

Botshtein Bella, Associate Professor, the department of food technology, Kharkiv State University of Food Technology and Trade. Address: Klochkivska str., 333, Kharkiv, Ukraine, 61051. Tel.: 0672549915; e-mail: botshtein_bella@mail.ru.

Чорна Ніна Вікторівна, канд. техн. наук, доц., кафедра технології харчування, Харківський державний університет харчування та торгівлі. Адреса: вул. Клочківська, 333, м. Харків, Україна, 61051. Тел.: 0969961815; e-mail: ninelleblack@ukr.net.

Черная Нина Викторовна, канд. техн. наук, доц., кафедра технологии питания, Харьковский государственный университет питания и торговли. Адрес: ул. Клочковская, 333, г. Харьков, Украина, 61051. Тел.: 0969961815; e-mail: ninelleblack@ukr.net.

Chorna Nina, Candidate of Technical Sciences, associate professor, department of food technology, Kharkiv State University of Food Technology and Trade. Address: str. Klochkivska, 333, Kharkiv, Ukraine, 61051. Tel.: 0969961815. e-mail: ninelleblack@ukr.net.
DOI: 10.5281/zenodo.1306557

УДК 602.4:[577.15:577.114.4]:635.342

ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІЗИСУ КЛІТИН МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ПІД ДІЄЮ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

А.І. Капустян

*Досліджено ферментативний лізис клітин *Lactobacillus acidophilus* за участю панкреатину, субстину та папаїну з метою отримання потужних імунотропних сполук – низькомолекулярних пептидів мурамилпептидного ряду. Ферментоліз досліджували, варіюючи співвідношення фермент : субстрат і його тривалість. Установлено, що максимальна кількість цільових пептидів утворюється за умов обробки біомаси папаїном (співвідношення фермент : субстрат становить 1:250, тривалість ферментолізу – 120 хв).*

Ключові слова: лізис, протеази, молочнокислі бактерії, пептидоглікан, мурамидпептид.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИЗИСА КЛЕТОК МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

А.И. Капустян

*Исследован ферментативный лизис клеток *Lactobacillus acidophilus* с участием панкреатина, субтилина и папаина с целью получения мощных иммуностропных соединений – низкомолекулярных пептидов мурамилпептидного ряда. Ферментализ исследовали, варьируя соотношение фермент : субстрат и его продолжительность. Установлено, что максимальное количество целевых пептидов образуется при обработке биомассы папайном (соотношение фермент : субстрат составляет 1:250, продолжительность ферментализа – 120 мин).*

Ключевые слова: лизис, протеазы, молочнокислые бактерии, пептидогликан, мурамилдипептид.

RESEARCH OF LYSIS OF LACTIC ACID BACTERIA CELLS UNDER THE ACTION OF PROTEOLYTIC ENZYMES

А. Капустян

The expediency of destroying of lactic acid bacteria cells has been substantiated in order to obtain powerful immunotropic compounds – low molecular weight peptides of the muamylpeptide series.

Characterization of substrate specificity of enzymes of animal, plant and bacterial origin is given. That is approximated for the hydrolysis of certain peptide bonds in the structure of peptidoglycans of bacteria cell walls.

*The enzymatic lysis of *Lactobacillus acidophilus* cells with pancreatin, subtiline and papain has been investigated. Enzymatic hydrolysis was studied by varying the ratio of the enzyme to the substrate and its duration*

Enzymatic hydrolysis was controlled on the accumulation of aminoacids, soluble protein, low molecular weight peptides in the reaction medium. It was established that the maximum accumulation of target peptides in the lysate with pancreatin using is 4.5 mg/cm^3 at the ratio of the enzyme : substrate 1:100 and the duration of the process for 180 minutes, in the lysate with subtiline using – 4.5 mg/cm^3 at the ratio of the enzyme : substrate 1:100, during this same time, in the lysate with papain using – 4.5 mg/cm^3 at the ratio of the enzyme : substrate 1:250 and the duration of the process for 120 minutes.

This nature of enzymatic hydrolysis by different proteases can be explained by their substrate specificity. Thus, papain can hydrolyze the peptide bonds of peptidoglycan of the bacteria cell walls that are formed by lysine and glycine. Concerning pancreatin, which consists of proteases trypsin and chymotrypsin, and subtilin, their substrate specificity, is slightly higher than that of papain, and therefore the probability of hydrolysis of specific bonds in peptidoglycan is less, which is confirmed by the results of research.

It proved, that in the resulting target peptides with a molecular weight less than 1500 Da, there are glucopyranose rings, which, are known, form the residues of the N-acetylglucosamine and of the muramic acid of peptidoglycans This proves that the resulting low molecular weight peptides can be attributed to the compounds of the muramipeptide composition.

Keywords: *lysis, proteases, lactic acid bacteria, peptidoglycan, muramipeptide.*

Постановка проблеми у загальному вигляді. Молочнокислі бактерії (МКБ) є важливою ланкою здорового функціонування людського організму. Лактобацили чинять імуномодулювальну, протипухлинну дію, сприяють зниженню вмісту холестерину, синтезують вітаміни. МКБ відповідають за резистентність шлунково-кишкового тракту відносно патогенних мікроорганізмів, продукуючи різні органічні кислоти, пероксид водню, бактеріоцини, коротколанцюгові жирні кислоти, діацетил та ін. [1–3].

Останнім часом усе більшу увагу науковців привертає питання лізису мікробних клітин із метою отримання біологічно активних складових їхніх клітинних стінок [4; 5]. У цьому аспекті молочнокислі бактерії є вельми перспективним субстратом, оскільки накопичено значний досвід їх культивування; окрім того, вони мають статус цілком безпечних інгредієнтів. Звісно, під час лізису клітин МКБ дещо втрачається їхня пробіотична активність, але це нівелюється наявністю в лізатах потужних імунотропних сполук – продуктів деградації пептидогліканів клітинних стінок бактерій [5].

Наявність у складі лізатів МКБ біологічно активних метаболітів та продуктів деградації їхніх клітинних стінок дозволить розширити спектр їхніх фізіологічних ефектів та підвищити імунотропну дію.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мінімальний повторюваний фрагмент пептидоглікану – мурамилдипептид (МДП) – має всі необхідні для патоген-асоційованих молекулярних структур властивості, що виражаються в стимуляції вродженого імунітету і здатності формувати захист від мікробних інфекційних агентів у хребетних [6]. МДП розпізнається внутрішньоклітинними Nod 2-подібними рецепторами організму господаря й ініціює сигнальний каскад реакцій, що приводить до синтезу імунокомпетентними клітинами прозапальних цитокінів та активації механізмів імунологічного захисту організму [7].

Із метою отримання низькомолекулярних продуктів деструкції пептидогліканів – сполук мурамилпептидного ряду – застосовують фізичні, хімічні, ензиматичні або комбіновані методи впливу. Фізичні методи деструкції бактеріальних клітин (обробка ультразвуком,

хвилями НВЧ, механічне розтирання, тощо призводять до незворотного порушення їхньої анатомічної цілісності. Для отримання глікопептидних низькомолекулярних продуктів регулярної будови, як правило, використовують хімічні та ензиматичні методи деструкції [8].

Ферментативні методи гідролізу пептидогліканів клітинних стінок бактерій є більш м'якими порівняно з хімічними. Як правило, ферментоліз проводять за фізіологічних значень температури та рН середовища. Ферменти – специфічні каталізатори, які, на відміну від кислот і лугів, діють тільки на певні групи сполук та зв'язків. Для руйнування пептидогліканів бактеріальних клітинних стінок використовують протеолітичні ферменти, здатні розщеплювати пептидні зв'язки їхніх макромолекул (рис. 1) [9; 10].

У працях [11–13] для ферментативної деструкції молочнокислих бактерій використовували кислі та лужні травні протеази самостійно або в комбінації з фізичними методами впливу.

Ураховуючи складність структури пептидогліканів, доцільним є використання для їх часткової деструкції більш широкого спектра протеаз із залученням у нього, окрім травних, рослинних і мікробних протеолітичних ферментів, що мають більший ареал субстратної специфічності (табл. 1) [14–17].

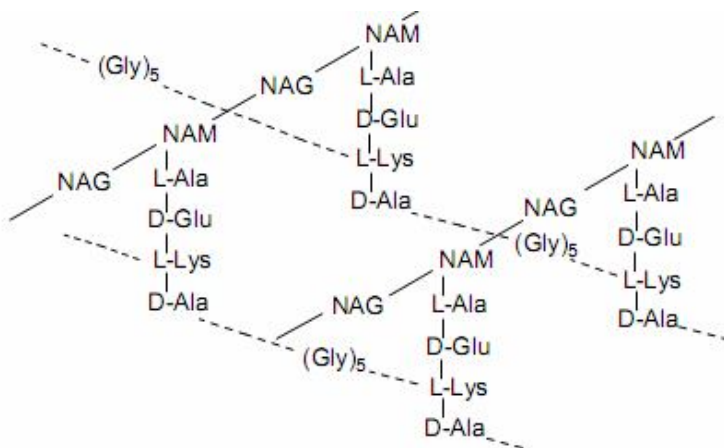


Рис. 1. Структура пептидоглікану клітинних стінок прокариот: NAG – залишки N-ацетилглюкозаміну, NAM – N-ацетилмурамової кислоти, $(Gly)_5$ – пентагліциновий місток, який зв'язує амінокислоти у складі тетрапептиду мурамової кислоти

Таблиця 1

**Порівняльна характеристика субстратної специфічності
деяких протеолітичних ферментів**

Назва	Джерело походження	Діапазон, рН	Діапазон температур, °С	Переважає специфічність
Трипсин	Підшлункова залоза свиней	7–9	35–39	Lys, Arg
Хімо-трипсин	Підшлункова залоза свиней	7–9	35–39	Tyr, Phe, Leu, Val, Asp, Met
Субтилін	<i>Bacillus Subtilis</i>	6–9	35–45	Ser, Gli, Tyr, Phe
Папаїн	<i>Papaya latex</i>	6–7	35–50	Lys, Arg, Gli

За даними табл. 1, трипсин розщеплює пептидні зв'язки, у яких карбоксильна функція представлена лізином або аргініном. Хімотрипсин переважно розщеплює пептидні зв'язки, у яких карбоксильна функція представлена ароматичними амінокислотами. У довгих поліпептидних ланцюгах ним гідролізуються також зв'язки, утворені лейцином, валіном, аспарагіном та метіоніном. Субтилізин насамперед розщеплює зв'язки поруч із серином, гліцином та ароматичними амінокислотами. Малоспецифічний папаїн каталізує пептидні зв'язки, побудовні за участю аргініну, лізину, гліцину, кисл амінокислоти при цьому не задіяно.

Мета статті – визначення ефективності використання панкреатину, папаїну та протосубтиліну для часткової фрагментації пептидогліканів, у результаті якої утворюються низькомолекулярні сполуки мурамилпептидного ряду.

Виклад основного матеріалу дослідження. Для досліджень використовували БМ *Lactobacillus acidophilus* із колекції НВП «Аріадна» (м. Одеса) із концентрацією $7 \cdot 10^9$ КУО/см³. Вміст сухих речовин суспензії становив $(7,45 \pm 0,02)\%$. Загальний білок – $(27,18 \pm 0,04)\%$. Виділення клітин із культуральної рідини здійснювали шляхом центрифугування протягом 15 хв при 8000 хв^{-1} . Осад клітин відмивали дистильованою водою та ресуспендували дистильованою водою.

Ферментативну деструкцію клітинних стінок біомаси здійснювали обробкою панкреатином із протеолітичною активністю 370 Од/г (Лізат I), протосубтиліном Г20х із активністю 70 Од/г (Лізат II), папаїном із активністю 10 Од/мг (Лізат III). Постійними параметрами гідролізу були температура 37 °С та рН = 7–8. Варіювали

співвідношення фермент : субстрат (вміст сухих речовин БМ) у діапазоні від 1:50 до 1:300 та тривалість інкубації реакційної суміші – 10–300 хв. Ферментоліз зупиняли екстремим нагріванням до температури 100 С, суміш охолоджували, центрифугували протягом 10 хв при 8000 хв⁻¹, проводили декантацію.

У надосадовій рідині ферментолізатів контролювали вміст вільних амінокислот методом формольного титрування [18], розчинного білка методом Бенедикта [18], низькомолекулярних пептидів (НМП) – методом Бенедикта після осадження високомолекулярних білків 10% розчином трихлороцтової (ТХО) кислоти. Відомо, що пептиди з молекулярною масою до 1500 Да не осаджуються розчинами ТХО кислоти та є сполуками, що мають високу імунотропну активність [11].

Паралельно визначали відповідні параметри для контрольного зразка – суспензії клітин *Lactobacillus acidophilus*, яку не піддавали ферментолізу.

Визначали також наявність у складі ферментолізатів НМП мармилпептидного ряду. Для цього надосадову рідину ферментолізату піддавали іонообмінній хроматографії з метою отримання очищеного від нейтральних цукрів, органічних кислот, продуктів метаболізму, що містить амінокислоти та низькомолекулярні фрагменти пептидогліканів. Наявність мурамової кислоти та N-ацетил-глюкозаміну у складі НМП доводили Антроновим методом.

Із метою встановлення параметрів деструкції клітинних стінок композиції МКБ, за яких відбувається максимальне накопичення НМП із молекулярною масою < 1500 Да, проведено серію дослідів, у яких варіювали концентрацію панкреатину в реакційній суміші та час ферментолізу. Результати досліджень наведено на рис. 2, 3.

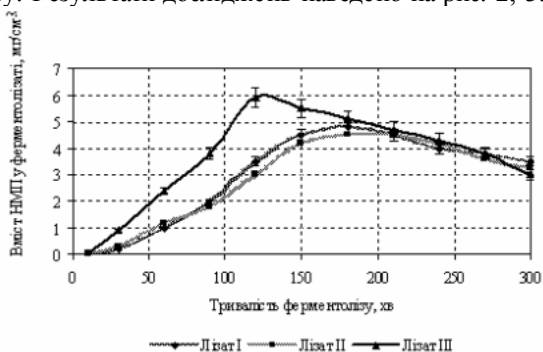


Рис. 2. Залежність накопичення НМП у лізатах *Lactobacillus acidophilus* від тривалості процесу ферментолізу (за співвідношення фермент : субстрат 1:100)

Аналізуючи результати досліджень, представлені графічною залежністю (рис. 2), можна констатувати, що накопичення НМП у ферментолізатах має параболічний характер. Найбільшим вмістом НМП характеризується Лізат Ш, який отримували з використанням папаїну. Максимальне накопичення НМП у цьому лізаті становить $5,8 \text{ мг/см}^3$ за тривалості ферментолізу 120 хв. Лізати I та II, які отримували з використанням панкреатину та субтиліну, характеризуються дещо меншим вмістом НМП порівняно із Лізатом Ш. Максимальне накопичення НМП у Лізатах I та II відбувається за тривалості ферментолізу 180 хв та становить $4,5 \text{ мг/см}^3$ та $4,8 \text{ мг/см}^3$ відповідно. Такий характер ферментолізу різними протеазами можна пояснити їхньою субстратною специфічністю. Так, папаїн, згідно з табл. 1, може гідролізувати пептидні зв'язки пептидоглікану клітинних стінок бактерій, які утворені лізином та гліцином (рис. 1). Щодо панкреатину, до складу якого входять протеази трипсин та хімо-трипсин, та субтиліну – їхня субстратна специфічність дещо вища, ніж у папаїну, тому і ймовірність гідролізу специфічних зв'язків у складі пептидоглікану менша, що й підтверджується результатами досліджень. Із перебігом ферментолізу кількість НМП у всіх зразках зменшується, що, очевидно, є наслідком руйнування пептидних зв'язків у їхній структурі під впливом ферментів.

Діаграма, зображена на рис. 3, демонструє залежність накопичення НМБ у складі ферментолізату від концентрації ферментів у реакційній суміші (співвідношення фермент : субстрат). Тривалість ферментолізу обирали за результатами досліджень, наведеними на рис. 2, за яких спостерігалось найбільше накопичення НМП. Таким чином, тривалість ферментолізу за участю субтиліну та панкреатину становила 180 хв, папаїну – 120 хв.

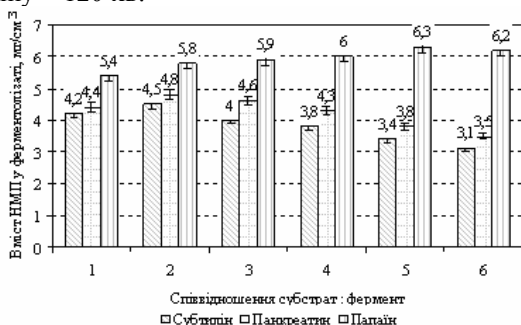


Рис. 2. Залежність накопичення НМП у лізатах *Lactobacillus acidophilus* від співвідношення фермент : субстрат, де 1 – співвідношення 1:50; 2 – 1:100; 3 – 1:150; 4 – 1:200; 5 – 1:250; 6 – 1:300

Аналізуючи дані, наведені на рис. 3, можна констатувати, що закономірність у превалюванні показників ферментолізу папаїну зберігається. Так, максимальна кількість НМП у лізаті, отриманому під час обробки папаїном, складає $6,3 \text{ мг/см}^3$ за співвідношення фермент : субстрат 1:250, під час обробки панкреатином – $4,8 \text{ мг/см}^3$ за співвідношення фермент : субстрат 1:100, у разі обробки субтиліном – $4,5 \text{ мг/см}^3$ за співвідношення фермент : субстрат 1:100.

У таблиці 2 наведено порівняльну характеристику отриманих лізатів біомаси *Lactobacillus acidophilus* із зазначенням, зокрема, кількості цільових компонентів – низькомолекулярних пептидів мурамилпептидного ряду (НМП МДП) від загальної кількості НМП.

Таблиця 2

**Характеристика лізатів біомаси *Lactobacillus acidophilus*
(n = 3, p ≥ 0,95)**

Зразок	Характеристика ферментолізатів			
	Аміно-кислоти, мг/см^3	Розчинний білок, мг/см^3	НМП, мг/см^3	НМП МДП ряду, % від НМП
Контроль	1,2	1,4	0,4	0
Лізат I	3,4	4,1	4,8	22,3
Лізат II	3,1	4,6	4,5	21,6
Лізат III	5,8	3,5	6,3	32,3

З огляду на дані табл. 2 ферментоліз у всіх випадках призводить до деструкції клітинних стінок МКБ, про що свідчить значна відмінність у кількості низькомолекулярних продуктів ферментолізату порівняно з контролем. У складі всіх ферментолізатів наявні низькомолекулярні пептиди мурамилпептидного ряду, найбільшим вмістом яких характеризується лізат, отриманий за допомогою папаїну. Вміст НМП МДП становить 32,3% від загальної кількості НМП у цьому лізаті.

Висновки. Результати досліджень доводять, що під час обробки суспензії клітин БМ *Lactobacillus acidophilus* протеолітичними ферментами різної етіології має місце лізис пептидогліканів їхніх клітинних стінок у всіх випадках. Установлено, що максимальне накопичення цільових НМП у лізаті з використанням панкреатину становить $4,8 \text{ мг/см}^3$ за співвідношення фермент : субстрат 1:100 та тривалості процесу ферментолізу 180 хв, у лізаті з використанням субтиліну – $4,5 \text{ мг/см}^3$ за співвідношення фермент : субстрат 1:100 протягом цього ж часу, у лізаті з використанням папаїну – $6,3 \text{ мг/см}^3$ за

співвідношення фермент : субстрат 1:250 та тривалості процесу ферментолізу 120 хв. Доведено, що у складі всіх ферментолізатів містяться низькомолекулярні пептиди мурамилпептидного ряду, найбільшим вмістом яких характеризується лізат, отриманий за допомогою папаїну.

Список джерел інформації / References

1. Глушанова Н. А. Биологические свойства лактобацилл / Н. А. Глушанова // Бюллетень сибирской медицины. – 2003. – № 4. – С. 50–58. Glushanova, N. (2003), “Biological properties of lactobacilli” [“Biologicheskie svojstva laktobacill”], *Bulletin of Siberian Medicine*, No. 4, pp. 50-58.
2. Стоянова Л. Г. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства (обзор) / Л. Г. Стоянова, Е. А. Устюгова, А. И. Нетрусов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 259–275. Stojanova, L., Ustjugova, E., Netrusov, A. (2012), “Antimicrobial metabolites of lactic acid bacteria: diversity and properties (overview)”, [“Antimikrobnnye metabolity molochnokislyh bakterij: raznoobrazie i svojstva (obzor)”], *Applied Biochemistry and Microbiology*, No. 48 (3), pp. 259-275.
3. Молохова Е. И. Разработки отечественных метаболитных пробиотиков и их стандартизация / Е. И. Молохова, Ю. В. Сорокина // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 15, вып. 1. – С. 29–33. Molohova, E., Sorokina, Ju. (2011), [“Development of domestic metabolic probiotics and their standardization”], [“Razrabotki otechestvennyh metabolitnyh probiotikov i ih standartizacija”], *Siberian Medical Journal*, No. 26, pp. 29-33.
4. Капустян А. И. Перспективы использования биологически активных бактериальных гидролизатов для нутритивной поддержки населения с расстройствами иммунной системы / А. И. Капустян, Н. К. Черно // Пищевая наука и технология. – 2015. – № 2 (31). – С. 18–25. DOI: 10.15673/2073-8684.31/2015.44263. Kapustyan, A., Chernov, N. (2015), “Prospects for the using of bioactive bacterial hydrolysates for nutritional supplementation of people with immune system disorders” [“Perspektivy ispol'zovaniya biologicheski aktivnyh bakterial'nyh gidrolizatov dlya nutritivnoj podderzhki naseleniya s rastrojstvami immunnnoj sistemy”], *Food science and technology*, No. 2 (31), pp. 18-25. DOI: 10.15673/2073-8684.31/2015.44263.
5. Chemo, N., Kapustyan, A. (2016), “Immunological properties of the bacterial origin compounds”, *Food science and technology*, No. 10 (3), pp. 19-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/ft.v10i3.175>.
6. Traub, S. (2006), “MDP and other muropeptides – direct and synergistic effects on the immune system”, *J. Endotoxin Res.*, No. 12 (2), pp. 69-85. DOI: 10.1179/096805106X89044.
7. Matsui, K., Ikeda, R. (2014), “Peptidoglycan in combination with muramyl dipeptide synergistically induces an interleukin-10-dependent T helper 2-dominant immune response”, *Microbiol Immunol*, No. 58, pp. 260-265. DOI: 10.1111/1348-0421.12139.

8. Шапхаев Э. Г. Дезинтеграция клеток в биотехнологии : учебное пособие Э. Г. Шапхаев, В. Ж. Цыренов, Е. И. Чебунина. – Улан-Удэ : ВСГТУ, 2015. – 96 с.

Shaphaev, E., Tsyrenov, V., Chebunina, E. (2015), *Disintegration of cells in biotechnology [Dezintegratsiya kletok v biotekhnologii]*, Ulan-Ude, 96 p.

9. Chapot-Chartier, M., Kulakauskas, S. (2014), “Cell wall structure and function in lactic acid bacteria”, *Microb Cell Fact.*, Vol. 13. DOI: 10.1186/1475-2859-13-S1-S9

10. Humann, J., Lenz, L. (2009), “Bacterial peptidoglycan degrading enzymes and their impact on host muropeptide detection”, *J. Innate Immun.*, No. 1, pp. 88-97. DOI: 10.1159/000181181

11. Гаврилин М. В. Выбор оптимальных условий получения гидролизатов молочнокислых бактерий термодисперсионным способом / М. В. Гаврилин, Г. В. Сеньчукова, С. П. Сенченко // Хим.-фарм. журн. – 2007. – Т. 41, № 2. – С. 54–56.

Gavrilin, M., Sen'chukova, G., Senchenko, S. (2007), “The choice of optimal conditions for the preparation of lactic acid bacteria hydrolysates by the thermal acid method” [“Vybor optimal'nykh uslovii polucheniya gidrolizatov molochnokislykh bakterii termokislotsnym sposobom”], *Chemical-farm. Journal*, No. 41 (2), pp. 54-56.

12. Изучение состава препарата, полученного на основе гидролизата молочнокислых бактерий / С. П. Сенченко, В. А. Самойлов, Н. М. Гостищева, Г. В. Сеньчукова, М. В. Гаврилин // Хим.-фарм. журн. – 2005. – Т. 39, № 3. – С. 51–53.

Senchenko, S., Samoilov, V., Gostisheva, N., Sen'chukova, G., Gavrilin, M. (2005), “The study of the composition of the preparation obtained on the basis of the hydrolyzate of lactic acid bacteria” [“Izuchenie sostava preparata, poluchennogo na osnove gidrolizata molochnokislykh bakterii”], *Chemical-farm. Journal*, No. 39, Vol. 3, pp. 51-53.

13. Гараян Г. С. Химическое обоснование и биологическое исследование гидролизата на основе культур молочнокислых бактерий / Г. С. Гараян, Р. А. Ханферян, Э. Т. Оганесян // Хим.-фарм. журн. – 2010. – Т. 44, № 8. – С. 46–49.

Garanyan, G., Hanferyan, R., Oganesyanyan, E. (2010), “Himicheskoe obosnovaniye i biologicheskoye issledovaniye gidrolizata na osnove kultur molochnokislykh bakterii” [“Chemical substantiation and biological study of hydrolyzate on the basis of cultures of lactic acid bacteria”], *Chemical-farm. Journal*, No. 44 (8), pp. 46-49.

14. Овсянникова Л. В. Сравнительная характеристика протеолитических ферментов растительного происхождения – папаина и бромелайна / Л. В. Овсянникова, Е. Л. Комарова // БАД. – 2012. – № 7 (74). – С. 3–5.

Ovsyannikova, L., Komarova, E. (2012), “Comparative characteristics of the proteolytic enzymes of plant –papain and bromelain”, *Dietary supplements market* [“Sravnytel'naya kharakterystyka proteolytycheskykh fermentov rastytel'nogo proyskhozhdeniya – papayna y bromelayna”], No. 7 (74), pp. 3-5.

15. Geiger, C., Spieb, T., Korn, S., Kötter, P., Entian, K.-D. (2017), “Specificity of subtilin-mediated activation of histidine kinase SpaK”, *Appl Environ Microbiol*, No. 83. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00781-17>

16. Закономерности гидролиза сывороточных белков экзо- и эндопротеазами / Т. Н. Головач, Н. В. Гавриленко, Н. К. Жбанос, В. П. Куренко // Труды БГУ. Биохимия. – 2008. – Т. 3 (1). – С. 1–15.

Golovach, T., Gavrilenko, N., Zhabanos, N., Kurchenko, V. (2008), “Lawsofhydrolysis of the whey proteins and exogenous endoproteases” [“Zakonomernosti hidrolizu syrovatkovykh bilkiv ekzo- i endoproteazami”], *Works BGU of Biochemistry*, No. 3 (1), pp. 1-15.

17. Якубке Х.-Д. Аминокислоты, пептиды, белки : [пер. с нем.] / Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайд – М. : Мир, 1985. – 456 с.

Yakubke, H.-D., Eshkaid, H. (1985), *Aminokisloty, peptidy, belki* [*Amino acids, peptides, proteins*], Mir, Moscow, 456 p.

18. Семак И. В. Биохимия белков : практикум для студ. биол. ф-тов спец. 1-31 01 01 «Биология» / И. В. Семак, Т. Н. Зырянова, О. И. Губич. – Минск : БГУ, 2007. – 49 с.

Semak, I., Zyryanova, T., Gubich, O. (2007), [*Biohimiya belkov: praktikum*], BSU, Minsk, 49 p.

Капустян Антоніна Іванівна, канд. техн. наук, доц., кафедра харчової хімії, Одеська національна академія харчових технологій. Адреса: вул. Канатна, 112, м. Одеса, к. Д-124, 65039. E-mail: foodchem.onaft@gmail.com

Капустян Антонина Ивановна, канд. техн. наук, доц., кафедра пищевой химии, Одесская национальная академия пищевых технологий. Адрес: ул. Канатная, 112, г. Одесса, к. Д-124, 65039. E-mail: foodchem.onaft@gmail.com

Kapustian Antonina, PhD, Associate Professor of the Department of Food Chemistry, Odessa National Academy of Food Technologies. Address: Kanatna st., 112, Odessa, r-124, 65039. E-mail: foodchem.onaft@gmail.com
DOI: 10.5281/zenodo.1306570