

Список літератури:

1. Князькова, И. И. Профилактика внезапной сердечной смерти при сердечной недостаточности фокус на блокаторы АТ1-ангиотензиновых рецепторов [Текст] / И. И. Князькова // Ліки України. – 2014. – № 3–4. – С. 74–80.
2. Рудик, Б. І. Вибрані лекції з кардіології. [Текст] – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 369 с.
3. Дудник, С. Серцево-судинні захворювання в Україні [Текст] / С. Дудник // Всеукраїнська медична газета «Ваше здоров'я». – 2015. – № 1–2. – С. 18–19.
4. Mattila-Sandholm, T. Functional dairy products [Text] / Tiina Mattila-Sandholm, Maria Saarela // Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. – 2003. – 395 p.
5. Державний реєстр харчових продуктів спеціального дієтичного споживання, функціональних харчових продуктів та дієтичних добавок за 2010–2014 рр. [Електронний ресурс]. – Електрон. дан. Офіційний веб-сайт МОЗ України – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/reg_foodstuff.html
6. Дідух, Н. А. Заквашувальні композиції для виробництва молочних продуктів функціонального призначення [Текст] / Н.А. Дідух, О.П. Чагаровський, Т. А. Лисогор.– Одеса: Видавництво «Поліграф», 2008.–236 с.– ISBN 978-966-8788-79-6
7. Micro-organisms as health supporters [Text]. Novara (Italy): MOFIN ALCE, 2000. – Vol 1. – 34 p.
8. Micro-organisms as health supporters [Text]. Novara (Italy): MOFIN ALCE, 2000. – Vol 2. – 68 p.
9. Степаненко, П.П. Микробиологія молока і молочних продуктів: Учебник для студ. ВУЗов [Текст] / Рек. Советом Учебно-методического объединения по образ. в области переработки сырья и прод. живот. происхождения. в кач. учеб. для студ. ВУЗов / – М. – Сергив Посад: ООО "Всё для Вас – Подмоскovie", 1999. – 415 с.
10. Красникова, Л.В. Микробиологія молока і молочних продуктів: Лабораторний практикум: Учеб.-метод. пособие [Текст] / Л. В. Красникова, П. И. Гунькова, В. В. Маркелова. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 85 с.

УДК 577.144.4-024:582.282.23

ПИТАННЯ ЩОДО СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЇ СТРУКТУРИ
β-ГЛЮКАНУ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Н.К. Черно, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри*, E-mail: cherno_n_k@mail.ru
К.І. Науменко, кандидат технічних наук, асистент*, E-mail: shapkinak@gmail.com

*кафедра харчової хімії, Одеська національна академія харчових технологій, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039

Анотація. Біологічна активність β-глокану залежить від ряду факторів: розчинності полісахариду у воді, його молекулярної маси, типу і конфігурації глікозидних зв'язків між залишками моносахаридів, розгалуженості і конформації макромолекули.

Показано, що в структурі глокану пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, виділеного пероксидним методом, присутні ділянки з різним ступенем упорядкованості. Обробка дріжджів розчинами H₂O₂ супроводжується деструкцією аморфних ділянок і збільшенням ступеня кристалічності препаратів глокану в 2,6–3,3 рази в порівнянні зі стандартним зразком. Водорозчинний глокан характеризується більш упорядкованою супрамолекулярною структурою (індекс кристалічності 4,06), ніж вихідний нерозчинний (індекс кристалічності 2,55). У препараті водорозчинного глокану, отриманого шляхом часткової ферментативної деструкції структурного β-глокану, присутні молекулярні утворення у вигляді потрійних спіралей.

У досліді на тваринах встановлена ефективність дії отриманих препаратів β-глокану як імуномодуляторів. Сукупність результатів дослідження супрамолекулярної структури препаратів та їх медико-біологічної оцінки можна розцінювати як аргумент, що підтверджує взаємозв'язок біологічної дії β-глокану з наявністю потрійної спіралі в його структурі.

Ключові слова: дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, β-глокан, супрамолекулярна структура, водорозчинні фрагменти, імуномодулятор.

К ВОПРОСУ О СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЕ
β-ГЛЮКАНА ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Н.К. Черно, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой*, E-mail: cherno_n_k@mail.ru
К.И. Науменко, кандидат технических наук, ассистент*, E-mail: shapkinak@gmail.com

* кафедра пищевой химии, Одесская национальная академия пищевых технологий, ул. Канатная, 112, г. Одесса, 65039

Аннотация. Биологическая активность β-глокана зависит от ряда факторов: растворимости полисахарида в воде, его молекулярной массы, типа и конфигурации гликозидных связей между остатками моносахаридов, разветвленности и конформации макромолекул.

Показано, что в структуре глокана пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, выделенного пероксидным методом, присутствуют участки с различной степенью упорядоченности. Обработка дрожжей растворами H₂O₂ сопровождается деструкцией аморфных образований и увеличением степени кристалличности препаратов глокана в 2,6–3,3 раза по сравнению со стандартным образцом. Водорастворимый глокан характеризуется более упорядоченной супрамолекулярной структурой (индекс кристалличности 4,06), чем исходный нерастворимый (индекс кристалличности 2,55). В препарате водорастворимого глокана, полученного путем частичной ферментативной деструкции структурного β-глокана, присутствуют молекулярные образования в виде тройных спиралей.

В опытах на животных установлена эффективность действия полученных препаратов β-глокана в качестве иммуномодуляторов. Совокупность результатов исследования супрамолекулярной структуры препаратов и их медико-биологической оценки можно расценивать как аргумент, подтверждающий взаимосвязь биологического действия β-глокана с наличием тройной спирали в его структуре.

Ключевые слова: дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, β-глокан, супрамолекулярная структура, водорастворимые фрагменты, иммуномодулятор.

Copyright © 2015 by author and the journal "Food Science and Technology".
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



DOI:

Введение

В 21 веке человечество осознало выдающуюся роль полисахаридов как компонентов пищи и корма. Некрахмальные полисахариды – пектиновые вещества, разнообразные маннаны, галактаны, ксиланы, водорастворимые полисахариды, ранее считавшиеся балластом в пище, сегодня относят к биологически активным веществам, более того, 21 век называют «эпохой полисахаридов».

Исходя из возрастающего значения полисахаридов в различных сферах жизнедеятельности человека и на основании анализа и обобщения достижений в сфере исследований этих биополимеров, ведущими учеными в этой области разработана «дорожная карта» развития химии и технологии полисахаридов, в которой отражено их видение сценария последующего развития исследований в этой области. Согласно ему, одним из актуальных направлений признано

THE RECOMMENDED BALANCE OF CULTURES LACTOBACTERIUM IN
BIOTECHNOLOGY OF FERMENTED MILK PRODUCTS FOR PEOPLE WITH
CARDIOVASCULAR DISEASES

N.A. Tkachenko, Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of Department*, E-mail: nataliya.n-2013@yandex.ua
Ju. V. Nazarenko, Ph.D., Associate Professor, Head of the Department of Technology of milk and meat,
E-mail: nazarenko.sumy@gmail.com

Sumy National Agrarian University, Sumy, st. Gerasim Kondratyev, 160, 40021

S.A. Okunevskaya, a graduate student*, E-mail: snau-okunevska@ukr.net

* Department of Technology of milk fats and perfumes and cosmetics,

Odessa national academy of food technologies, Odessa, Kanatnaya Str, 112, 65039

Abstract. Taking into consideration the statistic data from the state registry of food products of special diet, functional food products and dietary supplement of Ministry of health service of Ukraine 2010-2014 and analysis of literary and patent sources – the research shows the perspectives of development for starter composition basing on pure cultures *Lactobacillus plantarum* and mixed cultures *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, that can become a basis for starter complex producing fermented milk products for people with cardiovascular diseases.

The choice of cultures perspective for usage in production of fermented milk products for people with cardiovascular diseases has been proved. Peculiarities of simultaneous cultivation of *Lactobacillus plantarum* and *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* in sterilized milk under the temperature of 30 °C has been studied. The recommended balance of cultures has been determined: *Lactobacillus plantarum* : *Lactococcus lactis ssp.* – 1 : 1, the output concentration of cells 1-10⁶ and 1-10⁶ CFU/cm³, respectively.

Keywords: cardiovascular diseases, fermented milk product, hypotensive probiotic, fermented clot, starter composition, simultaneous cultivation, lactobacterium, specific growth rate of cells, output concentration of cells.

References:

1. Knyazkova II Profilaktika vnezapnoy serdechnoy smerti pri serdechnoy nedostatochnosti fokus na blokatoryi АТ1-angiotenzinovykh retseptorov. Liki UkraYini. 2014.; 3–4: 74–80.
2. Rudyk BI Vybrani lektsiyi z kardiologii. – Ternopil': Ukrmedknyha. 2002; 369.
3. Dudnyk S Sersevo-sudynni zakhvoruvannya v Ukraini. Vseukrayins'ka medychna hazeta «Vashe zdorov'ya». 2015; 1–2: 18–19.
4. Mattila-Sandholm Tiina, Maria Saarela Functional dairy products. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. 2003; 395.
5. Derzhavnyy reyestr kharchovykh produktiv spetsial'nogo diyetichnoho spozhyvannya, funktsionalnykh kharchovykh produktiv ta diyetichnykh dobavok za (2010–2014).– Elektron. dan. Ofitsiyemy veb-sayt MOZ Ukrainy.
6. Diduh NA, Chagarovs'kyj OP, Lysogor TA Zakvashuvai'ni kompozyciyi dlya vyrobnyctva molochnykh produktiv funktsional'nogo pryznachennya. Odessa/ Vydavnytstvo "Poligraf". 2008; 236.
7. Micro-organisms as health supporters. Novara (Italy): MOFIN ALCE. 2000; 1: 34.
8. Micro-organisms as health supporters. Novara (Italy): MOFIN ALCE. 2000; 2: 68.
9. Stepanenko PP Mikrobiologiya moloka i molochnykh produktov: Uchebnik dlya stud. VUZov. Rek. Советом Учебно-методического объединения по образ. в области переработки сырья и прод. живот. происхождения. в кач. учеб. дlya студ. VUZov. – М. – Сергив Посад: ООО "VsYo dlya Vas – Podmoskove". 1999; 415.
10. Krasnikova LV, Gunkova PI, Markelova VV. Mikrobiologiya moloka i molochnykh produktov: Laboratornyy praktikum: Ucheb.-metod. posobie. SPb. NIU ITMO; ИХиБТ. 2013; 85.

Отримано в редакцію 15.09. 2015
Прийнято до друку 12.10.2015

установлення взаємозв'язки між структурною організацією полісахаридів не тільки з їх функціональними властивостями – розчинністю в воді, здатністю створювати високовязкі розчини, формувати гелі, но і з проявленням біологічно значимих ефектів.

Постановка проблеми

Останнє десятиліття ознаменувалося бурним розвитком хімії і технології β-глюканів. Бета-глюкани – біополімери, що мають широкий спектр біологічної активності. Особливий інтерес в цьому відношенні представляють β-(1→3)/(1→6)-D-глюкани [1], основними джерелами яких є деякі штамми дріжджів і ряд грибів. Бета-глюкани використовують як мультімодальні імуномодулятори при ліченні онкологічних захворювань, гіпертонічної хвороби, алергії, для зниження рівня холестерину в крові і профілактики гіперглікемії при цукровому діабеті.

Полагають, що біологічна активність β-глюкана залежить від ряду факторів: типу і конфігурації зв'язей між залишками моносахаридів, розгалуженості і конформації макромолекули, розчинності в воді, молекулярної маси [2]. Перспективним джерелом цього полісахариду вивчаються пекарські дріжджі. Будучи каркасним полісахаридом, він не розчиняється в воді, що зменшує ефективність його використання як біологічного активного харчового інгредієнта, не даючи можливість реалізувати присущий йому потенціал. В зв'язі з цим застосовують різні методи для підвищення його розчинності, використовують хімічну і біотехнологічну модифікацію.

Характеристика препаратів β-глюкана, як правило, заключається в визначенні його молекулярної будови, молекулярної маси, ряду фізико-хімічних показників і біологічних ефектів. Вивчення супрамолекулярної структури в більшості випадків залишається поза межами цих досліджень. В той же час, роз'яснення особливостей супрамолекулярної будови є одним з необхідних умов, що дозволяють виявляти закономірності взаємозв'язки між біологічними ефектами β-глюкана і його структурної організації.

Літературний огляд

Бета-глюкан хлібопекарських дріжджів представляє собою нерозчинимий в воді полісахарид, основна ланка якого складається з залишків D-глюкопіраноз, зв'язаних β-(1→3)-гликозидними зв'язками. В положення О-6 моносахаридних залишків ланки приєднані бокові гілки, розмір яких варіює (рис.1) [3].

Полагають, що найбільш потужну протипухлинну активність проявляють (1→3)/(1→6)-β-D-глюкани ступеню розгалуженості від 0,20 до 0,33. Ступінь розгалуженості β-глюканів дріжджів *Saccharomyces*

cerevisiae варіює в діапазоні значень 0,03 до 0,25 [4].

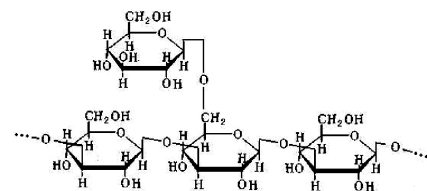


Рис. 1. Структура глюкана дріжджів

Вважається, що біологічний вплив β-глюкана, зокрема протипухлинний і антибактеріальний, зростає з підвищенням його розчинності [5]. До розчинимих β-глюканів дріжджів відносять не тільки його водорозчинні фрагменти, що утворюються частковою фрагментацією макромолекули, но і різні похідні цього полісахариду. Описані методи отримання сульфатованих, фосфорильованих похідних глюкана дріжджів, відомо отримання аміноглюкана. Однак введення нових функціональних груп, що підвищують розчинність полісахариду, призводить до зниження його біологічної активності. Полагають [6], що це є результатом зміни конформації макромолекули, що призводить до трансформації вторинної структури, що змінює біологічну активність глюкана. Предпочення віддається частково гідролізованним глюканам як найбільш ефективним імунокоректорам.

В численних публікаціях описані методи виділення, очищення, будови, біологічної активності і лікувальні властивості β-глюкана. Діляться спроби встановлення взаємозв'язки його біологічних ефектів з особливостями будови макромолекули і супрамолекулярної структури. К сожалению, наявні в літературі дані частіше всього суперечливі. В науковій спільноті відсутній консенсус стосовно критеріїв, яким повинні відповідати структура глюкана для проявлення його біологічної активності. Одним з важливих факторів, що перешкоджають прогресу в цій області, є недостатня характеристика образців цього полісахариду, отриманих різними методами, обмеженість знань про зміни конформації глюкана під впливом умов обробки, впливу певних реагентів.

При цьому дослідники єдині в думках, що основоположним фактором, що визначає біологічну активність β-глюкана, є конформація його макромолекули.

В глюкані дріжджів присутні кристалічні, так і аморфні будови [7], в основі яких лежить супрамолекулярна структура, що характеризується трійною спіраллю (рис.2) [8]. Її наявність було встановлено за допомогою рентгеноструктурного

аналізу в 1992 році Йошиоки Я. з соавторами [9]. Найбільш підтвердженням цього є дані в роботах ряду авторів, що використовували в своїх дослідженнях оптичний метод вимірювання дисперсності частин, ¹³C ЯМР-спектроскопію, флуоресцентну спектроскопію, атомно-силову мікроскопію, а також метод класическої молекулярної динаміки.

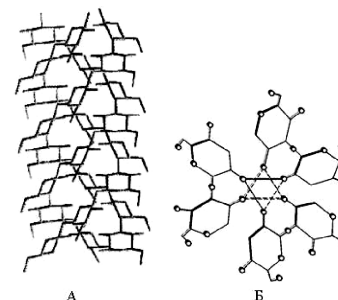


Рис. 2. А – трійна спіраль β-(1→3)-D-глюкана; Б – утворення триплексу в просторі

Елементами структури β-глюкана є наступні супрамолекулярні будови [10-12]:

1. Мультімєр, що складається з трійних спіралей, в вигляді кабельної будови, що забезпечує міцність клітинної стінки.
2. Трійна спіраль – елемент спіральних мультімєрів.
3. Молекулярний клубок – елемент структури глюкана, що має найменший розмір.

Основний внесок в стабілізацію трійної спіралі вносять міжмолекулярні водородні зв'язки і гідрофобні взаємодії [13]. В сегменті макромолекули β-глюкана, що містить β-(1→3)-зв'язки, група 2-ОН забезпечує гідрофільність поверхні, тоді як 6-ОН – гідрофобність. Оскільки трійна спіраль стабілізується водородними зв'язками між 2-ОН групами між її окремими складовими, то всередині порожнини спіралі знаходиться гідрофобна поверхня. Денатурація глюканових триплексів відбувається в лужних розчинах [11,14], диметилсульфоксиді [15] і при підвищенні температури до температури плавлення трійної спіралі (T = 135 °C). Механізм диссоціації в кожному з цих випадків різний. В лужних розчинах триплекси диссоціюють через високу щільність заряду вздовж окремих спіралей, що призводить до їх електростатичного розвалювання. В диметилсульфоксиді дезстабілізуються Н-зв'язки, під впливом високих температур зростає теплова енергія спіралей, що входять в триплекс, що призводить до його дезстабілізації. Чим вище молекулярна маса β-глюкана, тим вище значення рН і температури, що призводять до денатурації триплексу. Недавно уста-

новлено, що при значеннях рН і температури нижче «критических» для даного β-глюкана, відбувається частинне розкриття трійної спіралі [16], що раніше рядом авторів вважалося неможливим [17]. Так показано, що в розчині лугу відбувається денатурація трійної спіралі – її диссоціація на окремі складові. При цьому вона може бути частковою, або повною в залежності від концентрації лужного розчину (рис. 3). Процес є оборотним. В роботі [17] наводяться дані стосовно можливості ренатурації – відновлення нативної трійної структури глюкана.

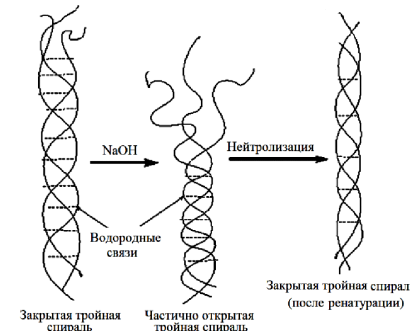


Рис. 3. Передбачуваний механізм зміни конформації глюкана при зміні рН середовища

Методами атомно-силової мікроскопії встановлено наявність в ренатурованому β-глюкані різних по своїй морфології структур (в вигляді лінійних, круглих, багатозв'язаних будов, «шипиків» і др.) [17]. Ймовірно, утворення кожної з них залежить від концентрації полімера в розчині, розміру ланки макромолекули, умов денатурації.

Існують різні думки стосовно взаємозв'язки біологічної активності глюкана з його конформацією. Деякі дослідники [18], стверджують, що біологічна активність вища у β-глюкана, що має конформацію трійної спіралі, вважаючи, що саме вона є визначальною фактором його зв'язування з глюканозв'язуючими рецепторами, що забезпечує зв'язування з імунною системою цього полісахариду, що виступає в ролі антигена.

Другі вважають, що більш ефективні денатуровані β-глюкани [13], в структурі яких присутні окремі спіралі. Однак і те, і другі єдині в думках, що для проявлення біологічної активності глюкана необхідно наявність його архітектури спіральної структури, будь то окрема спіраль або трійна. При її відсутності полісахарид повністю втрачає біологічну активність, присущу йому в початку.

Характеристика структуры препаратов глюкана дрожжей

Целью настоящей работы явилось изучение некоторых аспектов супрамолекулярной структуры новых препаратов β-глюкана дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – нерастворимого структурного и его водорастворимого высокомолекулярного фрагмента и сравнительная оценка их иммуномодулирующей активности.

Нами разработан новый – упрощенный способ получения глюкана клеточных стенок дрожжей [19], предусматривающий обработку дрожжевой массы раствором пероксида водорода, что приводит к разрушению цитоплазматической мембраны, с последующей экстракцией сопутствующих глюкану веществ растворами щелочи и уксусной кислоты.

Получение водорастворимого глюкана осуществляли посредством частичного ферментализа β-глюкана клеточных стенок дрожжей ферментным препаратом *Rovabio Excel AP* [20].

Очевидно, что любое воздействие химических реагентов приводит к модификации нативной структуры полисахарида. Это определяет необходимость характеристики каждого из образцов, получаемых различными методами. Опытные препараты β-глюкана изучали в сравнении с глюканом, полученным по стандартной методике [21]. Ранее было установлено строение макромолекул этих полисахаридов – типа и конфигурации гликозидных связей, степени разветвленности.

Супрамолекулярную структуру препаратов глюкана исследовали, используя методы ИК-спектроскопии и кислотного гидролиза, а также с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ). Наличие тройной спирали в структуре водорастворимого глюкана определяли методом гель-хроматографии по изменению профиля выходных кривых при варьировании значений pH.

ИК-спектроскопические исследования проводили на спектрофотометре «FTIR-8301PC». Индекс кристалличности биополимеров определяли по методике [22]. АСМ проводили в исследовательском комплексе ИНТЕГРА, в зондовой нанолaborатории Прима.

Изучение иммуномодулирующего влияния препаратов β-глюкана дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* осуществляли на базе Одесской исследовательской станции и в лаборатории клинической биохимии и иммунохимии Национального научного центра «Института экспериментальной и клинической ветеринарной медицины».

На основании результатов ИК-спектроскопии определили индексы кристалличности образцов (табл. 1), характеризующие соотношение кристаллических и аморфных областей. Возрастание индекса кристалличности свидетельствует об увеличении доли кристаллической фракции в образце.

Таблица 1 – Индексы кристалличности препаратов, n=3; p≥0,95

№ образца	Способ получения глюкана	Индекс кристалличности
1	Стандартный	0,95±0,04
2	Пероксидный (с применением 3 % раствора H ₂ O ₂)	2,55±0,09
3	Пероксидный (с применением 13 % раствора H ₂ O ₂)	2,92±0,10
4	Пероксидный (с применением 24 % раствора H ₂ O ₂)	3,21±0,05
5	Ферментативная де-струкция	4,06±0,10

Препарат, полученный стандартным методом имеет наименьший индекс кристалличности, что характеризует его как наименее упорядоченный в ряду исследуемых препаратов.

Использование пероксида водорода для выделения препаратов структурного глюкана сопровождалось значительным повышением степени их кристалличности в сравнении с контрольным образцом. Это было ожидаемо, так как под действием растворов H₂O₂ более вероятно разрушение участков полисахаридов с аморфной структурой. Между собой образцы, полученные пероксидным методом, разнятся значительно меньше, однако прослеживается тенденция увеличения их упорядоченности с возрастанием концентрации раствора H₂O₂, которым обрабатывали сырье. Индекс кристалличности водорастворимого глюкана составил 4,06 что указывает на большую степень его упорядоченности, чем структурного глюкана клеточных стенок. Скорее всего, это связано с тем, что в первую очередь ферментом атакуются более доступные неупорядоченные участки. Этим и объясняется повышенное содержание в водорастворимом глюкане областей высокой степени упорядоченности.

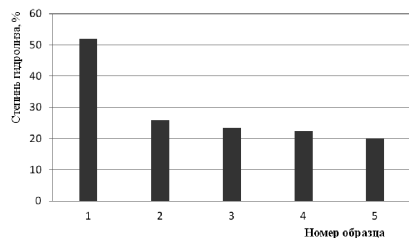


Рис. 4. Глубина кислотного гидролиза препаратов β-глюкана

Известно, что скорость и глубина гидролиза полисахаридов, которым присуща супрамолекулярная

структура, разбавленными растворами минеральных кислот зависит от содержания в них аморфной фракции. На рис. 4 представлены данные, иллюстрирующие глубину гидролиза образцов глюкана 2 % раствором хлороводородной кислоты.

Как видно из представленных данных, глубина гидролиза β-глюкана, выделенного стандартным методом, вдвое выше, чем исследуемых образцов, что может быть обусловлено меньшей упорядоченностью его структуры. Эти результаты согласуются с данными определения индексов кристалличности, рассчитанных на основании данных ИК-спектроскопии.

Исследование полученных образцов с помощью АСМ показали, что препаратам глюкана присуща фибриллярная ультраструктура. Размеры волокон опытных образцов находятся в пределах от 0,6 до 1,3 нм. Разница в размерах волокон может быть обусловлена тем, что под действием окислителя и фермента, кроме разрушения аморфных участков, происходит уменьшение размеров микроволокон. Аналогичные данные присутствуют и в литературных источниках [7].

Как отмечалось выше, в основе структурной организации β-глюкана лежит конформация тройной спирали. Поскольку утрата глюканом спиралевидной структуры приводит к снижению или даже полной потере биологической активности, провели эксперимент, по результатам которого можно судить о наличии (либо отсутствии) данного элемента в структуре исследуемого глюкана.

Для этого фракции водорастворимого глюкана, соответствующие каждому из пиков на его гель-хроматографической кривой (рис. 5), подвергли дополнительному хроматографированию при pH = 11,7.

Фракция, молекулярная масса которой по данным хроматографии на сефадексе G-150 (элюент вода) соответствует 70 кДа, при хроматографировании на G-150 в щелочном растворе разделилась на три субфракции с молекулярными массами 100, 70 и 10 кДа. Фракция, молекулярной массой 25 кДа в щелочном растворе разделилась на три, с молекулярными массами 35, 25 и меньше 5 кДа. Полученные результаты позволяют полагать наличие тройной спирали в структуре исследуемого глюкана, что является предпосылкой сохранения им биологической активности.

Список литературы:

1. Syed, H. A. The world of β-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.
2. Bohn, J.A. (1→3)-β-D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. / J.A. Bohn, J.N. BeMiller // Carboh Polym 1995. – 28(1) – p. 3-14. DOI:10.1016/0144-8617(95)00076-3

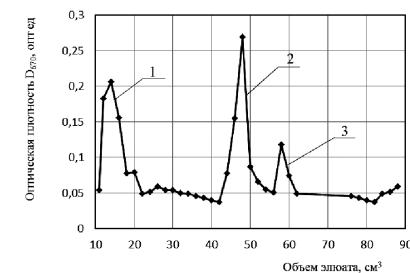


Рис. 5. Выходная кривая гель-хроматографии водорастворимого глюкана на сефадексе G-150 (элюент вода): 1 – молекулярная масса 70 кДа, 2 – 25 кДа, 3 – меньше 5 кДа

Медико-биологическими исследованиями установлено, что использование препаратов β-глюкана дрожжей при стрессе способствует активизации механизмов адаптации организма животных, обуславливая снижение количества эритроцитов, лимфоцитов и тромбоцитов, а также увеличение общих лейкоцитов. Полученные данные свидетельствуют о выраженном увеличении пролиферативной реакции иммунокомпетентных органов на стресс. Наиболее выраженным эффектом активизации механизмов адаптации организма животных обладает растворимый глюкан. Он в наибольшей степени уменьшает интенсивность развития компенсаторно-адаптационных реакций у кроликов на воздействие стресса.

Выводы

Препарат структурного глюкана дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, полученный пероксидным методом и его водорастворимый высокомолекулярный фрагмент структурно неоднородны и содержат участки с различной степенью упорядоченности, им присуща фибриллярная ультраструктура. Фрагментация макромолекулы полисахарида способствует повышению содержания упорядоченной фракции. Элементом супрамолекулярной структуры препаратов является тройная спираль. Препараты проявляют выраженное иммуномодулирующее действие в опытах на животных.

Совокупность результатов исследования супрамолекулярной структуры препаратов и их медико-биологической оценки можно расценивать как аргумент, подтверждающий взаимосвязь биологического действия β-глюкана с наличием тройной спирали в его структуре.

- Bacic, A. Chemistry, biochemistry, and biology of 1-3 beta glucans and related polysaccharides / A. Bacic, G. B. Fincher, B. A. Stone // Amsterdam: Elsevier, – 2009. – 693 p.
- Effect of yeast-derived beta-glucan in conjunction with bevacizumab for the treatment of human lung adenocarcinoma in subcutaneous and orthotopic xenograft models. / W. Zhong, R. Hansen, B. Li, Y. Cai, C. Salvador, G. D. Moore // J Immunother. – 2009. – N 32. – p. 703-712. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181ad3f3f.
- Hunter Jr, K.W. Preparation of microparticulate B-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for use in immune potentiation / K.W. Hunter Jr, R.A. Gault, M.D. Berner // Letters in Applied Microbiology. – 2002. – Vol 35 (4). – p. 267-273.
- Oral administration of paramylon, a beta-1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* Z inhibits development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. / A. Sugiyama, S. Hata, K. Suzuki. J. Vet. Med. Sci. – 2010. – 72(6) – p. 755-763/ DOI: 10.1292/jvms.09-0526
- Abu-Lail, N.I. Polysaccharide properties probed with atomic force microscopy. / N.I. Abu-Lail, T.A. Camesano // J. Microscopy. – 2003. – 212, – p.217-238 DOI: 10.1111/j.1365-2818.2003.01261.x
- Microfibrillar structure of PGG-Glucan in aqueous solution as triple helix aggregates by small angle x-ray scattering. / M. Gawronski, J.T. Park, A.S. Magee, H. Conrad // Biopolymers – 1999. – 50, – p. 569-578 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0282(199911)50:6<569
- Yoshioka, Y. Conformation-dependent change in antitumor activity of linear and branched (1-3)-beta-D-glucans on the basis of conformational elucidation by carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. / Y. Yoshioka, N. Uehara, H. Saito // Chem. Pharm. Bull. – 1992. – 40, – p. 1221–1226.
- Young, S. Observation of a partially opened triple-helix conformation in 1→3-β-glucan by fluorescence resonance energy transfer spectroscopy / S. Young, W. Dong, R. Jacobs. // Biological Chem 2005. – 275. – p. 11874-11879.
- Solid state and solution conformation of scleroglucan. / T. L. Bluhm, Y. Deslandes, R. M. Marchessault, S.Perez, M. Rinaudo // Carbohydr Res – 1982. – 100. – p. 117–130. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)81030-7
- Molecular Structure and Precipitates of a Rodlike Polysaccharide in Aqueous Solution by SAXS Experiments / M. Gawronski, G. Aguirre, H. Conrad, T. Springer, K.-P. Stahmann // Macromolecules. – 1996. – 29. – p. 1516–1520 DOI: 10.1021/ma951368x
- Sletmoen, M. Higher order structure of (1,3)-beta-D-glucans and its influence on their biological activities and complexation abilities / M. Sletmoen, B.T. Stokke // Biopolymers. – 2008. – 89(4) – p. 310-321. DOI: 10.1002/bip.20920.
- Ultrasonic degradation of schizophyllan, an anti-tumor polysaccharide produced by *Schizophyllum commune* / K. Tabata, W. Ito, T.Kojima, T. Kawabata, A. Misaki, // Carbohydr Res –1981. – 89. – p. 121–135. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)85234-9
- Kitamura, S. A differential scanning calorimetric study of the conformational transitions of schizophyllan in mixtures of water and dimethylsulfoxide / S Kitamura, T. Kuge // Biopolymers. – 1989. – 28. – p. 639–654. DOI: 10.1002/bip.360280208
- Young, S.-H. Observation of a partially opened triple-helix conformation in 1→3-beta-glucan by fluorescence resonance energy transfer spectroscopy. / S.-H. Young, W.-J. Dong, R. R. Jacobs. // J Biol Chem. – 2000. – 275. – p. 11874–11879. DOI: 10.1074/jbc.275.16.11874
- Yanaki, T. Cholesteric mesophase in aqueous solutions of a triple helical polysaccharide scleroglucanb. / T. Yanaki, T. Norisuye, H. Fujita // Macromolecules – 1980. – 13. – p. 1462–1466. DOI:10.1029/polymj.16.165
- Static water structure detected by heat capacity measurements on aqueous solutions of a triple-helical polysaccharide schizophyllan. / K. Yoshida, A. Teramoto, N. Nakamura, K. Kikuchi, Y. Miyazaki, M. Sorai. // Biomacromolecules, 2003. – 4 – p. 1348-1356. DOI: 10.1021/bm0300251
- Черно, Н. К. Спосіб отримання бета-глюкану клітинних стінок дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* / Н. К. Черно, К. І. Шапкіна, О. В. Коваленко // Збірник наукових праць «Прогресивна техніка та технологія харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі». Харків. –2012. – № 2 (16). – с. 321-326.
- Черно, Н. К. Водорозчинний бета-глюкан *Saccharomyces cerevisiae* / Н. К. Черно, О. В. Коваленко, К. І. Шапкіна // Харчова наука і технологія. – 2012. – № 4 (21). – с. 32-35.
- Методи хімії вуглеводів / под ред. Н. К. Кочеткова. – М.: Мир, 1967. –125 с.
- Методи дослідження деревини і її производних: Уч. Посібник / Н.Г. Базарнова, Е.В. Карпова, І.Б. Катраков і др. – Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2002. – 160 с.

- Bohn JA, BeMille JN (1→3)-β-d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. Carboh Polym 1995; 28(1): 3-14. DOI:10.1016/0144-8617(95)00076-3
- Bacic A, Fincher GB, Stone BA Chemistry, biochemistry, and biology of 1-3 beta glucans and related polysaccharides. Amsterdam: Elsevier.2009; 693 p.
- Zhong W, Hansen R, Li B, Cai Y, Salvador C, Moore GD Effect of yeast-derived beta-glucan in conjunction with bevacizumab for the treatment of human lung adenocarcinoma in subcutaneous and orthotopic xenograft models. J Immunother. 2009; 32: 703-712. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181ad3f3f.
- Hunter Jr KW, Gault RA, Berner MD Preparation of microparticulate B-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for use in immune potentiation. Letters in Applied Microbiology. 2002; Vol 35 (4): 267-273
- Sugiyama A, Hata S, Suzuki K Oral administration of paramylon, a beta-1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* inhibits development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. J. Vet. Med. Sci. 2010; 72(6):755-763/ DOI: 10.1292/jvms.09-0526
- Abu-Lail NI, Camesano TA Polysaccharide properties probed with atomic force microscopy. J. Microscopy. 2003; 212: 217-238 DOI: 10.1111/j.1365-2818.2003.01261.x
- Gawronski M, Park JT, Magee AS, Conrad H Microfibrillar structure of PGG-Glucan in aqueous solution as triple helix aggregates by small angle x-ray scattering. Biopolymers. 1999; 50: 569-578 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0282(199911)50:6<569
- Yoshioka Y, Uehara N, Saito H Conformation-dependent change in antitumor activity of linear and branched (1-3)-beta-D-glucans on the basis of conformational elucidation by carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. Chem. Pharm. Bull.1992; 40: 1221–1226.
- Young S, Dong W, Jacobs R, Observation of a partially opened triple-helix conformation in 1→3-β-glucan by fluorescence resonance energy transfer spectroscopy. Biological Chem. 2005; 275: 11874-11879.
- Bluhm TL, Deslandes Y, Marchessault RM, Perez S, Rinaudo M Solid state and solution conformation of scleroglucan. Carbohydr Res. 1982; 100: 117–130. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)81030-7
- Gawronski M, Aguirre G, Conrad H, Springer T, Stahmann KP Molecular Structure and Precipitates of a Rodlike Polysaccharide in Aqueous Solution by SAXS Experiments. Macromolecules. 1996; 29: 1516–1520 DOI: 10.1021/ma951368x
- Sletmoen M, Stokke BT Higher order structure of (1,3)-beta-D-glucans and its influence on their biological activities and complexation abilities. Biopolymers. 2008; 89(4): 310-321. DOI: 10.1002/bip.20920.
- Tabata K, Ito W, Kojima T, Kawabata T, Misaki A Ultrasonic degradation of schizophyllan, an anti-tumor polysaccharide produced by *Schizophyllum commune*. Carbohydr Res. 1981; 89: 121–135. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)85234-9
- Kitamura SA, Kuge T A differential scanning calorimetric study of the conformational transitions of schizophyllan in mixtures of water and dimethylsulfoxide. Biopolymers. 1989; 28: 639–654. DOI: 10.1002/bip.360280208
- Young SH, Dong WJ, Jacobs RR Observation of a partially opened triple-helix conformation in 1→3-beta-glucan by fluorescence resonance energy transfer spectroscopy. J Biol Chem. 2000; 275: 11874–11879. DOI: 10.1074/jbc.275.16.11874
- Yanaki T, Norisuye T, Fujita H Cholesteric mesophase in aqueous solutions of a triple helical polysaccharide scleroglucanb. Macromolecules. 1980; 13: 1462–1466. DOI:10.1029/polymj.16.165
- Yoshida K, Teramoto A, Nakamura N, Kikuchi K, Miyazaki Y, Sorai M Static water structure detected by heat capacity measurements on aqueous solutions of a triple-helical polysaccharide schizophyllan. Biomacromolecules. 2003; 4: 1348-1356. DOI: 10.1021/bm0300251
- Cherno NK, Shapkina KI, Kovalenko OV Sposib otrymannya beta-glukanu klitynyh stinok drizhdzhiv rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Zbirnyk nauk prac «Progresivna tehnika ta tehnologija harchovyh vyrobnyctv restoranного gospodarstva i torgivli». Harkiv.2012; № 2 (16):321-326.
- Cherno NK, Shapkina KI, Kovalenko OV Vodorozhnyj beta-glukan *Saccharomyces cerevisiae*. Harchova nauka i tehnologija. 2012; 4 (21):32-35.
- Kochetkov NK Metody himii uglevodov M: Mir, 1967:125.
- Bazarnova NG, Karpova EV, Katrakov IB Metody issledovaniya drevesiny i ee proizvodnyh: Uch. Posobie Barnaul: Izd-vo Alt. gos. un-ta, 2002: 160.

Отримано в редакцію 18.08.2015
 Прийнято до друку 22.09.2015

THE QUESTION ABOUT β-GLUCAN SUPRAMOLECULAR STRUCTURES OF YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE

N.K. Chernov, Ph.D., professor Head of department*, E-mail: chernov_n_k@mail.ru
 K.I. Naymenko, Ph.D., assistant*, E-mail: shapkinak@gmail.com

*Department of food chemistry, Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnaya str., 112, Odessa, 65039

Summary. The biological activity of β-glucan depends on several factors: polysaccharide water solubility, its molecular mass, type and configuration of glycoside bonds between residual monosaccharides, and macromolecular branching and conformations.

The article shows that structure of the baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) glucan, isolated with peroxide method, contains sections with varying order strength. Hydrogen peroxide (H₂O₂) yeast treatment is supplemented by the destruction of amorphous formations and increase of glucan preparations crystallinity degree in 2.6...3.3 times compared to the reference specimen. It has been shown that water-soluble glucan has more ordered supramolecular structure (crystallinity index is 4.06) than the original insoluble glucan (crystallinity index is 2.55). The water-soluble glucan preparation obtained by partial enzymatic degradation of structural β-glucan contains molecular formations in the form of triple helices.

Animal experiments showed the effectiveness of obtained β-glucan preparations as immunomodulators. The aggregate research findings of preparation supramolecular structure and its medical and biological assessment would be an argument, confirming the relation of β-glucan's biological action to triple helix in its structure.

Keywords: yeast *Saccharomyces cerevisiae*, β-glucan, supramolecular structure, water-soluble fragments, immunomodulator.

References:

- Syed HA The world of β-glucans – a review of biological roles, applications and potential areas of research. Thesis for the requirement of master of Science Medical Biology. 2009; 13-18.