. faecium* S5 ştamlarının və onların osinlərinin *L. monocytogenes* 302 ştamının böyüməsinə təsiri (əyriyənin aidiyyəti qriflərin daxilində göstərilmişdir)

Nümunələrin ikinci porsiyasında həmin dinamika osin produsentlərinin, üçüncü porsiyası isə, bakteriosin və enterosinin özlərinin iştirakı ilə tədqiq edilmişdir. Bütün variantlarda patogen hüceyrələrinin sayında azalma müşahidə edilmiş və böyümənin açıq-aşkar tormozlanması müşahidə edilmişdir. Bu zaman *E. faecium* S5 və enterosinin tormozlayıcı effekti *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının və onun bakteriosinin analoji təsirinə nisbətən daha qabarıq özünü büruzə vermişdir. Belə ki, A7 ştamının əlavə olduğu nümunədə patogenin miqdarı kontrolla müqayisədə 2,1 log vahid, S5 olan nümunədə isə 2,8 log vahid aşağı olmuşdur.

Osinlərin özlərinə gəldikdə, hər iki aktiv polipeptid oxşar təsir xarakteri sərgiləmişlər – onlar pendirlərin yetişmə dövrlərində *L. monocytogenes* hüceyrələrinin sayının artmasını əhəmiyyətli dərəcədə tormozlamışlar. Bu zaman enterosin S5-in tormozlayıcı təsiri bakteriosin A7-nin analoji təsirindən daha güclü olmuşdur. Yetişmənin sonunda bakteriosin A7 olan variantda populyasiyanın sıxlığı kontrol variantla müqayisədə 2,5 dəfə, enterosin S5-in əlavə olduğu variantda isə 3,8 dəfə aşağı olmuşdur.

Beləliklə, *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 və *E. faecium* S5 ştamlarının hər ikisi pendir məhsulunun tərkibində təhlükəli patogenlərdən biri olan *L. monocytogenes* populyasiyasında hüceyrələrinin sıxlığına nəzarət etmək iqtidarındadırlar. Onların bu qabiliyyəti *in situ* şəraitdə osinlər adlanan peptid təbiətli antimikrob xassəli metabolitlərin sintezi və sekresiyası ilə əlaqədardır. Pendirlərdə patogenin böyüməsinə nəzarət həm osinlərin produsentləri, həm də osinlərin özləri vasitəsi ilə həyata keçirilə bilər. Sınaqdan keçirilən osinlərdən ən fəali *E. faecium* S5 ştamının enterosini olmuşdur.

NƏTİCƏLƏR

1. Ana südü nümunələrindən antimikrob fəallığa malik süd turşusu bakteriyaları izolə edilmiş və onların fəal metabolitlərinin biokimyəvi təbiəti öyrənilmişdir. Bakteriosinogen ştamlar arasında güclü turşuluq stresinə və öd turşusunun fizioloji qatılığına davamlılıq, antioksidant fəallığı, həmçinin antibiotiklərin geniş spektrinə həssaslıq kimi perspektivli probiotik xassələrə malik *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7

- tərəfindən *in vitro* şəraitdə 6 müxtəlif bakteriya ştamının inkişafının qarşısı alınmışdır [1,2,3,12,15].
2. Müəyyən edilmişdir ki, qidalı mühitin üzvi karbon və azot mənbələri, həmçinin Mn ionları A7 ştamın bakteriosinogenezinə induktiv stimullaşdırıcı təsir edir. Karbon mənbəyi kimi qlükozanın (6 q/l), azot mənbəyi kimi maya ekstraktının (3%) və 200 mq/l Mn ionlarının iştirakı ilə MRS mühidə becərilmiş *L.delbrueckii spp. lactis* A7 ştamının bakteriosin titrinin iki dəfə artırılmasına nail olunmuşdur [4,5,6,7,8,9, 17].
 3. *L.delbrueckii spp. lactis* A7 ştamının bakteriosini ciddi modifikasiya edilmiş adsorbsiya-desorbsiya üsulu ilə qismən təmizlənmiş, elektroforetik analiz edilmiş və onun molekul kütləsinin 3,9 kDa-dan kiçik olması göstərilmişdir. Bakteriosinin lantibiotiklər qrupuna aid olması qənaətinə gəlinmiş, və beləliklə, lantibiotik sintez edən *L. delbrueckii spp. lactis* yarımnövlünün nadir ştamı aşkar edilmişdir [18].
 4. İlk dəfə Azərbaycanda *L. delbrueckii spp. lactis* A7, *L. paracasei spp. paracasei* BN ATC 8w və *E. faecium* S5 ştamlarının və onların osinlərinin süd və model pendir nümunələrində təhlükəli patogenlərə qarşı *in situ* effektivliyi tədqiq edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, süd və model turşsüd məhsullarında tədqiq olunan produsent ştamların *in situ* effektivliyindən əhəmiyyətli dərəcədə aşağıdır [10,11,13,14,16,20].
 5. Göstərilmişdir ki, *L. paracasei spp. paracasei* BN ATC 8w ştamı və onun bakteriosini tədqiq olunan məhsullarda *S. aureus* CIP 9973 və *E. coli* ATCC 25922 ştamlarının inkişafına bakteriostatik təsir edir və onların böyüməsini, orta hesabla, 50% ləngidir [14].
 6. Süd və model pendir nümunələrində *L. delbrueckii spp. lactis*A7 və *E. faecium* S5 ştamları və onların osinləri *Listeriya monocytogenes* 302 populyasiyasının inkişafına bakterisid təsir edir. Bakteriosin A7 patogen populyasiyada hüceyrələrin miqdarını 2,5 dəfə, enterosin S5 isə 3,8 dəfə aşağı salır [19].

PRAKTİKİ TÖVSIYYƏLƏR

1. Ana südüндən izolə edilmiş *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının məlum probiotik xassələrini və rezistent mikrobiotanın nümayəndəsi kimi təhlükəsizliyini nəzərə alaraq, ana südü ilə qidalanmaq imkanından müxtəlif səbəblərdən məhrum olan yeni doğulmuş körpələrə süni uşaq yeməklərinin tərkibində verməklə onların bağırsaqlarının normal mikroflorasının formalaşmasına yardım etmək olar.
2. Ərzaq məhsullarının bioloji təhlükəsizliyinin qorunması məqsədi ilə həm bakteriosinlərin özlərinin təmizlənmiş preparatlarından, həm də prodüsent şamlardan istifadə etmək olar. Qısa saxlama müddəti olan məhsulların qorunması zamanı bakteriosin preparatlarının, daha uzun saxlama müddəti olan məhsulların qorunması zamanı isə prodüsent şamların istifadə edilməsi daha təsirlidir. İkinci halda prodüsent ştamın genomunda virulent amillərin olmaması vacib şərtidir.

Dissertasiya mövzusunə aid dərc edilmiş elmi əsərlərin siyahısı

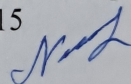
1. Güləhmədov S.Q., Nəzərli V.Ş., Vəliyeva G.A. Ana südü nümunələrindən izolə edilmiş süd turşusu bakteriyalarının antimikrob fəallığı//Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, -2017, № 1. s. 61-66.
2. Гюльяхмедов С.Г., Абдуллаева Н.А., Назарли V. Sh., Kuliev A. A. Некоторые пробиотические свойства *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7, изолированного из грудного молока.//Advances in Biology & Earth Sciences., -2017, v.2, № 2. p. 186-191.
3. Назарли В. Ш., Гюльяхмедов С.Г. Некоторые особенности проявления антимикробной активности штамма *Lactobacillus delbrueckii* spp.*lactis* A7//Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, -2017. № 2. s. 48-56 .
4. Gulahmadov S. G., Nazarli V. Sh., Kuliev A. A. Effect of organic carbon and nitrogen sources on the bacteriocin production by *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* strain A7 // Journal of Low Dimensional Systems, -2017, V 1, (1). p. 31-36.

5. Nəzərli V.Ş., Əbilova Ş.Ə., Bayramli H. V., Güləhmədov S.Q. *L. delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının antimikrob fəallığına mineral duzların və vitaminlərin təsiri // Akad. Həsən Əliyevin 110 illik yubileyinə həsr edilmiş “Ekologiya: təbiət və cəmiyyət problemləri” mövzusunda 3-cü beynəlxalq elmi konfransın materialları (26-27 dekabr 2017). -Bakı, -2017, s. 301-302.
6. Nəzərli V.Ş., Abdullayeva N.F., Abdullayeva N.A., Güləhmədov S.Q. Quliyev A.Ə. *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının antimikrob fəallığına mühitin bəzi tərkib komponentlərinin təsiri //Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, -2018, № 1. s. 63-68.
7. Vəliyeva G. A., Nəzərli V.Ş., Əbilova Ş.Ə., Bayramli H.V. Влияние pH на протеолитическую активность *E. faecium* Г8 //Н. Əliyevin 95 illik yubileyinə həsr edilmiş “Müasir biologiyada innovativ yanaşmalar” mövzusunda beynəlxalq Konfransın materialları (27-28 aprel 2018). -Bakı, 2018, s. 47-48.
8. Назарли В.Ш., Абдуллаева Н.А., Гюльяхмедов С.Г. Индукция активности бактериоцинов ионами марганца *in-vitro* и *in-situ*. //Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası, -2018, № 2. s. 60-64.
9. Абдуллаева Н.Ф., Зульфугарова В.Ш. Гюльяхмедов С.Г., Кулиев А.А. Влияние температурных условий на биосинтез и секрецию бактериоцина штамма *Lactobacillus pentosus* M3 // «Colloquium-journal», -2019 №3(27). ISSN 2520-6990 Warszawa, Polska. <http://www.colloquium-journal.org/>
10. Əbilova Ş.Ə., Zülfüqarova V.Ş., Güləhmədov S.Q. *L.delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının bakteriosinəbənzər maddəsinin *in-situ* fəallığına fiziki amillərin təsiri // BDU-nun 100 illiyinə həsr edilmiş “Müasir biologiyada innovativ yanaşmalar” mövzusunda IX Beynəlxalq Elmi Konfrans. (24-25 may 2019). -Bakı, 2019, -s.17
11. Гасанова А.З., Шукuroва Р.Ф., Гаджиева Л.М., Назарли В.Ш., Гюльяхмедов С.Г. Протеолитическая активность молочнокислых бактерий, изолированных из домашних сырных образцов. //Bakı Universitetinin Xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası,- 2020. №.4, -s. 54-60

12. Həsənova A.Z., Zülfüqarova V.Ş. Güləhmədov S.Q. Süd turşusu bakteriyalarının proteolitik fəallığına mühitin pH və temperaturunun təsiri.//Gənc alim və tədqiqatçıların “Biologiyada elmi nailiyyətlər və çağırışlar” adlı X Beynəlxalq konfrans (6-7 may 2021). -Bakı, 2021, - s.143-148
13. Zulfugarova V. Sh., Gulahmadov S. Q. *In situ* efficiency of bacteriocinogenic strain *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8w // “1st International congress on natural sciences” (ICNAS-2021). (10-12 eylül, 2021) Atatürk Universitesi, Erzurum, Türkiyə.
14. Зулфигарова В., Гюльяхмедов С. Влияние *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis*A7 на рост *L. monocytogenes* 302 в модельных образцах сыра // АМЕА Генетик Ehtiyatlar İnstitutunun Elmi Əsərləri, -2022, C. XI, No 1, s.107-113.
15. Həjiyeva F., Zulfıqarova V., Gulahmadov S. Biochemical characteristics of antifungal activity of *L. fermentum* Ç11 strain //11th International Conference: Scientific Advances and Challenges in Biology. (October 13-14, 2022). -Baku, 2022, -p. 167.
16. Zulfugarova V. Sh., Gulahmadov S. Q. Influence of *L. paracasei* spp. *paracasei* BN ATC 8W on the growth of *E. coli* in skimmed milk // World Science, -2022. V. 6(78), p.1-6.
17. Zulfugarova V. Sh. *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* A7 ştamının bakteriosinəbənzər maddəsinin xarakterik xüsusiyyətləri//Odlar Yurdu Universitetinin Elmi və Pədoqoji Xəbərləri, -2022, No 60, s. 105-112.
18. Zulfugarova V. Ş. Bakteriosinlərin təmizlənməsində metodiki problemlər və onların həlli yolları//Gəncə Texnologiya Universitetinin Elmi Əsərləri, -2022. N 2 (39), s. 87-91
19. Зулфугарова В.Ш., Гюльяхмедов С.Г., Бахшалиева К.Ф. Ингибирование *Listeria monocytogenes* 302 в модельных образцах сыра с помощью *in situ* продуцируемых

оцинов молочнокислых бактерий//Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». -2022. № 10. с.7-12.

20. Зульфугарова В.Ш., Гюльяхмедов С.Г. Влияние химических консервантов на антимикробную активность бактериоцинов штаммов *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATS 8w и *E. faecium* S5/Естественные науки и медицина: теория и практика: сб. ст. по матер. LXXVI Междунар.науч.-практ. конф. - Новосибирск: СибАК, -2024, №11(53). с.10-15



Dissertasiyanın müdafiəsi “ **12** ” **mart 2025-ci** il tarixində **saat 11-00-da** ARETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən BFD 1.07/1 Birdəfəlik Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: AZ1004, Bakı ş., A.Abbaszaadə 115.

Dissertasiya ilə ARETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Dissertasiya və avtoreferatın elektron versiyaları AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun rəsmi internet saytında (<https://azmbi.az/index.php/az/>) yerləşdirilmişdir.

Avtoreferat " **10** " **fevral 2025-ci** il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.



Çapa imzalanıb: 04.02.2025

Kağızın formatı: 60x84 ¹/₁₆

Həcm: 37195

Tiraj: 100