

УДК 602.3:579.864:664.843:582.683.2

DOI <https://doi.org/10.15673/swonaft.v2i84.1879>

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З КЛІТИННИХ СТІНОК *LAC. PLANTARUM*

Безусов А.Т., д-р. техн. наук., проф., Доценко Н.В., канд. техн. наук, доцент,
Афанасьєва Т.М. канд. техн. наук, доцент, Палвашова Г.І., канд. техн. наук, доцент
Одеська національна академія харчових технологій

Copyright © 2021 by author and the journal «Scientific Works»

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Анотація. В умовах пандемії інфекційних захворювань, є особливо актуальними дослідження з розробки та впровадження препаратів, дія яких направлена на підвищення імунітету до широкого спектру збудників. Таким джерелом активних речовин для отримання імуномодуляторів можуть виступати мікроорганізми, зокрема бактерії.

Приведено аналіз з вивчення структури клітинних стінок різних біологічних об'єктів, який показав, що доцільно вивчати способи отримання клітинних стінок грампозитивних бактерій. Саме розщеплення муреїнового каркасу клітин з вивільненням активних речовин може бути основою для створення імуномодуючих лікарських препаратів.

В роботі розроблено технологію біотехнологічного отримання мурамідпептидів із клітинних стінок анаеробних молочнокислих бактерій *Lac. plantarum*. Культивування дослідних бактерій проводили у термостаті глибинним способом, і контролювали накопичення біомаси за оптичною густиною.

Досліджували кінетику автолізу біомаси *Lac. plantarum* та умови його проведення із використанням лізоциму. Клітинні стінки після відділення рідкої фази промивали розчином NaCl. Вологу масу клітинних стінок змішували з лізоцимом, доводили до pH=7 і проводили процес при температурі 37°C протягом декількох годин. Лізоцим розщеплює глікозидні зв'язки між N-ацетилмурамовою кислотою N-ацетилглюкозаміном. Глибину гідролізу муреїну клітинних стінок лізоцимом контролювали за накопиченням фрагментів з вмістом N-ацетилглюкозаміну.

Розроблено і наведено технологічну схему отримання мурамідпептидів із клітинних стінок молочнокислих бактерій, починаючи з виокремлення біомаси, умов автолізу, та ферментолізу муреїнового комплексу клітинних стінок.

Дослідження показали, що автоліз біомаси та ферментоліз муреїну клітинних стінок дозволяє отримати концентрат з високою біологічною активністю. Отримані препарати клітинних стінок можна використовувати в розробці лікарських препаратів для лікування шлунково-кишкових розладів, для підвищення антиоксидантної активності та посилення бар'єрної функції проти певних видів мікроорганізмів.

Ключові слова: клітинні стінки, молочнокислі грампозитивні бактерії, мурамідпептид, ферментативний гідроліз, автоліз, лізоцим, імуномодулятор

DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGY FOR OBTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM CELL WALLS *LAC. PLANTARUM*

Bezusov A.T., doctor of techn. sciences, Professor,
Dotsenko N.V., PhD, Associate Professor, Afanasieva T.M., PhD, Associate Professor,
Palvashova G.I., PhD, Associate Professor
Odessa National Academy of Food Technologies

Abstract. In the context of the pandemic of infectious diseases, experiments on the development and implementation of drugs whose action is aimed at enhancing immunity to a wide range of pathogens are

particularly relevant. Microorganisms, in particular bacteria, can be such a source of active substances for obtaining immunomodulators.

An analysis of studying the structure of cell walls of various biological objects is presented, which showed that it is reasonable to study the methods for obtaining cell walls of Gram-positive bacteria. The very cleavage of the murein framework of cells with the release of active substances can serve as the basis for the creation of immunomodulating drugs.

The work developed a technology for biotechnological production of muramylpeptides from cell walls of anaerobic lactic acid bacteria *Lac. planetarium*. Experimental bacteria were cultured in an in-depth thermostat and biomass accumulation was monitored by optical density.

The kinetics of *Lac. planetarium* biomass autolysis and its conditions were studied using lysozyme. After separation of the liquid phase, cell walls were washed with NaCl solution. The moist mass of cell walls was mixed with lysozyme, adjusted to pH=7, and the process was carried out at 37°C for several hours. Lysozyme cleaves the glycosidic bonds between N-acetylmuramic acid and N-acetylglucosamine. The depth of hydrolysis of cell wall murein by lysozyme was controlled by the accumulation of fragments containing N-acetylglucosamine.

The technological scheme for obtaining muramylpeptides from cell walls of lactic acid bacteria with the conditions of all stages of the process was developed and presented.

Studies have confirmed that autolysis of biomass and enzymatic hydrolysis of cell walls murein allows obtaining a concentrate with high biological activity. The obtained cell wall preparations can be used for drug development.

Keywords: cell walls, lactic acid gram-positive bacteria, muramylpeptide, enzymatic hydrolysis, autolysis, lysozyme, immunomodulator

Постановка проблеми у загальному вигляді

Сьогодні, в умовах пандемії інфекційних захворювань, є особливо актуальними дослідження з розробки та впровадженню препаратів, дія яких направлена на підвищення імунітету до широкого спектру збудників.

Таким джерелом активних речовин, як основи для отримання імуномодуляторів можуть виступати мікроорганізми, зокрема бактерії.

Аналіз останніх досліджень

Імуностимулюючий ефект - це одна з головних функцій природної мікрофлори кишківника, яка сприяє підвищенню всіх видів імунітету в організмі людини [1].

Лактобактерії сприяють стимуляції зниженого імунітету, при цьому не впливають на імунний статус організму в разі його нормального стану [2]. Вони посилюють систему перитонеальних макрофагів, активують структури, які сприяють підвищенню клітинного імунітету [3, 4]. Налаштовуючи злагоджену роботу системи шлунково-кишкового тракту і стимулюючи продукцію ряду різних цитокінів, молочнокислі бактерії забезпечують оптимальний баланс між гуморальним і клітинно-опосередкованим типами імунної відповіді [5, 6].

Молочнокислі бактерії *Lac. planetarium*, *Lac. acidophilus*, *Lac. casei* та ін. при певних умовах стимулюють певні реакції шляхом антигістоутворення в клітинах.

Існує цілий ряд фармакологічних препаратів на основі муреїнового комплексу клітинних стінок грампозитивних молочнокислих бактерій. Препарат «Ліастем» (ДП «Ензим», Україна) містить імуномодулятор глюкотоамінілмурамілпентапептид (N-ацетилглюкозамініл-N-ацетилмураміл-L-аланіл-D-глутаміл-L-лізил-D-аланіл-L-аспарагіл) [1, 2, 7].

Бактерії *Lac. planetarium* представляють собою одиночні без'ядерні клітини, що відрізняються великим різноманіттям форм та розмірів. Незважаючи на маленькі розміри, прокаріоти мають носії закодованої генетичної інформації, що міститься в нуклеїдах чи плазмидах.

В останні роки для лікування і профілактики респіраторних захворювань стали застосовувати імунокоректори бактеріального походження, що викликають формування селективної імунної відповіді проти конкретного збудника. Серед найбільш вивчених препаратів слід виділити «Біостим», «Ібуфрен», «Імунал», «Імунофан», «ІРС 19», «Мієлопід». Ці препарати викликають вироблення специфічних антитіл до тих мікробів, лізати яких входять до складу препарату. Лізис бактерій призводить до зникнення деяких антигенних фракцій (зокрема - рибосом), чим пояснюється їх слабка і нестійка активність [7, 8].

Лізати бактерій позитивно впливають на імунітет, і широко використовуються для профілактики і лікування різних патологічних станів.

Препарати на основі лізатів вигідно відрізняються від використання вакцин. При виготовленні вакцин застосовують ослаблені або вбиті віруси чи бактерії, які викликають специфічний імунітет і можуть, в разі ослабленого організму, спровокувати розвиток захворювання в легшій формі. Такі випадки

спровокували в суспільстві негативне відношення частини людей до масової вакцинації. До того ж у вакцин досить обмежені можливості. Так, щорічно з'являються нові вакцини проти пневмокока, гемофільної палички, але проти більшості респіраторних патогенів вакцин не існує. Крім того, для респіраторних патогенів характерна швидка мінливість, а специфічний імунітет проти них нетривалий [9].

Лізати бактерій цілеспрямовано діють на підвищення неспецифічного імунітету, а саме підсилюючи опір інфекції самого організму. Так, основним механізмом дії бактеріальних лізатів є ініціація імунної відповіді на бактеріальні антигени за рахунок стимуляції процесів фагоцитозу та презентації антигену макрофагами лімфоцитам, які знаходяться в слизових оболонках респіраторного та шлунково-кишкового тракту, посилення продукції протизапальних цитокинів, розвиток ад'ювантного ефекту. В результаті продукуються специфічні антитіла до антигенів збудників, що містяться в бактеріальних лізатах [10-13].

Сучасна імунологія активно використовує лізати лакто- і біфідобактерій, які представляють собою безклітинні екстракти, що утворюється після лізису бактеріальних клітин [14, 15]. Їх особливістю є здатність підвищувати протиінфекційний захист і знижувати сенсibilізацію організму.

При ферментативному гідролізі бактеріальних клітин отримують мурамилпептиди, продукти гідролізу муреїну. Вони є джерелом унікальних речовин завдяки особливостям їх структури.

Клітинні стінки бактерій виконують роль осмотичного бар'єра цитоплазматичних мембран, які регулюють проникнення в клітину речовин.

Бактеріальні клітинні стінки – це тонкі еластичні утворення, що забезпечують структурну цілісність клітин. Клітинна стінка бактерій відрізняється від інших тим, що її основним компонентом є пептидоглікан муреїн, шар якого розміщується на поверхні цитоплазматичної мембрани. Муреїн з'єднаний з пептидом, до складу якого входить 4-6 різних амінокислот [18].

Клітинна стінка грамнегативних бактерій багатшарова, товщина її складає 14-17 нм. Внутрішній шар клітинної оболонки представлений муреїном, який складає 1-10% від її сухої маси. Грамнегативні бактерії мають другу, так звану, зовнішню мембрану, що складається з фосфоліпідів, ліпополісахаридів, ліпопротеїдів і білків. Негативно заряджені ліпополісахариди надають клітині такий самий негативний електричний заряд. Хімічна структура ліпополісахаридів зовнішньої мембрани часто унікальна для окремих штамів бактерій і відповідає за реакцію антигенів з представниками цих штамів.

Грампозитивні бактерії мають більш товсту оболонку, яка від 50 до 80% складається з муреїнової основи.

Проведений аналіз структури клітинних стінок різних біологічних об'єктів показав, що доцільно вивчати способи отримання клітинних стінок грампозитивних бактерій, як потенційного джерела біологічно активних препаратів. Саме розщеплення муреїнового каркасу клітин з вивільненням тейхоєвих кислот може бути основою для створення імуномодуючих лікарських препаратів.

Основним компонентом клітинної стінки бактерій є пептидоглікан (глікопептид, мукопептид, муреїн). Пептидоглікан виявлено тільки у клітин прокаріотів.

Специфічний гетерополімер пептидоглікан складається:

- із залишків N-ацетилглюкозаміну та N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою β -1,4-глікозидними зв'язками. N-ацетилглюкозамін є похідною сполукою глюкози, в якій гідроксильна група при другому атомі вуглецю заміщена на аміногрупу. N-ацетилмурамова кислота — це ефір N-ацетилглюкозаміну та D-молочної кислоти (рис.1);

- із діамінокислот, з яких найчастіше зустрічаються мезодіамінопімелінова кислота, LL-діамінопімелінова кислота, лізин, орнітин. Наявність таких амінокислот з двома аміногрупами має принципове значення для просторової організації пептидоглікану. Вони забезпечують утворення двох пептидних зв'язків між пептидними угрупованнями в молекулі;

- з інших амінокислот (D- та L-аланін, D-глутамінова кислота, L-серин, гліцин) [19-20].

У грампозитивних бактерій частка муреїнової сітки становить 30-90 % сухої маси клітинної стінки (завтовшки 40 шарів). У клітинній стінці грампозитивних бактерій полісахариди, зв'язані між собою ковалентно, вміст ліпідів і білків невисокий. У білках клітинних стінок грампозитивних бактерій набір амінокислот менший (4-12), ніж у грамнегативних (містяться практично всі амінокислоти, з яких складаються білки).

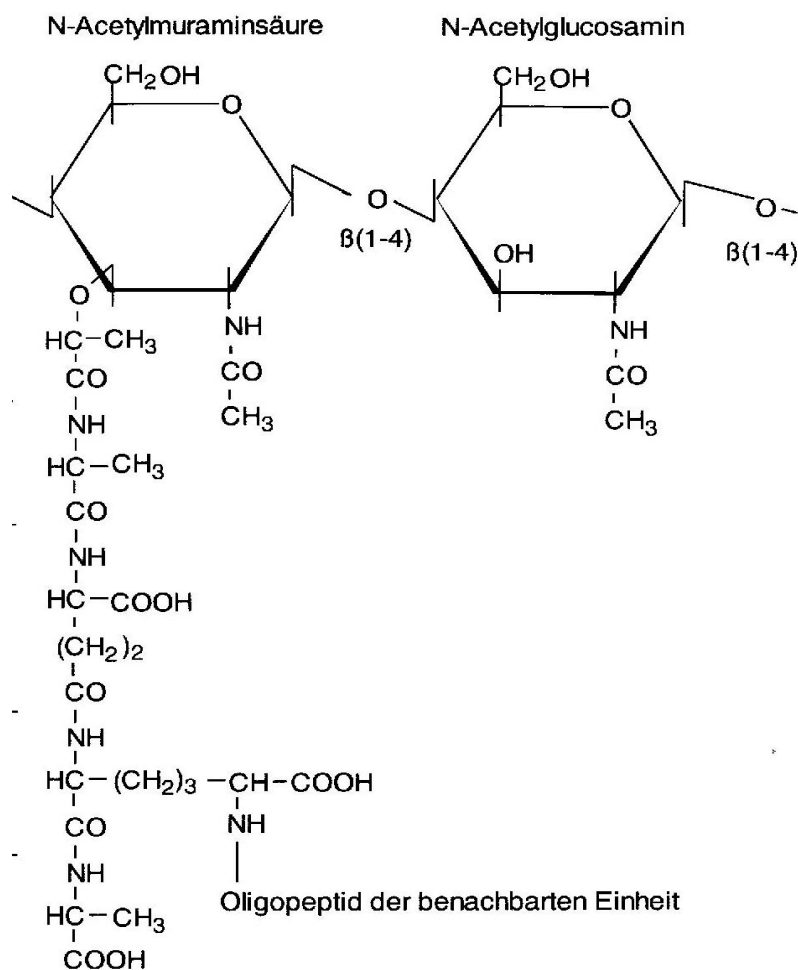


Рис. 1 – Структура гетерополімеру пептидоглікану

Формулювання цілей статті

Мета роботи – розробка технології отримання препаратів з клітинних стінок, що володіють біологічною активністю.

Виклад основного матеріалу дослідження

В дослідженні використовували грампозитивні анаеробні молочнокислі бактерії штаму *Lactobacillus plantarum* LP-01. Мікроорганізми вносили в поживне середовище із розрахунку 10^5 КУО/см³. Культивування дослідних бактерій проводили у термостаті ТС-80М-2 глибинним способом. Періодично вимірювали накопичення біомаси за оптичною густиною на фотоколориметрі КФК-3-01 при $\lambda=540$ нм.

Біомасу *Lac. plantarum* отримували на стадії початку стаціонарної фази і вона складала 33 г/дм³. Після центрифугування вологу ($W=78\%$) масу бактерій піддавали автолізу при температурі $55 \pm 2^\circ\text{C}$, pH – 5,3, стимулятором автолізу виступав етиловий спирт в кількості 5% до біомаси.

Глибину лізису контролювали за вмістом азотистих сполук [22] в автолізаті, який становив 53% білка і пептидів. Вміст білку визначали рефрактометричним методом.

Отримані дані наведені на рис.2.

Клітинні стінки після відділення рідкої фази промивали в 15%-ому розчині NaCl. Вологу масу клітинних стінок змішували з лізоцимом курячого білку, доводили до pH-7 0,1н NaCl і проводили процес при температурі 37°C протягом 5 год.

Лізоцим розщеплює глікозидні зв'язки між N-ацетилмурамовою кислотою і N-ацетилглюкозаміном. При дії лізоцима на суспензію клітинних стінок в концентрації 1,5 мкг лізоцима на 1 см³ ланцюги муреїну розщеплюються до дисахаридів. При цьому лізоцим є N-ацетилмурамідазою.

Глибину ферментолізу муреїну клітинних стінок лізоцимом контролювали за накопиченням фрагментів з вмістом N-ацетилглюкозаміну [23]. Результати досліджень наведені на рис.3.

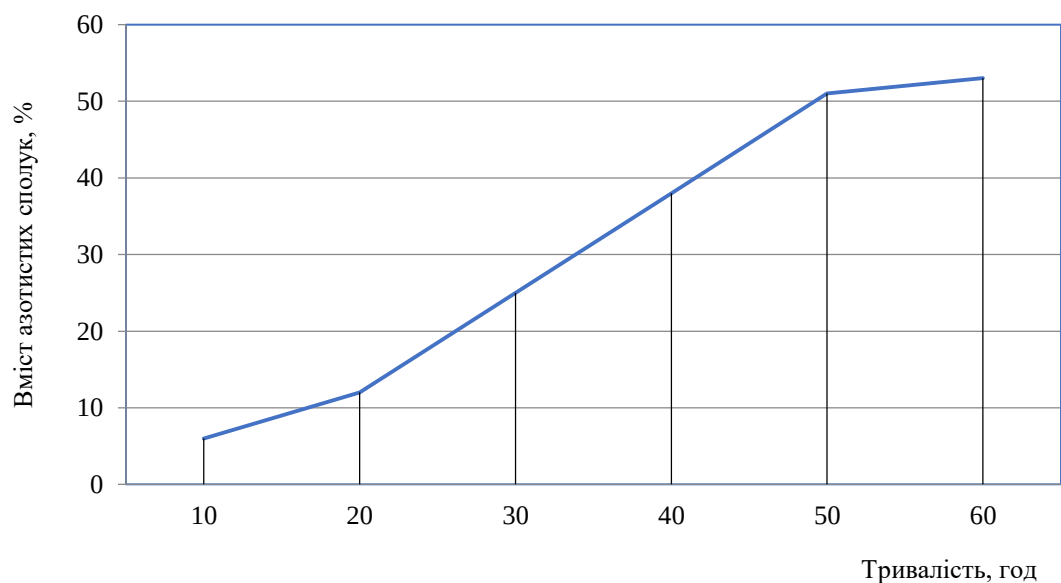


Рис. 2 – Кінетика автолізу біомаси *Lac.plantarum* (концентрат біомаси - 10%; pH=5,5; t=55°C)

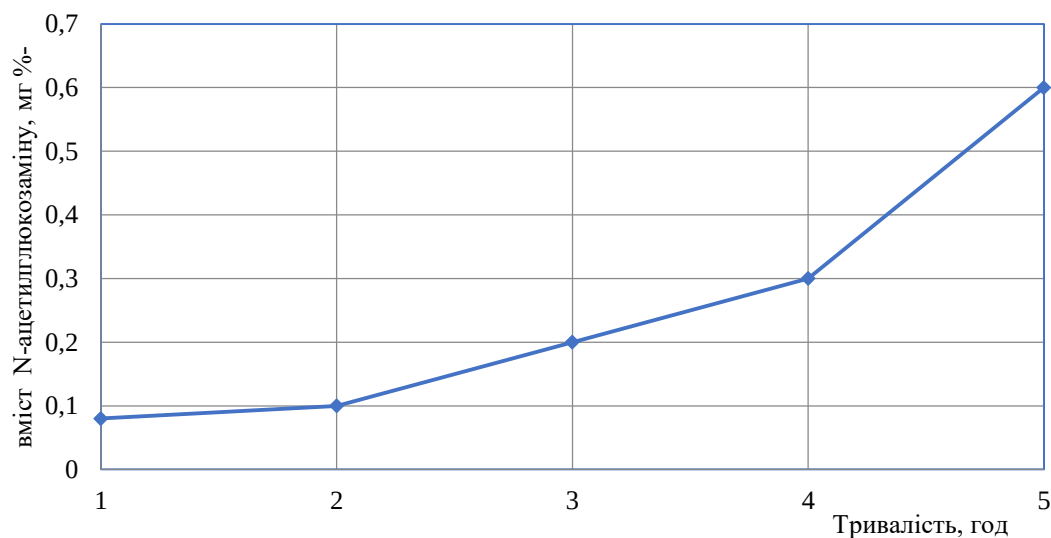


Рис. 3 – Кінетика гідролізу муреїну клітинних стінок *Lac.plantarum* (1% розчин суспензії муреїну; pH=7,5; t=37°C)

Розчинні продукти ферментативного гідролізу муреїну клітинних стінок виділяли фільтруванням. В фільтраті визначали вміст мурамідпептидів за кольоровою реакцією на N-ацетилглюкозамін і вміст олігопептидів за реакцією з CuSO_4 в лужному середовищі з нінгідрином [22].

Протеоліз мурамідпептидів ферментом папаїном виявив наявність вільних амінокислот за реакцією нінгідрином при ферментативному гідролізі мураміну з утворенням мурамідпептидів зі зв'язками амінокислот D і L- аланіна, лізину L-глутамінової кислоти.

Розчин мурамідпептидів висушували при температурі 50°C у вакуумі.

Розроблена технологічна схема отримання мурамідпептидів із клітинних стінок молочнокислих бактерій наведена на рис. 4.

Біомаса молочнокислих бактерій надходить з ферментатора, після стадії культивування мікроорганізмів-продуцентів проводиться відділення культуральної рідини та біомаси клітин. Культуральна рідина – це складна багатофазна система, що вміщує 5% та більше сухої речовини у вигляді окремих мікробних клітин, продуктів біосинтезу та залишків поживного середовища. Для виділення бактеріальних клітин із такої складної суміші використовували метод центрифугування. Центрифугування проводили протягом 20 хв при 5000 хв^{-1} , культуральна рідина теж містить активні речовини, тому може використовуватись для подальшої переробки.

Отриману біомасу перекачували до реактора для автолізу. До біомаси у реакторі додавали, на початку біосинтезу, фермент мурамідазної дії – лізоцим та витримували 48 год при температурі 55°C і рН середовища – 5,5. Контроль за протіканням автолізу проводили за спостереженням наявності клітин (за допомогою мікроскопу) та за вмістом білкових речовин в автолізаті.

Мікроорганізми мають дві системи деградації власних білків. Одна з них активується в умовах нестачі поживного середовища і не вимагає затрат на метаболітичні процеси, друга – постійно діюча система білкової деградації для гідролізу аномальних білків, які з'являються в процесі мутації або похибок в біосинтезі, та білків, що виконують регуляторну функцію, дія яких повинна бути обмежена. При амінокислотній недостатності, дефіциту азоту, вуглецю, фосфору, сірки збільшується швидкість протеолізу до 5% від загального вмісту клітинного білку на 1 год.

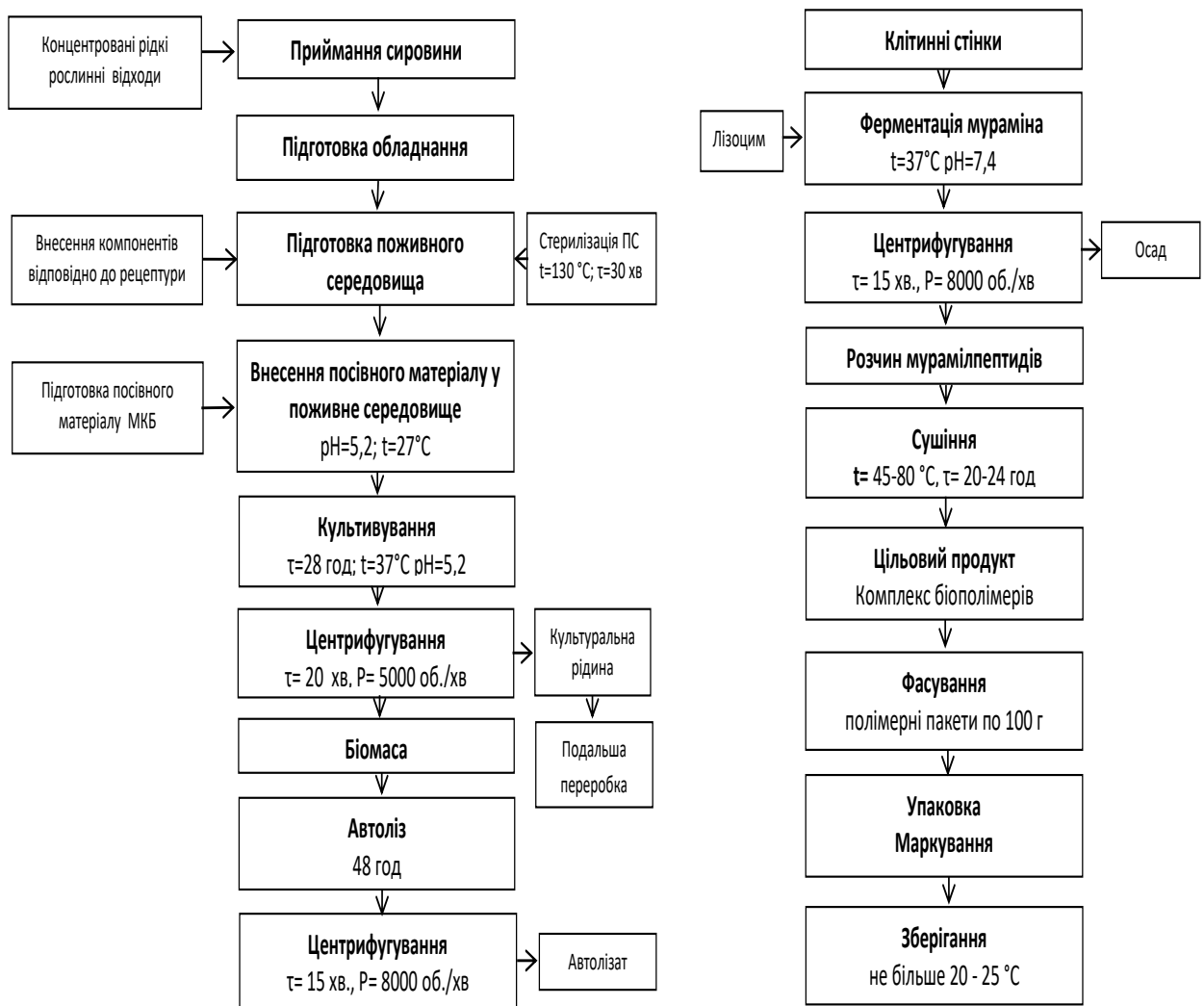


Рис. 4 – Технологічна схема отримання мурамілпептидів із клітинних стінок молочнокислих бактерій

Після проходження автолізу біомасу піддають центрифугуванню для отримання клітинних стінок та відділення рідкої фази. Центрифугування проходить протягом 15 хв при певних обертах центрифуги - 8000 хв^{-1}

Відділена рідка фаза (автолізат) виступає вторинним продуктом і також йде на фасування, як безклітинний препарат (у рідкому вигляді), який має лікувальні властивості. Рідка фаза містить у собі білкові речовини-ферменти, амінокислоти, ліпіди, пуринові і піримідинові нуклеотиди, вуглеводи, мінеральні речовини.

Автолізат молочнокислих бактерій, який має високий вміст нативних біологічно-активних речовин має перспективи у сучасній промисловості. Такий безклітинний автолізат можна використовувати при виробництві молочнокислих продуктів, для збагачення різних продуктів харчування, а також створення пробіотиків у формі лікарських препаратів і біологічно-активних добавок.

Такий автолізат можна фасувати у скляні флакони по 100 мл, який може зберігатися при температурі від $+2$ до $+8^\circ\text{C}$, і використовувати для потреб промисловості.

Автолітичні процеси біомаси не призводять до деструкції клітинних стінок і отримання низькомолекулярних мурамідпептидів, тому проводили ферментоліз пептидоглікану клітинних стінок.

Для дезінтеграції клітинних стінок процес гідролізу мурамідпептиду проводили у присутності ферменту лізоциму при температурі 37°C та pH середовища – 7,5. По закінченню ферментаційного процесу проводили центрифугування протягом 15 хв при 8000 хв^{-1} задля відділення осаду.

Вміст мурамідпептидів в гідролізаті за розрахунковими даними склав 49г із 100г вологої біомаси. Вміст мурамідпептидів в сушеному препараті склав $1,9 \text{ г/дм}^3$. Для отримання сухої форми продукту, як найбільш привабливої для реалізації планується застосовувати сушіння. Сублімаційне сушіння отриманого концентрованого комплексу мурамідпептидів у виробничих лабораторних умовах може проводитися протягом 22-24 год. При ліофілізації вода з об'єктів видалається без змін у структурі препарату, всі біохімічні реакції припиняються, і отриманий біотехнологічний продукт стає більш стійким до факторів зовнішнього впливу та зберігає свої властивості протягом тривалого зберігання.

Висновки:

1. Розроблена технологія виробництва мурамідпептидів із клітинних стінок *Lac. plantarum*, вторинної сировини молочної кислоти.
2. Встановлені технологічні параметри основних процесів: автолізу мікробних клітин і ферментолізу мурамідпептиду клітинних стінок лізоцимом, який володіє мурамідазною активністю.
3. Встановлено хімічний склад мурамідпептидів за наявності в їх складі N-ацетилглюкозаміну і амінокислот, характерних для протеоглікану клітинних стінок грампозитивних молочнокислих бактерій.

References

1. Bondarenko B.M. (1998). Immunostimulatory action of lactobacilli used as the basis of probiotic drugs. *Journal. Microbiology*. № 5, 107-112 (in Russian).
2. Lopatin J.A. (1997). Immunomodulatory effect of eubiotic drugs. *Vest. RAMS*. № 3, 30-34 (in Russian).
3. Lenzner A.A. (1987). Lactoflora and colonization resistance. *Antibiotics and medical biotechnology*. № 3, 173-179 (in Russian).
4. Hajime S. (1986). Effects of *Lactobacillus casei* on *Pseudomonas aeruginosa* infection in normal and dexamethasone – treated mice. S. Hajime, W. Takashi, H. Yoshiya. *Microbiol. and Immunol.* Vol. 30. № 3, 249–259.
5. Kolesnikova N.V., Koschayev A.G., Guryanova S.V. (2017). Secondary immunodeficiencies in small domestic animals and their correction with muramyl dipeptides. *Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University (Scientific Journal of KubGAU) [Electronic resource]*. - Krasnodar: KubGAU, 2017. no. 07(131), 559 - 571. (in Russian).
6. Yankovsky D.S. (2005). Human microbial ecology: modern possibilities of its maintenance and restoration. Kiev: Expert LTD, 326. (in Russian).
7. Kozlov V.N. (2003). Possible directions in solving the problem of classification of immunomodulatory drugs. *Allergology and Immunology*. № 2, 15-20. (in Russian).

8. Molokeev A.V., Zykova N.A., Molokeeva NV, Ilina R.M., Sokolova T.V. (2010). Possibilities of application in medicine enzymatic lysates of probiotic microorganisms. Biopreparations. Prevention, diagnosis, treatment. №3 (39). **(in Russian)**.
9. Kireev I.V. (2019). Lizatu bacteria in the prevention of acute respiratory infections. Kireev I.V., Zhabotinskaya N.V., Bakumenko M.G. et al: Materials of the Third International Practical Conference "Modern problems of pharmacotherapy and prescription drugs". Kharkov: NFaU. 100-104. (in Ukrainian).
10. Rozy A., Chorostowska-Wynimko J. (2008). Bacterial immunostimulants-mechanism of action and clinical application in respiratory diseases. Pneumonol.Alergol.Pol. Vol. 76, №5, 353-359.
11. Afinogenova V.P., Lukachev I.V., Kostinov M.P. (2010). Immunotherapy: mechanism of action and clinical application of immunocorrective drugs. Lechaychuu doctor [The doctor who heals] №4, 2010, 15-18. **(in Russian)**.
12. Drannik G.N. (2010). Clinical Immunology and Allergology Kiev, 552. **(in Russian)**.
13. Abaturon E.E., Tokareva N.M. (2015). Effectiveness of treatment of respiratory viral diseases in children using bacterial lysates. Clinical Pediatrics. №1(60), 21-24. (in Ukrainian).
14. Vistovskaya V.P., Gordachenko V.M., Becker O.A. (2014). Enzymatic hydrolysates of milk proteins. Proceedings of the Altai State University 3 (83). **(in Russian)**.
15. Yurina G.V., Osipova S.V., Permyakov A.V., Sobenin A.M., Popkova S.M., Leshchuk S.I. (2018). Protein and amino acid composition of Bifidobacterium bifidum cell wall I. Proceedings of the Irkutsk State University. Series: Biology. Ecology. №1. **(in Russian)**.
16. Koschaev A.G., Lysenko Yu.A., Luneva A.V., Radchenko V.V., Aniskina M.V., Volchanskaya A.A. (2017). Development of an optimal method for producing lactic acid bacteria hydrolyzate. Scientific journal KubSAU, №132. **(in Russian)**.
17. Oryabinska L.B., Karpenko V.V., Bogdan T.Z. (2018). Development of the method of hydrolysis of lactic acid bacteria of the genus Lactobacillus with an enzyme preparation of Streptomyces recifensis var.Lyticus 2435. Succesful advances in pharmaceutical technology and biotechnology: collection of scientific works, issue: 4th-November 5th. **(in Russian)**.
18. Naumova I.B., Shaikov A.S. (1997). Polymers of cell walls of gram-positive bacteria. Biochemistry. 62, No. 8, 947-982. **(in Russian)**.
19. Draing C., Sigel S., Deininger S., Traub S., Munke R., Mayer C., Hartunga T. (2018). Cytokine induction by grampositive bacteria. Immunobiology. 213, 285–296.
20. VC. Pozur, N.V. Senchilo, I.P. Pasichnyk. (2000) Teichoic acids and bacteria and biological powers. Biopolymers and cells. T. 16, No. 4, 260-269. **(in Russian)**.
21. Guzman-de-Peña D., Garcia H. Hernandez-Mendoza A. (2009). Key role of teichoic acids on aflatoxin B binding by probiotic bacteria. J Appl. Microbiol. N 2, 395-403.
22. Senchenko S.P., (2006). Development of methods of analysis and optimization of the composition of a medicinal product based on hydrolyzate of lactic acid bacteria [text]: Ph.D. in pharmacy. Sciences: 15.00.02. Pyatigorsk, 165. **(in Russian)**.
23. Bukharin O.V., Valishchev A.V. (2006). Microbial inhibitors of lysozyme. Journal Microbiology, epidemiology and immunology. No. 4, 8–13. **(in Russian)**.

Cite as

Безусов А.Т., Доценко Н.В., Афанасьєва Т.М. Палвашова Г.І. Розробка біотехнології отримання біологічно активних речовин з клітинних стінок LAC. PLANTARUM // Наукові праці / Одеська національна академія харчових технологій. Одеса, 2021. Випуск 85, Том 2. С. 120– 127.

Отримано в редакцію 11.09.2021
Прийнято до друку 20.09.2021

Received 11.09.2021
Approved 20.09.2021