

АНТИМІКРОБНІ МЕТАБОЛІТИ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ: МЕХАНІЗМ ДІЇ ТА ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ

В.В. Борцюх, студент,
Національний університет харчових технологій,
М.О. Шугай, к. б. н.,
Інститут продовольчих ресурсів НААН

У статті наведено огляд найбільш поширених антимікробних метаболітів молочнокислих бактерій (МКБ) різної хімічної природи: низькомолекулярних (органічних кислот, діацетилу, реутеріну, гідроген пероксиду) і високомолекулярних (бактеріоцинів). Дано характеристику будови та висвітлено механізми дії даних речовин, окреслено сфери їх практичного застосування для потреб людини.

Ключові слова: антимікробні метаболіти, бактеріоцини, гідроген пероксиду, діацетил, молочнокислі бактерії, органічні кислоти, реутерін.

ANTIBACTERIAL METABOLITES OF LACTIC ACID BACTERIES: THE MECHANISM OF ACTION AND PRACTICAL USE

V. Bortsyukh, student,
National University of Food Technologies,
M. Shugai, Ph.D. Biology,
Food Resources Institute NAAS

This article contains the review of widespread antimicrobial metabolites of lactic acid bacteria (LAB), which have different structures: low- molecular-weight (organic acids, diacetyl, reuterin, hydrogen peroxide) and high-molecular-weight (bacteriocins) compounds. The characteristic of structure is given, the mechanisms these substances action is described and the domains of their use for human purposes are determined.

Key words: antimicrobial metabolites, bacteriocins, hydrogen peroxide, diacetyl, lactic acid bacteria, organic acids, reutherin

Завдяки антимікробній дії молочнокислі бактерії використовувались людиною віддавна для подовження терміну зберігання харчових продуктів. Провідну роль у процесі зберігання відіграє молочна кислота, яка утворюється під час ферментування субстрату і призводить до закислення середовища. Завдяки накопиченню молочної та інших органічних кислот обмежується розвиток небажаної мікрофлори, серед якої можуть бути умовно-патогенні та патогенні форми.

Важливими факторами пригнічення росту сторонніх мікроорганізмів є низка високо- і низькомолекулярних метаболітів, які в поєднанні з органічними кислотами часто виявляють синергічну дію і можуть суттєво поліпшити мікробіологічні показники якості цільового продукту. З розвитком мікробіології та отриманням нових даних щодо біології мікроорганізмів суттєво розширились можливості використання молочнокислих бактерій та їх метаболітів.

Метою статті є огляд сучасних літературних джерел щодо основних метаболітів МКБ, які виявляють пригнічувальний вплив на розвиток інших мікроорганізмів, а також окреслення сфер практичного застосування даних речовин для потреб людини.

Упродовж останніх десятиліть увагу науковців зосереджено на дослідженні особливостей фізіології метаболітів саме МКБ. Обумовлено це тим, що мікроорганізми цієї групи мають статус GRAS (Generally Recognized as Safe) і можуть без ризику використовуватись у різних сферах для потреб людини. Даний статус дозволяє вважати

безпечними усі метаболіти, синтезовані МКБ. Зупинимеся детальніше на особливостях структури антимікробних метаболітів МКБ та способі їх дії на клітини сторонніх мікроорганізмів.

1. Антибактеріальні метаболіти молочнокислих бактерій

Залежно від молекулярної маси антибактеріальні метаболіти поділяють на низько- та високомолекулярні.

1.1. Низькомолекулярні антибактеріальні метаболіти молочнокислих бактерій

До них належать *органічні кислоти*, наприклад, молочна й оцтова, які є основними ендометаболітами МКБ, що утворюються під час молочнокислого бродіння. Зауважимо, що порівнянно з молочною кислотою, оцтова має ширший спектр антимікробної активності. Відомо, що між цими кислотами існує синергічний ефект: у суміші вони інтенсивніше пригнічують розвиток чутливих бактерій, ніж у разі роздільного використання. Показано [1], що L-лактат має більшу інгібуючу активність, ніж його D-ізомер (рис. 1).

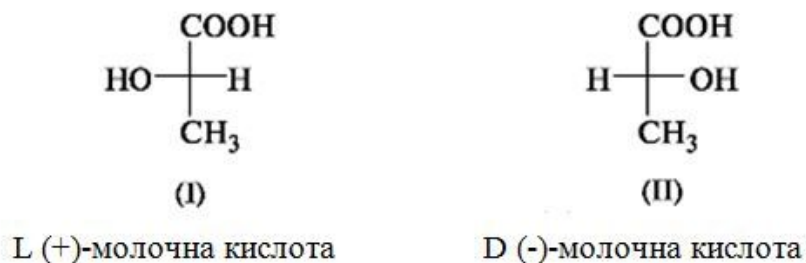


Рис. 1. Стереїзомери молочної кислоти

Залежно від видової приналежності, і навіть штаму, мікроорганізми по-різному реагують на кислотність середовища. Наприклад, при рН нижче 5,0 молочна кислота пригнічує ріст спороутворювальних бактерій, але зовсім не впливає на розвиток мікроскопічних грибів і дріжджів [2].

Гідроген пероксид. Перекис водню. У присутності кисню, деякі види МКБ можуть утворювати невелику кількість гідроген пероксиду (H_2O_2), який є субстратом для НАДН-оксидазного і супероксиддисмугазного комплексу ферментів. Ефект пероксиду може бути посилений за наявності лактопероксидази і тіоціанату, які є в природному середовищі існування МКБ – у молоці. Антимікробний ефект пероксиду водню пов'язаний із сильною окислювальною дією. Доведено [3], що пригнічення грамнегативних бактерій роду *Pseudomonas*, які часто контамінують харчові продукти, відбувається внаслідок дії перекису, накопиченого під час розвитку бактерій родів *Lactococcus* і *Lactobacillus*.

Піролідин-5-карбонова кислота. Здатність до синтезу цієї органічної кислоти притаманна тільки *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, *L. casei* ssp. *pseudoplantarum*. Кислота має бактерицидну дію стосовно *Bacillus subtilis* та *Enterobacter cloacae*.

Диацетил відомий як речовина, що надає вершковому маслу характерного аромату. Він формується під час трансформації цитрату через піруват. Максимальне утворення цього метаболіту спостерігається за умов помірної активної кислотності. Найчутливішими до диацетилу є грамнегативні бактерії родів *Salmonella*, *Yersinia*, *Escherichia*, *Aeromonas*, а також грампозитивні бактерії роду *Bacillus* [4].

Реутерін утворюється за анаеробних умов з гліцерину лактобацилами видів *L.reuteri*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. collinoides* і *L. corniformis*. Реутерін пригнічує розвиток патогенних мікроорганізмів, у тому числі бактерій родів *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, а також дріжджів роду *Candida* і паразитичних одноклітинних роду *Trypanosoma*. Механізм дії реутерину пов'язаний зі здатністю зв'язуватися з SH-групами ферментів, наприклад, рибонуклеотид-редуктазою, і блокувати їх [5].

1.2. Високомолекулярні метаболіти молочнокислих бактерій

Метаболіти цієї групи представлені гетерогенними антимікробними сполуками різного спектру антагоністичної активності, механізму дії, молекулярної маси, що різняться фізико-хімічними властивостями.

Особливий інтерес представляють бактеріоцини – гетерогенні антибактеріальні комплекси, основною біологічно активною частиною яких є білковий компонент. Бактеріоцини привернули увагу насамперед можливістю використовувати їх як природні консерванти. Дослідження бактеріоцинів розпочались у 1930-х роках, коли було з'ясовано механізм синтезу нізину, продуцентками якого є деякі штами *L. lactis* subsp. *lactis*. Відтоді виявлено і детально описано багато бактеріоцинів МКБ бактерій, екологічною нішею яких є ферментовані молочні та м'ясні продукти, грудне молоко, силос; деякі штами було вилучено зі зразків ґрунту. До групи пептидогенних МКБ на самперед належать представники таких родів як *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* і *Streptococcus* [6].

Від класичних антибіотиків бактеріоцини відрізняються трьома основними властивостями: їх синтез відбувається на рибосомах, вони мають специфічний спектр активності та специфічний для кожного пептиду імунний білок, що забезпечує захист від руйнування ферментами [7].

За хімічною структурою бактеріоцини поділяють на чотири класи.

Клас I включає лантибіотики, що містять модифіковані амінокислоти (лантіонін, β -метиллантіонін). Лантибіотики цього класу поділяють на тип А, представлений лінійними пептидами, які утворюють пори в бактеріальній мембрані (наприклад, нізін) та тип В, представлений негативно зарядженими та нейтральними глобулярними пептидами (наприклад, мерсацідин, актагардин, ціннамідин) [8].

До класу II віднесено бактеріоцини, що не містять модифікованих амінокислот. Він розділений на три основні підкласи. Підклас Па – пептиди зі специфічною консервативною *N*-термінальною послідовністю амінокислот (Tyr Gly Asn Gly Val Хаа Cys) (Хаа позначає будь-яку амінокислоту). Як правило, вони термостабільні, містять від 37 (лейкоцин А і мезентеріцин Y105) до 48 (карнобактеріоцин В2 і ентероцин SE K4) амінокислот і характеризуються високою активністю щодо патогенних бактерій роду *Listeria*, які часто колонізують свіжі продукти.

Підклас Пб – дипептидні сполуки з двома залишками гліцину на початку кожного пептиду (лактокоцин G, плантаріцин E/F, лактацин). Підклас Пс представлений циклічними пептидами з ковалентно зв'язаними C- і N-кінцями.

До класу III бактеріоцинів належать високомолекулярні (понад 30 кДа) нелантибіотики, наприклад, такі термостабільні білки як гелветіцин J і лактацин В.

До класу IV віднесено складні протеїни, які, крім амінокислот, містять ще й ліпіди або вуглеводневі компоненти. Інформація про антимікробні пептиди цього класу обмежена і досить суперечлива [9].

Слід зазначити, що штами лактобактерій одного виду (іноді навіть один і той самий штам), можуть продукувати антимікробні пептиди різних класів. Наприклад, культури *L. lactis* subsp. *lactis* можуть синтезувати однопептидні лантибіотики – нізини А, В, С, L, Z, Q і F, лактіцин 481 та дипептидні лантибіотики – лактіцин 3147 [10].

Отже, лактобактерії здатні утворювати широкий спектр антимікробних метаболітів, які різняться молекулярною масою та будовою – від простих неорганічних і органічних сполук (наприклад, пероксиду водню, молочної й оцтової кислот) до високомолекулярних лінійних і глобулярних пептидів складної просторової будови та пептидів з вуглеводневими і ліпідними компонентами.

2. Механізм дії антимікробних метаболітів молочнокислих бактерій та їх застосування

Оскільки антимікробні метаболіти МКБ різняться будовою, цілком логічно, що механізми їх впливу на чутливі клітини будуть відрізнятися.

2.1. Низькомолекулярні метаболіти лактобактерій

Органічні кислоти. Одним із важливих факторів, який впливає на ріст бактерій, є активна кислотність середовища. Відомо, що більшість мікроорганізмів краще ростуть за нейтральної кислотності (рН~7), тому закислення середовища може обмежувати їх ріст [2].

Основними органічними кислотами, які продукують клітини лактобактерій, є молочна й оцтова. Механізм їх антибактеріальної дії полягає у здатності проникати через клітинну стінку кислоточутливих бактерій, спричиняючи зміну градієнта кислотності, що врешті-решт призводить до загибелі клітини [2, 11]. Однак існує ще багато питань, які потребують з'ясування [12].

Здатність МКБ до синтезу молочної та оцтової кислот має важливе для здоров'я людини значення. Адже ці метаболіти лактобактерій, які колонізують шлунково-кишковий тракт, згубно діють на факультативну і транзитну мікрофлору, обмежуючи ріст умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів [13].

Органічні кислоти визнані безпечними антимікробними агентами (мають статус GRAS), а їх слабкі розчини (1,3%) не чинять негативного впливу на організм людини. Це є підґрунтям для використання оцтової та молочної кислот як природних безпечних консервантів для захисту харчових продуктів від контамінації мікроорганізмами [14]. Варто відмітити, що суміш молочної й оцтової кислот має вищий антибактеріальний ефект, ніж кожна з них окремо. Зокрема, це було показано Rode and Moretro [15] щодо *S.aureus* і *L. monocytogenes*.

В хімічній промисловості молочну кислоту використовують як сировину для виробництва лактатного ефіру, пропанової й акрилової кислот, ацетальдегіду та ін. речовин [16, 17]. Як кератолітик, молочна кислота входить до складу лікарських засобів для догляду за шкірою. Розм'якшення кератину і відторгнення мертвих епітеліальних клітин сприяє утриманню вологи в шкірі [18].

Диацетил (2,3-бутандіон). Здатність синтезувати диацетил притаманна не всім, а лише цитратасимільюючим МКБ, особливо родів *Leuconostoc* та *Lactococcus* (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*) [19]. Дана речовина має бактерицидну і бактериостатичну дію на багатьох мікроорганізмів. Вважається [20], що диацетил може реагувати з гуанідиновими групами агнініну в молекулах ферментів, тим самим блокуючи їх чи модифікуючи каталітичні центри. Однак детальний механізм його антибактеріальної дії досі не встановлено.

Загалом, диацетил ефективніший стосовно дріжджів, плісені та грамнегативних бактерій, ніж до грампозитивних. Мінімальна інгібуюча концентрація, необхідна для пригнічення грамнегативних бактерій, становить приблизно 200 мг/кг продукту, що значно перевищує допустимий рівень диацетилю в кисломолочних продуктах (2-7 мг/кг). Однак завдяки синергізму з іншими антимікробними факторами, антагоністичний ефект диацетилю проявляється за нижчих концентрацій. [21].

Реутерін (3-гідроксипропіональдегід) продукується деякими штамами гетероферментативних лактобацил виду *Lactobacillus reuteri* під час анаеробного метаболізму гліцерину чи гліцеральдегіду. Реутерін має широкий спектр антибактеріальної активності – пригнічує життєдіяльність мікроорганізмів різних таксонів, у тому числі дріжджів, плісень та найпростіших еукаріот (*Protozoa*). Його інгібуюча дія пов'язана з інактивацією фермента рибонуклеотидредуктази. Реутерін та також лактобацили, що його синтезують, використовуються для зберігання і консервування їжі, наприклад, для оброблення поверхні продуктів [22, 23].

Деякі штами *L. reuteri* здатні утворювати інший антимікробний метаболіт – реутеріцилін, який теж має широкий спектр антибактеріальної дії: *S. aureus*, *B. cereus*, *Ent. faecalis*, *List. innocua* [21].

Перекис водню (гідроген пероксид). Механізм дії перекису водню, як і всіх окислюючих агентів, спрямований на окиснення біомолекул – білків, ліпідів, нуклеїнових

кислот, що призводить до руйнування бактеріальних клітин та вірусних віріонів. Поряд з цим, гідроген пероксид виступає джерелом реактивних форм кисню в дихаючих клітинах, а також є важливим компонентом реакцій вродженого імунітету людини [24].

Завдяки нетоксичності продуктів свого розпаду гідроген пероксид, як біоцидний агент, має широке застосування в різних сферах людської діяльності.

Його використовують в медичних, харчових і промислових цілях для досягнення високого ступеня стерильності медичних приладів та лабораторного обладнання, для очищення води. Основною перевагою гідроген пероксиду є широкий спектр антимікробної дії – (ефективний щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій і їх спор [25], ДНК і РНК вірусів [26] та плісень [27]). Важливими факторами на користь використання гідрогену пероксиду є безпечність продуктів після його повного розщеплення в доквілі, низька корозійна активність та відсутність специфічного запаху. Звичайно, для промислових потреб використовують пероксид водню, синтезований хімічним шляхом.

2.2. Високомолекулярні метаболіти лактобактерій

Оскільки найбільше практичне значення мають бактеріоцини, зупинимося детальніше на механізмі їх дії.

Загалом виокремлюють два типи взаємодії високомолекулярних антимікробних пептидів на клітині: інгібування метаболічних процесів або порушення цілісності клітинної мембрани [28]. Механізм дії лантибіотиків розглянемо на прикладі нізину, який вже давно використовується в харчовій промисловості як антибактеріальна добавка. Оскільки лантибіотики МКБ (у тому числі нізин), є позитивно зарядженими пептидами, механізм їх дії спрямований на мембрани чутливих бактерій і полягає в утворенні пор у клітинних структурах та розсіюванні трансмембранного градієнта протонів. Мішенню дії нізину є так звана молекула ліпиду-II бактеріальної мембрани. Тобто нізин не просто накопичується на бактеріальній мембрані, утворюючи в ній пори, а специфічно і дуже ефективно розпізнає на поверхні бактеріальної мембрани потрібне йому з'єднання – мішень. Такою специфічною мішенню є молекули ліпиду-II. Ліпід-II необхідний для синтезу клітинної стінки. Мігруючи між внутрішньою і зовнішньою поверхнями мембрани, ліпід-II підносить до клітинної стінки потрібні для її будівництва компоненти.

Молекула ліпиду-II складається з невеликого пептидного фрагмента і довгого гідрофобного хвоста, який «заякорює» цю молекулу в цитоплазматичній мембрані. Тобто молекула своєю голівкою взаємодіє з полярними групами ліпідів, а її гідрофобний хвіст знаходиться в товщі мембрани. Молекули лантибіотика зв'язуються з ліпідом-II і блокують його функціонування. Внаслідок порушення роботи ліпиду-II бактерія гине, оскільки вона більше не може синтезувати свою клітинну стінку і стає беззахисною [7]. За високих концентрацій нізину пори можуть формуватись і за відсутності ліпиду-II [29].

Механізм дії нізину на чутливі клітини показано на рисунку 2. На початковому етапі, нізин зв'язується з подвійним фосфорним залишком ліпиду-II. В результаті такої взаємодії С-термінальна частина молекули нізину переноситься через мембрану і опиняється на її внутрішній стороні. На даному етапі для реалізації механізму дії найголовнішою є мобільність між кластерами А, В, С, і D, Е в молекулі нізину. Така взаємодія нізину з ліпідом-II стабілізує орієнтацію трансмембранного пептиду, що призводить до утворення стабільної пори 2 нм в діаметрі. У формуванні однієї пори беруть участь вісім молекул нізину і чотири молекули ліпиду-II.

Різні рівні бактеріальної чутливості до нізину залежать від концентрації ліпиду-II в мембрані. Відомо, що в *Micrococcus flavus* вміст ліпиду-II в мембрані становить 1×10^5 молекул на клітину, тоді як у *E. coli* він значно нижчий – 2×10^3 молекул.

Бактеріоциногенні МКБ мають відповідний механізм захисту від негативної дії бактеріоцинів на власні клітини. Він полягає в експресії генів, які кодують відповідні протекторні білки. Чутливість продуцента до антимікробних пептидів залежить від того, у якій кількості вони утворюються. Захисні білки дуже варіативні – різні імунні білки можуть відповідати майже ідентичним антимікробним пептидам [7].

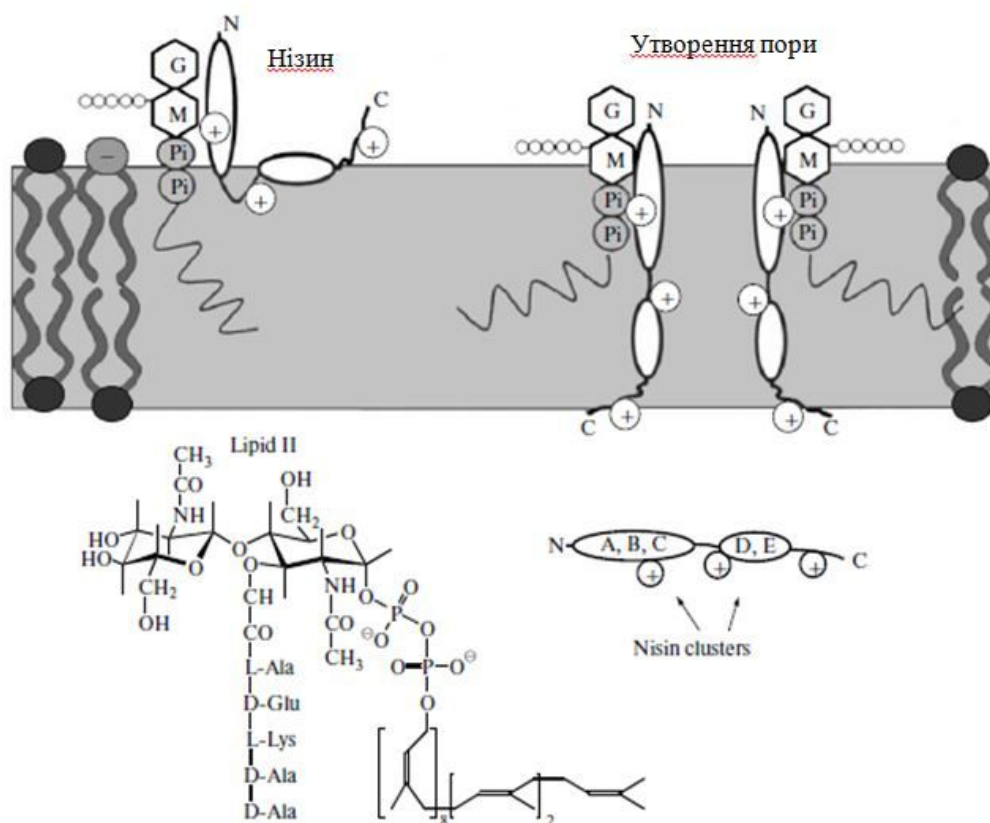


Рис. 2. Модель ліпід-II-залежного механізму утворення пор у мембрані.
G – глутамін-N-ацетилглюкозамін;
M – пентапептид-N-ацетилмурамова кислота

Захисним білком від токсичної дії нізину на штам-продуцент є NisI. Цей білок має ліпопротеїнову сигнальну послідовність, кодовану геном *nisI*, що входить до складу нізин-синтезуючого оперону. Білок NisI прикріплюється до зовнішньої поверхні мембрани продуцента, де зв'язує нізин, зменшуючи його локальну концентрацію [29].

Завдяки безпечності для організму людини і тварин, МКБ та їх антибактеріальні метаболіти використовуються у багатьох сферах людської діяльності. На самперед це – заквашувальні препарати для виробництва ферментованих молочних, м'ясних і рослинних продуктів харчування, для силосування кормів. Підбір культур до складу заквашувальних препаратів здійснюється за сукупністю критеріїв, серед яких вагоме місце посідають антимікробні властивості штамів-компонентів і їх композиції загалом. Це дозволяє отримати безпечний цільовий продукт з бажаними властивостями.

Важливою сферою застосування лактобактерій є фармацевтика. Термін «пробіотики» нині відомий навіть далеким від медицини і біології людям. ВООЗ визначила пробіотичні бактерії як «живі мікроорганізми, які при введенні у достатніх кількостях корисні для здоров'я хазяїна». Пробіотичні мікроорганізми колонізують шлунково-кишковий тракт хазяїна і, тим самим, забезпечують тривалий профілактичний чи лікувальний ефект. До найбільш перспективних комерційних пробіотиків належать види МКБ роду *Lactobacillus*: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus* [30].

Нині, у зв'язку зі зростанням антибіотикостійкості патогенних бактерій та через необхідність зниження матеріальних витрат на лікування бактеріальних і інфекційних захворювань, пробіотики розглядають як альтернативу антибіотикам [31].

Також МКБ використовують для промислового одержання ряду хімічних речовин. Зокрема, біотехнологічне виробництво молочної кислоти дає змогу знизити вплив нафтохімічного забруднення на довкілля [32].

Висновки

Основними низькомолекулярними антимікробними метаболітами МКБ є органічні кислоти (насамперед молочна та оцтова), гідроген пероксид, діацетил, реутерін, піролідин-5-карбонова кислота; високомолекулярними – бактеріоцини. Здатність до синтезу цих сполук визначає спектр та інтенсивність антимікробного впливу МКБ.

Кожному метаболіту притаманний свій механізм дії. Зокрема біоцидна дія органічних кислот полягає у здатності проникати крізь клітинну стінку кислочутливих бактерій, що призводить до зростання градієнту рН між клітиною і довкіллям. Вплив гідрогену пероксиду пов'язаний з незворотнім окисненням білків, ліпідів та нуклеїнових кислот бактерій. Реутерін і діацетил блокують роботу певних ферментів. Антимікробна дія лантибіотиків полягає у зв'язуванні з ліпідом-II та блокуванні синтезу пептидоглікану чутливих бактерій, а також у розсіюванні трансмембранного протонного потенціалу внаслідок формування пор у мембранах бактеріальних клітин.

Завдяки статусу GRAS і здатності утворювати спектр метаболітів із цінними властивостями лактобактерії та їх антимікробні метаболіти широко використовують для потреб людини в таких галузях як харчова, фармацевтична, легка промисловість, тваринництво та ін.

Література

1. Mohanty J.N., Das P.K., Nanda S., Nayak P. and Pradhan P. Comparative analysis of crude and pure lactic acid produced by *Lactobacillus fermentum* and its inhibitory effects on spoilage bacteria // The Pharma Innovation Journal 2015. – № 3(11). – Pp. 38-42.
2. Ewadh M., Hasan H. Antibacterial activity of 2-(2-Hydroxy phenylimino) acetic acid // Adv. Life Sci. Technol. – 2002. – Vol. 11. – № 7. – Pp. 245- 463.
3. Linley E., Denyer S. P., McDonnell G. Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action // J. Antimicrobiol. Chem. – 2012. – Vol. 67. – № 10. – Pp. 1589-1596.
4. Casarotti S., Barretto A. L. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications // Food Eng. Rev. – 2012. – Vol. 4. – № 3. – Pp. 124-140.
5. Cleusix V., Lacroix C. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria // Food Eng. Rev. – 2007. – Vol. 7. – № 7. – Pp. 101–108.
6. De Vuyst L., Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 2007. – № 13(4). – Pp. 194-199.
7. Stoyanova L. G., Ustyugova E. A. Antibacterial metabolites of Lactic acid bacteria: Their diversity and properties //Appl. Bioch. Microbiol. – 2012. – Vol. 48. – № 3. – P. 229-243.
8. Yildirim Z., Yildirim M., Johnson M.G. Mode of action of lactococcin R produced by *Lactococcus lactis* // Nahrung. – 2004. – Vol. 48. – № 2. – Pp. 145-148.
9. Lucy H., Deegana, P., Cotter D. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension // Int. Dairy J. – 2006. – № 7. – Pp. 1058-1071.
10. Zacharof M.P., Lovitt R.W. Bacteriocins produced by Lactic acid bacteria: A Review article // Sci. – 2012. – Vol. 7–8. – № 8. – Pp. 50–56.
11. Conor A. J., O'Byrne R. Inhibition of *Escherichia coli* growth by acetic acid: a problem with methionine biosynthesis and homocysteine toxicity// Microbiol. – 2002. – Vol. 148. – № 7. – Pp. 2215-2222.

12. Wang C., Chang T., Yang H., Cui M. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* // Food Control. – 2015. – Volume 47. – Pp. 231-236.
13. Halstead F. D., Rauf M. The Antibacterial activity of acetic acid against biofilm-producing pathogens of relevance to burns patients // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 9. – № 3. – Pp. 1-15.
14. Коцюмбас І.Я., Кушнір В.І. Якісний та кількісний склад органічних кислот препарату «Біовір» // Серія «Ветеринарна медицина». – 2015. – Vol. 7(37). – Pp. 163-165.
15. Rode T.M., Moretro T. Responses of Staphylococcus aureus exposed to HCl and organic acid stress // Can J. Microbiol. – 2010. – Vol. 9. – № 8. – Pp. 777-792.
16. Varadarajan S., Miller D.J. Catalytic upgrading of fermentation-derived organic acids // Biotechnol Progr 1999. – № 15. – Pp. 845-854.
17. Åkerberg C., Zacchi G. An economic evaluation of the fermentative production of lactic acid from wheat flour // Bioresour Technol. – 2000. – № 75. – Pp.119-126.
18. DRUGS & MEDICATIONS [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.webmd.com/drugs/2/drug-64136-762/lactic-acidtopical/keratolyticemollients_topical/details.
19. Vedomuthu E.R. The Dairy Leuconostoc: Use in Dairy Products // Journal of Dairy Science. – 1994. – Vol. 77. – № 9. – P. 2725-2737.
20. Jay J. M. Antimicrobial properties of diacetyl // Appl Environ Microbiol. – 1982. – № 44(3). – Pp. 525-532.
21. Russell N.J., Gould G.W. Food preservatives: Diacetyl, reuterin // Kluwer Acad. – 2003. – Vol. 4. – № 5. – Pp. 294- 295.
22. Langa_S., Martín-Cabrejas I., Montiel R., Á. Peirotén, Arqués J.L., Medina M. Protective effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in semi-hard cheese // Food Control. Vol. – 84. – 2016. – Pp. 28-289.
23. Kuleaşan H., Lütfü Çakmakçı M. Effect of reuterin, produced by *Lactobacillus reuteri* on the surface of sausages to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. // Food / Nahrung. 2002. –Vol. 46. – № 6.
24. Zubko E.I., Zubko M. K. Co-operative inhibitory effects of hydrogen peroxide and iodine against bacterial and yeast species // BMC Res. Notes. – 2013. – Vol. 6. – № 2. – Pp. 1–7.
25. McDonnell G., Grignol G., Antloga K. Vapor-phase hydrogen peroxide decontamination of food contact surfaces // Dairy Food Envir. Sanit. – 2002. –Vol. 22. – № 8. – Pp. 868-873.
26. Meszaros J.E., Antloga K., Justi C. Area fumigation with hydrogen peroxide vapor // Appl. Biosaf. – 2005. – Vol. 10. – № 9. – Pp. 91-100.
27. Heckert R.A., Best M., Jordan L.T. Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses // Appl. Envir. Microbiol. – 1997. – Vol. 63. – № 17. – Pp. 3916-3924.
28. Breukink E., de Kruijff B. Lipid II as a target for antibiotics. Nat. Rev. Drug Discov. –2006. – Vol. 5(4). – Pp. 321-332.
29. Beasley S., Saris E. Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from human milk //Appl. Envir. Microbiol. – 2003. – Vol. 70. – № 5. – Pp. 5051-5053.
30. Ljungh A., Wadström T. Lactic acid bacteria as probiotics // Curr. Issues Intest. Microbiol. 2006. – Vol. 7(2). – Pp. 73-89.
31. Joerger R.D. Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages // Poult. Sci. 2003. – Vol. 82. – № 4. – Pp. 640-647.
32. Florou-Paneri P., Christaki I. Lactic acid bacteria as source of functional ingredients // Intech. – 2013. – Vol. 25. – № 9. – Pp. 590-614.