

УДК 579.864

О.М. Василюк, Н.К. Коваленко, І.Л. Гармашева, Л.Т. Олещенко

*Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна*

ВИДІЛЕННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ БАКТЕРІЙ РОДУ *LACTOBACILLUS* З ФЕРМЕНТОВАНИХ ПРОДУКТІВ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

*З ферментованих продуктів тваринного та рослинного походження виділено 71 штамп бактерій роду *Lactobacillus*. Досліджено морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості лактобацил. Ідентифіковано з використанням молекулярно-генетичних методів 67 штамів та віднесено до виду *Lactobacillus plantarum*. Виявлено фенотипову та генетичну гетерогенність ізольованих штамів.*

К л ю ч о в і с л о в а : молочнокислі бактерії, лактобацили, ферментовані продукти, ідентифікація.

Ферментування є найпоширенішим у світі способом зберігання продуктів рослинного та тваринного походження. Молочнокислі бактерії (МКБ) є однією з домінуючих груп мікроорганізмів ферментованих продуктів харчування, роль яких при сквашуванні полягає в покращенні властивостей та наданні смакових якостей, а також забезпеченні функціональних властивостей продуктів [5]. Традиційні ферментовані продукти виготовляють, використовуючи природну мікробіоту. Оскільки спонтанна ферментація є нестабільною, якість таких продуктів значною мірою залежить від наявної мікрофлори [14]. Харчова промисловість потребує постійного надходження нових виробничих штамів, основним джерелом яких є самоквасні ферментовані продукти. В останні роки спостерігається тенденція до створення регіональних заквасок із метою збереження певних традиційних технологій виготовлення ферментованих продуктів. Різноманіття таких продуктів досить широке і вони мають свої особливості, що визначаються еколого-географічними умовами кліматичної зони регіону. Використання ізольованих штамів МКБ з таких продуктів у складі промислових заквасок збереже класичну природу традиційних продуктів. Виділення та характеристика молочнокислих бактерій ферментованих продуктів рослинного та тваринного походження є важливим для розуміння біохімічних властивостей мікроорганізмів, які забезпечують розвиток смаку та аромату, а також розкривають механізми їх оздоровчої дії на організм людини [6].

Відомо, що домінуючою мікрофлорою кисломолочних продуктів є бактерії роду *Lactococcus* [4], ферментованих овочів – *Leuconostoc* та *Lactobacillus* [15]. Рід *Lactobacillus* є вторинною мікрофлорою ферментованих продуктів та його властивості вивченні не досить добре, у порівнянні з лактококами та лейконостоками [3]. Проте саме лактобацили володіють високою біологічною та функціональною активністю, що, у свою чергу, визначає їх практичне використання у виробництві харчових продуктів та пробіотиків [1, 2]. Особливості лактобацил національних ферментованих продуктів домашнього приготування в Україні практично не досліджені. Тому вивчення їх різноманіття є актуальним, має фундаментальне та практичне значення.

Метою роботи було виділення та ідентифікація домінуючих видів лактобацил у ферментованих продуктах, що широко використовуються на території України.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були 22 зразки традиційних ферментованих продуктів рослинного та тваринного походження з різних регіонів України, відібраних в осінньо-зимовий період (табл. 1).

Традиційні ферментовані продукти з різних регіонів України

Продукт	Область України	Кількість зразків
Кисле молоко	Київська, Хмельницька, Вінницька	7
Сметана	Хмельницька, Київська	4
Сир	Київська	1
Квашені огірки	Київська	3
Квашена капуста	Хмельницька, Київська	5
Квашені помідори	Київська	1
Квашені яблука	Київська	1

Для виділення лактобацил з наважки продукту готували серійні розведення від 10^{-1} до 10^{-6} та висівали на базове агаризоване середовище MRS (pH 6,8) [8], та модифіковані агаризовані середовища MRS (pH 5,7) та MRS з 5 % сахарози, які є селективним середовищем для бактерій роду *Leuconostoc* та молочнокислих бактерій, які синтезують екзополісахариди [7]. Культивування проводили за температури 30°C, 37°C, 42°C протягом 48-72 годин, як у аеробних, так і у анаеробних умовах. Проводили мікроскопіювання забарвлених за Грамом мазків бактеріальних клітин, визначали каталазну та цитохромоксидазну активності.

Кількість колоній молочнокислих бактерій (КВО) підраховували візуально на поверхні середовища MRS в чашках Петрі.

Виділені чисті культури лактобацил зберігали у 30 %-му гліцерині при -50°C . Перед дослідом культуру активізували шляхом трьох пересівів.

Здатність штамів утворювати нітрити з нітратів, аміаку з аргініну, продукування газу із глюкози, здатність до росту при різних температурах (10 °C, 37 °C, 45 °C), за наявності NaCl (4 %, 6,5 %, 8 %) вивчали за методиками, описаними в монографії [1].

Спектри зброджування вуглеводів визначали з використанням тест системи API 50 CHL (фірма «bioMerieux», Франція). Отримані результати були оброблені за допомогою програмного забезпечення API Lab Plus.

Молекулярно-генетичну ідентифікацію проводили з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для постановки ПЛР реакції використовували набір реактивів «Амплиценс PCR» (Росія) та ампліфікатор «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Послідовності використаних праймерів наведено у табл. 2. ДНК для ПЛР аналізу виділяли за відомою методикою [13].

Таблиця 2

Послідовності праймерів, використаних у роботі

Праймер	Послідовність праймера, 5'→3'	Розмір продукту ампліфікації, п.н.	Джерело літератури
Lact 1 Lact 2	CTCAAAACTAAACAAAGTTTC CTTGACACACCGCCCGTCA	200	[10]
M13	GAGGGTGGCGGTTCT	Варіабельні	[16]
plantR plantF	TCG GGA TTA CCA AAC ATC AC CCG TTT ATG CGG AAC ACC TA	300	[17]

Належність штамів до роду *Lactobacillus* визначали, використовуючи родоспецифічні праймери Lact 1 та Lact 2 [10]. Реакційна суміш містила: 2 mM кожного dNTPs; 5x ПЦР-буфер; 15 pmol праймерів Lact 1 та Lact 2; 2,5 U Taq-полімерази, 2,2 mM MgCl₂; 5 мкл ДНК. Ампліфікацію здійснювали за наступних умов: початкова денатурація при 94 °C протягом 2 хв; 94 °C – 20 с, 51 °C – 40 с, 68 °C – 30 с – 35 циклів та фінальна елонгація при 68 °C – 7 хв.

Для видової ідентифікації були використані видоспецифічні праймери Plant F та Plant R [17]. Реакційна суміш містила по 2 mM кожного dNTPs; 5x ПЦР-буфер; 23,5 pmol праймеру plant F та 26 pmol праймеру plant R; 2,5 U Taq-полімерази; 2,2 mM MgCl₂; 5 мкл ДНК. Ампліфікації праймерів проводили при наступних температурних режимах: початкова денатурація 94°C – 3 хв; 30 циклів – 94°C – 30 с; 56°C – 10 с; 72°C – 30 с; та фінальна елонгація 5 хв при 72°C.

RAPD-ПЛР проводили з використанням праймеру М13 [16]. Склад одного зразку реакційної суміші об'ємом 25 мкл для ПЛР-реакції містив: 2 мМ кожного dNTPs; 5х ПЦР-буфер; 62 pmol праймеру М13; 2,5 U Taq-полімерази; 2,2 мМ MgCl₂; 5 мкл ДНК. Умови ампліфікації були наступними: початкова денатурація 2 хв при 94 °С; 94 °С, 1 хв; 41 °С, 30с; 72 °С, 2 хв – 40 циклів, та завершальна елонгація – 10 хв при 72 °С. [16]. Відтворюваність RAPD-профілів для кожного штаму оцінювали шляхом порівняння ампліконів, отриманих при трьох ампліфікаціях. ПЛР-профілі виділених штамів лактобацил також порівнювали з профілями типових штамів: *Lactobacillus plantarum* CCM4542^T, *Lactobacillus bulgaricus* CCM7190^T, *Lactobacillus acidophilus* CCM4833^T, *Lactobacillus rhamnosus* CCM1825^T, *Lactobacillus fermentum* CCM7192^T, *Lactobacillus jonsonei* CCM4384^T, *Lactobacillus pentosus* CCM4619^T, *Lactobacillus gasseri* CCM7009^T, *Lactobacillus paraplantarum* CCM4613^T, *Lactobacillus paracasei* CCM1753^T, *Lactobacillus delbrueckii* CCM7191^T.

Продукти ампліфікації розділяли у 1,5 % агарозному гелі, який містив 0,001 % бромистого етидію. Візуалізацію ампліконів здійснювали при УФ випромінюванні. Використовували маркер GeneRule DNA Ladder Mix з діапазоном 100-10000 пар нуклеотидів (MBI Fermentas, Литва). Отримані електрофореграми обробляли за допомогою програми Gel Imager («ДНК-технологія», Росія).

Статистичну обробку даних здійснювали за загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням пакетів комп'ютерної програми «Excel» та «Statistika 7.0» (Stat Soft, Inc. США).

Результати та їх обговорення. Загальну кількість молочнокислих бактерій визначали на селективних середовищах. Їх число коливалося у межах 1×10^5 - $8,5 \times 10^8$ КУО/мл. У кисло-молочних продуктах середня кількість МКБ була вищою, порівняно з ферментованими овочевими продуктами, при 37 °С ($p \leq 0,05$) (рис. 1).

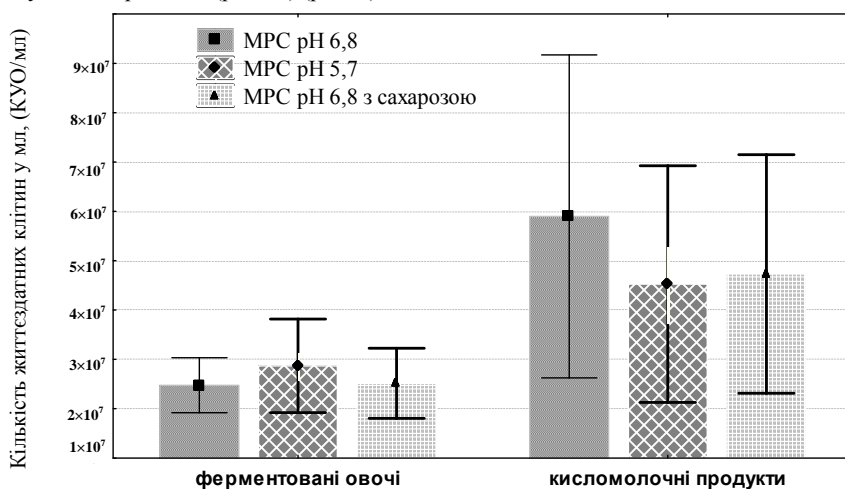


Рис. 1. Кількісні показники росту молочнокислих бактерій на модифікованих середовищах MPS при 37°С

У кисло-молочних продуктах домінували мезофільні МКБ (табл. 3).

Таблиця 3

Кількість молочнокислих бактерій, ізольованих з кисло-молочних продуктів, при різних умовах культивування

Продукт	Кількість молочнокислих бактерій, (КУО/мл)					
	МPS (рН 6,8)		МPS (рН 5,7)		МPS (рН 6,8+сахароза)	
	37°С	42°С	37°С	42°С	37°С	42°С
Кисле молоко	7,5±2,9×10 ⁷	2,1±1,1×10 ⁷	5,4±1,6×10 ⁷	2,8±1,7×10 ⁷	6,8±1,9×10 ⁷	2,1±0,8×10 ⁷
Сметана	8,2±3,7×10 ⁷	2,1±1,1×10 ⁷	4,4±3,2×10 ⁷	2,1±1,3×10 ⁷	2,9±1,8×10 ⁷	2,1±1,1×10 ⁷

Середня кількість клітин МКБ у ферментованих овочах не залежала від рН середовища MRS (табл. 4)

Кількість молочнокислих бактерій, ізольованих з ферментованих овочів та фруктів, при різних умовах культивування

Продукт	Кількість молочнокислих бактерій, (КУО/мл)					
	MPS (pH 6,8)		MPS (pH 5,7)		MPS (pH 6,8+сахароза)	
	30°C	37°C	30°C	37°C	30°C	37°C
Квашена капуста	2,7±1,1×10 ⁷	1,6±0,6×10 ⁷	2,9±1,1×10 ⁷	2,7±1,1×10 ⁷	2,4±0,9×10 ⁷	2,2±0,7×10 ⁷
Квашені огірки	3,4±1,0×10 ⁶	3,2±0,9×10 ⁶	2,7±2,4×10 ⁷	8,4±4,1×10 ⁶	2,1±0,6×10 ⁶	1,9±0,4×10 ⁶
Квашені яблука	6,1±4,1×10 ⁷	6,1±1,74×10 ⁶	4,4±1,9×10 ⁶	1,3±0,7×10 ⁷	3,4±2,3×10 ⁷	3,6±2,1×10 ⁶

Кількість МКБ, що росли у анаеробних умовах не відрізнялася від кількості МКБ у аеробних умовах.

На середовищі MRS культури утворювали колонії декількох типів: круглі білі шершаві колонії, діаметром 1 мм; коричнюваті блискучі колонії, діаметром 0,1-0,5 мм; блискучі білі гладкі колонії, діаметром 1 мм; 2-2,5 мм дископодібні білі блискучі гладкі колонії. При мікроскопіюванні, у мазках виявили як кокові, так і паличкоподібні форми. Палички мали розмір 0,5-1,2x1,0-10 мкм, розміщуючись поодинокі, парно чи групами.

Всього було ізольовано 71 штам грам-позитивних нерухливих паличок, що не виявляли каталазної та цитохромоксидазної активностей, не утворювали спор, не відновлювали нітрати з нітритів. За фізіолого-біохімічними та морфолого-культуральними ознаками дані штами були попередньо віднесено до бактерій роду *Lactobacillus*. Ці результати підтверджено за допомогою ПЛР методу з використанням родоспецифічних праймерів Lact 1 та Lact 2 [10] (рис. 2).

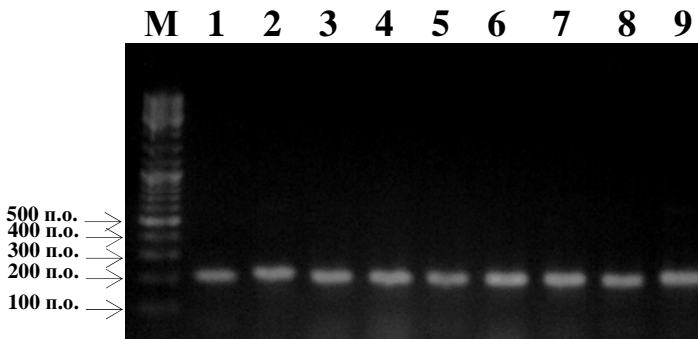


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих з родоспецифічними праймерами до роду *Lactobacillus* та ДНК штамів досліджуваних лактобацил

**М – маркер молекулярної ваги GeneRule Mix, 1 – *L. plantarum* CCM4542^T,
2-9 – ДНК ізольованих штамів лактобацил**

Оскільки, ізольовані лактобацили не утворювали газу із глюкози, їх попередньо віднесли до гомоферментативних МКБ. 67 % досліджуваних штамів не продукували аміак із аргініну. Всі штами росли при 37 °C, при 10 °C – 84 % та при 45 °C – 13 %. Лише 24 % молочнокислих бактерій росли при 8 % NaCl, при 6 % та 4 % NaCl – 72 % та 73 % досліджуваних штамів, відповідно.

За комплексом цих ознак, 71 штам лактобацил було згруповано у 14 фенотипових профілів (табл. 5). З яких видно, що більшість штамів, ізольованих з ферментованих овочів, росли при 10 °C, а з кисломолочних продуктів – при 45 °C. 78 % лактобацил, виділених з ферментованих овочів, росли при концентрації NaCl ≥ 4 %, а з кисломолочних продуктів – 45 %.

**Фізіолого-біохімічні ознаки лактобацил,
виділених з ферментованих продуктів України**

Профіль	Штам	Продукція NH ₃ з аргініну	Ріст при температурі		Ріст в присутності NaCl		
			10° С	45°С	4%	6%	8%
1	K228, K952, K1010	-	+	+	+	+	+
2	K 1056	-	+	+	+	+	-
3	K 848	+	+	+	+	+	-
4	СМ 193, К 1160, СМ 32	-	-	-	+	+	+
5	СМ124, К1092	-	-	-	+	+	-
6	СМ 8	-	-	+	+	+	-
7	K850, O1026, K183a, K1111	+	+	-	+	+	-
8	СМ188, K199, K922, K1112, K934, K1001, K1013, O923, K1189, K1073, СМ47	-	+	-	+	+	+
9	Я2, СМ318, П232, К845, К936, К977, К982, К987, К991, К998, К1006, К1011, К1017, К1043, К1045, К1047, К1081, К1094, К1099, К1100, К1115, К1116, К1128, К950	-	+	-	+	+	-
10	K246	+	+	-	-	-	-
11	СМ184, М94, К241	-	-	-	-	-	-
12	K962, СМ650, СМ66, СМ171, СМ186, К743, К830, К891, К969, К1015, К1121, К1123, К1120, O1077, СМ151	-	+	-	-	-	-
13	K1044	-	+	+	-	-	-
14	СМ517	+	-	-	+	-	-

Примітка: «+» - ознака позитивна, «-» - ознака негативна; джерело виділення штаму: К – квашена капуста, П – квашені помідори, О – квашені огірки, Я – квашені яблука, М – кисле молоко, СМ – сметана

З різних фенотипових профілів для визначення спектру зброджування вуглеводів було відібрано сім штамів. Усі лактобацили зброджували 21 вуглевод, а саме: D-рибозу, галактозу, D-глюкозу, D-фруктозу, D-манозу, D-маніт, D-сорбіт, N-ацетилглюкопіранозид, амігдалін, арбутин, ескулін, саліцин, D-целобіозу, D-мальтозу, D-лактозу, D-мелібіозу, цукрозу, D-трегалозу, D-мелецитозу, гентабіозу та глюконат. Жоден із штамів не використовував такі цукри як: гліцерин, еритрит, D-арабінозу, D-ксилозу, L-ксилозу, D-адоніт, метил-β - D-ксилопіранозид, L-сорбозу, L-рамнозу, інулін, крохмаль, глікоген, ксиліт, D-люксозу, D-фруктозу, L-фукозу, 2-кетоглюконат, 5-кетоглюконат. Штами відрізнялися по спектру зброджуваних різних цукрів, дані щодо яких подано у табл. 6.

Таблиця 6

Відмінності у спектрі зброджування вуглеводів штамми молочнокислих бактерій

Вуглеводневий субстрат	Штами молочнокислих бактерій						
	1160К	32СМ	1120К	241К	246К	184СМ	1081К
L-арабіноза	+	+	-	+	+	-	-
Дульцит	+	-	-	-	-	-	-
Інозит	+	-	-	-	-	-	-
метил-α-D-манопіранозид	-	+	+	+	+	+	+
метил-α-D-глюкопіранозид	-	+	-	-	-	-	-
D-рафіноза	+	+	-	+	+	+	+
D-тагатоza	+	-	-	-	-	-	-
D-арабітол	+	+	-	-	-	-	-
L-арабітол	-	+	-	-	-	-	-
D-тураноза	+	+	+	+	+	-	-

Примітка: «+» - ознака позитивна, «-» - ознака негативна, К – капуста, СМ - сметана

Результати ідентифікації МКБ при використанні API 50 CHL наведено у табл. 7. Досліджувані штами за API Lab Plus було віднесено до виду *Lactobacillus plantarum*, з ІД 99,8-99,9 % подібності до видів наявних у базі даних та з Т (ступінь подібності тест-штаму до типового штаму виду) – 0,26-1.

Таблиця 7

Ідентифікація молочнокислих бактерій з використанням програми API Lab Plus

Штам	Основний таксон ІД, Т	Додатковий таксон ІД, Т
1160К	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,8%; Т - 0,26	<i>L. rhamnosus</i> ІД - 0,1%; Т - 0,01
32СМ	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 0,65	<i>L. brevis</i> ІД - 0,1%; Т - 0,2
1120К	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 0,91	<i>L. pentosus</i> ІД - 0,1%; Т - 0,26
241К	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 1	<i>L. brevis</i> ІД - 0,1%; Т - 0,51
246К	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 1	<i>L. pentosus</i> ІД - 0,1%; Т - 0,51
184СМ	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 0,93	<i>L. brevis</i> ІД - 0,1%; Т - 0,44
1081К	<i>L. plantarum</i> ІД - 99,9%; Т - 0,93	<i>L. brevis</i> ІД - 0,1%; Т - 0,44

Примітка: ІД – ступінь подібності (%) досліджуваного штаму до видів наявних у базі даних API Lab Plus, Т – ступінь подібності тест-штаму до типового штаму виду, К – капуста, СМ – сметана

За даними літератури відомо, що використання фенотипових ознак не дає змоги чітко провести видову ідентифікацію лактобацил [14]. Тому ідентифікацію штамів *L. plantarum* було досліджено з використанням видоспецифічних праймерів plant R та plant F. Позитивний результат (300 п. н.) було отримано для 67 штамів, що підтвердило їх належність до виду *L. plantarum* (рис. 3).

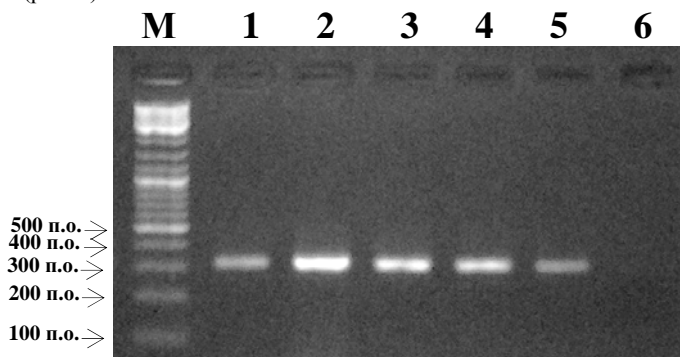


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих з видоспецифічними праймерами до виду *L. plantarum* та ДНК штамів досліджуваних лактобацил
М – маркер молекулярної ваги GeneRule Mix, **1** – *L. plantarum* CCM4542^T,
2 – *Lactobacillus* sp. 94, **3** – *Lactobacillus* sp. 232, **4** – *Lactobacillus* sp. 1116,
5 – *Lactobacillus* sp. 1056, **6** – *Lactobacillus* sp. 246

На рис. 4 наведено електрофореграми продуктів ампліфікації ДНК деяких досліджуваних штамів з праймером M13. Результати RAPD-типуювання виявили внутрішньовидову гетерогенність досліджуваних штамів лактобацил.

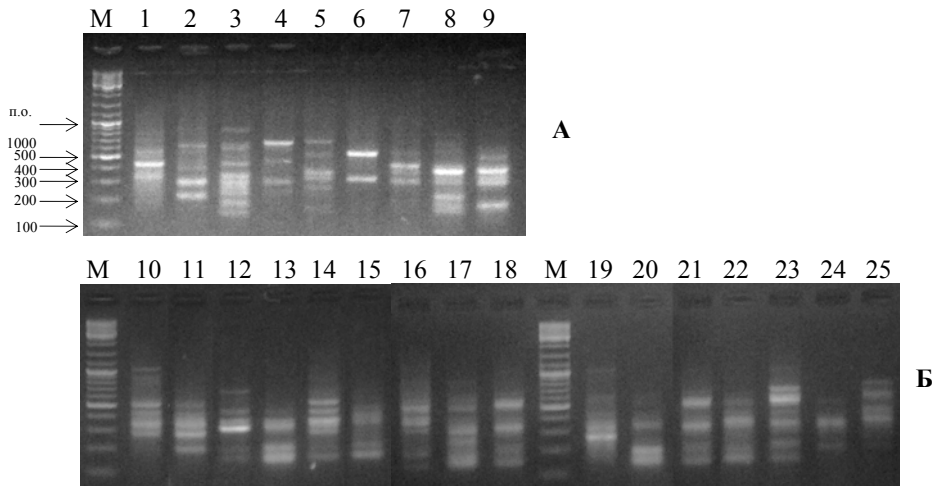


Рис. 4. RAPD-ПЛР профілі деяких досліджених штамів лактобацилл

А – типові штами: 1 – *L. acidophilus* CCM4833^T, 2 – *L. paraplantarum* CCM4613^T, 3 – *L. fermentum* CCM7192^T, 4 – *L. rhamnosus* CCM1825^T, 5 – *L. delbrueckii* CCM7191^T, 6 – *L. crispatus* CCM7010^T, 7 – *L. paracasei* CCM1753^T, 8 – *L. pentosus* CCM4619^T, 9 – *L. plantarum* CCM4542^T

Б – штами, що були ізольовані з ферментованих продуктів: 10 – *L. plantarum* 186, 11 – *L. plantarum* 998, 12 – *L. plantarum* 969, 13 – *L. plantarum* 151, 14 – *L. plantarum* 1026, 15 – *Lactobacillus* sp. 241, 16 – *L. plantarum* 850, 17 – *L. plantarum* 1010, 18 – *L. plantarum* 962, 19 – *L. plantarum* 934, 20 – *L. plantarum* 193, 21 – *L. plantarum* 1015, 22 – *L. plantarum* 184, 23 – *L. plantarum* 891, 24 – *L. plantarum* 998, 25 – *L. plantarum* 326

Серед виділених у ході роботи бактерій роду *Lactobacillus* домінуючим видом є *L. plantarum*. Даний вид належить до філогенетичної групи *Lactobacillus casei*–*Pediococcus*, роду *Lactobacillus* [12], філогенетичної підгрупи *L. plantarum* [11] та є високо гетерогенним видом [9]. За даними літератури відомо, що *L. plantarum* належить до первинної мікрофлори у квашених овочах та фруктах [15], тоді як у молочних продуктах – до вторинної [3]. Це підтверджують результати нашої роботи, оскільки більшість досліджуваних штамів було виділено саме з ферментованих овочів. Отже штами *L. plantarum*, ізольовані з ферментованих овочів та кисломолочних продуктів, мали різні ростові властивості.

О.Н Василюк, Н.К. Коваленко, И.Л. Гармашева, Л.Т. Олещенко

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *LACTOBACILLUS* ИЗ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ РАЗНЫХ РЕГИОНОВ УКРАИНЫ

Резюме

Из ферментированных продуктов животного и растительного происхождения выделено 71 штамм лактобацилл. Исследованы морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства лактобацилл. Идентифицированы с использованием молекулярно-генетических методов 67 штаммов и отнесены к виду *Lactobacillus plantarum*. Выявлено фенотипическая и генетическая гетерогенность изолированных штаммов.

К л ю ч е в ы е с л о в а: молочнокислые бактерии, лактобациллы, ферментированные продукты, идентификация.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF *LACTOBACILLUS* GENUS FROM FERMENTED PRODUCTS IN DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

S u m m a r y

Seventy one strains of lactobacilli were isolated from fermented animal and vegetable products. Morphological, physiological and biochemical properties of lactobacilli have been studied. Sixty seven strains were identified by molecular genetic methods and classified as *Lactobacillus plantarum*. Phenotypic and genetic heterogeneity of the isolated strains was shown.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: lactic acid bacteria, lactobacilli, fermented products, identification.

The authors' address: Vasylyuk O.M., Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. – Москва: Наука, 1975. – 392 с.
2. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание. Т. 3: Пробиотики и функциональное питание. – Москва: Грантъ, 2001. – 288 с.
3. Asmahan A. Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw cow milk in Khartoum State, Sudan // Int. J. Dairy Sci. – 2011. – 6. – P. 66–71.
4. Belen-Florez A., Mayo B. Microbial diversity and succession during the manufacture and ripening of traditional, Spanish blue-veined Cabrales cheese, as determined by PCR-DGGE. // Int. J. Food Microbiol. – 2006. – 110. – P. 165–171.
5. Buckenhüskes H.J. Fermented vegetables / Eds P.D. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville. – Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 1997. – P. 595–609.
6. Cagno D.R., Surico R.F., Siragusa S. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, french beans or marrows. // Int. J. Food Microbiol. – 2008. – 127. – P. 220–228.
7. Dave R.I., Shah N.P. Evaluation of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, and Bifidobacteria // J. Dairy Sci. – 1996. – 79. – P. 1524–1536
8. De Man J.D. Medium for the cultivation of lactobacilli / J.D. De Man, M. Rogosa, M.E. Sharpe // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – 23. – P. 130–135.
9. Dellaglio F., Bottazzi V., Vescovo M. Deoxyribonucleic acid homology among *Lactobacillus* species of the subgenus *Streptobacterium* Orla-Jensen. // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1975. – 25. – P. 160–172.
10. Dubernet S., Desmasures N., Gueguen M. PCR-based method for identification at the genus level // FEMS Microbiol. Lett. – 2002. – 214. – P. 271–275.
11. Hammes W. P., Hertel C. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. The Prokaryotes: an Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community, 3rd edn, release 3.15, 15 December 2003 / Ed by M. Dworkin et al. – New York: Springer-Verlag, 2003.
12. Hammes W.P., Vogel R.F. The genus *Lactobacillus*. The Genera of Lactic Acid Bacteria / Ed by B. J. B. Wood & W. H. Holzappel. – Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1995. – P. 19–54.
13. Jackson C.R. Fedorka-Cray P.J., Barrett J.B. Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci // J. Clin. Microbiol. – 2004. – N 8. – P. 3558–3565.
14. Lett Tamminen M., Joutsjoki T., Sjöblom M., Joutsen M., Palva A., Ryhänen E.L., Joutsjoki V. Screening of lactic acid bacteria from fermented vegetables by carbohydrate profiling and PCR-ELISA // Appl Microbiol. – 2004. – N 39(5). – P.439–44.
15. Lyhs U., Koort J.M.K., Lundström H.-S., Björkroth K.J. *Leuconostoc gelidium* and *Leuconostoc gasicomitatum* strains dominated the lactic acid bacterium population associated with strong slime formation in an acetic-acid herring preserve // Int. J. Food Microbiol. – 2004. – 90. – P. 207–218.
16. Rossetti L., Giraffa G. Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases // J. Microbiol. Methods – 2005. – 63. – P. 135–144.
17. Torriani S., Felis G.E., Dellaglio F. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by recA gene sequence analysis and multiplex PCR assay with recA gene-derived primers // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – 67. – P. 3450–3454.

Отримано 15.05.2013