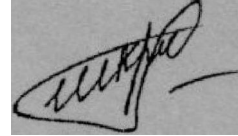


1123

jbfcр&р

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

ШАПКІНА КРИСТИНА ІГОРІВНА



УДК 663.1.01:547.458

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЙ ПРЕПАРАТІВ
Р-ГЛЮКАНУ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Спеціальність 03.00.20 - біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

Одеса - 2014

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеській національній академії харчових технологій

Міністерства освіти і науки України.

Науковий - доктор технічних наук, професор,
-----; техніки України
677)чових технологій,

уче*,

р,
(нічний університет
^илпогії і хімії,

~дс7?

еро

р.
на,
звих технологій,
продуктів,

сіданні спеціалізовано,
мі! харчових техноло

(. А-234.

І

ч

іональної акаде-
ятна, І і²-

датор^{e<}\$

Станкевнч

*oП Ь_o) ^

ОН Ах'

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

За останні роки в науці нутріціології еволюціонувало багато уявлень про харчування і здоров'я. Харчові раціони неповноцінні за нутрієнтним складом, містять значну кількість консервантів, барвників та ароматизаторів синтетичного походження. Крім того, жорстка технологічна обробка харчової сировини призводить до втрати природних біологічно активних речовин, дефіцит яких знижує захисні сили організму, формує синдром хронічної втоми, загострює хронічні захворювання, знижує розумову і фізичну працездатність.

У зв'язку з дефіцитом у харчуванні населення України життєво важливих біологічно активних речовин, особливу значимість набуває проблема корекції хімічного складу їжі. Одним із шляхів вирішення якої є використання в якості складових харчових раціонів фізіологічно функціональних інгредієнтів та дієтичних добавок.

Актуальність теми. Більшість патологічних станів людини зумовлено порушенням імунного статусу, у зв'язку з чим більшої значущості набувають імуно-коригуючі засоби, особливо - природного походження. До таких імуномодуляторів відносять β -глюкани -біополімери, що володіють широким спектром біологічної активності. Особливий інтерес в цьому відношенні представляють β - $(1\rightarrow3)$ / $(1\rightarrow6)$ -E-гліцани, основними джерелами яких є деякі штами дріжджів і ряд грибів, представники яких використовуються за кордоном як мультимодальні імуномодулятори біологічної активності організму людини при лікуванні онкологічних захворювань, гіпертонічної хвороби, для зниження рівня холестерину в крові, алергії, в профілактиці гіперглікемії при цукровому діабеті.

Потреба в дієтичних добавках і функціональних продуктах з включенням β -глюканів в Україні задовольняється виключно за рахунок їх імпорту, що визначає актуальність розробки вітчизняних технологій β - $(1\rightarrow3)$ / $(1\rightarrow6)$ -0-глюкашв.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами.

Робота відповідає тематиці досліджень проблемної лабораторії Одеської національної академії харчових технологій 1/09-ГТ «Біополімери рослин як об'єкт хімічної та біологічної модифікації» Хе держреєстрації 0109U000397 (наказ МОП України Хе 1043 від 17.11.2008 р.) і 1/12-П «Рослинні і мікробні полісахариди як об'єкти біомодифікації» Хе держреєстрації 0112U000108 (наказ МОН молоді та спорту України Хе 1241 від 28.10.2011 р.); держбюджетної тематики кафедри харчової хімії в 2011 р. - «Полісахариди і комплекси на їх основі як компоненти наносистем» та в 2012-2013 р. - «Комплексна переробка пекарських дріжджів з отриманням дієтичних добавок».

Мета і завдання дослідження.

Метою даної роботи є отримання, характеристика і розробка технологій структурного β - $(1\rightarrow3)$ / $(1\rightarrow6)$ -глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* та його водорозчинної форми.

Для досягнення поставленої мети було визначено основні завдання дослідження:

- обґрунтування способу виділення структурного полісахариду клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* - β-глюкану;
- характеристика структурного β-глюкану дріжджів:
- отримання водорозчинного β-глюкану шляхом біомодифікації структурного глюкану;
- дослідження будови і властивостей водорозчинного β-глюкану;
- медико-біологічна характеристика препаратів β-глюкану;
- оптимізація ключових параметрів процесу одержання препарату структурного глюкану дріжджів; розробка технологій виробництва препаратів структурного, водорозчинного і біомодифікованого β-глюкану дріжджів;
- реалізація розроблених технологій у виробничих умовах, оцінка якості отриманих продуктів, обґрунтування терміну їх зберігання; розробка нормативної документації на виробництво препаратів β-глюкану.

Об'єкт дослідження: технології β-глюкану клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* і його водорозчинної форми.

Предмет дослідження: дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, полісахариди дріжджів, β-(1 → 3)/(1 → 6)-глюкан.

Методи дослідження: комплекс традиційних і сучасних біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних та технологічних методів дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів визначається тим, що в дисертаційній роботі вперше:

- обґрунтовано етапи і послідовність технологічних операцій одержання структурного глюкану клітинних стінок дріжджів за допомогою гідроген пероксиду і надано характеристику складу і функціонально-фізіологічних властивостей отриманого полісахариду;
- досліджено закономірності гідролізу структурного β-глюкану ферментним препаратом *Rovabio Excel AP*, встановлено умови ферментолізу, що дозволяють отримати водорозчинний глюкан;
- надано медико-біологічну оцінку, характеристику будови, властивостей, надмолекулярної структури препаратів β-глюкану;
- розроблено технології препаратів - β-глюканів дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Наукову новизну підтверджено двома патентами України на корисну модель: № 73804 «Спосіб одержання біологічно активної добавки», № 83594 «Спосіб одержання водорозчинного β-глюкану».

Практичне значення отриманих результатів. На підставі отриманих результатів розроблено технологічні схеми виробництва препаратів β-глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*: структурного, водорозчинного і біомодифікованого. Оптимізовано процес дезінтеграції клітинних оболонок дріжджів. Розроблено нормативну документацію на препарати β-глюкану: «Бета-глюкан клітинних стінок дріжджів», «Водорозчинний глюкан дріжджів» і «Біомодифікований β-глюкан дріжджів»; технології апробовано на науково-виробничому підприємстві «Аріадна», м. Одеса.

Особистий внесок здобувана полягає в забезпеченні методичного оформлення роботи, виконанні аналітичних та експериментальних досліджень, аналізі та узагальненні отриманих даних у вигляді висновків, підготовці матеріалів досліджень до публікацій, розробці нормативної документації, промислової апробації розроблених технологій. Особистий внесок здобувана підтверджується поданими документами і науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень доповідались і обговорювались на 15 наукових конференціях, зокрема VII Міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток наукових досліджень 2011» (Полтава. 2011 р.): IV, V, VI Всеукраїнській конференції молодих вчених і студентів «Проблеми формування здорового способу життя у молоді» (Одеса 2011, 2012. 2013 рр.): Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании 2012»; Міжнародній науково-практичній конференції «Прогресивна техніка та технології харчових виробництв, готельного, ресторанного господарств і торгівлі. Економічна стратегія і перспективи розвитку сфери торгівлі та послуг», (Харків, 2012 р.); 72-й науковій конференції професорсько-викладацькою складу ОНАХТ (Одеса. 2012 р.); Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів «Техника и технология пищевых производств» (Могильов (Білорусь), 2012 р.): Міжгалузевій міжнародній науково-практичній конференції «Харчові добавки, харчування здорової і хворої людини» (Донецьк, 2013 р.); The Second North and East European Congress on Food NEEFood - 2013 (Київ, 2013 р.).

Публікації. Результати дисертації опубліковано у 19 друкованих роботах: 5 у наукових виданнях, зокрема 4 статті у фахових виданнях (Міністерство освіти і науки України). 1 - у виданні, включеному в міжнародну базу наукового цитування AgriS (ISSN 0579-3009); 1 стаття у виданні, яке зареєстровано в наукомет-ричній базі РИІЩ; 2 патенти України на корисну модель; тези 11 доповідей у матеріалах наукових та науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних літературних джерел та додатків. Дисертаційну роботу викладено на 123 сторінках основного тексту, вона містить 39 рисунків (13 сторінок), 21 таблицю (14 сторінок). 9 додатків (107 сторінок), список літературних джерел з 322 найменувань (35 сторінок).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі викладено актуальність теми дисертаційної роботи, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовано мету і завдання досліджень. висвітлено наукову новизну і практичне значення результатів. їх апробацію. Визначено особистий внесок здобувана в проведених дослідженнях і публікаціях з теми дисертаційної роботи.

У першому розділі «Дріжджі як джерело функціонально-фізіологічних інгредієнтів» розглянуто структуру та хімічний склад дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, висвітлено характеристику будови, механізм дії, фізіологічну активність. методи отримання та використання β -глюкану дріжджів.

У другому розділі «Матеріали і методи досліджень» викладено інформацію про матеріали і методи досліджень та наведено схему програми досліджень (рис. 1).



Рис. 1. Схема проведення досліджень.

Основну частину досліджень проведено у лабораторіях кафедри харчової хімії ОНАХТ; окремі дослідження виконувалися в лабораторії Фізико-хімічного інституту ім. А.В. Богатського НАП України (м. Одеса), нанолaboratorії Київського національного університету імені Тараса Шевченка (м. Київ), Центрі колек-

тивного використання наукових приладів і обладнання НАН України (м. Київ), Інституті біохімії імені О. В. Палладіна НАН України (м. Київ). Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (лабораторія клінічної біохімії та імунохімії м. Харків, лабораторія епізоотології моніторингу захворювань тварин і провайдингу м. Одеса).

Наведено методи досліджень як загальнонаукових, так і специфічних (хімічні, біохімічні). Описано методи виділення β -глюкану клітинних стінок дріжджів та отримання водорозчинного глукану.

У третьому розділі «Отримання та характеристика препаратів бета- глюкану клітинних стінок дріжджів» наведено результати досліджень щодо отримання препаратів дріжджового β -глюкану з використанням гідроген пер оксиду, визначено їх склад, структурні особливості і функціонально-фізіологічні властивості.

Відомі способи виділення β -глюкану клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* мають ряд недоліків, серед яких найбільш значущими є трудомісткість або недостатній ступінь очищення полісахариду, що зумовлює зниження його фізіологічної активності. Загальноприйнятий метод дозволяє отримати цільовий продукт - стандартний зразок глюкану - високої чистоти (вміст полісахариду 90.3%, білка - 3.8%), з виходом кінцевого продукту 2.6% від сухої маси сировини.

Запропонований пероксидний спосіб виділення β -глюкану передбачає використання для руйнації клітинних оболонок дріжджів гідроген пероксиду концентрацією не менше 3 % з наступною обробкою твердої фази 3 % NaOH при кімнатній температурі протягом 30 хв, а потім 6% NaOH при 50...60 °С 60 хв для видалення манану і білка та 0,5 н розчином CH_3COOH для екстракції глікогену.

Встановлено, що варіюючи умови обробки дріжджів розчином H_2O_2 (концентрація, тривалість), можна отримувати кінцевий продукт із заданим ступенем очищення від супутніх речовин (табл. I)

Таблиця I

Вплив умов обробки дріжджів гідроген псроксидом на склад і вихід препаратів полісахариду

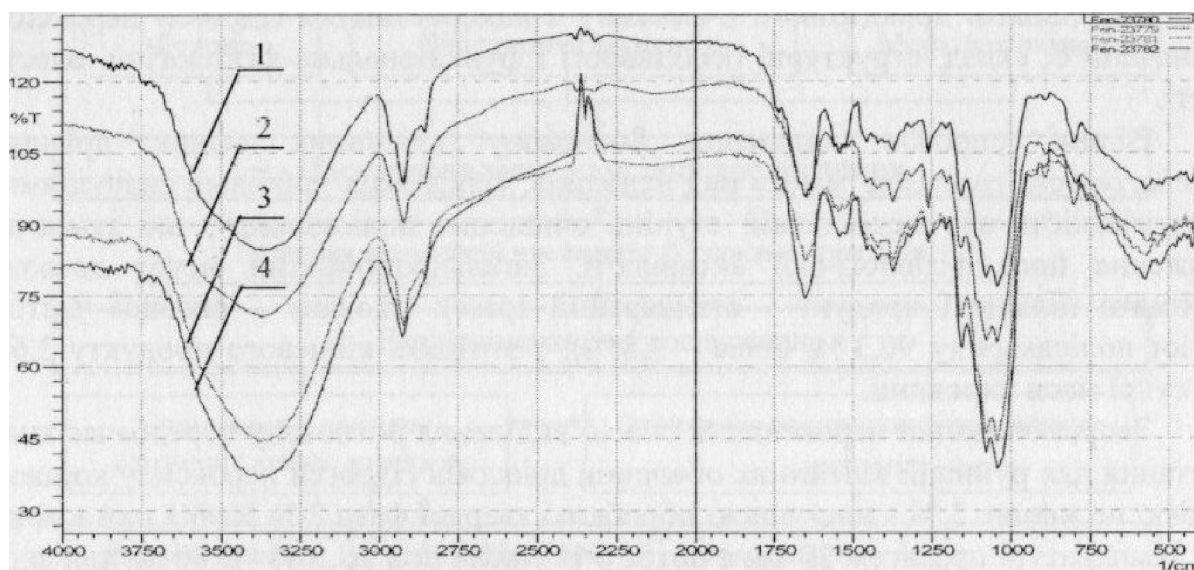
$\bar{t} = 3; p > 0,95$

№ зразка	Умови отримання		Хімічний склад, % с. м.		Вихід продукту, % від С. М. дріжджів
	Розчин H_2O_2 , масова частка, %	Тривалість обробки, хв	Полісаха рид	Білок	
1	3,0	60	82,6	14,5	19,7
2	3,0	300	91,3	5,2	12,0
3	3,0	180	89,7	8,3	14,7
4	13,5	180	93,9	2,8	12,9
5	24,0	180	97,3	сліди	8,1

Належність виділених полісахаридів до категорії Ц 1—>3)/(1—>6)-глюканів доведено результатами поляриметрії, ферментативного гідролізу та ІЧ-спектроскопії.

Розчини глюкопу мають лівий кут обертання, який зазначеннями відповідає даним, наведеним у літературних джерелах: $[\alpha]_D^{20}$ досліджуваних зразків = -8.5., '9.0, стандартного - -8.7. Отримані препарати глюкопу стійки до дії α -амілази та гідролізуються β -1 \rightarrow 3)- і β -(1 \rightarrow 6)-глюкозидазами.

На ІЧ-спектрах (рис. 2) зразків Ідентифіковано всі смуги поглинання (2920 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} , 1200 cm^{-1} , 1155 cm^{-1} і 1075 cm^{-1} , 1040 cm^{-1} , 893 cm^{-1}), притаманні β -(1 \rightarrow 3)-глюкозам. Смуги поглинання, властиві карбонільним і карбоксильним групам, наявності яких можна було очікувати, в спектрах зразків, отриманих пероксидним способом, виявлено не було. Додатковим свідченням, що підтверджує відсутність цих груп у полісахаридах, є негативні результати їх визначення хімічними методами.



1410.2. ІЧ-спектр глюкопу: 1 стандартний зразок; 2 - зразок № 5; 3 - зразок № 4; 4- зразок № 3.

Сукупність отриманих даних свідчать про належність даних полісахаридів до категорії β -(1 \rightarrow 3) / (1 \rightarrow 6)-глюкозів і відсутність у препаратах супутнього глікогену.

Таблиця 2

Дані ІЧ-спектроскопії, за якими

Індекси кристалічності і симетрії зразків визначено індекси кристалічності і симетрії (табл. 2), та кислотного гідролізу (рис. 3) свідчать, що досліджувані зразки глюкопу характеризуються більш високим ступенем впорядкованості, ніж стандартний, що, ймовірно, обумовлено руйнуванням аморфних ділянок полісахариду під дією розчинів H_2O_2 .

Зразок	Індекс кристалічності	Індекс симетрії
Стандартний	0.95	1.25

Результати дослідження структурного глюкопу методом атомно-силової мікроскопії показали, що його макромолекули формують фібрилярну структуру. Розміри фібрил досліджуваних зразків знаходяться в межах 0.6... 1,3 нм, стандартного - 1,2 нм.



Рис.3. Динаміка кислотного гідролізу [3-глюкану: 1 - стандартний; 2 - зразок Ка 3; 3 -

зразок № 4; 4 - зразок № 5
 КУО в г/см³ середовища, у присутності зразків [3-глюкану — 6,2...6,4* 10⁻¹² и їх концентрація становить 12%

У четвертому розділі «Отримання водорозчинного бета-глюкану дріжджів і його характеристика» наведено результати досліджень закономірностей ферментативного гідролізу [3-глюкану дріжджів та молекулярно-масового розподілу отриманих водорозчинних продуктів.

Обґрунтовано вибір ферментного препарату *Rovabio Excel AP* ([ЦІ→3)-глюканазна активність 500 од/г) як реагенту для часткової фрагментації структурного дріжджового (3-глюкану.

Закономірності ферментативного гідролізу структурного глюкану визначали в умовах, що відповідають *pH*- і термооптимумам дії ферменту ($t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$; $pH = 4,5$), а також при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $pH = 6,0$, коли активність ферменту зберігається у межах 80...90 %. Варіювали концентрацію ферменту в розчині (0,25 - 0,5 мг/смД, співвідношення фермент: субстрат (1:15... 1:30), що відповідає гідромодулю (*ГЩ* 60-240, і тривалість гідролізу (24...72 години). Ступінь переходу в розчин сухих речовин складав 20...95 % від маси вихідного полісахариду.

Встановлено, що максимальний вихід водорозчинного продукту (95 %) має місце за таких умов гідролізу: $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $pH \sim 6,0$, концентрація ферменту 0,25 мг/см³ E:S = 1:15, *ГМ*240, тривалість 72 години.

Відомо, що фізіологічна активність [3-глюкану залежить як від будови і розчинності полісахариду, так і від його молекулярної маси. Водорозчинні високомолекулярні фрагменти [3-глюкану дріжджів з молекулярною масою менше 150 кДа проявляють більш високу фізіологічну активність, ніж нерозчинний глікай, при цьому, згідно з літературними даними, найбільшою активністю володіють водорозчинні [ЦІ→3)/(1→βД-глюкани, молекулярна маса яких варіює в інтервалі 1 ...30 к Да.

Встановлено (табл. 3), що змінюючи умови ферментолізу, можна регулювати молекулярно-масовий розподіл водорозчинного глюкану.

Найбільш високий вихід фракції полісахариду з молекулярною масою 1... 30 кДа (71,3 % на суху масу вихідного полісахариду) має місце при pH 6,0, температурі 37 °С, E:S = 1:15, *ГМ*240 і тривалості 72 години (рис. 4).

Вихід водорозчинної* продуктів гідролізу відають кожному з піків на гель-глюкану молекулярної маси 1...30 кДа, % с. м. структурного (і-глюкану дріжджів валій додатковому хроматографу-

ванні на сефадексі в-150, що привело до їх диференціації. Так, полісахаридна фракція, яка за даними фракціонування (елюент вода) мала середню молекулярну масу 25 кДа, при хроматографування на в-150 в лужному розчині розділилася на три субфракції, що вважається свідченням наявності потрійної спіралі в структурі полісахариду і с передумовою збереження ним біологічної активності.

Оцінюючи можливість зниження матеріальних витрат на виробництво водорозчинного (3-глюкану, провели дослідження молекулярно-масового розподілу продуктів його гідролізу (табл. 4), здійсненого при мінімально можливому гідромодулі (GM 20) без використання буферних систем у воді ($pH = 5,9 - 6,0$) при температурі $37^{\circ}C$.

Зниженням GM при ферментолізі у дванадцять разів вдалося перевести в розчинний стан близько 70 % полісахариду.

При цьому вихід фракцій з молекулярною масою 1...30 кДа майже 40 % від маси вихідного полісахариду (рис. 5).

Препарат водорозчинного глюкану характеризували, використовуючи ГЧ-, 1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії.

Дані ГЧ-спектроскопії свідчать, що водорозчинний глюкан характеризується більш впорядкованою Надмолекулярною структурою (індекс

кристалічності 4,06), ніж вихідний нерозчинний (індекс кристалічності 2,55).

Отримані результати, дозволяють зробити висновок, що в процесі ферментативного гідролізу відбувається переважно розщеплення більш доступних, менш упорядкованих, ділянок структури полімеру, що приводить до утворення водорозчинного полісахариду, якій характеризується більш високим ступенем впорядкованості у порівнянні з вихідним [3-про капом клітинних стінок.

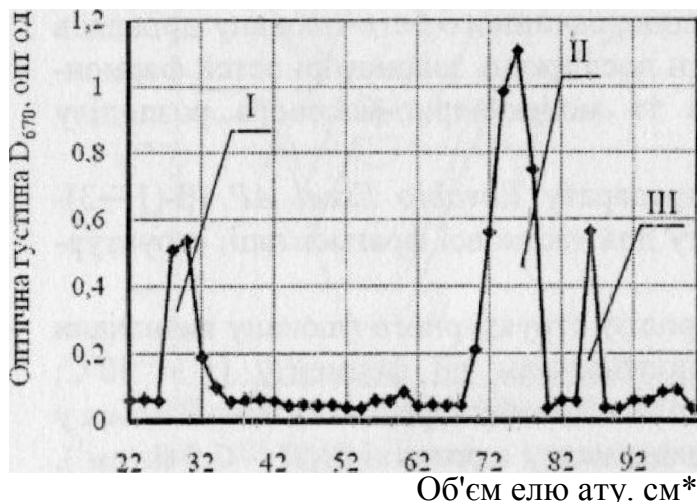


Рис. 4. Вихідна крива гель-хроматографії водорозчинного глюкану на сефадексі б-30. Піки відповідають фракціям: I - молекулярна маса більша 35 кДа; II - 15 кДа; III - менша 1 кДа.

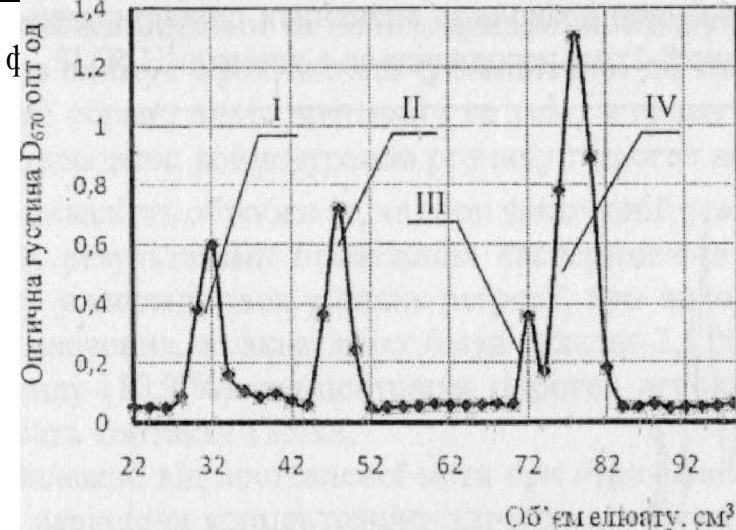


Рис. 5. Вихідна крива гель-хроматографії водорозчинного глюкану на сефадексі 0-50. Піки відповідають фракціям: I - молекулярна маса більша 35 кДа; II - 30 кДа; III-25 кДа; IV-15 кДа,

сулирною масою водорозчинних полісахаридів, що становить 40,950 кДа. в, % % сухої маси вихідного глюкану

На диференційному спектрі (рис. 6) водорозчинного глюкану відносно нерозчинного глюкану клітинних стінок дріжджів виявлено збільшення інтенсивності смуг поглинання в області 900.. . 1500 см що характеризують коливання С-Н-, С-О і О-Н- зв'язків, глікозидного зв'язку та глюкостероїдного ісильця, а також відзначається зменшення інтенсивності поглинання при 1542 см¹, що у сукупності вказує на більш високий ступінь очищення

водорозчинного полімеру у порівнянні з вихідним.

На спектрі (рис. 7) ¹H ЯМР (розчинник дейтерієва вода D₂O) виявлено: хімічні зсуви протонного магнітного резонансу при 3,00 - 4,50 ppm, що вказують на вуглеводну природу досліджуваного полімеру; інтенсивний пік (4,50 ppm), з яким ототожнюється наявність α -аномерної форми макромолекул. На спектрі спостерігаються сигнали протонів при аномерних атомах карбону 4.47 ppm (P*(1 \rightarrow 3)- зв'язані глюкостероїди) і при 4.36 (P-(1 \rightarrow 6)-зв'язані глюкостероїди).

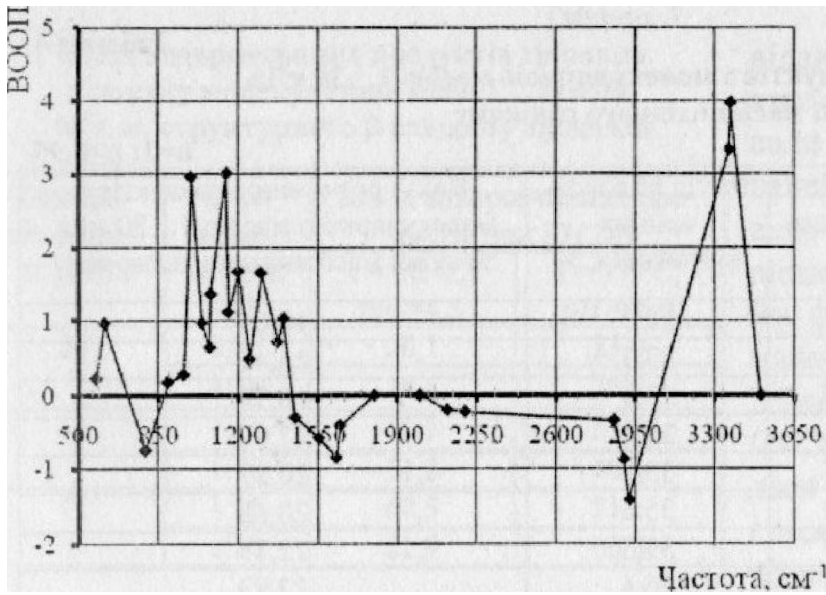


Рис. 6. Диференційний спектр порівняння водорозчинного глюкану щодо нерозчинного глюкану клітинних стінок дріжджів, отриманого пероксидним методом.

(3-(1→6)-зв'язаних

залишків глюкози у вигляді відгалужень, приєднаних до основного ланцюга в положення 0-6. Співставлення інтенсивностей сигналів 102,4 і 104,6 ppm дозволило визначити співвідношення (3-(1→3) і α -(1⁶)-зв'язків, яке склало 8:1, що узгоджується з даними ¹H ЯМР.

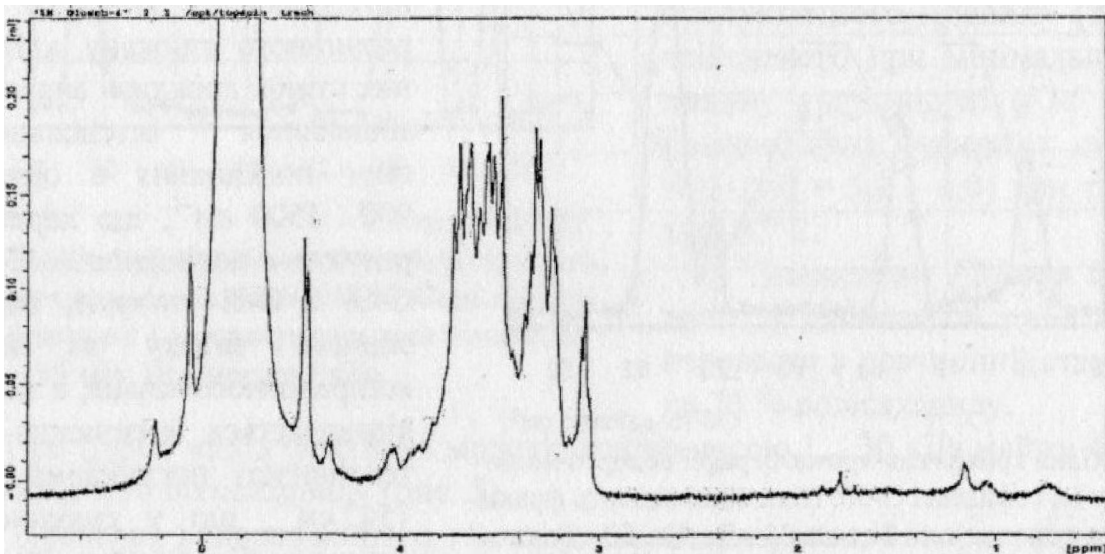


Рис. 7. ¹H ЯМР-спектр водорозчинного дріжджового глюкану.

Таким чином водорозчинний полісахарид являє собою [3-глюкан розгалуженої структури. Основний ланцюг його макромолекул побудовано із залишків α -D-глюкопіраноз, які з'єднані між собою (1³)-глікозидними зв'язками. До положень 0-6 моносахаридних залишків кора приєднуються бічні відгалуження, при цьому одне відгалуження припадає в середньому на 8 моносахаридних ланок кора, що відповідає ступеню розгалуження 0,12.

У п'ятому розділі «Розробка технологій препаратів бета-глюкану дріжджів» наведено дані щодо розробки технологій виробництва препаратів глюкану

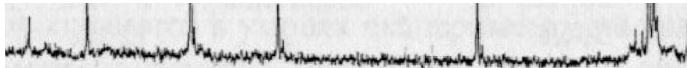
Співставлені інтенсивностей цих сигналів дозволило визначити співвідношення α -(1³)- і (3-(1→6)-зв'язків у полісахариді - 7,3:1,0.

На спектрі ¹³C ЯМР (рис. 8) ідентифіковано шість інтенсивних сигналів 102,4 (C1), 72,9 (C2), 85,6 (C3), 71,5 (C4), 73,4 (C5) і 62,5 (C6) ppm, що властиві [3-(1→3)-глюканам. Наявність сигналів при 104,6 (C1) і 75,8 (C5) ppm свідчить про присутність

дріжджів: структурного, водорозчинного та біомодифікованого (сукупність водорозчинного і структурного глюкану, що не розщепився в процесі ферментолізу).

Рис. 8. ^{13}C ЯМР-спектр водорозчинного дріжджового глюкану.

При обґрунтуванні умов руйнування клітинних оболонок дріжджів під впливом розчинів гідроген пероксиду прагнули отримати препарат з оптимальним співвідношенням білкової та полісахаридної компоненти, враховуючи, що вміст білка 3,8 % не знижує ефективність фізіологічної дії препарату. Тому параметрами оптимізації обрано вихід



препарату та вміст в ньому білка. В якості фактору оптимізації розглядали: концентрацію розчину гідроген пероксиду ($c_{\text{H}_2\text{O}_2}$, %), гідромодуль ($ГМ$), тривалість обробки (t , хв) при фіксованій температурі ($t = 23\text{ }^\circ\text{C}$).

За результатами проведених експериментів отримано математичну модель процесу у вигляді двох рівнянь регресії, при використанні яких встановили оптимальні значення, за яких вміст білка складає 3,8 % при максимальному виході полісахариду (10,9%): концентрація гідроген пероксиду 24,0%, гідромодуль 1,5 та тривалість контакту 135 хв.

Залежно від поставленої мети при отриманні глюкану клітинних стінок дріжджів, варіюючи концентрацію гідроген пероксиду, $ГМ$ і тривалість процесу, можна отримувати серію препаратів β -глюкану, що відрізняються виходом і вмістом супутнього білка.

Враховуючи наведені оптимальні умови, які дозволяють отримати продукт із заданою чистотою, розроблено технологічні схеми виробництва препаратів глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*: структурного, водорозчинного та біомодифікованого (рис. 9).

Найбільш перспективним джерелом отримання водорозчинного полісахариду є глюкан клітинних стінок, отриманий з використанням 3 % розчину H_2O_2 ($t = 180$ хв, $ГМ 2$). Його вибір в якості вихідного для ферментативного гідролізу пояснюється високими виходом (14,7 %) і вмістом полісахариду (близько 90 %), при цьому вміст білка (8,3 %) не відіграє суттєвої ролі, оскільки при ферментолізі в розчин він не переходить.

Пекарські лпіжлуки

	Транспортування	ящики ГОСТ 11354 ТУ	
	Приймання	У 15.8-00383320-001	
	Зберігання	0...+4°C не більше 20 діб	Фепмеітшм поеті-пат <i>KoPaBio ExcelAP</i>
24 % H ₂ O ₂	Суспендування	т= 135 хв, ГМ 1,5	Транспортування по 25 кг
екстракт 3	- Центрифугування	/i — 6000	Приймання 1 за ТУ
% ИаОН	Екстрагування		
екстракт *	Центрифугування		
6 % NaOH	Екстрагування	т = 60 хв n - 6000 хв г = 15 хв	т - 10 хв
екстракт ч	Центрифугування		
кислота екстракт •	І ----> Нейтралізація	n = 6000 хв ¹ ;	
0,5 н СН ₃ СООН	Центрифугування	г = 15 хв	
екстракт -	Т —> Екстрагування	т= 15 хв; n = 180 хв ⁻¹ ,	
вода екстракт ■	Нагрівання	до i = 75 °С n - 6000 хв ⁻¹ ; т = 15 хв	
	— Центрифугування	т= 15 хв; n ~ 180 хв ⁻¹ /;	
	Суспендування	= 6000 хв ⁻¹ , т — 15 хв	
	— Центрифугування		
Сушіння	/ = 80±2 °С, V < 8 %	Ферментативний гідроліз ГМ 20	
Лінія оформлення готової продукції	осад -4	Нагрівання ^ = 98±2 °С, т = 15 хв	
1.	— Центрифугування	/7 = 6000 хв ¹ , т - 15 хв	Сушіння / = 80±2 °С, n < 10%
Структурний р-глюкан	Сушіння	(= 80±2 °С, m > < 10 %	Лінія оформлення готової продукції
	Лінія оформлення готової продукції з біомодифікованим р-глюканом		
	<u>2. Водорозчинний</u>		<u>1</u>
	<u>р-глюкан</u>		

Рис. 9. Технологічна схема виробництва препаратів р-глюкану дріжджів: 1 - структурний; 2 - водорозчинний; 3 - біомодифікований.

Проведено промислову апробацію розроблених технологій на ТОВ НВП «Аріадна», м. Одеса. Розроблено нормативну документацію на виробництво дієтичних добавок: «Структурний β -глюкан дріжджів», «Водорозчинний глюкан дріжджів» та «Біомодифікований глюкан дріжджів».

Показано можливість зберігання препаратів глюкану протягом 12 місяців при 20 ± 2 °С, під час якого показники якості відповідають вимогам, викладеним у нормативній документації.

Показано можливість використання препаратів β -глюкану дріжджів в якості стабілізаторів біологічно активних речовин, зокрема вітаміну С.

Оцінка імуномодулюючої дії препаратів глюкану дріжджів (структурного і біомодифікованого) в умовах експерименту на тваринах показала, що їх використання сприямє активізації механізмів адаптації організму тварин. Найбільш виражену адаптаційно-імуномодулюючу дію має біомодифікований глюкан дріжджів.

Розраховано собівартість препаратів глюкану дріжджів, яка становить 24.21... 56.80 грн за 1 флакон (60 капсул), 1 капсула містить 200 мг глюкану. Добова дозгі добавки складає 2... 3 капсули на добу.

ВИСНОВКИ

На основі результатів теоретичних і експериментальних досліджень розроблено технології препаратів β -глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

1. Обґрунтовано спосіб виділення структурного β -глюкану клітинних стінок дріжджів з використанням гідроген пероксиду як реагенту для дезінтеграції клітинних оболонок. Визначено режими екстракції речовин, що супутні глюкану: манану та білка шляхом ступінчастої обробки 3 % NaOH ($t = 18...23$ °С, $\tau = 30$ хв) і 6 % NaOH ($t = 50...60$ °С, $\tau = 60$ хв); глікогену - 0,5 н CH_3COOH .

2. Встановлено, що у структурі глюкану присутні ділянки з різним ступенем впорядкованості. Обробка дріжджів H_2O_2 супроводжується деструкцією аморфних утворень і збільшенням ступеня кристалічності препаратів глюкану в 2.6... 3.3 рази в порівнянні зі стандартним зразком. Показано, що препарати глюкану дріжджів відносяться до категорії харчових волокон та проявляють ряд властивостей, які притаманні природним ентросорбентам: сорбують холевi кислоти (5,9 - 6,3 мг/г глюкану), мають високу водоутримуючу (7,6 - 8,8 г/г глюкану) та жирозв'язуючу здатності (2,0...3,2 г/г глюкану), проявляють виражений біфідогенний ефект.

3. Розроблено метод біотрансформації структурного глюкану у водорозчинну форму за допомогою контрольованої деструкції ферментним препаратом *Rovahio Excel AP* (β -($1 \rightarrow 3$)-глюканазна активність 500 од/г білка). Максимальне накопичення водорозчинних продуктів гідролізу глюкану має місце за наступних умов ферментолізу: концентрація ферменту 0,25 мг/см³, співвідношення E:S 1:15, *ГМ240*, тривалість гідролізу 72 год. Вихід водорозчинних продуктів становить 95 % від сухої маси вихідного полісахариду.

4. Встановлено будову водорозчинного глюкану: його макромолекула має розгалужену структуру, в основі якої лежить кор, що складається з залишків D-глюкопіраноз, які з'єднані β -($t \rightarrow 3$)-глікозиди нм и зв'язками. До положень 0-6

моносахаридних залишків кора приєднуються бічні відгалуження, ступінь розгалуження 0,12. Показано, що водорозчинний глкжан характеризується більш впорядкованою надмолекулярною структурою (індекс кристалічності 4,06), ніж вихідний нерозчинний (індекс кристалічності 2,55). Встановлено, що у препаратах глкжану присутні молекулярні утворення у вигляді потрійних спіралей.

5. Медико-біологічними дослідженнями на лабораторних тваринах доведено ефективність дії препаратів β -глкжану дріжджів як імуномодуляторів, яка найбільш виражена при застосуванні біомодифікованого глкжану, який являє собою сукупність водорозчинного та структурного глкжану, що не [юзщепився в процесі ферментолізу.

6. Визначено оптимальні режими процесу дезінтеграції клітинних оболонок дріжджів, що забезпечують максимальний вихід препарату структурного глюкану, з вмістом білка 3,8%: концентрація гідроген пероксиду 24,0%, гідромодуль 1,5, тривалість контакту 135 хв. Обґрунтовано технології дієтичних добавок: «Структурний глюкаїї дріжджів», «Водорозчинний глюкан дріжджів», «Біомодифікований глюкан дріжджів».

7. Здійснено промислову апробацію технологій препаратів глюкану наТОВ ЇВП «Аріадна», м. Одеса. Показано, що отримана продукція відповідає необхідним санітарно-гігієнічним показникам і може зберігатися протягом 12 місяців. Розроблено нормативну документацію на виробництво дієтичних добавок - препаратів β -глюкану дріжджів.

Список робіт, опублікованих за матеріалами дисертації

1. Черно, Н. К. Ферментативна фрагментація (1-+3/1 —► б)-Р-0-глюкану клітинних стінок *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // Н. К. Черно, О. В. Коваленко, К. І. Шапкія // Харчова наука і технологія. - № I (18).-2012.-С. 40-43.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

2. Черно, Н. К. Спосіб отримання бста-глюкану клітинних стінок дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // Н. К. Черно, К. І. Шапкіна, О. В. Коваленко // Збірник наукових праць «Прогресивна техніка та технологія харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі». - № 2 (16). - Харків, 2012. - С. 321-326.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

3. Черно, Н. К. Гриби *Agaricus bisporus* та дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* як джерело глюкановмісних харчових інгредієнтів [Текст] // Н. К. Черно, К. І. Шапкіна, О. В. Нікітіна, О. В. Коваленко // Тематичний збірник наукових праць «Обладнання та технології харчових виробництв». - Віт. 29. - Т 2. - Донецьк, 2012. - С. 316-322.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку, щодо виділення та характеристики глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.*

4. Черно, Н. К. Водорозчинний бета-глюкан *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // Н. К. Черно, О. В. Коваленко, К. І. Шапкіна // Харчова наука і технологія, - № 4 (21). - 2012. -С. 32-35.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

5. Пат. на корисну модель № 73804, МПК (2012) A23L 1/30 (2006.01), A23L 1/308 (2006.01). Спосіб одержання біологічно активної Добавки [Текст] ! Черно Н. К., Кудашев С. М.,

Шапкіна К І.; власник Одес. нэп. акад. харч технологій. — Nu u 2012 03161; Заявл. 19.03.2012; Опубл. 10.10.2012, Бюл. №19.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

6. Пат. на корисну модель № 83594, МПК (2013) C12P 19/04 (2006.01), A23L 1/30 (2006.01). Спосіб одержання водорозчинного β-глюкану [Текст] / Черно Н К., Шапкіна К. І., Коваленко О.В.; власник Одес. иац акад. харч технологій. - № її 2012 14015; Заявл. 10.12.2012; Опубл. 25.09.2013, Бюл. №18.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

7. Черно. Н. К. Получение и характеристика водорастворимого глюкана *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // Н. К. Черно, К И. Шпанкина // Известия ВУЗОВ, Пищевая Технология. -- Вып. 4 (334). - Краснодар, 2013. - С. 29-32.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

8. Черно, Н. К. Получение и частичный гидролиз бета-глюкана клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // Н. К. Черно, А В Коваленко, К. И. Шапкіна // Сборник научных трудов Sword «Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании 2012». Вып. 4. - Т.45. - Одесса, 2012. - С. 97-101.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

9. Русева, Я. П. Получение биологически активных комплексов на основе дрожжевых полисахаридов [Текст] // Я. П. Русева, К. И. Шапкіна. //Материалы VII Международной научной конференции студентов и аспирантов «Техника и технология пищевых производств» - Могилев, 2010. - С. 88-89.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

10. Русева, Я. П. Порівняльна характеристика методів отримання біологічно активних комплексів на основі дріжджових полісахаридів [Текст] // Я П Русева, К. І Шапкіна. // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і студентів «Актуальні проблеми розвитку харчових виробництв, ресторанного господарства і торгівлі» - Харків, 2010. -С. 42.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

11. Шапкіна, К І. Дріжджі як джерело функціональних інгредієнтів [Текст] // К. І. Шапкіна, І. В. Яровенко // Збірник тех. студентських наукових праць (технічна серія) «Техніка та технологія харчових виробництв» - Донецьк, 2011 - С, 263-264.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

12. Шапкіна, К. І. Отримання полісахаридного комплексу з пекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // К. І Шапкіна // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів та студентів. - Одеса, 2011. - С. 150

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку:

13. Черно, Н. К. Способ получения водорастворимого β-глюкана пекарских дрожжей [Текст] // Н. К. Черно, К. И. Шапкіна // Матеріали сьомої міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток наукових досліджень» - Полтава, 2011 - С. 145-147.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

14. Ломака, Е. В. Полисахариды и их комплексы как функциональные ингредиенты пищи [Текст] // Е, В Ломака, А. В Никитина, К И Шапкіна, // Материалы VIII Международной

научной конференции студентов и аспирантов «Техника и технология пищевых производств» - Могилев, 2012. - С. 214, '

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку, щодо розробки умов контрольованого ферментативного гідролізу структурного глюкану.

15. Шапкіна, К. І., Ферментативний спосіб отримання водорозчинного β-глюкану клітинних стінок хлібопекарських дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] // К. І. Шапкіна // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів та студентів. - Одеса, 2012, -С. 45-46,

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

16. Chemo N., Functional food ingredients on the basis of polysaccharides [Текст] // N. Chemo, K. Shapkina, A. Nikitina, E Lomaka and S Osolina // Матеріали другого північного та східно-європейського конгресу з харчової Науки (NEEFood-2013). -Київ, 2013 - Р. 213

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку, і щодо отримання та характеристики водорозчинного β-глюкану дріжджів.

17. Черно, Н. К. Отримання ентеросорбенту з хлібопекарських дріжджів [Текст] // И. К. Черно, О. В. Коваленко, К. І. Шапкіна // Матеріали VI Міжгалузевої міжнародної науково-практичної конференції. «Харчові добавки Харчування здорової і хворої людини» - Донецьк. 2013. - С. 206-207.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

18. Антипіна, О. А. Хлібопекарські дріжджі - перспективне джерело отримання біологічно активних добавок [Текст] // О. А. Антипіна, К. І. Шапкіна, Н. М. Чорна // Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Сучасний ринок товарів та проблеми здорового харчування». - Харків, 2013. -С. 119-120.

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку,

19. Шапкіна, К. І. Бета-глюкан дріжджів як функціональний Інгредієнт продуктів харчування [Текст] // К. І. Шапкіна, Ю. Є. Кудряшова, /і Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів та студентів. - Одеса, 2013. - С.90,

Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалу до друку.

АНОТАЦІЯ

Шапкіна К. І. Розробка технологій препаратів β-глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. - Рукопис,

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 - біотехнологія, - Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки України. Одеса. 2014 р.

Дисертацію присвячено розробці технологій отримання препаратів β-глюкану дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Структурний β-глюкан виділено шляхом дезінтеграції клітинних оболонок дріжджів під дію гідроген пероксиду, наступної ступінчастої обробки біомаси розчинами лугів для видалення манану і білка та розчином оптової кислоти для видалення глікогену.

Розроблено метод перетворення структурного глюкану у водорозчинну форму за допомогою контрольованої деструкції ферментним *Rovabio Excel AP*.

В умовах експерименту на тваринах встановлено імуномодулюючу дію розроблених препаратів глюкану дріжджів. Показано, що водорозчинна форма проявляє більш виражений імуномодулюючий ефект,

Оптимізовано параметри процесу дезінтеграції клітинних оболонок дріжджів гідроген пероксидом за допомогою методів математичного моделювання. Розроблено та економічно обгрунтовано технології отримання структурного, водорозчинного і біомодифікованого (сукупність водорозчинного глюкану та не- прогідролізованого залишку після ферментолізу) глюканів дріжджів.

Реальність розроблених технологій підтверджено результатами промислової апробації на підприємстві ТОВ ПВО «Аріадна». Розроблено нормативну документація на виробництво препаратів глюкану дріжджів.

Ключові слова: дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, полісахариди дріжджів, β -(1 \rightarrow 3)/(1 \rightarrow 6)-глюкан, ферментативний гідроліз.

АННОТАЦИЯ

Шапкина К. И. Разработка технологий препаратов β -глюкана дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. — Рукопись.

Диссертация па соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 - биотехнология. - Одесская национальная академия пищевых технологий Министерства образования и науки Украины. Одесса. 2014.

Диссертация посвящена разработке технологий получения препаратов β -глюкана дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (структурного, водорастворимого и биомодифицированного).

Значительное внимание в работе уделяется разработке упрощенного метода выделения структурного β -глюкана клеточных стенок дрожжей и изучению состава, структуры и функционально-физиологических свойств полученного продукта, а также разработке способа преобразования данного полисахарида в наиболее физиологически активную водорастворимую форму.

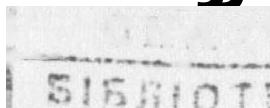
Структурный β -глюкан выделен путем дезинтеграции клеточных оболочек дрожжей под действием пероксида водорода (концентрацией не менее 3 %), с последующей ступенчатой обработкой биомассы растворами щелочей для удаления маннана и белка (3 % NaOH при комнатной температуре в течение 30 минут и 6 % NaOH при температуре 50...60 °С в течение 60 минут) и раствором 0,5 н уксусной кислоты при температуре 75 °С для удаления гликогена.

Установлено, что варьированием условий обработки дрожжей раствором H₂O₂ (концентрация, продолжительность) можно получить конечный продукт заданной степени чистоты.

Принадлежность выделенного полисахарида к категории β -(1 \rightarrow 3)/(1 \rightarrow 6)- глюканов подтверждена результатами поляриметрии, ферментативного гидролиза, ИК-спектроскопии.

Установлено, что в структуре глюкана присутствуют участки с различной степенью упорядоченности. Обработка дрожжей H₂O₂ сопровождается деструкцией аморфных образований и увеличением степени кристалличности

icsdfβjijt



глюкана.

Результатами исследований структурного глюкана методом атомносиловой микроскопии показано, что его макромолекулы формируют фибриллярную структуру. Размеры фибрилл исследуемых образцов находятся в интервале 0,6... 1,3 нм.

Показано, что полученные препараты проявляют функционально-физиологические свойства, которые присущи пищевым волокнам. Доказано, что они проявляют выраженный бифидогенный эффект.

Разработан метод преобразования структурного глюкана в водорастворимую форму с помощью контролируемой деструкции ферментным препаратом *Rovabio Excel AP*. Установлены условия, при которых происходит максимальное накопление наиболее физиологически активных водорастворимых фрагментов молекулярной массой 1...30 кДа.

Водорастворимый глюкам характеризуется более упорядоченной надмолекулярной структурой, чем структурный.

Установлено, что в препаратах глюкана присутствуют молекулярные образования в виде тройных спиралей.

На спектре ^1H ЯМР (растворитель дейтериевая вода D_2O) обнаружены: химические сдвиги протонного магнитного резонанса при 3,00 - 4,50 ppm, которые указывают на углеводную природу исследуемого полимера; интенсивный пик (4.50 ppm), отождествляемый с наличием р-аномерной формы макромолекул; сигналы протонов при аномерных атомах углерода 4.47 ppm (р-(1 \rightarrow 3)-связанные глюкопиранозы) и при 4.36 ppm (р-(1 \rightarrow 6)-связанные глюкопиранозы).

Сопоставление интенсивностей этих сигналов позволило определить соотношение р-(1 \rightarrow 3)- и р-(1 \rightarrow 6)-связей в исследуемом образце - 7,8:1,0.

На спектре ^{13}C ЯМР идентифицированы шесть интенсивных сигналов 102,4 (C1), 72,9 (C2), 85,6 (C3), 71,5 (C4), 73,4 (C5) и 62,5 (C6) ppm, которые присущи р-(1 \rightarrow 3)-глюканам. Наличие сигналов при 104,6 (C1) и 75,8 (C5) ppm, свидетельствует о наличии р-(1 \rightarrow 6)-связанных остатков глюкозы в виде ответвления, присоединенных к основной цепи в положении 0-6. Сопоставление интенсивностей сигналов 102,4 и 104,6 ppm позволило определить соотношение р-(1 \rightarrow 3)- и р-(1 \rightarrow 6)-связей в исследуемом образце, которое составило 8:1, что согласуется с данными спектра ^1H ЯМР.

Таким образом, основная цепь водорастворимого глюкана построена из остатков р-D-глюкопираноз, соединенных (1 \rightarrow 3)-гликозидными связями. К положениям 0-6 моносахаридных остатков кора присоединяются боковые ответвления, на 8 моносахаридных звеньев кора в среднем приходится одно ответвление, что соответствует степени ветвления 0,12.

Оценка иммуномодулирующего действия препаратов глюкана дрожжей (структурного - клеточных стенок и биомодифицированного, который включает водорастворимую составляющую) в условиях эксперимента на животных показала, что их использование способствует активизации механизмов адаптации организма животных. Наиболее выраженное адаптационно-иммуномодулирующее действие проявляет биомодифицированный глюкан дрожжей.

Оптимизированы параметры процесса дезинтеграции клеточных оболочек дрожжей пероксидом водорода с помощью методов математического моделирования. Разработаны и экономически обоснованы технологии получения препаратов [3-глюкана

дрожжей: структурного, водорастворимого и биомодифицированного.

Реальность разработанных технологий подтверждена результатами промышленной апробации на предприятии ООО НПП «Ариадна».

Показано, что полученная продукция отвечает необходимым санитарно-гигиеническим показателям и может храниться в течение года без снижения качества.

Разработана нормативная документация на производство препаратов глюкана дрожжей.

Ключевые слова: дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, полисахариды дрожжей, [3-(1 → 3)/(1 → 6)-глюкан, ферментативный гидролиз.

ABSTRACT

Shapkina K. Development of (3-glucon preparations technologies of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. — Manuscript.

The thesis for obtaining the scientific degree of the candidate of technical sciences on speciality' 03.00.20 - biotechnology. - Odessa National Academy of Food Technologies, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Odessa. 2014.

The thesis was devoted to the technologies development of obtaining P-glucon preparations from yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Significant attention was paid to the development of a simple method of the (3- glucon isolation from the yeast cell wall. It was investigated the composition, structure, functional and physiological properties of the obtained preparations. It was developed the method for converting this polysaccharide into the most physiologically active soluble form.

The structural (3-glucon was isolated by the disintegration of yeast cell walls with hydrogen peroxide solution, following treatment of biomass with alkaline agent to remove the mannan and protein and acetic acid solution to extract the glycogen.

The transformation method of the structural glucon into the soluble form using the controlled degradation by the enzyme preparation *Rovabio Excel AP* was developed.

It was determined the immunomodulatory properties of yeast glucon preparations in the experiment on animals. It was found that the soluble form showed more pronounced immunomodulatory effect.

The optimal modes of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls disintegration by hydrogen peroxide solution were developed.

The technologies of obtaining the yeast glucon (structural, soluble and biomodification) preparations were developed and substantiated.

The reality of developed technologies was confirmed by the results of the industrial testing at the biotechnological company "Ariadne". The normative documentation for manufacturing yeast glucon preparations was developed.

Keywords: yeast *Saccharomyces cerevisiae*, yeast polysaccharides, p-(1 → 3)/(1 → 6)-glucon, enzymatic hydrolysis.