

УДК 663.12:534.321.9

РОЗРОБКА ЕФЕКТИВНОГО МЕТОДУ РУЙНУВАННЯ КЛІТИННОЇ СТІНКИ ДРІЖДЖІВ *PHAFFIA RHODOZYMA*

М. В. Камінська¹, к. с.-г. н., с. н. с., marta_kaminska@ukr.net, С. В. Гураль¹, g_svitlana@ukr.net,
В. Л. Старчевський², д. т. н., професор, vstarch@polynet.lviv.ua

¹Інститут біології тварин НААН

²Національний університет «Львівська політехніка»

Застосування природних ентеросорбентів у раціонах сільськогосподарських тварин для покращення перетравлювання та засвоєння компонентів корму є доцільним і економічно виправданим. Останнім часом у якості таких кормових добавок застосовують клітинні стінки дріжджів, які містять глюкани і здатні адсорбувати на своїй поверхні патогенні мікроорганізми та різноманітні токсини. Переважно для їх отримання використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. Руйнування клітин проводять ферментативним гідролізом, інколи із застосуванням кислот та основ. Ці методи є вартісними та екологічно шкідливими.

Відомо, що як кормову добавку до раціонів сільськогосподарської птиці використовують біомасу каротиновмісних кормових дріжджів *Phaffia rhodozyma*. Клітинна стінка дріжджів *P. rhodozyma* складається з багатьох шарів, досягає 1/7 діаметра клітини і становить 15-30% її сухої маси. У більшості дріжджів клітинні стінки містять геміцелюлози (60–70 % від сухої речовини), з яких на маннан припадає 31 %, а на глюкан — 29 %. Крім цього в них виявлено 1–3 % хітину, 6–15 % білка, 8–8,5 % ліпідів і близько 9 % зольних речовин. Співвідношення різних компонентів клітинної стінки може змінюватись і залежить від умов культивування. Глюкан є речовиною дуже стійкою до хімічної обробки і саме він відповідає за жорсткість клітинної стінки дріжджів. Для вилучення каротиноїдів із біомаси дріжджів *P. rhodozyma* клітинну стінку пошкоджують ферментами β -(1→3)-глюканазою, β -(1→6)-глюканазою, α -(1→3)-глюканазою, ксиланазою, хітиназою, що їх синтезують бактерії *Bacillus circulans*, або ж механічними методами. Однак ці методи не забезпечують повного руйнування клітин, що ускладнює отримання препаратів клітинних стінок та погіршує екстракцію каротиноїдів із біомаси дріжджів. Тому виникла потреба у розробці нового методу, який усував би ці недоліки.

Метою нашої роботи було розробити ефективний метод руйнування клітинної стінки дріжджів *P. rhodozyma* для вилучення каротиноїдів та використання зруйнованих клітин як кормової добавки, який був би доступним та придатним для використання у дослідних лабораторіях та на підприємствах мікробіологічної промисловості.

Одним із можливих дешевих методів отримання клітинних стінок ми обрали автоклавування біомаси дріжджів *P. rhodozyma*. Відцентрифуговану після ферментації культуру дріжджів *P. rhodozyma* штаму КНГ 1 відмивали дистильованою водою та автоклаували водну суспензію у колбах і висушену біомасу за тиску 0,5 атм. та 0,7 атм. протягом 20 хвилин із наступним встановленням титру вихідної та автоклавованої суспензії методом розведень та висіванням на чашки Петрі з сусло-агаром. Чашки витримували протягом 6–7 діб у термостаті за 20 °С та обчислювали відсоток виживання клітин.

При автоклавуванні сирої біомаси за тиску 0,5 атм. виживання становило менше 0,001 %, а при 0,7 атм. — менше 0,000001 %. При обробці сухої біомаси дріжджів *P. rhodozyma* виживання клітин зросло до 25 % за 0,5 атм. та 0,00001 % — за 0,7 атм. Однак, мікроскопія препаратів клітин показала, що після автоклавування клітини були вбиті, однак не зруйновані. Екстракція каротиноїдів із біомаси дріжджів після автоклавування була неповною.

Також ми використали інший метод отримання клітинних стінок дріжджів, застосовуючи ультразвукові коливання. Водну суспензію клітин дріжджів *P. rhodozyma* штаму КНГ 1 обробляли ультразвуковими коливаннями генератора УЗДН-2Т з робочою частотою 22 кГц, потужністю 40 Вт протягом 10, 20 та 30 хвилин із наступним встановленням титру вихідної та опроміненої суспензії методом розведень та висіванням на чашки Петрі з сусло-агаром. Чашки витримували протягом 6–7 діб у термостаті за 20 °С та обчислювали відсоток виживання клітин.

У результаті проведених досліджень встановлено, що при обробці клітин каротиносинтезувальних дріжджів ультразвуковими коливаннями відбувається руйнування клітинної стінки. Так, за умов опромінення клітин протягом 10 хвилин виживання становить 3,41 %, а протягом 30 хвилин — 1,14 %. Мікроскопія препаратів показала, що клітини дріжджів *P. rhodozyma* зруйновані, а клітинна оболонка розірвана. Екстракція каротиноїдів із біомаси дріжджів після обробки ультразвуковими коливаннями є повною.

Таким чином, нами розроблено новий метод отримання клітинних стінок дріжджів *P. rhodozyma*, що забезпечує великий відсоток руйнування клітин та повну екстракцію каротиноїдів із біомаси.