

## **Методика получения водорастворимых полисахаридно-белковых субстанций из пыли сухих пищевых дрожжей**

РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь  
У работников, подвергающихся ингаляционному воздействию пыли сухих пищевых дрожжей (далее – ПСПД), установлена высокая распространенность нарушений здоровья преимущественно аллергического и иммунотоксического генеза. Наиболее эффективное обеспечение гигиенической безопасности их условий труда может быть достигнуто установлением гигиенических нормативов содержания ПСПД в воздухе рабочей зоны. Но ПСПД практически не растворима в воде, поэтому для экспериментального моделирования воздействия на организм, выявления их дозозависимого биологического действия и нормирования необходимо было получить из них растворимый белково-антигенный комплекс.

**Целью** настоящей работы являлась разработка методики получения из ПСПД экстракта с достаточно высокой концентрацией растворимых полисахаридно-белковых антигенных субстанций.

**Материалы и методы.** Проблема решения данной цели заключалась в высокой устойчивости и прочности клеточной стенки дрожжевых грибов, в основном определяемых входящим в их структуру хитином, который является природным полимером из остатков N-ацетилглюкозаминина, связанных между собой  $\beta$ -(1-40)-глюкозидными связями, ассоциированным с белками. Использование известных способов и методов извлечения из дрожжевых грибов антигенных субстанций экстрагированием насыщенными солевыми растворами, органическими растворителями, растворами соли аммония или детергентами (додецилсульфат) позволило получить экстракты, пригодные как тест-аллергены, но с весьма низким и недостаточным для экспериментов содержанием активных субстанций по белку. В связи с этим для разрушения клеточной стенки и экстрагирования активных белоксодержащих субстанций подбирали способы гидролиза хитина и других структур клеток промышленных штаммов сухих пищевых дрожжевых грибов (хлебопекарные, винные, спиртовые).

**Результаты исследования.** Для гидролиза поверхностных  $\beta$ -глюкозидных связей между элементарными звеньями азотсодержащего полисахарида клеточной стенки грибов подготовленные образцы пыли сухих дрожжей (механическое измельчение, обезжиривание) подвергали кратковременному воздействию (5 мин) 0,5 М водного раствора трихлоруксусной кислоты при нагревании. Затем после быстрого охлаждения в течение двух часов проводили экстрагирование биомассы в щелочной среде (рН 8-8,4) внесением охлажденного 2М водного раствора гидроксида натрия с последующим отделением осадка центрифугированием. Для агрегации (преципитации) в полученном супернатанте белоксодержащих субстанций и восстановления белкового домена за счет гидрофобного взаимодействия и диссоциации белковых комплексов использовали охлажденную концентрированную соляную кислоту, которую дробно вносили в супернатант до рН 4-4.5 ед. при интенсивном перемешивании. Белковый преципитат выделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 1 ч. Последующее растворение преципитата проводили в физиологическом растворе с постепенным доведением рН до 7.2-7.4 охлажденным 1Н водным раствором гидроксида натрия. Содержание в экстрактах белоксодержащих субстанций определяли методом Лоури. Экстракты сохраняли при  $-18-22$  °С без добавления консервантов.

На основании апробации различных способов экстракции разработана оригинальная методика получения из сухих пищевых дрожжевых грибов экстрактов с максимально возможным содержанием растворимых белоксодержащих субстанций. С использованием разработанной методики получены экстракты из сухих хлебопекарных, винных, спиртовых дрожжевых грибов с содержанием растворимых полисахаридно-белковых субстанций в концентрациях более 30,0 мг/см<sup>3</sup> по белку. В модельных экспериментах при внутрикожной сенсibilизации белых мышей полученными экстрактами в смеси с полным адьювантом Фрейнда доказана их высокая специфичность и антигенная обособленность, установлены сильная аллергическая активность (1 классу аллергенной опасности) и наличие общих иммунодетерминант белково-антигенных комплексов хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов.

**Заключение.** Разработана методика, позволившая получить из пыли сухих пищевых дрожжевых грибов экстракты с высоким содержанием полисахаридно-белковых субстанций, обладающих высокой аллергической активностью, с использованием которых в экспериментах обоснована ПДК в воздухе рабочей зоны ПСПД по белку с отметкой «аллерген».