

УДК 628.543

З. А. Канарская

ВЛИЯНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ДРОЖЖЕЙ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДсорбЦИИ Т-2 МИКОТОКСИНА

Ключевые слова: полисахариды дрожжей, ферментативный гидролиз, протеин, глюкан, маннан, адсорбция Т-2 микотоксина.

*Установлено влияние протеина, глюкана и маннана на эффективность адсорбции Т-2 микотоксина клеточной стенкой дрожжей. Показано, что ферментативный гидролиз протеина дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и маннана клеточной стенки дрожжей увеличивает эффективную адсорбцию Т-2 микотоксина. Ферментативный гидролиз глюканов клеточной стенки дрожжей снижает эффективную адсорбцию Т-2 микотоксина.*

Key words: polysaccharides of yeast, enzymatic hydrolysis, protein, glucan, mannan, the adsorption of T-2 mycotoxin.

*The effect of protein, glucan and mannan on the efficiency of adsorption of T-2 mycotoxin cell wall of yeast. It is shown that enzymatic hydrolysis of the protein and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cell wall mannan of yeast increases the effective adsorption of T-2 mycotoxin. Enzymatic hydrolysis of yeast cell wall glucan reduces the effective adsorption of T-2 mycotoxin.*

Актуальность работы

Созданию эффективных способов своевременного выявления и обезвреживания кормов от микотоксинов уделяется постоянное внимание. В настоящее время разработаны физические, химические и биологические методы обезвреживания кормов от микотоксинов. Однако, предложенные методы обработки тепловые, ультрафиолетовое и гамма-излучение, озонирование, обработка аммиаком, концентрированными щелочами, кислотами, перекисью водорода и т.п., к сожалению, дает только незначительное обезвреживание кормов от микотоксинов. При этом снижается кормовая ценность продукта.

Наиболее приемлемым способом обезвреживания кормов является адсорбция микотоксинов адсорбентами, которые выводятся из организма животных [1].

Имеются рекомендации по применению в качестве адсорбента клеточных стенок дрожжей [2].

Клеточная стенка дрожжей представляет собой жесткую структуру толщиной 1000 – 2500 Å, составляющую около 25 % сухой массы клетки [1]. Содержание полисахаридов в клеточной стенке *Saccharomyces cerevisiae* может составлять до 90 % от массы клеточной стенки [2]. Химический анализ клеточной стенки показывает, что она состоит в основном из глюкана и маннана; наряду с этими компонентами в стенке присутствуют хитин и белок. Глюкан – это сложный разветвленный полимер глюкозы, располагающийся во внутреннем слое клеточной стенки, прилежащем к плазмалемме. По-видимому, глюкан – основной структурный компонент клеточной стенки, поскольку при его удалении она полностью разрушается. Маннан (сложный полимер маннозы) находится главным образом во внешних слоях клеточной стенки. Удаление маннана не изменяет общую форму клетки, так что он, очевидно, несуществен для поддержания целостности клеточной

стенки. Третий углеводный компонент стенки, хитин, представляет собой полимер N - ацетилглюкозамина; он обнаруживается в участках клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae*, ассоциированных с дочерними шрамами. Белок составляет 10 % сухой массы клеточной стенки. По крайней мере, часть этого белка находится в виде связанных со стенкой ферментов. Некоторые из этих ферментов (например, инвертаза) представляют собой маннопротеины и содержат в качестве составной части молекулы до 50 % маннана. Многие из остальных белков клеточной стенки также ассоциированы с маннаном, так что последний, видимо, выполняет в клеточной стенке структурную функцию [1].

В составе клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* находят аминосахара типа глюкозаминов, не сходных с хитином или хитозаном. Эти аминосахара, как правило, являются составной частью гликопротеинов [3]. Клеточная стенка состоит на 40 % из маннопротеинов и на 2 % из хитина; остальное приходится на полимер глюкозы глюкан [4]. У *Saccharomyces cerevisiae* обнаружены гомогликаны, имеющие β - 1, 3- и β -1, 6-связи, соотношение их в стенке 5,7 : 1 [3]. β - 1,3 и β - 1,6 - глюканы клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* являются одним полимером с молекулярной массой ~ 240000, в котором основная цепь представлена β - ,6 - глюканом, а боковые цепи – β -1,3 – глюкозидными остатками [3].

Гликопротеины, представленные у дрожжей, главным образом, маннопротеинами, играют роль рецепторов, воспринимающих многочисленные сигналы, поступающие в клетку из среды, участвуют в осуществлении контактов между организмами [5]. В механизме

образования контактов особую роль играют лектины и маннопротеины-агглютинины [5].

В клеточной стенке, как и в прилегающей к ней периплазме, находятся секретируемые организмом вещества, в том числе ферменты, многие из которых по своей природе являются маннопротеинами: инвертаза, кислая фосфатаза, аспарагиназа, β - глюканаза, α - галактозидаза, хитиназа [5].

Если маннопротеины располагаются на поверхности стенки и являются «цементирующими» компонентами, связывающими остальные составные ее части в единую структуру, то другие полисахариды, а именно глюканы и хитин образуют каркас, придающий стенке необходимую форму и жесткость. В то же время значение глюканов нельзя свести только к функции строительных материалов. Оказалось, что β - (1,6) - глюканы дрожжей являются рецепторами киллер-токсинов, играющих важную роль во взаимоотношениях между микроорганизмами [5].

Маннан - щелочерастворимый полисахарид. Он представляет собой разветвленный полимер маннозы. Основная (осевая) его цепь состоит из α (1 - 6) - маннозы, ее боковыми ответвлениями являются полимеры α (1-2)- и α (1 - 3) - маннозы [6].

Под манновым слоем в клеточной стенке располагается глюкан - полисахарид, обнаруженный во всех без исключения исследованных к настоящему времени дрожжах. Он делится на гидроглюкан и щелочерастворимый глюкан. Для гидроглюкана характерна микрофибриллярная структура, а представляет он собой линейный полимер β (1 - 3) - глюкозы. Нативный глюкан более сложен. Он на 10 - 20 % состоит из β (1 - 6) - глюкозы, связанной в мощные длинные блоки с цепочками β (1 - 3) - глюкозы [6].

Фибриллы глюкана в стенках дрожжей разных видов могут быть упакованы по-разному. У почкующихся дрожжей (*Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*) микрофибриллы глюкана ориентированы неупорядоченно и образуют так называемую листообразную, сетчатую ткань [6].

Биосорбент из дезинтегрированных оболочек дрожжей-сахаромицетов обладает высокой сорбирующей способностью из организма токсичных металлов [7], в том числе, и пестицидов различного состава, кроме того, это прекрасный антиаллергент и радиофаг [8, 9]. Полученный биосорбент по патенту [8] повышает адаптируемость человека к работе в экстремальных условиях, что подтверждено при подготовке спортсменов [10].

Имеются данные по способности адсорбировать микотоксины сорбентом, полученных из клеточной стенки дрожжей.

Основным сорбентом для микотоксинов является препарат «Микосорб» (Alltech, USA), полученный на основе глюканов, выделенных из внутренней части дрожжевой клеточной стенки. Аналогичный продукт изготавливает компания «Angel» (China).

«Микосорб» обладает адсорбирующей способностью в отношении широкого спектра микотоксинов. Оптимальная норма для птицы от 500 до 1000 г на 1 т корма [11].

«Микосорб» эффективно адсорбирует микотоксины в желудочно-кишечном тракте сельскохозяйственных животных и птиц. Этот факт подтверждают российские и зарубежные ученые.

Применение адсорбента «Микосорб» в количестве 0,5 кг на тонну корма способствовало устранению у цыплят-бройлеров симптомов микотоксикозов, увеличению сохранности и продуктивности птицы. Микотоксикозы были вызваны естественной контаминацией кормов афлатоксином В₁ (2 - 150 мкг/кг корма), зеараленоном (50 - 600 мкг/кг корма), охратоксином А (2 - 40 мкг/кг корма), Т-2 токсином (25 - 250 мкг/кг корма), дезоксиниваленолом (30 - 1100 мкг/кг корма), стеригматоцистином (25 - 270 мкг/кг корма), а также неидентифицированными микотоксинами, обнаруженных в комбикорме [12].

Афлатоксин (2 мг/кг корма) и Т-2 токсин (1 мг/кг корма) значительно снизили потребление корма, привесы, усвояемость корма, вес тимуса и фабрициевой сумки, титры антител против болезни Ньюкасла у цыплят-бройлеров. Было обнаружено, что «Микосорб» (1 кг/тонну корма) очень эффективно противодействует индивидуальной и комбинированной токсичности афлатоксина и Т-2 токсина у цыплят - бройлеров. «Микосорб» значительно улучшил вес тела, усвояемость, потребление корма и восстановил вес органов у всех групп, получающих контаминированный микотоксинами корм [13].

Оценено действие адсорбента микотоксинов на основе дрожжевой клеточной стенки («Микосорб») на продуктивность бройлеров, потребляемых корм, контаминированный Т-2 токсином и фумонизином В₁. Основу рациона составили кукуруза, пшеница и соя. Рацион содержал 30 % кукурузы, естественно загрязненной 400 мкг/кг Т-2 токсином и 560 мкг/кг фумонизином В₁. В рацион включали 0,5 или 1,0 кг на тонну корма адсорбент микотоксинов «Микосорб». В зарегистрированных результатах не было никаких достоверных различий между включением адсорбента микотоксинов 0,5 или 1,0 кг/тонну корма. За 42 дня выращивания цыплят бройлеров привес в контрольной группе (без адсорбента) составил 1683 г в опытной группе - 1883 г [14].

Была выявлена зависимость применения «Микосорба» с уменьшением синергичного взаимодействия микотоксинов на кур. Включение в рацион загрязненной кукурузы, которая была контаминирована естественным путем микотоксинами (33 мкг/кг афлатоксином, 0,68 мг/кг зеараленоном, 4,5 мг/кг фумонизином, 0,39 мг/кг Т-2 токсином и 1,4 мг/кг дезоксиниваленолом), привело к снижению продуктивности птиц. Был проявлен синергизм между микотоксинами кукурузы и афлатоксином, дополнительно добавленным в

рацион в дозе 3 мг/кг. Включение афлатоксина в корм привело к увеличению печени, сердца. Вес селезенки был также более высок у птиц, потреблявших загрязненную кукурузу + афлатоксин. Добавление в корм «Микосорба» (1 кг/тонну корма) снизило смертность птиц, употребивших загрязненный афлатоксином корм. «Микосорб» был способен минимизировать отрицательные воздействия микотоксинов [15].

Глиняные адсорбенты помимо микотоксинов связывают также минеральные вещества, что сказывается на содержании минеральных веществ в яйце. Бройлеры получали корм, загрязненный естественным путем 65 мкг/кг афлатоксином, 45 мкг/кг Т-2 токсином и 50 мкг/кг охратоксином А, и адсорбент микотоксинов. Одна группа птиц получала с кормом глиняный адсорбент, а другая – адсорбент «Микосорб». Содержимое яиц отделили от скорлупы и перемешали до однородной массы, затем проанализировали масс-спектрометрией на содержание кальция, фосфора, натрия, калия, магния, меди, железа, марганца, селена и цинка. Содержание всех элементов, кроме селена, было более высоким в группе с «Микосорбом» по сравнению с рационом, содержащий адсорбент на основе глины. Содержание минеральных веществ в мг/кг («Микосорб» в сравнении с глиной) составило:

- кальция - 509 против 476;
- фосфора - 1864 против 1727;
- натрия - 1241 против 1172;
- калия - 1175 против 1083;
- магния - 84 против 78;
- меди – 2,17 против 2,07;
- железа – 30,8 против 27,8;
- марганца – 0,85 против 0,77;
- цинка – 15,4 против 14,1.

В течение эксперимента, была тяжелая вспышка Т-2 токсикоза. Отмечены поражения рта - типичные для Т-2 токсикоза. У пораженных птиц отмечены также поражения в печени. Поражения Т-2 токсином у птиц были менее выражены при поддержке «Микосорбом», чем адсорбентом на основе глины. В целом, эксперимент показал, что:

- адсорбент на основе глины может уменьшить содержание минеральных веществ в яйцах (без учета скорлупы), в сравнении с «Микосорбом»;
- «Микосорб» уменьшил серьезность поражений Т-2 токсином бройлеров [16].

Рацион свиней, содержащий 1500 нг/кг зеараленона, вызвал 166 % увеличение относительной массы репродуктивных путей, тогда как добавление «Микосорба» 1 кг/тонну или 2 кг/тонну корма, предотвращало последствия гиперэстрогенизма приблизительно на 74 % и 84 % соответственно [17].

«Микосорб» способен увеличить концентрации α и γ -токоферолов (на 11,2 % и 11,1 % соответственно), и α и γ - токотриенолов (на 16,7 %, и 15,3 % соответственно) в яичном желтке по сравнению с яйцами, полученными от несушек, рацион которых содержал микотоксин ауурофузарин без добавления адсорбента. Ауурофузарин вызвал изменение окраски желтка в яйце от желтого до коричнево-зеленоватого с кровавыми пятнами и значительно снизил содержание антиоксидантов (α -токоферола, γ - токоферола, α -

токотриенола и γ -токотриенола), подтверждалось накопление ауурофузарина в желтке яйца. Включение «Микосорба» в рацион имело защитный эффект против токсикоза, вызванный ауурофузарином. В частности цвет яичного желтка был только немного отличен от контрольной группы (корм без содержания микотоксина), а зеленоватый оттенок отсутствовал [18].

«Микосорб» в дозе 1 кг/тонну корма адсорбирует более 75 % афлатоксина (250 - 500 мкг/кг) в течение 30 минут после кормления цыплят бройлеров рационом, загрязненным афлатоксином В₁ [19].

«Микосорб», внесенный в корм в количестве 0,5 кг/тонну уменьшает токсическое действие охратоксина А (500 мкг/кг) на цыплят-бройлеров [20].

«Микосорб» (1 кг/тонну корма) адсорбирует большую часть Т-2 токсина (0,5 – 1 мг/кг корма) в желудочно-кишечном тракте цыплят бройлеров в течение 60 минут после кормления [21].

Наличие в рационе 30 % естественно загрязненной кукурузы, содержащей 4 мг/кг Т-2 токсина, и 5,6 мг/кг фумонизина В₁ привело к снижению скорости роста цыплят спустя 4 недели кормления. Включение «Микосорба» в диету уменьшило вредное воздействие микотоксинов, что доказано улучшенным привесом, обеспечивая промежуточные показатели между контрольной группой цыплят (30 % «чистой» кукурузы) и группой цыплят, получавших в составе рациона 30 % естественно загрязненной кукурузы без «Микосорба». Действие микотоксина проявилось снижением концентрации витаминов Е и А в печени цыплят. «Микосорб» предотвратил снижение концентрации витамина Е, а также витамина А в печени цыплят [22].

В эксперименте [23] рацион кур содержал 18 % ячменя, естественно загрязненного Т-2 токсином в концентрации 20 - 90 мкг/кг корма и не идентифицированным трихотеценовым микотоксином (эквивалент 50 мкг Т-2 токсина). Группа, получающая с кормом адсорбент «Микосорб» (1 кг/т корма) показала снижение смертности кур на 4 %, в сравнении с курами контрольной группы (без «Микосорба») [23].

Добавление «Микосорба» в корм, естественно загрязненный алкалоидами спорыньи, предотвратило негативные последствия микотоксикоза кур. Адсорбционная способность «Микосорба» (1 кг/т корма) оценена в сравнении с адсорбентом «Токсинил» (2 кг/т корма). Включение естественно загрязненной микотоксинами спорыньи пшеницы значительно снизило яичную продуктивность. Оба адсорбента оказали положительный эффект на продуктивность. Однако яичная продуктивность была на 6,25 % выше в группе, корм которой содержал адсорбент «Микосорб», нежели

«Токсинил». Смертность была также уменьшена в группе, корм которых содержал «Микосорб» в сравнении с адсорбентом «Токсинил» (0,44 % против 0,46 %) [24].

В эксперименте индийских исследователей сравнили эффективность двух адсорбентов – адсорбент на основе глины и адсорбент «Микосорб». Корм был загрязнен микотоксинами в количестве 65 мкг/кг афлатоксинов, 45 мкг/кг Т-2 токсина и 50 мкг/кг ократоксина А. Хроническая токсичность этих микотоксинов даже в низких концентрациях особенно сказывается на курах бройлерных пород, связана с яичной продуктивностью, качеством яичной скорлупы. Две группы получали разные адсорбенты: одна – адсорбент на основе глины (2,5 кг/тонну корма), другая – «Микосорб» (1 кг/тонну корма). Процент смертности понижен у птиц, корм которых содержал адсорбент «Микосорб», в сравнении с адсорбентом на основе глины (2,49 против 3,23). Процент выводимости в группе с «Микосорбом» был 86,98 % против 86,94 % в группе с адсорбентом на основе глины. При поддержке «Микосорбом» отмечено утолщение скорлупы на 4,15 % (0,3773 мм против 0,3623 мм с глиняным адсорбентом). Было небольшое увеличение массы яиц, полученных от птиц, корм которых содержал «Микосорб» (66,59 г против 66,48 г). В целом, добавление в корм «Микосорба» показало явную эффективность в защите бройлеров от микотоксинов при низком уровне включения в сравнении с глиняным адсорбентом [25].

«Микосорб» оказывает более высокий защитный эффект в комплексе с антиоксидантами [26], пробиотиками [12].

«Микосорб» обладает высокой адсорбирующей способностью для ауорофузарина [27], связывает микотоксины с различными молекулярными массами и токсичностью. По данным Sala, Aletheias Institute, 1997, [28] «Микосорб» связывает:

- афлатоксины ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) 85,23 %;
- зеараленон 66,66 %;
- дезоксиниваленон 12,58 %;
- ократоксин 12,49 %;
- цитринин 18,41 %;
- Т-2 токсин 33,39 %;
- ниваленон 8,16 %;
- фумонизин 67,00 %.

Маннанолигосахариды, полученные из клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* («Био-Мос»), адсорбируют патогенные бактерии *Salmonellae* и *E. coli*. Таким образом, болезнетворные организмы выводятся из желудочно-кишечного тракта [29]. «Био-Мос» вводят в корма с целью предупреждения колонизации кишечника патогенными микроорганизмами, повышения неспецифического иммунитета и увеличения продуктивности и сохранности птицы [30]. «Био-Мос» рассматривается как альтернатива антибиотикам [31]. С применением маннанолигосахаридов снижается смертность, повышается продуктивность сельскохозяйственных птиц [32]: бройлеров и индеек [33], страусов [34, 38, 39, 40, 41].

Полисахариды клеточной стенки (маннаны, глюкоманнаны) относятся к неперевариваемым [3].

Данный факт и определяет интерес исследователей по получению энтеросорбентов на основе клеточной стенки дрожжей для адсорбции различных токсикантов. Совершенствование технологии получения клеточной стенки дрожжей, открывает перспективу её использования в качестве энтеросорбента различных токсикантов.

Цель и задачи исследования

Определение влияния белков, маннано- и глюканов клеточной стенки дрожжей на ее адсорбционные свойства по отношению к Т-2 микотоксину.

Для достижения данной цели решались следующие задачи:

- определение влияния белков на адсорбционные свойства клеточной стенки;
- определение влияния маннано- на адсорбционные свойства клеточной стенки;
- определение влияния глюканов на адсорбционные свойства клеточной стенки.

Методическая часть

В качестве объекта исследования взяты хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (производитель ОАО «Буинский сахарный завод»).

Дрожжи обрабатывались ферментами для гидролиза белков, маннано- и глюканов, что позволяло снижать их содержание в дрожжевой клеточной стенке.

Для отделения белков от дрожжей использовали ферментный препарат Protex 6L Е.С. 3.4.21.62, содержащий щелочную сериновую протеазу субтилизин. Активность 580000 DU/g. Изготовитель Genencor International, США. Установленные оптимальные условия биокатализа: концентрация дрожжей 5 %, расход фермента 1,0 DU/г абсолютно сухих дрожжей, температура 60 °С, pH 8,5. Ферментативная обработка дрожжевой биомассы проводилась на качалке (150 об./мин) в режиме водяного термостатирования в течение 12 час. Гидролизированные белки и дрожжевая клеточная стенка разделялись многократным промыванием дистиллированной водой до pH 7.

Для отделения маннано- дрожжевую клеточную стенку обрабатывали ферментным препаратом PuraBrite™ EC 3.2.1.78, содержащим маннаназу. Активность 500 MU/Kg. Изготовитель Genencor International, США. Установленные оптимальные условия биокатализа: концентрация клеточной стенки 5 %, расход фермента 0,05 MU/г сухой клеточной стенки дрожжей, температура 60 °С, pH 8,0. Ферментативная обработка дрожжевой клеточной стенки проводилась на качалке (150 об./мин) в режиме водяного термостатирования в течение 6 час. Гидролизированные маннаны и дрожжевая клеточная стенка разделялись многократным промыванием дистиллированной водой до pH 7.

Для отделения глюканов дрожжевую клеточную стенку обрабатывали ферментным препаратом Beta Glucanase 1000 L EC 3.2.1.6. (изготовитель Genencor International, США), активность 10000 u/g. Установленные оптимальные условия биокатализа: концентрация клеточной стенки 5 %, расход фермента 1 u/g сухой клеточной стенки дрожжей, температура 55 °С, pH 5,0. Ферментативная обработка дрожжевой клеточной стенки проводилась на качалке (150 об./мин) с режимом водяного термостатирования в течение 6 час. Гидролизированные глюканы и дрожжевая клеточная стенка многократным промыванием дистиллированной водой до pH 7.

Для сравнения клеточная стенка дрожжей после отделения белков обрабатывалась Laminex BG – β -glucanase/cellulase complex E.C. 3.2.1.6.3.2.1.4. активность 105 GCU/g. Изготовитель Genencor International, США. Установленные оптимальные условия биокатализа: концентрация клеточной стенки 5 %, расход фермента 0,5 GCU/g к абсолютно сухой клеточной стенке дрожжей, температура 65 °С, pH 6,5. Ферментативная обработка дрожжевой клеточной стенки проводилась на качалке (150 об./мин) с режимом водяного термостатирования в течение 6 час. Гидролизированные глюканы и дрожжевая клеточная стенка разделялись многократным промыванием дистиллированной водой до pH 7.

В дрожжах и дрожжевой клеточной стенке определяли сырой протеин (по Кьельдалю) и белок по Барнштейну [35].

Определение адсорбционной способности дрожжевой клеточной стенки по отношению к Т-2 микотоксину проводили *in vitro*, согласно методике, описанной в работе [36].

Адсорбцию Т-2 микотоксина проводили при pH = 7 и 2 при t = 38 – 39 °С, что моделирует условия адсорбции соответственно в ротовой полости и желудке животного.

Процесс десорбции вели при pH = 8. Данное значение pH соответствует условиям кишечника животных при эвакуации каловых масс.

Для сравнения определялись адсорбционные свойства инактивированных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Инактивация дрожжей проводилась при t = 105 °С в течении 2 ч.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что варьирование расходом и условиями ферментативной обработки дрожжей приводит к значительным изменениям адсорбционных свойств клеточной стенки дрожжей. Об этих изменениях можно судить по наиболее характерным результатам, представленным ниже в таблице 1.

Обработка дрожжей ферментом Protex 6L приводит к гидролизу белков дрожжей (табл. 2). Однако, гидролиз белков неполный, так как в изолированной дрожжевой клеточной стенке остаются белки. Истинная адсорбция Т-2 микотоксина увеличивается по сравнению с инактивированными дрожжами. Снижается десорбция Т-2 микотоксина при pH 8, что указывает на увеличение доли удержания микотоксина за счет хемосорбции.

Таблица 1 - Влияние протеина дрожжей на адсорбцию Т-2 микотоксина

Способ обработки		Инактивированные дрожжи*	Ферментным препаратом Protex 6L protease
Содержание протеина, %	сырого	44,0	14,1
	Белок по Барнштейну	42,0	11,1
Эффективность адсорбции Т-2 микотоксина, %, при pH	7	30,0	62,0
	2	32,0	64,0
Десорбция Т-2 микотоксина, %, при pH	8	4,0	11,6
	-	28,0	52,5
Истинная адсорбция, %		-	52,5

*дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Таблица 2 - Влияние маннанов и глюканов на адсорбцию Т-2 микотоксина

Способ обработки		Ферментным препаратом		
		PuraBrite E mannanase	Beta Glucanase 1000 L	Laminex BG β -glucanase/cellulase
Содержание протеина, %	сырого	14,1	13,1	6,7
	Белок по Барнштейну	9,0	7,7	4,4
Эффективность адсорбции Т-2 микотоксина, %, при pH	7	64,0	40,0	64,0
	2	66,0	40,0	62,0
Десорбция Т-2 микотоксина, %, при pH	8	5,3	14,2	19,7
	-	60,7	25,8	42,3
Истинная адсорбция, %		-	60,7	42,3

Дальнейшая обработка дрожжевой клеточной стенки ферментом PuraBrite E вызывает разрушение маннанов и их отделение от клеточной стенки. Наблюдается незначительное снижение содержания в клеточной стенке истинного белка. При этом снижается десорбция Т-2 микотоксина и возрастает его истинная адсорбция.

При обработке дрожжевой клеточной стенки ферментами Beta Glucanase 1000 и Laminex BG наблюдаются иные изменения адсорбционных свойств дрожжевой клеточной стенки. Прежде всего, следует отметить снижение истинного белка в дрожжевой клеточной стенке. Используемые в экспериментах глюканазы разрушают глюканы и глюкопротеины. В результате низкомолекулярные фракции этих биополимеров отделяются от дрожжевой клеточной стенки. При этом возрастает десорбция Т-2 микотоксина с поверхности клеточной стенки и снижается его истинная адсорбция.

Установленные закономерности указывают на важную роль глюканов клеточной стенки дрожжей в адсорбции микотоксинов. Ферментативный гидролиз маннанов, расположенных на поверхности дрожжевой клеточной стенки, увеличивает доступ Т-2 микотоксина к глюканам находящимся во внутренней части дрожжевой клеточной стенки. К тому же увеличивается и доля глюканов в составе дрожжевой клеточной стенки. В совокупности это и повышает хемосорбцию Т-2 микотоксина и истинную адсорбцию этого микотоксина дрожжевой клеточной стенкой. Обработка клеточной стенки глюканами снижает долю глюканов в клеточной стенке, соответственно, снижается эффект хемосорбции Т-2 микотоксина клеточной стенкой и его истинная адсорбция.

Выводы

Результаты проведенных исследований показывают, что адсорбция Т-2 микотоксина дрожжевой клеточной стенкой взаимосвязана с содержанием в ней глюканов. Для увеличения адсорбционных свойств дрожжевой клеточной стенки по отношению к микотоксинам целесообразно из нее отделять белки и маннаны.

Литература

1. Д. Бери, Биология дрожжей: Пер. с англ. / Д. Берри – М.: Мир, 1985. – 96 с.
2. Н.С. Егорова, Промышленная микробиология: Учебное пособие для вузов по спец. «Микробиология» и «Биология» / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.
3. Н.П. Елинов, Химия микробных полисахаридов: Учебное пособие для вузов по спец. «Фармация», «Биология» / Н.П. Елинов. – М.: Высш.шк. – 1984. – 256 с.
4. Т.С. Калебина, И.С. Кулаев, Успехи биологической химии, Т.41, 2001. – с. 105-130.
5. В.М. Вагабов, Биосинтез углеводных компонентов клеточной стенки дрожжей / В.М. Вагабов.- Пушкино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1988 – 198 с.
6. Бирюзова, В.И. Ультраструктурная организация дрожжевой клетки: Атлас. М.: Наука, 1993. - 224 с.
7. Пат. РФ № 2137399 С1. Способ применения биосорбента для выведения из организма тяжелых металлов, МПК А 23 L 1/30, А 23 J 1/18, А 61 K 35/72, 20.09.1999
8. Пат. РФ № 2063801 С1. Биосорбент и способ его изготовления, МПК В 01 J 20/24, 20.07.1996
9. Пат. РФ № 2121352 С1. Способ выведения хлорорганических пестицидов из организма, МПК А 61 K 35/72, 10.11.1998
10. Пат. РФ № 2191587 С2. Средство повышения адаптируемости человека к экстремальным условиям, МПК А 61 K 35/72, А 23 L 1/30, 27.10.2002
11. T.P. Lyons, The Feed Industry 2001: Its most Exciting hour! / T.P. Lyons // Responding to a Changing Agricultural Landscape. Alltech's European, Middle Eastern and African Lecture Tour 2001, February 5 - March 8. – P. 1-21.
12. И. Егоров, Н. Чеснокова, Д. Давтян, Птицеводство, 2004. - № 3. – С. 29 - 30.
13. C.K. Girish, G. Devegowda, Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.88.
14. D. Davtyan, N.Y. Chesnokova, I.A. Egorov [et al.], Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.89.
15. S.L. Viera, J.M. Santurio, R.P. Ott [et al.], Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.90.
16. H.V.L.N. Swamy, J. Deshpande, A.S. Darur [et al.], Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.91.
17. R. Marquez, Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.95.
18. J.E. Dvorska, Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.98.
19. T.N.K. Murthy, G. Devegowda Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.87.
20. G. Devegowda, K.L. Aravind Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.87.
21. N.B. Reddy, G. Devegowda, Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.88.
22. T. Papazyan, N. Chesnokova, D. Davtyan [et al.] Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.99.
23. J. Kruk, A.M. Kotic, V.O. Trufanova [et al.] Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.117.
24. J. Dvorska, J. Kruk, Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.120.
25. K.L. Aravind H.V.L.N. Swamy, J. Deshpande [et al.], Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.120
26. J.E. Dvorska, F. Karadas, A.C. Pappas [et al.], Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Abstracts of posters presented / Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1) May 24-26, 2004, Lexington, Kentucky, USA. – P.98.
27. J. Dvorska, Beyond the Tornado: Natural Technologies The Calm after the Storm. Paper summaries for international guests /19th International Feed Industry Symposium, May 11-14, 2003, Lexington, Kentucky, USA. – P. 27-28.
28. T.P. Lyons, Alltech's European, Middle Eastern & African Lecture Tour 1998, February 16 - March 19. – P. 1-15.
29. I.D. Girard, Alltech's European, Middle Eastern & African Lecture Tour 1998, February 16 - March 19. – P. 17-31.
30. Е.Е. Васильева, Д.А. Давтян, Т.Т. Паназян и [др.]. М.: издательство «Mageric», 2005 – 162 с.

31. *W.M. Ingledew*, Alltech's 15th annual biotechnology in the feed industry symposium. International guest packet. - P. 3-4.
32. *T. Sefton*, Alltech's European, Middle Eastern & African Lecture Tour 1998, February 16 - March 19. – P. 103-116.
33. *D.J. Verwoerd, A.J. Olivier, M.M. Henton [et al.]*, Alltech's European, Middle Eastern & African Lecture Tour 1998, February 16 - March 19. – P. 117-129.
34. *Б. Глик, Дж. Пастернак*, Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
35. *Б.И. Антонов*, Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические - М.: «Агропромиздат», 1991.- 287 с.
36. *В.С. Крюков, В.В. Крупин, А.Н. Котик*, Ветеринария. - 1992. - № 9 - 12. - С. 28 - 29.
37. *F.M. Nelsen, F.T. Eggertsen* Analytical Chemistry.- Vol. 30, № 8, 1958 – P. 1387-1390.
38. *Т.А. Скотникова, Л.А. Неминущая, Н.К. Еремец, О.В. Провоторова, И.В. Бобровская, М.А. Малышева, З.А. Канарская*, Вестник Казанского технологического университета. - № 4. – 2012. - с. 82 – 87.
39. *Л.А. Неминущая, Т.А. Скотникова, Е.И. Титова, О.В. Провоторова, Н.К. Еремец, И.В. Бобровская, З.А. Канарская*, Вестник Казанского технологического университета. - № 4. – 2012. - с. 69 – 74.
40. *Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская, И.Н. Сочкова, Л.Ю. Грунин, А.В. Коптина*, Катализ в промышленности, 2008, № 4, с. 41- 42
41. *Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская*, Ветеринарный врач. – 2008. - № 1. – С.11-15.

© **З. А. Канарская** – канд. техн. наук, доц. каф. пищевой биотехнологии КНИТУ, zosya_kanarskaya@mail.ru.