

**Н.К. Черно**, д-р техн. наук (ОНАХТ, Одеса)

**К.І. Шапкіна**, асп. (ОНАХТ, Одеса)

**О.В. Коваленко**, канд. техн. наук (ТОВ НВП «Ариадна», Одеса)

## **СПОСІБ ОТРИМАННЯ БЕТА-ГЛЮКАНУ КЛІТИННИХ СТІНОК ДРІЖДЖІВ РОДУ *SACCHAROMYCESS CEREVISIE***

*Розроблено простий у застосуванні та економічно вигідний спосіб отримання  $\beta$ -глюкану клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* та надано характеристику отриманому продукту.*

*Разработан простой в применении и экономически выгодный способ получения  $\beta$ -глюкана клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и дана характеристика полученного продукта.*

*Developed a method for  $\beta$ -glucan content of the cell walls of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, which is easy to use and cost effective. The characteristics of the resulting purged.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** За останні десятиліття екологічна ситуація в Україні значно погіршилась. Це зумовлено наслідками аварії на ЧАЕС, накопиченням у навколишньому середовищі викиди з автомобілів, а також промислових токсинів і отрутохімікатів. Дана ситуація призвела до різкого збільшення кількості людей зі зниженою функцією імунної системи та хворих на онкологічні захворювання. У зв'язку з цим, актуальним є створення препаратів, які мають імуномодулюючу, протипухлинну та радіопротекторну властивості. Одним із таких препаратів є  $\beta$ -глюкан. Він широко використовується за кордоном як мультимодальний імуномодулятор біологічної активності організму людини під час лікування онкологічних захворювань, гіпертонічної хвороби, для зниження рівня холестерину у крові, алергії, профілактики гіперглікемії у разі цукрового діабету [1]. В Україні виробництво  $\beta$ -глюканів відсутнє.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Бета-глюкан являє собою полісахарид, який присутній у клітинних стінках різних рослин, водоростей, мікроорганізмів і грибів [2]. Цей біополімер проявляє широкий спектр фізіологічних властивостей. В основі його біологічної активності лежить, насамперед, імуномодулююча. Він активує імунну відповідь через клітини, звані макрофагами, викликаючи потужну біологічну реакцію, тим самим стимулює імунну систему.

Радіопротекторну дію зумовлено здатністю  $\beta$ -глюканів зв'язувати вільні радикали, а протипухлинну – появою фактора, який запускає процес фагоцитозу в клітинах пухлин [3].

Проведено клінічні дослідження кожного з  $\beta$ -глюканів та показано, що біологічна активність глюкану хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* значно вище за активність  $\beta$ -глюканів іншого походження, що пов'язано з особливістю структури полісахариду. Глюкан дріжджів являє собою сильно розгалужений нерозчинний у воді полісахарид із  $\beta$ -D-(1  $\rightarrow$  3) – і  $\beta$ -D-(1  $\rightarrow$  6) – глікозидними зв'язками [4].

У клітинних оболонках дріжджів  $\beta$ -глюкан знаходиться у внутрішньому шарі клітинної стінки, де він з'єднаний з білком, мананом і хітином (рис.1). Компоненти клітинних стінок дріжджів зв'язані (сполучаються) ковалентними зв'язками, що ускладнює отримання цього полісахариду в індивідуальному стані [5].

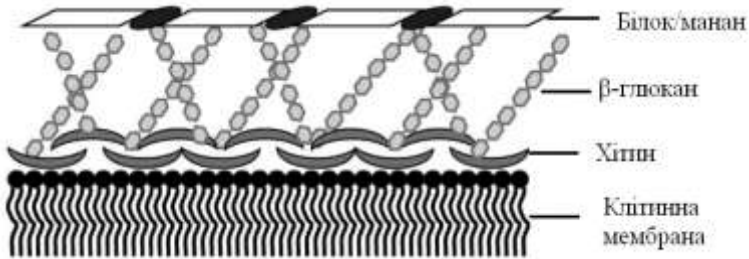


Рисунок 1 – Поперечний розріз клітинної оболонки дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*

Існують різні підходи щодо вилучення  $\beta$ -глюкану з клітинної стінки хлібопекарських дріжджів. Вони переважно засновані на руйнації клітинної оболонки шляхом механічного впливу, а саме обробкою ультразвуком із частотою 18...30 кГц та подальшою обробкою лугом чи ферментом, що руйнують супутні речовини [6]. Інші засновано на безпосередній обробці біомаси дріжджів ферментними препаратами та подальшим відмиванням цільового продукту [7]. Також у літературі описано метод отримання  $\beta$ -глюкану, який передбачає послідовну обробку дріжджів розчинами гідроксиду натрію, оцтової кислоти й ацетату натрію з наступним автоклавуванням для остаточного видалення супутніх речовин – білка, глікогену та манану [8]. Проте, ці способи мають свої недоліки, одним із них є енерговитратність виробництва. Це визначає актуальність

розробки економічного енергозберігаючого методу отримання  $\beta$ -глюкану з клітинних стінок дріжджів.

**Мета та завдання статті.** Метою статті є викладення результатів дослідження щодо розробки простого у виконанні та економічно вигідного способу отримання  $\beta$ -глюкану клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Розроблений спосіб передбачає два етапи: руйнацію клітинних оболонок та подальшу обробку реагентами для видалення супутніх глюкану речовин. Для дезінтеграції клітинних оболонок хлібопекарських дріжджів використовували розчин  $H_2O_2$  різної концентрації та варіювали співвідношення твердої і рідкої фаз, а також термін обробки. На рисунку 2а розглянуто мікрофотографії цілої дріжджової клітини, а на б – після її обробки розчином  $H_2O_2$ . Мікрофотографії зроблено за збільшенням 40 разів. Вони підтверджують, що під дією розчину  $H_2O_2$  клітинна оболонка дезінтегрує.

На наступному етапі дріжджову масу промивали дистильованою водою і центрифугували. Твердий залишок обробляли спочатку 3%-м розчином NaOH впродовж 30 хвилин за кімнатної температури, а потім 6%-м розчином NaOH упродовж 60 хвилин за температури 50...60° С із періодичним перемішуванням для видалення білка та манану, центрифугували, промивали дистильованою водою та додавали 0,1н розчин HCl до рН середовища 5,0. Далі отриманий залишок суспендували у 0,5н розчині оцтової кислоти та нагрівали до температури 75° С для видалення глікогену, промивали дистильованою водою та висушували. Отримані препарати являли собою дрібнодисперсний порошок білого кольору.

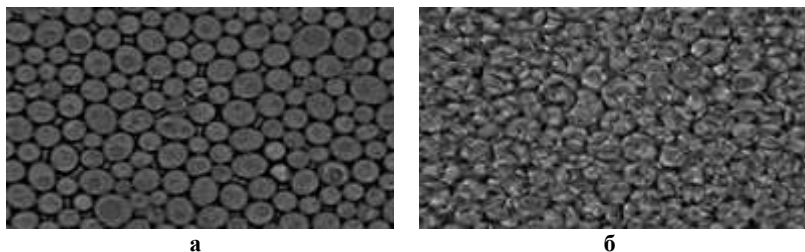


Рисунок 2 – Клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*:  
а – цілі; б – зруйновані

В отриманих препаратах визначали вміст полісахаридів і білка. Їх характеристику подано в таблиці.

Таблиця – Характеристика отриманих препаратів

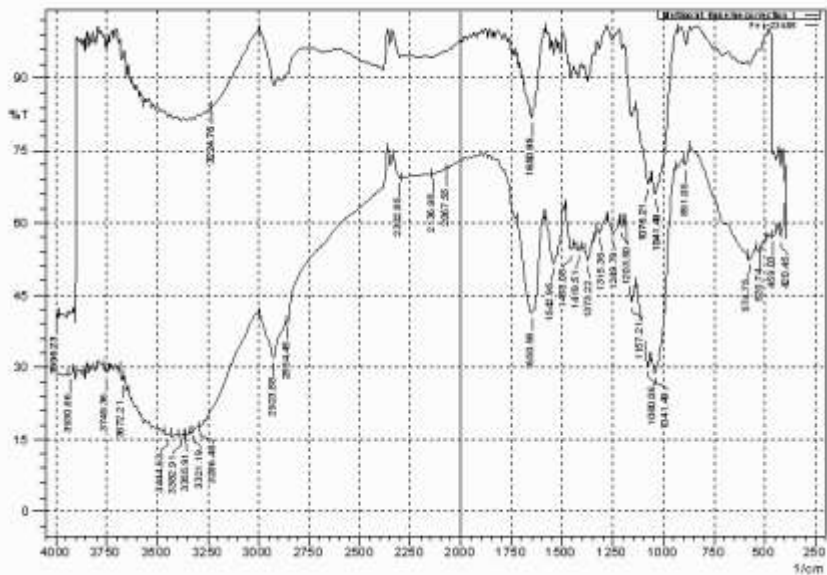
№ зразка	Умова отримання			Хімічний склад, % с.р.		Вихід препарату, % с. м. сировини
	Розчин H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , масова частка, %	Гідромодуль	Тривалість обробки, хв.	Полісахарид	Білок	
1	3	1,0:1,0	60	82,6	14,5	19,7
2	3	1,0:1,0	300	91,3	5,2	12,0
3	3	1,0:2,0	180	89,7	8,3	14,7
4	24	1,0:1,0	60	92,2	7,3	14,3
5	24	1,0:2,0	300	97,3	–	8,1
6	13,5	1,0:1,5	180	93,9	1,8	12,2

Ступінь чистоти отриманих препаратів характеризували за вмістом полісахариду, який коливався в межах від 82,6 до 97,3 %. Як свідчать наведені дані, зі збільшенням концентрації H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> спостерігається збільшення ступеня чистоти полісахариду. Проте, використання реагенту більш високої концентрації суттєво збільшує вартість цільового продукту. У зв'язку з цим, згідно з поданими даними, найбільш прийнятними умовами обробки, що забезпечують достатньо високий вихід продукту в поєднанні з його високою чистотою і низькою витратою використовуваного реагенту, є наступні: обробка дріжджів 3% розчином H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за умов співвідношення твердої і рідкої фаз 1:2 упродовж 3 годин.

Результати визначення моносахаридного складу отриманих препаратів методом паперової хроматографії свідчать, що досліджувані полісахариди побудовані виключно з залишків глюкози, тобто являють собою глюкани.

Методом ІЧ спектроскопії (рис. 3) встановлено ідентичність глюкану, отриманого даним способом і однойменного дріжджового полісахариду, виділеного класичним методом [9].

На ІЧ спектрі цих зразків присутня смуга поглинання при 890 см<sup>-1</sup>, яка характерна для β-конфігурації глікозидних зв'язків. Смуги поглинання притаманні карбонільним і карбоксильним групам, наявність яких можна було б очікувати у досліджуваному зразку, відсутні. Додатковим свідченням, що підтверджує відсутність цих груп у досліджуваному полісахариді, були негативні результати їх визначення хімічними методами [10].



**Рисунок 3 – ІЧ-спектри дріжджового  $\beta$ -глюкану, отриманого:  
1 – класичним; 2 – досліджуваним методами**

**Висновки.** Розроблено новий спосіб отримання  $\beta$ -глюкану з клітинних оболонок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae*, який відрізняється простотою виконання і дозволяє одержувати цільовий продукт із високим виходом і вмістом полісахариду.

#### *Список літератури*

1. Chen Jiezhong. Medicinal importance of fungal  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-glucans / Jiezhong Chen, Robert Seviour // *Mycological research.* – 2007. – P. 635–652.
2. Syed H. A. The world of  $\beta$ -glucans – a review of biological roles, applications and potential areas of research / H. A. Syed // *Thesis for the requirement of master of Science // Medical Biology.* – 2009. – P. 13–18.
3. Иммунотропные свойства (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-глюканов / Н. Н. Беседнова [и др.] // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2000. – № 5. – С. 37–44.
4. Vetricka V. Physiological effects of different types of  $\beta$ -glucan / V. Vetricka, J. Vetrickova // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2007. – Vol. 151 (2). – P. 1–7.
5. Catalli A. Chitin and  $\beta$ -glucan polysaccharides as immunomodulators of airway inflammation and atopic disease / A. Catalli, M. Kulka // *Metabolic & Immune Drug Discovery.* – 2010. – Vol. 4. – P. 175–189.

6. Пат. 2216595. Российская Федерация, МКП С12Р19/04, С08В37/00, С12Н1/16 А61К31/716. Способ получения бета-глюкана клеточной стенки дрожжей / Тонева-Давидова Е. Г. ; заявитель и патентообладатель ЗАО "Торгово-закупочная фирма ВАИГ". – № 2002130728/13 ; заявл. 18.11.2002 ; опубл. 20.11.2003.

7. Пат. 2374901. Российская Федерация МПК А23Л1/00 (2006.01). Способ получения биологически активной добавки / Римарева Л. В., Оверченко М. Б., Серба Е. М., Хричикова Г. Н., Поляков В. А. ; заявитель и патентообладатель гос. науч. учреждение Всерос. науч.-иссл. ин-т. пищ. биотехн. Рос. с/х академ. – № 2007134977/13 ; заявл. 20.09.2007 ; опубл. 10.12.2009.

8. Методы химии углеводов / под ред. Н. К. Кочеткова. – М. : Мир, 1967. – 125 с.

9. (1→3)- $\beta$ -D-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*, preparation, characterization and chemical modification – introducing carbonyl groups into the polysaccharide chain / D. Zekovic [et al.] // Mikrobiologija. – 2006. – Vol. 43. – P. 15–30.

10. Практические работы по химии древесины и целлюлозы / А. В. Оболевская [и др.]. – М. : Лесная пром-сть, 1965. – 411 с.

Отримано 30.10.2012. ХДУХТ, Харків.

© Н.К. Черно, К.І. Шапкина, О.В. Коваленко, 2012.

УДК 514.748.4

**М.С. Софронова**, канд. фіз.-мат. наук

## **ЗАДАЧА РОЗМІЩЕННЯ N-ПАРАЛЕЛЕПЕДІВ. МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ЗАДАЧІ ТА ЇЇ ОСОБЛИВОСТІ**

*Розглянуто задачу розміщення n-вимірних паралелепіпедів. На основі математичного апарату Ф-функцій формалізуються умови взаємного неперетину, дотику та перетину n-вимірних паралелепіпедів. Будується математична модель задачі розміщення заданого числа n-вимірних паралелепіпедів в області (n-вимірному паралелепіпеді). Пропонується головна ідея розв'язання задачі.*

*Рассмотрена задача размещения n-мерных параллелепипедов. На основании математического аппарата Ф-функций формализуются условия взаимного непересечения, касания и пересечения n-мерных параллелепипедов. Строится математическая модель задачи размещения заданного числа n-мерных параллелепипедов в области (n-мерном параллелепипеде). Предлагается основная идея решения задачи.*