

УДК [577.114.4:582.282.23]:66.084.8

ВИКОРИСТАННЯ НАДВИСОКОЧАСТОТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ПРИ ВИДІЛЕННІ ПОЛІСАХАРИДІВ КЛІТИННИХ СТІНОК ДРІЖДЖІВ

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

*кафедра харчової хімії

**кафедра процесів, обладнання та енергетичного менеджменту

Одеська національна академія харчових технологій, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039

Анотація. У роботі встановлено ефективність використання надвисокочастотного (НВЧ) випромінювання для дезінтеграції дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, суспендованих в розчині натрій гідроксиду, з метою виділення полісахаридів клітинних стінок. Надано характеристика отриманих препаратів при варіюванні умов обробки. Показано можливість отримання цим методом препаратів дріжджових полісахаридів різного складу. Варіюванням концентрації NaOH можливе виділення як монокомпонентного продукту – β-глюкану, так і двокомпонентного – комплексу β-глюкану з мананом (зимозан). Метод простий у виконанні, його використання приводить до зниження витрат ресурсів і енергії, підвищення екологічної складової, що в сукупності визначає перспективи його використання в технологіях полісахаридів дріжджів.

Ключові слова: *Saccharomyces cerevisiae*, полісахарид, глюкан, зимозан, надвисокочастотне випромінювання.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СВЕРХВЫСОКОЧАСТОТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ПОЛИСАХАРИДОВ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ДРОЖЖЕЙ

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

*Кафедра пищевой химии

**Кафедра процессов, аппаратов и энергетического менеджмента

Одесская национальная академия пищевых технологий, ул. Канатная, 112, г. Одесса, 65039

Аннотация. В работе установлена эффективность использования сверхвысокочастотного (СВЧ) излучения для дезинтеграции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, суспендированных в растворе гидроксида натрия, с целью выделения полисахаридов клеточных стенок. Представлена характеристика полученных препаратов при варьировании условий обработки. Показана возможность получения этим методом препаратов дрожжевых полисахаридов различного состава. Варьированием концентрации NaOH возможно выделение как монокомпо-компонентных продукта – β-глюкана, так и двухкомпонентного – комплекса β-глюкана с маннаном (зимозан). Метод прост в выполнении, его использование приводит к снижению затрат ресурсов и энергии, повышение экологической составляющей, в совокупности определяет перспективы его использования в технологиях полисахаридов дрожжей.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*, полисахарид, глюкан, зимозан, СВЧ обработка.



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>

Введение

Развитие технологии открыло перспективы новых подходов к дезинтеграции структурообразующих компонентов клеточной стенки. Таковым, например, является воздействие полями СВЧ на растительную клетку.

Сегодня основные области применения СВЧ-нагрева – пищевая, сельскохозяйственная и текстильная отрасли промышленности. Эффект микроволнового нагрева основан на поглощении электромагнитной энергии в диэлектриках. Микроволны – это радиоволны с очень малой длиной волны с частотами от 30 МГц до 30 ГГц. Энергия микроволн образуется из электрической энергии,

конвертируется в микроволновую благодаря магнетрону. Поля СВЧ проникают на значительную глубину, которая зависит от свойств материалов. Взаимодействуя с веществом на атомном и молекулярном уровне, эти поля влияют на движение электронов, что приводит к преобразованию СВЧ-энергии в тепло [1]. В результате воздействия СВЧ полей на растительную ткань происходит разупорядочение надмолекулярной структуры клеточной стенки, ее дезинтеграция, что приводит к повышению экстрагируемости биополимерных компонентов, повышению их доступности действию химических реагентов и ферментов.

Анализ проблемы

Углеводы как эссенциальные компоненты пищевого рациона не только определяют основной энергетический гомеостаз организма, но и могут проявлять многообразие физиологического действия. В настоящее время для многих полисахаридов выявлены различные биологические эффекты: иммуномодулирующий, противоопухольевый, гастропротекторный, детоксицирующий и др. Важнейшими представителями данного класса соединений являются полисахариды дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

В последние десятилетия из дрожжей выделено несколько видов полисахаридов, а также белок-углеводных комплексов, которые используются в качестве диетических добавок и даже терапевтических препаратов. К ним относятся: β -глюкан и зимозан – комплекс β -глюкана с маннопротеином.

Бета-глюкан пекарских дрожжей представляет собой сильно разветвленный полисахарид с β -(1 \rightarrow 6)- и β -(1 \rightarrow 3)-гликозидными связями. Известно, что β -глюкан регулирует работу иммунной системы, способствует улучшению сопротивляемости организма действию вирусов, паразитов, бактерий, а также aberrационному росту клеток при профилактике и лечении онкологических заболеваний, оказывает положительное влияние на рост пробиотических видов бактерий в интестинальном тракте, снижает холестерин и помогает при лечении гипертонии [2].

Существуют различные подходы к выделению полисахаридов из клеточной стенки дрожжей. Первым этапом всегда является разрушение клеточной оболочки. Оно достигается путем физического, механического, химического или биохимического воздействия. Однако все эти способы, как правило, трудоемки, энергозатратны и не всегда позволяют достичь высокой чистоты конечного продукта. Это обуславливает целесообразность поиска новых подходов к проблеме разрушения клеточных структур дрожжевой массы, в связи с чем актуально рассмотрение возможности использования с этой целью СВЧ-обработки, зарекомендовавшей себя как эффективный метод деструкции клеточных стенок растительных тканей.

Обзор литературы

Клеточная стенка окружает дрожжевую клетку и контактирует с ее плазматической мембраной. Масса клеточной стенки дрожжей может достигать 25 % массы клетки, толщина ее колеблется в пределах 100 – 250 нм. Клеточная стенка содержит до 40 % маннопротеина, около 60 % глюкана и незначительное количество хитина [3].

Основным биополимером, формирующим клеточную стенку дрожжей и ответственным за поддержание ее прочности, является глюкан (рис.1). Бета-глюкан находится во внутреннем слое клеточной стенки, где он соединен с маннопротеином и хитином.

Компоненты клеточных стенок дрожжей связаны между собой ковалентными связями, что затрудняет выделение глюкана в индивидуальном состоянии. Основная проблема заключается в удалении таких полисахаридов, как маннан и гликоген, а также белковой составляющей. Данную проблему решают как с помощью экстракции, используя соответствующие агенты в достаточно жестких условиях, так и путем их гидролитической деструкции соответствующими ферментными препаратами. Как правило, на первом этапе применяют различные механические или физические приемы, способствующие разрушению дрожжевой клетки, увеличивающие тем самым доступность биополимеров действию ферментов и повышающие их растворимость.

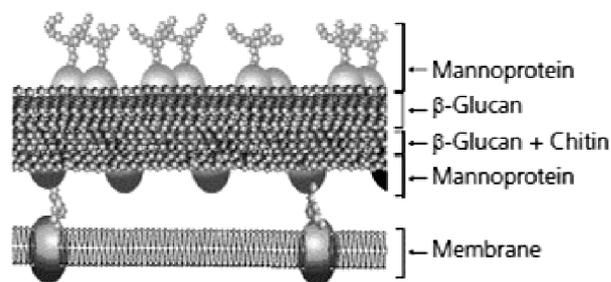


Рис. 1. Клеточная стенка дрожжей

Базовый метод получения β -глюкана дрожжей, который широко применяется в экспериментах по исследованию биологической активности этого полисахарида, получению его модифицированных форм и разнообразных производных трудоемок и многостадийен. Он заключается в обработке свежих прессованных пекарских дрожжей 6 % раствором NaOH при 60 °C с последующим суспендированием твердой фазы в 3 % растворе NaOH и ее нагревании в течение трех часов при 80 °C (эту операцию повторяют дважды), далее остаток суспендируют в 0,5 н растворе уксусной кислоты при 75 °C. После охлаждения суспензии остаток промывают горячей водой и дважды автоклавируют при 135 °C. Полученный продукт многократно промывают водой для окончательного удаления гликогена и сушат. Метод позволяет получить целевой продукт высокой чистоты (содержание полисахарида – 90,3 %, белка – 3,8 %, золы – 0,4 %; выход – 2,6 % от сухой массы дрожжей) [4].

Джамас [5-6] предложил выделять β -глюкан из дрожжей в виде «цельных» частиц глюкана (полая β -глюкановая сфера), который известен под аббревиатурой *WGP*. Согласно этому методу, клетки дрожжей предварительно выдерживают в цитрат-фосфатном буфере при pH 5,5, далее клеточную массу обрабатывают NaOH (концентрация 0,1 – 10 н при температуре 80 – 100 °C) в течение трех часов. Эту операцию повторяют дважды. Полученную суспензию выдерживают при комнатной температуре 16 часов. Для очистки полученного продукта дополнительно используют фермен-

ты. Полученный продукт представляет собой порошок, частицы которого имеют сферическую форму (диаметр 2 – 4 мкм). Этот метод более прост в исполнении, однако длителен, а получаемый в соответствии с ним препарат β-глюкана имеет более низкую чистоту (содержание полисахарида 85 %, в значительных количествах ему сопутствуют хитин и гликоген, он содержит 1 % белка, выход 10 – 15 % от сухой массы дрожжей).

Известны способы, в которых используются механические приемы для разрушения клеточной оболочки с последующим удалением веществ, сопутствующих глюкану. Так, согласно [7] клетки дрожжей разрушают механически в мельнице с бусами Баллотини и далее обрабатывают ультразвуком частотой 18 – 30 кГц, затем раствором NaOH или ферментами. Полученный препарат загрязнен сопутствующими полисахаридами и продуктами их гидролиза, содержание β-глюкана 87 %, белка – 7 %, выход препарата – 10 % от сухой массы дрожжей.

Хори Сюдзи и соавтры [8], предложили получать глюкан клеточных стенок путем физического (ультразвук) или механического измельчения (шаровая мельница) дрожжей с последующим автолизом в щелочной среде и с дальнейшей обработкой щелочной протеазой «Proleser-FG-F». Содержание глюкана в конечном продукте 90 – 93 %, однако, выход его составляет только 5 % от сухой массы дрожжей.

Анализ описанных выше методик, показывает, что для получения целевого продукта высокой степени чистоты, требуются значительные затраты времени и материальных ресурсов; при этом его выход не превышает 5 %. Использование более простых подходов, позволяет получать препарат с большим выходом, однако, в этом случае приходится в значительной мере поступаться степенью его чистоты.

В Украине технологии получения полисахаридов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* отсутствуют, а технологии β-глюкана, применяемые его мировыми производителями, являются их коммерческой тайной и закрыты, что определяет актуаль-

ность разработки методов более простых в исполнении и позволяющих одновременно получать препараты бета-глюкана высокой степени чистоты и с более значительными выходами.

Разработка метода получения полисахаридов дрожжей с использованием СВЧ-обработки

Целью данного исследования явилась разработка метода выделения полисахаридов клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с использованием СВЧ- волн.

Дезинтеграция клеточной оболочки является как необходимым, так и наиболее проблемным этапом в технологии получения полисахаридов клеточной стенки дрожжей. Исследованиями ряда авторов [9] показано, что эффективным фактором, способствующим деструкции элементов клеточных структур за счет их диэлектрического разрушения, является СВЧ-обработка. В связи с этим рассмотрена возможность ее использования при получении дрожжевых полисахаридов в качестве альтернативы известным методам.

Согласно предложенному нами методу дрожжи суспендируют в растворе NaOH и подвергают СВЧ-обработке, отделяют осадок путем центрифугирования, обрабатывают его 0,5 н уксусной кислотой для удаления гликогена. Остаток после экстракции – целевой продукт, высушивают.

СВЧ-обработку осуществляли микроволновыми лучами в сверхвысокочастотном электрическом поле частотой 2,45 ГГц. В исследованиях варьировали концентрацию NaOH гидромодуль (1 – 3), интенсивность облучения в интервале 30 – 50 %, длительность обработки – 120 – 360 с. В экспериментах температура смеси не превышала 65 °С. При всех вариантах обработки имело место разрушение оболочек дрожжевых клеток.

Биополимерный состав полученных препаратов в зависимости от условий СВЧ-обработки приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Состав препаратов в зависимости от условий обработки

№	Условия обработки				Состав		Выход продукта, % от сухой массы дрожжей
	Концентрация NaOH, %	ГМ	Интенсивность облучения, %	Продолжительность, с	Полисахаридная составляющая, %	Белковая составляющая, %	
1	3	1	50	120	81,3	13,9	24,1
2	3	2	50	180	82,1	11,7	20,4
3	3	3	30	360	84,2	10,4	21,7
4	3	3	50	120	86,5	5,9	17,5
5	6	1	50	120	90,6	3,4	14,2
6	6	2	50	120	94,0	0,7	11,1
7	6	2	30	360	88,0	5,4	15,0
8	6	3	50	120	92,8	2,6	13,2

Как видно из данных, приведенных в табл., условия обработки существенно влияют как на степень чистоты препарата, если в качестве ее кри-

терия рассматривать содержание в нем полисахаридной компоненты, так и на его выход.

При увеличении концентрации NaOH с 3 до 6 % имело место увеличение степени чистоты препарата. Анализ полученных данных показывал, что условиями обработки, позволяющими обеспечить рациональное соотношение показателей чистоты и выхода полисахардного препарата, являются: концентрация раствора NaOH 6 %, ГМ – 2, интенсивность облучения в 50 %, продолжительность 120 с.

Установлено, что увеличение ГМ до 3 не приводит к увеличению степени чистоты продукта.

Характеристика моносахаридного состава полученных препаратов (табл. 2) показала, что при наиболее мягких условиях щелочной обработки (концентрация NaOH 3 %) в их состав входят в основном остатки глюкозы и маннозы, что соответствует вкладу глюкановой и маннановой составляющих в интегральный полисахаридный комплекс.

Таблица 2 – Моносахаридный состав препаратов

№ препарата	Моносахаридный состав гидролизатов препаратов, % соотношения		
	Галактоза	Глюкоза	Манноза
1	5,2	53,4	40,4
2	следы	55,4	44,5
3	следы	57,1	42,9
4	–*	60,0	40,0
5	–*	95,1	4,9
6	–*	100	–*
7	–*	100	следы
8	–*	100	–*

Примечание: –* - данный моносахарид отсутствует

Использование более высокой концентрации NaOH (6 %) обеспечивает существенное снижение содержания маннановой составляющей, вплоть до ее полного отсутствия в конечном продукте. Так, в составе препаратов № 6 – 8 найдены исключительно остатки глюкозы, тогда как в препаратах № 1 – 5 – глюкану сопутствует маннан в количестве 5 – 44 %. Таким образом, при использовании более мягких условий был получен препарат зимозан – комплекс, сочетающий глюкан и маннан, при более

жестких – глюкан, не содержащий примесей других углеводов.

Для подтверждения принадлежности препаратов к категории β-глюканов использовали поляризацию (определение удельного оптического вращения), ИК-спектроскопию и ферментативные методы.

Величины удельного оптического вращения образцов находятся в интервале 8,4 – 9,1° и соответствуют литературным данным ($[\alpha]_D^{20}$ стандартного глюкана 8,7°) [10].

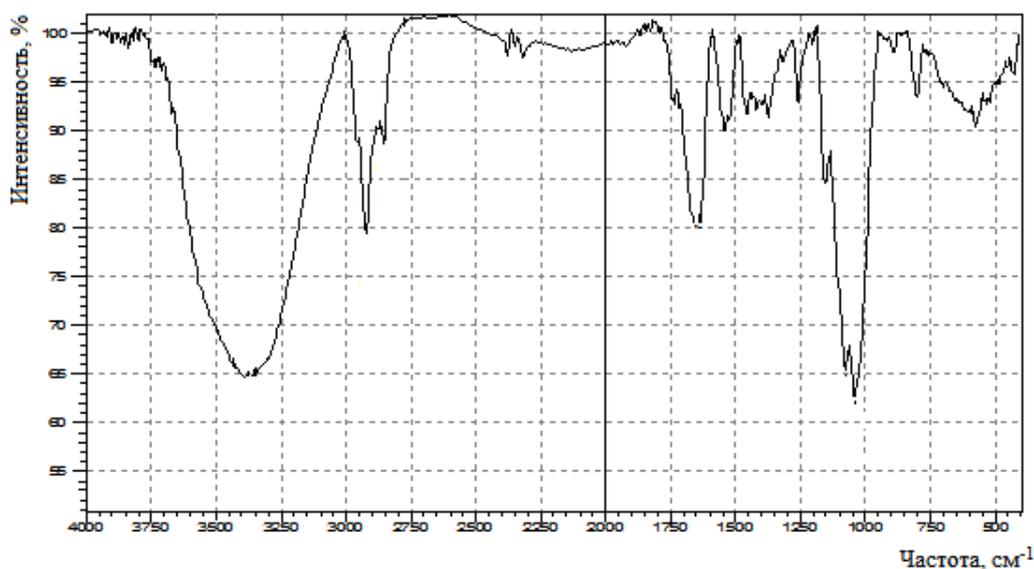


Рис. 2. ИК-спектр препарата β-глюкана, полученного СВЧ обработкой

Полисахариды дают отрицательную реакцию с йодом, что указывает на отсутствие в них

примесей гликогена, входящего в состав дрожжей. Кроме того, при обработке исследуемых образцов

α -амилазой, которая расщепляет гликоген и крахмал, образования водорастворимых углеводов – продуктов гидролиза глюканов – обнаружено не было. И наоборот, эти полисахариды расщепляются ферментными препаратами с β -(1 \rightarrow 3)-глюканазной активностью.

ИК-спектр исследуемых препаратов подобен спектрам β -глюканов дрожжей, описанным в литературных источниках, в них обнаружены все полосы поглощения, характерные для β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкана: при 1080 cm^{-1} , 1040 cm^{-1} , 994 cm^{-1} , 960 cm^{-1} , 893 cm^{-1} и 794 cm^{-1} . Наличие полос поглощения при 2920 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} , 1200 cm^{-1} , 1155 cm^{-1} и 1075 cm^{-1} присуще глюканам, главная цепь которых построена из β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкопиранозных остатков [11]. На рис. 2 в качестве примера приведен ИК-спектр препарата глюкана № 6.

Совокупность полученных результатов позволяет заключить, что исследуемые полисахариды являются β -глюканами, главная цепь которых построена из β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкопиранозных остатков.

Таким образом, сопоставление схем получения глюкана известными методами и предлагаемым способом, свидетельствует о несомненных преимуществах последнего. Он позволяет получать препараты β -глюкана высокой степени чистоты

(90 – 94 %) и выходом 11–14 % от сухой массы дрожжей при значительном сокращении числа операций и их трудоемкости, снижении расхода материалов и продолжительности процесса в целом. Так например, время, затраченное на получение глюкана в соответствии с базовым методом, составляет более 12 часов, а использование для этой цели разработанного метода с использованием СВЧ обработки – менее 2 часов.

Вывод

Воздействие СВЧ-энергии в сочетании с обработкой гидроксидом натрия на клеточную стенку дрожжей обеспечивает ее дезинтеграцию и позволяет получать препараты дрожжевых полисахаридов контролируемого состава. Варьируя концентрацию NaOH возможно выделение как монокомпонентного продукта – β -глюкана, так двухкомпонентного – комплекса β -глюкана с маннаном (зимозан). Метод прост в исполнении, его использование обуславливает снижение затрат ресурсов и энергии, повышение экологической составляющей, что в совокупности определяет перспективы его использования в технологиях полисахаридов дрожжей.

Литература:

1. Ahrne, L. M. Application of Microwave Technology in Food Preservation and Processin / L. M. Ahrne, E. Holtz, B. W. Raaholt // *Conventional and Advanced Food Processing Technologies* – 2014 – p.437-470 DOI: 10.1002/9781118406281.ch18
2. 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.0b013e3181ad3fcf.
3. Калебина, Т.С. Роль белков в формировании молекулярной структуры клеточной стенки дрожжей / Т.С. Калебина, И.С. Кулаев // *Успехи биологической химии* – 2001. – Т. 41. – с. 105–130.
4. Kim, Y.T. Structural characterization of [beta]-D-(1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 6)-linked glucans using NMR spectroscopy / Y.T. Kim, E.H. Kim, D.L. Williams, S.T. Lim // *Carbohydrate research* – 2000; – 328(3) – p. 331–341 DOI: 10.1016/S0008-6215(00)00105-1
5. U.S. Patent 7566704 Jamas S. (USA), Patchen M.L. (USA), Ostroff G. R. (USA), Easson D.D. (USA) – 11/333765; Filing Date 17.01.2006; Public. Date 02.11.2006. – p. 19. (Very high molecular weight β -glucans).
6. U.S. Patent 4810646 Jamas S., Rha C., Sinskey A. J. (USA) – 11/333765; Filing Date 28.11.1984; Public. Date 07.11.1989. – p. 13. (Glucan compositions and process for preparation there of).
7. Патент 2216595 Тонева-Давидова Е.Г. – 2002130728/13, Заявл. 18.11.2002, Оpubл. 20.11.2003 – 5 с. (Способ получения бета-глюканов клеточной стенки дрожжей).
8. Patent JP 2002209598 Kato Masaru, Imazato Yoji, Yoshitaka Hitomi, Hideyuki Wakabayashi. – JP2001000007026; Filing Date 01.15.2001; Public. Date 07.30.2002. – p. 16. (Yeast-originated soluble polysaccharide).
9. Бурдо, О.Г. Пищевые наноэнерготехнологии – Херсон, 2013 – 294с.
10. Rahar, S. Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans / S. Rahar, G. Swami, N. Nagpal, M. A. Nagpal, G. S. Singh // *J Adv Pharm Technol Res.* – 2011 – 2(2) – p. 94–103 DOI: 10.4103/2231-4040.82953
11. Zekovic, D.B. Mild pfitzner-moffat oxidation of the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* / D. B.Zekovic, M. Radulovic, A. Nastasovic, M. M. Vrvic, G. Kogan, *Chemical papers.* – 2006, – 60 (3), – p. 243-248. DOI: 10.2478/s11696-006-0043-7

USING SHF TREATMENT MICROWAVE TO OBTAIN YEAST CELL WALL POLYSACCHARIDES

N.K. Chernov, Ph.D., professor*, E-mail: chernov_n_k@mail.ru
 O.G. Burdo, Ph.D., professor**, E-mail: terma_onaft@rambler.ru
 K.I. Naymenko, Ph.D., assistant*, E-mail: shapkinak@gmail.com

*Department of food chemistry

**Department of processes, devices and energy management
 Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnaya str., 112, Odessa, 65039

Summary. In the recent decades, a few polysaccharide types were isolated from yeast which are used as dietary supplements and even therapeutic medications. These include β -glucan and zymosan - a complex of β -glucan with mannoproteins. Beta-glucan has a broad spectrum of biological activity, such as immunomodulatory, antitumor, gastroprotective, detoxicating etc.

There are different approaches to polysaccharides isolation from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* yeast. However, all these methods are typically time consuming, energy intensive and cannot allow achieving the satisfactory purity of the final product. In all cases, a mandatory phase is preliminary disintegration of the yeast cell wall.

Efficiency of using for this purpose SHF irradiation of yeast mass suspended in the sodium hydroxide solution was established in the study. The preparations obtained by varying the treatment conditions were described. The possibility of obtaining yeast polysaccharides preparations of different composition using this method was shown. Both a monocomponent product β -glucan and a two-component complex of β -glucan and mannan (zymosan) can be isolated by varying NaOH concentration. The method is simple to apply, its use results in reduction of resource and energy consumption, improvement of environmental safety, which together determine the prospects of its use in the yeast polysaccharides technologies.

Keywords: yeast *Saccharomyces cerevisiae*, polysaccharide, glucan, zymosan, microwave processing.

References:

1. Ahrne LM, Holtz E, Raaholt BW. Application of Microwave Technology in Food Preservation and Processin. Conventional and Advanced Food Processing Technologies. 2014; 437-470 DOI: 10.1002/9781118406281.ch18
2. 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.0b013e3181ad3fcf.
3. Kalebina TS, Kulaev IS. Rol' belkov v formirovanii molekulyarnoi struktury kletochnoi stenki drozhzhei. Uspehi biologicheskoi himii. 2001; 41; 105-130.
4. Kim YT, Kim EH, Lim ST, Williams DL. Structural characterization of [beta]-D-(1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 6)-linked glucans using NMR spectroscopy. Carbohydrate research. 2000. 328(3); 331-341 DOI: 10.1016/S0008-6215(00)00105-1
5. U.S. Patent 7566704 Jamas S. (USA), Patchen M.L. (USA), Ostroff G.R. (USA), Easson D.D. (USA) – 11/333765; Filing Date 17.01.2006; Public. Date 02.11.2006. – p. 19. (Very high molecular weight β -glucans).
6. US Patent 4810646 Jamas S., Rha C., Sinskey A. J. (USA) – 11/333765; Filing Date 28.11.1984; Public. Date 07.11.1989. – p. 13. (Glucan compositions and process for preparation there of).
7. Patent 2216595 Toneva-Davidova E.G. 2002130728/13, Zayavl. 18.11.2002, Opubl. 20.11.2003 5 s. (Sposob polucheniya beta-glyukanov kletochnoi stenki drozhzhei).
8. Patent JP 2002209598 Kato Masaru, Imazato Yoji, Yoshitaka Hitomi, Hideyuki Wakabayashi. – JP2001000007026; Filing Date 01.15.2001; Public. Date 07.30.2002. – p. 16. (Yeast-originated soluble polysaccharide).
9. Burdo OG. Pishevye nanoenergotehnologii. Herson, 2013; 294.
10. Rahar S, Swami G, Nagpal N, Nagpal MA, Singh GS. Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. J Adv Pharm Technol Res. 2011.2(2); 94-103 DOI: 10.4103/2231-4040.82953
11. Zekovic DB, Radulovic M, Nastasovic A, Vrvic MM, Kogan G. Mild pfitzner-moffat oxidation of the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*. Chemical papers. 2006. 60 (3); 243-248. DOI: 10.2478/s11696-006-0043-7

Отримано в редакцію 7.04.2016

Прийнято до друку 19.05.2016