

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК МИКРОБИОТЫ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Екатерина Германовна Лазарева, канд. техн. наук, младший научный сотрудник

Дарья Дмитриевна Коваль, младший научный сотрудник

Алексей Владимирович Хан, младший научный сотрудник

E-mail: a_khan@vnimi.org

Олег Юрьевич Фоменко, канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, г. Москва

Микробиота молока и молочных продуктов играет ключевую роль в формировании их качества, безопасности и аутентичности. Современные молекулярно-генетические методы позволяют проводить детальный анализ данной микробиоты, однако эффективность этих исследований во многом зависит от качества выделенной ДНК. Высокое содержание жиров, белков и других ингибиторов экстракции затрудняет процесс выделения ДНК, что требует подбора оптимальных методов экстракции и очистки. Целью работы являлась систематизация современных методов выделения ДНК из микробиоты молочных продуктов, оценка их эффективности, выявление основных ограничений, связанных с молочной матрицей, и выделение наиболее перспективных подходов к экстракции. Обзор основан на анализе публикаций, представленных в базах данных Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, Web of Science и eLIBRARY.RU за период 2010–2024 гг. Для обеспечения комплексного анализа были рассмотрены как теоретические, так и экспериментальные работы, включая сравнительные исследования различных методов экстракции. Рассмотрены основные группы методов экстракции: химические, ферментативные, механические и сорбционные, в том числе их комбинированные варианты. Особое внимание уделено влиянию компонентов молока (липидов, белков, кальция) на чистоту и выход ДНК. Приведены стратегии минимизации ингибирования полимеразных реакций, включая применение органических растворителей, силика-колонок и магнитных сорбентов. Наиболее перспективной является разработка универсальных и экономически оправданных протоколов, сочетающих эффективность и воспроизводимость, что расширит возможности их применения в пищевой биотехнологии и контроле качества молочных продуктов.

Ключевые слова: ДНК, молоко, молочные продукты, микробиота молока, ПЦР-анализ

Для цитирования: Методы выделения ДНК микробиоты молочных продуктов / Е. Г. Лазарева, Д. Д. Коваль, А. В. Хан, О. Ю. Фоменко // Молочная промышленность. 2025. № 4. С. 32–37. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-4-49>

ВВЕДЕНИЕ

Молоко представляет собой уникальную биологическую матрицу, обладающую высокой пищевой ценностью и специфическими органолептическими свойствами, которые делают его не только важным продуктом питания, но и ключевым объектом научных исследований [1]. Молоко служит основой для производства широкого ассортимента как традиционных (сыр, творог, сметана, йогурт, кефир и др.), так и специализированных и функциональных продуктов¹ [2].

Важной характеристикой молока является его микробиота, которая включает в себя широкий спектр микроорганизмов: молочнокислые бактерии, бифидобактерии, дрожжи и т. д. Микроорганизмы определяют не только биологические свойства молока, но и его технологические характеристики, влияя на процессы ферментации, вкус и реологические свойства продуктов [3, 4]. Изучение микробиоты позволяет понять ее влияние

на качество продукции, а также разработать эффективные подходы для улучшения производственных процессов, мониторинга соответствия стандартам качества и безопасности и создания функциональных продуктов с пробиотическими свойствами [5].

В настоящее время для изучения микробиоты молока на замену традиционным культуральным методам приходят современные молекулярно-генетические подходы. Методы метагеномного секвенирования, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), полимеразной цепной реакции (ПЦР) и количественной ПЦР (qPCR) позволяют детально изучать состав и функции микробного сообщества [6].

Одним из ключевых этапов молекулярно-генетического анализа микробиоты является выделение и исследование ДНК микроорганизмов, что играет важную роль в обеспечении достоверности получаемых данных. Качество выделенной ДНК

¹Харитонов, В. Д. Актуальные пути повышения качества и безопасности молока / В. Д. Харитонов, Е. Ю. Агаркова, В. Г. Будрик // Переработка молока. 2010. № 10(132). С. 26–27. <https://elibrary.ru/vifrq>



Источник изображения: freepik.com

влияет на точность идентификации таксонов, изучение функционального потенциала микробиоты и возможности ее использования в пищевой биотехнологии [7]. Особое значение данный аспект имеет при анализе пробиотических штаммов, обладающих полезными свойствами, а также при мониторинге потенциально патогенных микроорганизмов, способных оказывать влияние на безопасность молочных продуктов. Секвенирование ДНК позволяет не только идентифицировать состав микробиоты, но и изучать генные профили, определяющие метаболические свойства микроорганизмов, их устойчивость к факторам окружающей среды и способность к синтезу биологически активных соединений.

Процесс экстракции ДНК из микробиоты молока осложняется уникальными свойствами молочной матрицы. Высокое содержание жиров, белков и углеводов создает препятствия для эффективного выделения ДНК, т. к. эти компоненты могут выступать ингибиторами экстракции [8]. Более того, денатурированные белки, образующиеся в результате термической обработки молока, часто образуют устойчивые комплексы с ДНК, затрудняя ее выделение.

Следовательно, актуальным является вопрос выбора эффективных протоколов выделения ДНК с учетом влияния состава исходной матрицы. Исследования показывают, что используемый метод экстракции оказывает значительное влияние на точность и воспроизводимость данных анализа микробиоты. Например, E. Ganda et al. подчеркивают, что оптимизация протоколов экстракции позволяет не только увеличить выход ДНК, но и улучшить идентификацию редких таксонов [9]. J. A. Schwenker et al. отмечают, что эффективность метода определяется не только его способностью выделять ДНК, но и минимизацией контаминации или потерь материала [10].

Целью настоящего обзора являлась систематизация современных методов экстракции ДНК из микробиоты молочных продуктов, анализ их преимуществ и ограничений, а также оценка факторов, связанных с особенностями физико-химических свойств молочной матрицы, влияющих на выбор оптимального подхода.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящий обзор носит систематический характер и направлен на структурированный анализ существующих методов экстракции ДНК из микробиоты молочных продуктов. Для сбора и отбора литературных данных использовались специализированные научные базы данных, такие как Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, Web of Science и eLIBRARY.RU. Основное внимание уделялось публикациям, содержащим информацию о современных методах выделения ДНК, их эффективности, а также проблемах, связанных с влиянием компонентов молочной матрицы на качество экстрагированного материала. Поиск научных публикаций проводился по ключевым словам на русском и английском языках, включая «выделение ДНК микробиоты молока», «экстракция бактериальной ДНК из молочных продуктов», «метагеномный анализ молочных продуктов», «ингибиторы ПЦР в молочных матрицах», «силика-колонки для выделения ДНК из молока» и аналогичные термины. Для анализа отбирались статьи, опубликованные в период с 2010 по 2024 гг., за исключением классических работ, имеющих фундаментальное значение для рассматриваемой тематики. При отборе публикаций учитывалась их релевантность, приоритет отдавался работам, описывающим валидированные методики выделения ДНК, позволяющие минимизировать влияние ингибиторов, характерных для молочной продукции. Исключались неполные описания методов, краткие сводки и исследования, не относящиеся к объекту настоящего обзора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основные подходы к экстракции ДНК из молочных продуктов. Эффективность выделения ДНК из молочных продуктов зависит от множества факторов, включая сложный химический состав молока, наличие ингибиторов, таких как жиры и кальций, а также низкую концентрацию бактериальной ДНК. Данные аспекты диктуют необходимость выбора подходящих методов экстракции, которые могут обеспечить высокий выход и чистоту ДНК, делающей ее пригодной для дальнейшего анализа.

Современные протоколы экстракции ДНК можно разделить на два этапа: лизис образцов и последующая очистка ДНК от примесей.

Химические методы лизиса образцов включают в себя использование различных хаотропных агентов, таких как соли гуанидина, додецилсульфат натрия и цетилтриметиламмоний бромид, для разрушения клеток и освобождения ДНК. Преимуществом данных методов является высокая эффективность, однако имеются такие недостатки, как длительность экстракции и необходимость работы с токсичными веществами [11–13].

Ферментативные методы основаны на применении исследуемых образцов таких ферментов, как протеиназа К, лизоцим или липаза, для разрушения клеточных стенок на этапе лизиса. Основным преимуществом подхода является мягкое воздействие на молекулы ДНК, т. е. отсутствие агрессивных условий (например, высокой температуры или сильных реагентов) и избирательность воздействия на целевые элементы, такие как белки или клеточные стенки, что минимизирует деградацию нуклеиновых кислот. Недостатком ферментативного метода экстракции ДНК является длительность процесса [14].

Механические методы, в частности «bead beating» (механическое разрушение клеток с помощью шариков) или ультразвуковая обработка, эффективны для разрушения клеточных стенок микроорганизмов. Они особенно полезны для работы с образцами, где другие методы оказываются недостаточно эффективными, например, при выделении ДНК из микроорганизмов клеток с толстыми или прочными клеточными стенками. Однако применение таких методов часто связано с риском фрагментации ДНК, что может ограничивать их использование в исследованиях, требующих высокой степени целостности генетического материала [15].

Сорбционные методы очистки включают использование кремниевых сорбентов, которые также могут входить в состав силика-колонок и магнитных частиц, и анионообменных смол, которые связывают ДНК в специфических условиях.

Впервые применять частицы кремнезема для сорбции ДНК в присутствии хаотропной соли было предложено B. Vogelstein и D. Gillespie в 1979 г. [16]. В многочисленных модификациях этот метод широко применяется по сей день, в том числе при работе с клиническим материалом. Все эти вариации основаны на сорбировании ДНК из раствора при определенных значениях ионной силы для предотвращения потери целевых молекул в ходе отмычки получаемого препарата от разного рода примесей.

Силика-колонки обеспечивают связывание ДНК с кремнеземной матрицей в присутствии гуанидиневых солей. Данный процесс эффективен для удаления белков и полисахаридов, а также подходит для работы с различными типами молочных продуктов. Преимуществами метода являются простота использования, высокая степень очистки и воспроизводимость, однако присутствие ингибиторов ПЦР может потребовать дополнительных этапов подготовки образцов [17–20].

Магнитные частицы представляют собой современный подход к экстракции ДНК, основанный на использовании магнитных сорбентов с модифицированной поверхностью, связывающих молекулы ДНК. Преимуществами метода являются возможность внедрения высокого уровня автоматизации процесса выделения и минимальный риск перекрестной контаминации. Магнитные частицы позволяют эффективно удалять ингибиторы ПЦР, но стоимость таких протоколов выделения может быть выше по сравнению с традиционными методами [21].

Анионообменные смолы используются для удаления ингибиторов ПЦР за счет электростатического взаимодействия между отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК и положительно заряженной поверхностью смолы [22]. Применение смол особенно полезно при работе с жирными и / или богатыми белками матрицами, например, в молочных продуктах, что позволяет получать ДНК высокого качества для молекулярных исследований. Тем не менее данный метод имеет ряд недостатков: выделенная ДНК зачастую недостаточно очищена, что может влиять



Источник изображения: freepik.com

на точность последующего анализа; качество и выход ДНК варьируются в зависимости от условий экстракции; выделенная ДНК нестабильна и может быть неподходящей для определенных анализов.

Классическим методом очистки ДНК, позволяющим получать препараты высокой степени чистоты, является применение органических растворителей, таких как фенол-хлороформ [23].

На практике наиболее часто применяются комбинированные методы, позволяющие объединить преимущества различных подходов для повышения эффективности экстракции ДНК. Например, L. A. Quigley et al. [24] продемонстрировали, что последовательное применение механического и ферментативного лизиса приводит к увеличению выхода ДНК и улучшению качества экстракта, что критически важно при работе с матрицами, богатыми ингибиторами, такими как молочные продукты. Подобный подход также подтверждается в исследовании A. Siebert et al. [25], где комбинированное применение методов (механическое разрушение клеток и дополнительная ферментативная обработка) позволило не только снизить содержание ингибиторов, но и обеспечить достаточную репрезентативность бактериальной популяции для последующего секвенирования. Кроме того, работа Z. Xue et al. [26] показывает, что интеграция мягкого механического воздействия с протеолитической обработкой способствует сохранению целостности нуклеиновых кислот, что особенно актуально для анализа сложных пищевых матриц.

Влияние характеристик молочной матрицы

на эффективность экстракции ДНК. Высокое содержание липидов в молоке способствует образованию устойчивых эмульсий, затрудняющих разрушение клеток и выделение ДНК. Исследования G. Kour et al. [27], а также H. N. J. Shangpliang et al. [28] показали, что применение органических растворителей или детергентов, таких как SDS, позволяет эффективно разрушать липидные структуры. Однако такие методы требуют дополнительных этапов очистки для минимизации загрязнений препаратов ДНК ингибиторами.

Белки, такие как казеины и сывороточные белки, часто связывают молекулы ДНК, образуя устойчивые комплексы, которые затрудняют ее выделение. Методы с использованием протеиназы K, предложенные L. A. Quigley et al. [24], демонстрируют высокую эффективность при разрушении белковых комплексов и улучшении качества выделенной ДНК. Термическая обработка молочных продуктов, включая пастеризацию и стерилизацию, вызывает денатурацию белков, приводящую к образованию их прочных комплексов с ДНК, значительно затрудняющих выделение последней [8]. Исследование K. Mertens et al. [29] демонстрирует, что использование буферов с высоким содержанием гуанидин-тиоцианата способствует разрушению устойчивых комплексов белков с ДНК, образующихся в термически обработанных молочных продуктах. Данный подход позволяет эффективно выделять ДНК даже из сложных матриц, минимизируя ингибирование последующих ферментативных реакций и обеспечивая высокую чистоту

выделенной ДНК для молекулярных исследований. Присутствие кальция в составе казеина также оказывает значительное влияние, ингибируя ферменты, входящие в состав реакционной смеси для проведения амплификации. Предложенная A. A. Psifidi et al. [30] предварительная обработка этилендиаминетрауксусной кислотой хелатирует кальций, вследствие чего улучшает эффективность экстракции и последующей амплификации ДНК.

Сложные матрицы, такие как сыр, представляют собой особую задачу в экстракции ДНК из-за высокой концентрации в них жиров и белков [24, 31], что требует применения многоступенчатых методов. Например, использование комбинации механических методов, таких как «bead beating», с химическими реагентами, включая гуанидин-тиоцианат, и ферментативной обработкой позволяет минимизировать влияние ингибиторов и увеличить чистоту выделяемой ДНК.

Дополнительные сложности создает наличие соматических клеток в молоке, особенно в случаях воспалительных процессов, таких как мастит. Соматические клетки, присутствующие в молоке, могут значительно увеличивать содержание ДНК хозяина, маскируя микробную ДНК. Для ее избирательного выделения применяются методы ферментативного удаления эукариотической ДНК или специфичные сорбенты. Применение ферментативного удаления эукариотической ДНК или методов химической селективной экстракции, как это показано в исследовании A. Siebert et al. [25], позволяет минимизировать данный эффект.

Таким образом, выбор метода экстракции ДНК из молочной матрицы должен основываться на ее физико-химических свойствах, чтобы обеспечить получение высококачественного материала для проведения молекулярно-генетического анализа. Оптимизация протоколов и использование комбинированных подходов являются ключом к успешному выделению ДНК.

ВЫВОДЫ

Экстракция ДНК из молока остается вызовом, поскольку требует учета специфических особенностей молочной матрицы, технологической обработки продукта и конечных целей анализа. На данный момент ни один метод не способен охватить все варианты образцов, что подчеркивает необходимость разработки адаптируемых протоколов, способных компенсировать влияние ингибиторов и варьирующиеся параметры исходного материала. При этом комбинированные подходы, использующие синергетический эффект механического, ферментативного и сорбционного лизиса, демонстрируют наибольшую перспективность, поскольку позволяют обеспечить более высокую репрезентативность и чистоту выделенной ДНК. В будущем развитие методик должно быть направлено на создание универсальных, экономичных и легко автоматизируемых решений, что не только повысит точность молекулярного анализа микробиоты, но и расширит возможности применения данных методов в промышленном контроле качества и разработке новых функциональных продуктов. ■

Поступила в редакцию: 12.02.2025

Принята в печать: 16.06.2025

METHODS FOR ISOLATING DNA FROM DAIRY MICROBIOTA

Ekaterina G. Lazareva, Darya D. Koval, Aleksey V. Khan, Oleg Yu. Fomenko

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow

REVIEW ARTICLE

DNA tests of dairy microbiota make it possible to assess the quality, safety, and authenticity of dairy products. Advanced though they are, modern molecular genetic methods largely depend on the quality of the extracted DNA. Dairy matrices are rich in lipids, proteins, and other inhibitors that complicate the DNA extraction. As a result, it is of greatest importance to select the optimal methods of DNA isolation and purification for each particular case. This article is a review of the DNA extraction methods applied to dairy microbiota. The authors evaluated their efficiency and major matrix-related limitations to select those with the best prospects for the dairy industry. The review covered theoretical, experimental, and comparative studies reported in Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, Web of Science, and eLibrary in 2010–2024. The main DNA extraction approaches can be classified as chemical, enzymatic, mechanical, and sorption-based; they can be used in combinations. Lipids, proteins, and calcium affect the DNA purity and yield. To minimize the PCR inhibition, scientists recommend to use organic solvents, silica columns, and magnetic sorbents. The existing extraction methods are constantly modernized to enhance their accuracy. New universal, cost-effective, and reproducible protocols provide reliable results in food biotechnology and dairy quality control.

Keywords: DNA, milk, dairy products, milk microbiota, PCR test

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Новикова, И. С.** Сравнение развития ассоциации молочнокислых бактерий при росте на молоке различных сельскохозяйственных животных / И. С. Новикова, А. В. Бегунова // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам. Том 2. Вологда-Молочное: Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н. В. Верещагина, 2021. С. 270–273. <https://www.elibrary.ru/46488579>
2. **Залисская, Е. В.** Сравнение методов определения антиоксидантной активности в продукте, выработанном на закваске природной ассоциации микроорганизмов / Е. В. Залисская // Пищевая промышленность. 2021. № 5. С. 8–12. <https://doi.org/10.52653/PP1.2021.5.5.001>; <https://elibrary.ru/xctnpp>
3. **Семенихина, В. Ф.** Влияние микрофлоры на качество творога / В. Ф. Семенихина [и др.] // Молочная промышленность. 2016. № 3. С. 51–53. <https://elibrary.ru/vmbqtpt>
4. **Rakib, M. R. H.** Starter Cultures Used in the Production of Probiotic Dairy Products and Their Potential Applications: A Review / M. R. H. Rakib [et al.] // Chemical and Biomolecular Engineering. 2017. Vol. 2(2). P. 83–89. <https://doi.org/10.11648/j.cbe.20170202.12>
5. **Рожкова, И. В.** Развитие микробиологии кисломолочных продуктов, в том числе с пробиотическими свойствами / И. В. Рожкова, В. Ф. Семенихина, А. В. Бегунова // Идеи академика Владимира Дмитриевича Харитонова в научно-технических технологиях переработки молока. М.: Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, 2021. С. 227–242. <https://elibrary.ru/qxmtak>
6. **Vandera, E.** Approaches for enhancing *in situ* detection of enterocin genes in thermized milk, and selective isolation of enterocin-producing *Enterococcus faecium* from Baird-Parker agar / E. Vandera [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2018. Vol. 281. P. 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.020>
7. **Cremonesi, P.** Bovine Milk Microbiota: Comparison among Three Different DNA Extraction Protocols To Identify a Better Approach for Bacterial Analysis / P. Cremonesi [et al.] // Microbiology Spectrum. 2021. Vol. 9(2). e0037421. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00374-21>
8. **Hedman, J.** Overcoming inhibition in real-time diagnostic PCR / J. Hedman [et al.] // Methods in Molecular Biology. 2013. Vol. 943. P. 17–48. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-353-4_2
9. **Ganda, E.** DNA extraction and host depletion methods significantly impact and potentially bias bacterial detection in a biological fluid / E. Ganda [et al.] // mSystems. 2021. Vol. 6(3). e0061921. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00619-21>
10. **Schwenker, J. A.** Bovine milk microbiota: Evaluation of different DNA extraction protocols for challenging samples / J. A. Schwenker [et al.] // Microbiology Open. 2022. Vol. 11(2). e1275. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1275>
11. **Yegin, Z.** A metagenomic survey of bacterial communities from kurut: The fermented cow milk in Kyrgyzstan / Z. Yegin [et al.] // Chemistry & Biodiversity. 2024. Vol. 21(2). e202301374. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301374>
12. **Natarajan, V. P.** A Modified SDS-Based DNA Extraction Method for High Quality Environmental DNA from Seafloor Environments / V. P. Natarajan [et al.] // Frontiers in microbiology. 2016. Vol. 7: 986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00986>
13. **Minas, K.** Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures / K. Minas [et al.] // FEMS Microbiology Letters. 2011. Vol. 325(2). P. 162–169. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02424.x>
14. **Breitenwieser, F.** Complementary Use of Cultivation and High-Throughput Amplicon Sequencing Reveals High Biodiversity Within Raw Milk Microbiota / F. Breitenwieser [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2020. Vol. 11. 1557. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01557>
15. **Gapp, C.** Serial fermentation in milk generates functionally diverse community lineages with different degrees of structure stabilization / C. Gapp [et al.] // mSystems. 2024. Vol. 9(8). e00445-24. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00445-24>
16. **Капустин, Д. В.** Высокоэффективный метод одностадийного выделения ДНК для ПЦР-диагностики *Mycobacterium tuberculosis* / Д. В. Капустин [и др.] // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2014. Т. 6. № 2(21). С. 52–57. <https://elibrary.ru/slbnmrz>
17. **Demirci, T.** A metagenomic approach to homemade back-slopped yogurts produced in mountainous villages of Turkey with the potential next-generation probiotics / T. Demirci [et al.] // LWT - Food Science and Technology. 2022. Vol. 154. 112860. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112860>
18. **Biolcati, F.** High-throughput sequencing approach to investigate Italian artisanal cheese production / F. Biolcati [et al.] // Journal of Dairy Science. 2020. Vol. 103(11). P. 10015–10021. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18208>
19. **Porcellato, D.** Viable cells differentiation improves microbial dynamics study of fermented milks / D. Porcellato [et al.] // International Dairy Journal. 2015. Vol. 47. P. 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.03.006>
20. **Du, B.** Impacts of Milking and Housing Environment on Milk Microbiota / B. Du [et al.] // Animals. 2020. Vol. 10(12). 2339. <https://doi.org/10.3390/ani10122339>
21. **Xue, Z.** Impact of DNA Sequencing and Analysis Methods on 16S rRNA Gene Bacterial Community Analysis of Dairy Products / Z. Xue, M. E. Kable, M. L. Merco // mSphere. 2018. Vol. 3(5). e00410-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00410-18>
22. **Cissé, H.** Molecular characterization of *Bacillus*, lactic acid bacteria and yeast as potential probiotic isolated from fermented food / H. Cissé [et al.] // Scientific African. 2019. Vol. 6. e00175. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00175>
23. **Sultana, R.** Assessment of bacterial composition of locally processed back-slopped yogurt through next-generation sequencing / R. Sultana [et al.] // Pakistan Journal of Zoology. 2023. Vol. 55(6). 2723. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2022061900617>
24. **Quigley, L.** A comparison of methods used to extract bacterial DNA from raw milk and raw milk cheese / L. Quigley [et al.] // Journal of Applied Microbiology. 2012. Vol. 113(1). P. 96–105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05294.x>
25. **Siebert, A.** Amplicon-sequencing of raw milk microbiota: impact of DNA extraction and library-PCR / A. Siebert [et al.] // Applied Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 105. P. 4761–4773. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11353-4>
26. **Xue, Z.** Improved assessments of bulk milk microbiota composition via sample preparation and DNA extraction methods / Z. Xue [et al.] // PLoS ONE. 2022. Vol. 17(9). e0267992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267992>
27. **Kour, G.** A simple modification in the DNA extraction process to extract good quality bacterial DNA from milk / G. Kour [et al.] // Indian Journal of Animal Sciences. 2020. Vol. 90(4). P. 525–529. <https://doi.org/10.56093/ijans.v90i4.104187>
28. **Shangpliang, H. N. J.** Bacterial community in naturally fermented milk products of Arunachal Pradesh and Sikkim of India analysed by high-throughput amplicon sequencing / H. N. J. Shangpliang [et al.] // Scientific Reports. 2018. Vol. 8(1). 1532. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19524-6>
29. **Mertens, K.** Comparative evaluation of eleven commercial DNA extraction kits for real-time PCR detection of *Bacillus anthracis* spores in spiked dairy samples / K. Mertens [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2014. Vol. 170. P. 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.009>
30. **Psifidi, A.** A comparison of six methods for genomic DNA extraction suitable for PCR-based genotyping applications using ovine milk samples / A. Psifidi [et al.] // Molecular and Cellular Probes. 2010. Vol. 24(2). P. 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2009.11.001>
31. **Markusková, B.** Impact of DNA extraction methods on 16S rRNA-based profiling of bacterial communities in cheese / B. Markusková [et al.] // Journal of Microbiological Methods. 2021. Vol. 184. 106210. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106210>