

УДК 579.017.8

UDC 579.017.8

03.00.00 Биологические науки

Biological sciences

**РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ГИДРОЛИЗАТА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ**

**DEVELOPMENT OF OPTIMAL WAY OF OBTAINING A HYDROLYZATE OF LACTIC ACID BACTERIA**

Кощаев Андрей Георгиевич  
д-р биол. наук, профессор  
SPIN-код 8508-1224

Koshchayev Andrey Georgiyevich  
Dr.Sci.Biol., Professor  
RSCI SPIN-code 8508-1224

Лысенко Юрий Андреевич  
канд. биол. наук, доцент  
SPIN-код 8066-7864

Lysenko Yury Andreevich  
Cand.Biol.Sci., assistant professor  
RSCI SPIN-code 8066-7864

Лунева Альбина Владимировна  
канд. биол. наук  
SPIN-код 8485-2274

Luneva Albina Vladimirovna  
Cand.Biol.Sci.  
RSCI SPIN-code 8485-2274

Радченко Виталий Владиславович  
канд. биол. наук, научный сотрудник  
SPIN-код 9479-5738

Radchenko Vitaly Vladislavovich  
Cand.Biol.Sci., Researcher  
RSCI SPIN-code 9479-5738

Анискина Мария Владимировна  
аспирант  
SPIN-код 1255-4837

Aniskina Mariya Vladimirovna  
graduate student  
RSCI SPIN-code 1255-4837

Волчанская Анна Андреевна  
магистр  
*Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Краснодар, Россия*

Volchanskaya Anna Andreevna  
masters degree  
*Kuban State Agrarian University of I. T. Trubilin, Krasnodar, Russia*

Работа проводилась в научно-исследовательской лаборатории кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики Кубанского ГАУ, целью которой являлся поиск оптимальных условий получения гидролизатов молочнокислых бактерий термокислотным и ферментативным способами. Объектом исследований служили чистые культуры микрофлоры желудочно-кишечного тракта перепелов – *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus intermedius* и *Lactobacillus salivarius*. При проведении термокислотного гидролиза были использованы одинаковые соотношения бактериальной массы и воды, а также процедуры очистки гидролизатов. Переменными условиями были pH, температура и время гидролиза. При проведении ферментативного гидролиза в работе был использован фермент из группы мурамидаз – лизоцим. Переменными условиями при получении ферментативных гидролизатов было количество фермента и время проводимого гидролиза. В процессе исследований изучали: количественное содержание общего белка, пептидов с М.м. < 1500, белка и пептидов с М.м. > 1500, аминокислот, а также ГМДП (глюкозаменилмурамилдипептид). На основании проведенных экспериментов установлено, что по всем составляющим

The work was carried out in the scientific-research laboratory of the chair of Biotechnology, Biochemistry and Biophysics of Kuban SAU, the aim of which is the search of optimal conditions of obtaining the hydrolyzates of lactic acid bacteria by thermoacid and enzymatic ways. The pure cultures of microflora of gastrointestinal tract of quails – *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus intermedius* and *Lactobacillus salivarius* were the object of researches. Under conducting the thermal acid hydrolysis there were used the same correlations of bacterial mass and water as well as procedures of clearing of hydrolyzates. The variable conditions were pH, temperature and time of hydrolysis. When carrying out the enzymatic hydrolysis in this study there was used the enzyme from the group of muramidase lysozyme. The amount of enzymes and time of carried out hydrolysis were the variable conditions under obtaining the enzymatic hydrolyzates. In the process of researches there were studied: qualitative content of total protein, peptides with M.m. < 1500, protein and peptides with M.m. > 1500, aminoacids and as well as GMDP (glucosaminilmuramilpentapeptide). On the basis of carried out experiments there was stated that according to all components of biologically active substances the thermal acid way is more effective than enzymatic.

биологически активных веществ термокислотный способ гораздо более эффективнее, чем ферментативный. Максимальное накопление БАВ в получаемых гидролизатах различными способами было выявлено при разрушении клеток *Lb. intermedius*. Содержание ГМДП в термокислотном гидролизате было выше, чем в ферментативном на 0,028 г/100 мл (51,8 %)

The maximum accumulation of BAA in hydrolyzates by different ways was revealed at destruction of cells *Lb. intermedius*. Content of GMDP in thermal acid hydrolyzate was higher than in enzymatic on 0,028 g/100 ml (51,8 %)

Ключевые слова: ЛАКТОБАЦИЛЛЫ, ГИДРОЛИЗ, ТЕМПЕРАТУРА, ВРЕМЯ, ФЕРМЕНТ, КОНЦЕНТРАЦИЯ, ПЕПТИДЫ, АМИНОКИСЛОТЫ, БЕЛОК, ГЛЮКОЗАМЕНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИД

Keywords: LACTOBACILLES, HYDROLYSIS TEMPERATURE, TIME, ENZYMES, CONCENTRATION, PEPTIDES, AMINO ACIDS, PROTEIN, GLUCOSAMINILMURAMILPENTAPEPTIDE

**Doi: 10.21515/1990-4665-132-121**

Молочнокислые бактерии представляют собой грамположительные бациллы, которые естественным образом заселяют желудочно-кишечный тракт [3; 13]. Они обладают высокой функциональной и биологической активностью, что позволяет их использовать в качестве основы для разработки пробиотиков и других продуктов питания специального назначения [6; 12; 14].

Иммуностимулирующий эффект – это одна из главных функций естественной микрофлоры кишечника, который способствует повышению всех видов иммунитета в макроорганизме. В большей степени данным эффектом обладают молочнокислые бактерии [5].

Представители рода лактобацилл способствуют стимуляции пониженного иммунитета, при это не оказывают влияние на иммунный статус организма в случае его нормального состояния [4]. Лактобактерии усиливают систему перитонеальных макрофагов, активируют структуры, которые способствуют повышению клеточного иммунитета [8; 15]. Приводя в рабочее состояние ретикуло-эндотелиальную систему желудочно-кишечного тракта и стимулируя продукцию ряда различных цитокинов, молочнокислые бактерии обеспечивают оптимальный баланс между гуморальным и клеточно-опосредованным типами иммунного ответа [7].

Гидролиз белков компонентов представляет собой разрушение молекулы с деструкцией первичной структуры. Разрушение пептидной цепи происходит в результате влияния на неё физических, химических и биологических факторов [11].

Из литературных источников известно, что основными методами гидролиза белковых компонентов, а также бактерий считаются химические и биологические (ферментативные). Химический способ включает в себя кислотный и щелочной гидролиз. Однако щелочной гидролиз применяют редко, так как он способствует рацемизация большинства аминокислот, а также разрушение аргинина и лизина [2; 11].

Чаще всего в практике применяют кислотный гидролиз, который проводят с использованием минеральных кислот при высоких температурах. В результате кислотного гидролиза с различной скоростью разрушаются пептидные связи. Варьируя концентрацией кислоты, температурой и временем прохождения гидролиза можно готовить лизаты с различной глубиной расщепления [11].

Часто на практике используют ферментативный способ гидролиза, так как он способствует более мягкому и щадящему разрушению связи в белковом субстрате. Данный способ гидролиза осуществляют в смесях с кислотностью среды, соответствующей максимуму активности выбранного фермента. Особенностью ферментов является то, что они воздействуют на определенные группы соединений. Так, например, протеолитические ферменты расщепляют только белки и пептиды.

Целью настоящей работы является поиск оптимальных условий получения гидролизатов молочнокислых бактерий термокислотным и биологическим (ферментативным) способами.

Работа проведена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-961.2017.11 (Договор № 14.W01.17.961-МК).

**Материалы и методы исследований.** Работа проводилась в научно-исследовательской лаборатории кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ.

В качестве объектов исследований использовали лактобактерии – *Lactobacillus agilis*, *L. intermedius* и *L. salivarius*, которые независимыми микробиологическим методом, методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени и метагеномными методами были выделены из слепых отростков желудочно-кишечного тракта перепела.

При проведении термокислотного гидролиза были использованы одинаковые соотношения бактериальной массы и воды, а также процедуры очистки гидролизатов. Переменными условиями были рН, температура и время гидролиза. Малую продолжительность обработки (максимум – 8 часов) компенсировали тем, что гидролиз проводили под давлением в автоклаве. При получении каждого гидролизата к бактериальной массе с влажностью около 50 % прибавляли дистиллированную воду в соотношении 1:3. По данным литературы такое соотношение является оптимальным при гидролизе белковых субстратов термокислотным способом [11]. Кислоту серную концентрированную прибавляли до получения значения рН согласно выбранного плана эксперимента (таблица 1).

**Таблица 1** – Условия для получения гидролизатов молочнокислых бактерий термокислотным способом

рН	Температура, °С	Время, ч
2	110	3; 5; 8
	120	
	130	
3	110	3; 5; 8
	120	
	130	
4	110	3; 5; 8
	120	
	130	

Нейтрализацию серной кислоты осуществляли гидроксидом кальция, так как по данным литературы он обеспечивает осаждение высоких концентраций сульфатов в растворе [11].

Очистку всех полученных гидролизатов осуществляли следующим образом: после прохождения гидролиза, полученную взвесь охлаждали, нейтрализовали, центрифугировали при 5000 об/мин 10 мин, супернатант декантировали, разливали во флаконы и хранили в холодильнике.

При проведении ферментативного гидролиза в работе был использован фермент из группы мурамидаз – лизоцим, так как по сравнению с мутанолизином он значительно дешевле и поэтому предпочтительно его использование в производстве, а также согласно данным Сенченко С. П., именно использование лизоцима с предварительной термической обработкой бактериальной массы в сравнении с группой протеолитических ферментов (панкреатин, трипсин и проназа) способствует максимальному выходу биологически активных веществ, в частности ГМДП [10].

В работе использовался трис-буфер (50мМ трис-НСI), так как он несет слабую ионную нагрузку и вследствие этого более физиологичен. Кроме того, повышенная концентрация солей усиливает связывание лизоцима с липополисахаридами живых бактерий, результатом чего может являться инактивация фермента. Поэтому в работе проводилось предварительное кипячение субстрата. Данный процесс приводит к денатурации белка, что выражается в разрушении его третичной структуры. Это, в свою очередь, облегчает контакт активных центров фермента с субстратом [9].

Переменными условиями при получении ферментативных гидролизатов было количество фермента и время проводимого гидролиза. На первом этапе работы необходимо было выбрать оптимальное соотношение между ферментом и субстратом. Получение гидролизатов

проводили при рН 7,0–8,0 и температуре опыта 37 °С – это условия оптимума действия используемого фермента. Время гидролиза выбиралось произвольно, и было равно 2 часам. Количество фермента варьировалось от 0,5 до 5,0 мг/мл. Так как ГМДП относится к пептидам с молекулярной с М.м.<1500 D, то на данном этапе качество полученных гидролизатов определяли по количественному содержанию всех пептидов с М.м.<1500 D.

Полученные гидролизаты были охарактеризованы по следующим показателям: количественное содержание общего белка, пептидов с М.м.<1500, белка и пептидов с М.м. > 1500, аминокислот, а также ГМДП (глюкозаменилмурамилдипептид).

Определение общего белка проводили спектрофотометрически в видимой области с использованием реактива Бенедикта, а в качестве стандартного образца применяли бычий сывороточный альбумин.

Определение пептидов с низкой молекулярной массой проводили как и в случае определения общего белка, однако в качестве стандартного образца применяли ГМДП (препарат для животных «Гликопин» или для человека «Ликопид»).

Определение аминокислот проводили по общепринятой методике количественного содержания аминокислот в микробных лизатах, а в качестве стандартного образца применяли глутаминовую кислоту.

Содержание белковых веществ с М.м.>1500 D определяли по разнице между содержанием общего белка и низкомолекулярных пептидов.

Определение ГМДП проводили мицеллярным вариантом капиллярного электрофореза.

**Обсуждение результатов исследований.** При проведении термокислотного гидролиза для каждой культуры проводилось по 3 серии опытов, в каждой из которых было получено по 9 гидролизатов.

Диапазон изучаемых параметров был выбран с учетом данных литературы и собственных предположений. Так, при получении

препаратов для парентерального питания установлено, что серноокислотный гидролиз чаще всего проводят 3–5 ч при температуре 120–130 °С и давлении 2–3 атм [1]. По данным исследователей в диапазоне рН = 2–3 ед., температуре 100–120 °С и времени гидролиза 1–5 ч можно получить гидролизат бактерий со значительным количеством БАВ [10]. Максимальное время гидролиза составило 8 ч, так как по данным литературы при 8–16-часовом гидролизе серин разрушается на 10 %, треонин – на 2–3 %, значительно разрушаются цистин, метионин, пролин, полностью – триптофан [11]. рН среды в 4 ед. была взята из собственных предположений, так как, согласно литературным источникам, чем меньше использовать кислоты для гидролиза, тем выше возможность её нейтрализации, что обеспечит получение лизатов с низкой концентрацией солей, которые могут негативно влиять на организм.

В целом, по каждой культуре было получено – 27 гидролизатов, что в сумме составило 81 лизат бактерий. Данные гидролизаты были охарактеризованы по следующим показателям: количественное содержание общего белка, пептидов с М.м.< 1500, белка и пептидов с М.м. > 1500, аминокислот, а также ГМДП.

Экспериментальным путем установлено, что наилучшие результаты по изучаемым гидролизатам по каждой культуре были получены при рН среды 3 ед, температура гидролиза 130 °С, время – 5 ч. Результаты наилучших экспериментов по каждой культуре представлены в таблице 2.

**Таблица 2** – Результаты анализа наилучших гидролизатов молочнокислых бактерий, полученных термокислотным способом

Гидролизат лактобактерий	Показатель				
	Аминокислоты, г/100мл	Общий белок, г/100 мл	Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	Пептиды с М.м.>1500, г/100 мл	ГМДП, г/100 мл
<i>Lb. agilis</i>	3,25	5,68	2,35	2,38	0,063
<i>Lb. intermedius</i>	3,52	5,21	2,69	2,47	0,082
<i>Lb. salivarius</i>	3,31	5,45	2,39	2,35	0,043

В результате проведенных исследований установлено, что наилучшие результаты были получены при лизисе клеток *Lb. intermedius*. При этом содержание аминокислот было выше, чем при гидролизе *Lb. agilis* и *Lb. salivarius* на 8,3 и 6,3 %, пептидов с низкой молекулярной массой на 14,5 и 12,6 %, пептидов с высокой молекулярной массой – 3,8 и 5,1 %, соответственно. Особо следует отметить содержание ГМДП, как одного из главного соединения обеспечивающего иммуностимулирующий эффект, количество которого было выше в гидролизате, полученного из клеток *Lb. intermedius* по сравнению с *Lb. agilis* и *Lb. salivarius* в 1,3 и 1,9 раза.

Таким образом, термокислотный способ является методом, который позволяет получать гидролизаты с высоким содержанием биологически активных веществ. Наилучшие результаты были получены при анализе гидролизата полученного из *Lb. intermedius*.

Однако представляло интерес сравнить данные результаты с результатами анализа гидролизатов полученных ферментативным способом. Кроме того, ферментативный способ не требует использования в технологической схеме производства автоклавов и концентрированных минеральных кислот, что может быть выгодно для многих производителей.

При проведении ферментативного гидролиза от каждой культуры было получено по 10 гидролизатов при одинаковых соотношениях бактериальной массы и буфера. В целом было проанализировано 30 лизатов бактерий.

Результаты изучения зависимости содержания низкомолекулярных пептидов от количества вносимого фермента лизоцима представлены в таблице 3.

**Таблица 3** – Количественный выход низкомолекулярных пептидов в зависимости от концентрации лизоцима в гидролизате

Показатель	Концентрация лизоцима, мг/мл									
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
<i>Lb. salivarius</i>										
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	0,73	0,93	1,07	1,16	1,32	1,45	1,65	1,67	1,69	1,71
<i>Lb. agilis</i>										
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	0,68	0,83	0,91	0,99	1,03	1,11	1,13	1,13	1,15	1,17
<i>Lb. intermedius</i>										
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	1,17	1,27	1,43	1,75	1,86	1,94	2,04	2,16	2,19	2,22

Таким образом, для каждого гидролизата была выбрана оптимальная концентрация фермента лизоцима с учетом максимального выхода низкомолекулярных пептидов, а также экономической целесообразности: для гидролизата из *Lb. agilis* и *Lb. salivarius* – 3,5 мг/мл, а для гидролизата из *Lb. intermedius* – 4,0 мг/мл.

Следующим этапом работы стала оптимизация времени гидролиза. При этом постоянными условиями также были рН (7,0–8,0) и температура опыта (37 °С). Переменным же условием было время (от 1 до 5 часов), а также количество лизоцима подобранного в эксперименте ранее. В ходе эксперимента от каждой культуры было получено по 5 гидролизатов при одинаковых соотношениях бактериальной массы и буфера. В целом было проанализировано 15 лизатов бактерий. Качество полученных гидролизатов определяли также по количественному содержанию низкомолекулярных пептидов. Результаты зависимости содержания пептидов от времени гидролиза представлены в таблице 4.

**Таблица 4** – Количественный выход низкомолекулярных пептидов в зависимости от времени гидролиза

Показатель	Время, ч				
	1	2	3	4	5
<i>Lb. salivarius</i>					
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	1,32	1,63	1,82	1,84	1,86
<i>Lb. agilis</i>					
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	0,86	1,12	1,31	1,35	1,35
<i>Lb. intermedius</i>					
Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	1,76	2,12	2,45	2,50	2,47

В результате проведенных исследований установлено, что во всех случаях в период времени гидролиза с 1 до 3 часов выявлено резкое изменение количества низкомолекулярных пептидов в сторону их увеличения. Однако с 3 до 5 часов гидролиза наблюдается слабое увеличение содержания низкомолекулярных пептидов с течением времени. При этом данные различия не значительны и в условиях производства выглядит не экономно. Поэтому принято было остановиться на времени проведения гидролиза – 3 часа.

В результате были получены 3 гидролизата, которые изучали по следующим показателям: количественное содержание общего белка, пептидов с М.м.< 1500, белка и пептидов с М.м. > 1500, аминокислот, а также ГМДП. Результаты анализа приведены в таблице 5.

**Таблица 5** – Результаты количественного определения основных биологически активных веществ в ферментативных гидролизатах

Гидролизат лактобактерий	Показатель				
	Аминокислоты, г/100мл	Общий белок, г/100 мл	Пептиды с М.м.<1500, г/100 мл	Пептиды с М.м.>1500, г/100 мл	ГМДП, г/100 мл
<i>Lb. agilis</i>	2,36	4,63	1,31	1,67	0,023
<i>Lb. intermedius</i>	2,62	4,13	2,45	1,89	0,054
<i>Lb. salivarius</i>	2,41	4,33	1,82	1,74	0,030

Анализ гидролизатов, полученных ферментативным способом показал, что по количественному содержанию изучаемых веществ

наилучшие результаты были получены в лизате из *Lb. intermedius*. При этом содержание аминокислот было выше, чем при гидролизе *Lb. agilis* и *Lb. salivarius* на 11,1 и 8,7 %, пептидов с низкой молекулярной массой в 1,8 и 1,3 раза, пептидов с высокой молекулярной массой на 13,2 и 8,6 %, соответственно. Особо следует отметить содержание ГМДП, количество которого было выше в гидролизате, полученного из клеток *Lb. intermedius* по сравнению с *Lb. agilis* и *Lb. salivarius* в 2,3 и 1,8 раза.

**Вывод.** Сравнивая термокислотный и ферментативный способы получения гидролизатов молочнокислых бактерий, можно утверждать, что по всем составляющим биологически активных веществ термокислотный способ гораздо более эффективный. При этом следует отметить, что максимальное накопление, в получаемых гидролизатах различными способами, биологически активных веществ было выявлено при разрушении клеток *Lb. intermedius*, что скорее всего связано с особенностями строения клеточной стенки бактерий, где количество пептидогликана выше, чем с другими изучаемыми биообъектами. Количество ГМДП в термокислотном гидролизате было выше, чем в ферментативном на 0,028 г/100 мл (51,8 %).

### Список литературы

1. Активация клеточного иммунитета у мышей в норме и при опухолевом росте под действием глюкозаминилмурамилдипептида / А. А. Пименов [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т. 36. – № 1. – С. 58–60.
2. Бараюва, Л. А. Определение аминокислотного состава белков. Методы биохимического эксперимента / Л. А. Бараюва, Л. П. Еелянова. – МГУ, 1974. – С. 1–36.
3. Глушанова, Н. А. Биологические свойства лактобацилл / Н. А. Глушанова // Бюл. сиб. медицины. – 2003. – № 4. – С. 50–58.
4. Иммуномодулирующее действие препаратов-эубиотиков / А. Ю. Лопатина [и др.] // Вест. РАМН. – 1997. – № 3. – С. 30–34.
5. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков / В. М. Бондаренко [и др.] // Журн. Микробиологии. – 1998. – № 5. – С. 107–112.
6. Квасников, Е. И. Молочнокислые бактерии и пути их использования / Е. И. Квасников, О. Л. Нестеренко. – М. : Наука, 1975. – 389 с.
7. Колесникова Н.В. Вторичные иммунодефициты мелких домашних животных и их коррекция мурамилдипептидами / Н.В. Колесникова, А.Г. Кощаев, С.В. Гурьянова

// Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2017. – №07(131). С. 559 – 571.

8. Лактофлора и колонизационная резистентность / А. А. Ленцнер [и др.] // Антибиотики и мед. биотехнология. – 1987. – Т. 32. – № 3. – С. 173–179.

9. Микробные ингибиторы лизоцима / О. В. Бухарин, А. В. Вальцев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2006. – № 4. – С. 8–13.

10. Сенченко, С. П. Разработка методов анализа и оптимизация состава лекарственного препарата на основе гидролизата молочнокислых бактерий [текст]: дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 / Сенченко Сергей Петрович. – Пятигорск, 2006. – 165 с.

11. Телишевская, Л. Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение / Л. Я. Телишевская. – М. : Аграрная наука, 2000. – 295 с.

12. Шендеров, Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание: в 3 т. / Б. А. Шендеров. – М. : Грантъ, 2001. – Т. 3. – 288 с.

13. Шлегель, Г. Общая микробиология: пер. с нем. / Г. Шлегель. – М. : Мир, 1987. – 567 с.

14. Andersson, R. E. Characteristics of the bacterial flora isolated during spontaneous lactic acid, fermentation of carrots and red beets / R. E. Andersson // Lebensm. Wiss. + Technol. – 1984. – Vol. 17. – P. 282–286.

15. Hajime, S. Effects of Lactobacillus casei on Pseudomonas aeruginosa infection in normal and dexamethasone – treated mice / S. Hajime, W. Takashi, H. Yoshiya // Microbiol. and Immunol. – 1986. – Vol. 30. – № 3. – P. 249–259.

1. Aktivacija kletocnega imuniteta u myshej v norme i pri opuholevom roste pod dejstviem gljukoaminimuramildipeptida / A. A. Pi–menov [i dr.] // Voprosy med. himii. – 1990. – Т. 36. – № 1. – S. 58–60.

2. Andersson, R. E. Characteristics of the bacterial flora isolated during spontaneous lactic acid, fermentation of carrots and red beets / R. E. Andersson // Lebensm. Wiss. + Technol. – 1984. – Vol. 17. – P. 282–286.

3. Barajuva, L. A. Opredelenie aminokislотного состава belkov. Metody biohimического jeksperimenta / L. A. Barajuva, L. P. Eeljanova. – MGU, 1974. – S. 1–36.

4. Glushanova, N. A. Biologicheskie svojstva laktobacill / N. A. Glu–shanova // Bjul. sib. mediciny. – 2003. – № 4. – S. 50–58.

5. Hajime, S. Effects of Lactobacillus casei on Pseudomonas aeruginosa infection in normal and dexamethasone – treated mice / S. Hajime, W. Takashi, H. Yoshiya // Microbiol. and Immunol. – 1986. – Vol. 30. – № 3. – P. 249–259.

6. Immunomodulirujushhee dejstvie preparatov-jеubiotikov / A. Ju. Lo–patina [i dr.] // Vest. RAMN. – 1997. – № 3. – S. 30–34.

7. Immunostimulirujushhee dejstvii laktobakterij, ispol'zuemyh v kachestve osnovy preparatov probiotikov / V. M. Bondarenko [i dr.] // Zhurn. Mikrobiologii. – 1998. – № 5. – S. 107–112.

8. Kolesnikova N.V. Vtorichnye immunodeficiency melkih domashnih zhiivotnyh i ih korrekciya muramildipeptidami / N.V. Kolesnikova, A.G. Koshhaev, S.V. Gur'janova // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs]. – Краснодар: KubGAU, 2017. – №07(131). S. 559 – 571.

9. Kvasnikov, E. I. Molochnokislye bakterii i puti ih ispol'zovanija / E. I. Kvasnikov, O. L. Nesterenko. – М. : Nauka, 1975. – 389 s.

10. Laktoflora i kolonizacionnaja rezistentnost' / A. A. Lencner [i dr.] // Antibiotiki i med. biotehnologija. – 1987. – T. 32. – № 3. – S. 173–179.

11. Mikrobnye ingibitory lizocima / O. V. Buharin, A. V. Valyshhev // Zhurn. mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii. – 2006. – № 4. – S. 8–13.

12. Senchenko, S. P. Razrabotka metodov analiza i optimizacija sostava lekarstvennogo preparata na osnove gidrolizata molochnokislyh bakterij [tekst]: dis. ... kand. farmac. nauk: 15.00.02 / Senchenko Sergej Petrovich. – Pjatigorsk, 2006. – 165 s.

13. Shenderov, B. A. Medicinskaja mikrobnaja jekologija i funkcional'noe pitanie. Probiotiki i funkcional'noe pitanie: v 3 t. / B. A. Shenderov. – M. : Grant#, 2001. – T. 3. – 288 s.

14. Shlegel', G. Obshhaja mikrobiologija: per. s nem. / G. Shlegel'. – M. : Mir, 1987. – 567 s.

15. Telishevskaja, L. Ja. Belkovye gidrolizaty. Poluchenie, sostav, primenenie / L. Ja. Telishevskaja. – M. : Agrarnaja nauka, 2000. – 295 s.