

Przeciwtoksyczne i przeciwdrobnoustrojowe właściwości składników ściany komórkowej drożdży

ANNA BZDUCHA-WRÓBEL, STANISŁAW BŁĄŻEJAK

Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Wydziału Nauk o Żywności SGGW, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa

Bzducha-Wróbel A., Błażej S.

Antitoxic and antimicrobial properties of the yeast cell wall components

Summary

The article reviews the literature pertaining to functional proprieties of yeast cell wall components used as dietary supplements. The chemical construction of the yeast cell wall was discussed in connection with the ability of toxin binding, like mycotoxins, as well as heavy metals.

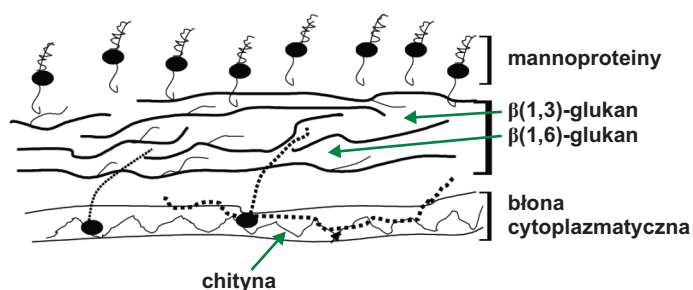
Toxin removal with yeast utilization is mainly based on the physical adsorption of harmful chemicals to β -glucans, mannoproteins or glucomannans of the yeast cell wall. Special attention was also paid to the usage of yeast cell wall components as anti-infectious agents on account of antimicrobial activity of glucans and mannoproteins. A possible mechanism of such activity was presented.

Keywords: β -glucan, mannoproteins, glukomannans, toxins bounding, antimicrobial activity

Naturalne polisacharydy oraz glikopeptydy izolowane ze ściany komórkowej drożdży, takie jak β -glukan i mannoproteiny, wykazują szereg pożytecznych właściwości w organizmie zwierząt i ludzi. Proponowane są dlatego jako suplementy diety. Przede wszystkim podkreśla się ich rolę w stymulacji odpowiedzi immunologicznej organizmu. Z takiej aktywności wynika m.in. działanie przeciwdrobnoustrojowe β -glukanów i mannoprotein drożdży, aktywujących układ odpornościowy do zwalczania obcych komórek. Z drugiej strony, ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa może polegać na fizycznym wiązaniu patogenów. Prozdrowotne oddziaływanie składników ściany komórkowej drożdży opiera się ponadto na wiązaniu szkodliwych substancji chemicznych, co ogranicza ich cytotoksyczność. Artykuł jest przeglądem literatury traktującym o przedstawionych w tytule właściwościach składników ściany komórkowej drożdży.

Budowa ściany komórkowej drożdży

Ściana komórkowa drożdży stanowi blisko 30% suchej masy komórki. Jest strukturą dwuwarstwową (ryc. 1). Budują ją głównie polisacharydy, wśród których dominują β -glukany (ok. 60% suchej masy komórki). Wśród β -glukanów drożdży wyróżnia się dwa typy polimerów, co uzależnione jest od miejsca tworzenia wiązania glikozydowego między cząsteczkami β -D-glukopiranozy. Wyróżniamy zatem glukany nierozpuszczalne w zasadach, tj. β (1,3)-glukany oraz roz-



Ryc. 1. Budowa ściany komórkowej drożdży (11)

puszczalne w kwasach, a nierozpuszczalne w zasadach – β (1,6)-glukany. Budowa przestrzenna cząsteczki D-glukanów wykazuje strukturę trójwymiarową z naprzemiennie występującymi regionami w formie przypadkowego zwoju, pojedynczej spirali oraz spirali potrójnej (11). Stwierdzono, że długołańcuchowe β (1,3)-glukany, zbudowane z ok. 1500 podjednostek β -D-glukopiranozy, to ok. 85% składników ściany komórkowej drożdży. Z kolei β (1,6)-glukany są polimerami zbudowanymi z ok. 150 podjednostek glukozy, występującymi w strukturze ściany komórkowej w blisko 15%. Odpowiedzialne są za tworzenie połączeń kowalencyjnych między β (1,3)-glukanami, mannoproteinami oraz chityną, wpływając tym samym na integralność ściany komórkowej drożdży (1, 7). Stopień rozgałęzienia β (1,3)-glukanów jest cechą gatunkową drożdży. Zależy od warunków hodowli, ponieważ drożdże wykorzystują dwa kompleksy syntetaz

$\beta(1,3)$ -glukanu, na co wpływają źródło węgla oraz faza wzrostu (14). Stopień rozgałęzienia cząsteczek $\beta(1,3)$ -glukanów determinuje ich właściwości bioaktywne (7).

Drugą ważną grupą związków strukturalnych ściany komórkowej drożdży są mannoproteiny (fosfopetydomannan), stanowiące blisko 40% suchej masy komórki. Są heterogenną grupą glikoprotein – dotychczas zidentyfikowano ok. 70 różnych białek tego rodzaju w ścianie komórkowej drożdży. Frakcja węglowodanowa może stanowić do 90% cząsteczki mannoprotein. Fragment oligosacharydowy tworzą głównie polimery mannozy (mannan), których udział w glikoproteinach wynosi 50%. W komórkach drożdży *Candida utilis* stwierdzono obecność glukomannanu, który jest chemotypem mannanu. Hydroliza kwasowa tego polimeru wykazała, że jego składnikami budulcowymi były D-glukoza oraz D-mannoza. Stosunek mannozy do glukozy w hydrolizacie wynosił 23 : 2 (20). Fragment peptydowy mannoprotein stanowi 3%-5% cząsteczki, natomiast blisko 2% to fosfor (8). Ufosforylowanie fragmentu mannozyłowego (mostki fosfodiesterowe) odpowiada za wypadkowy ładunek ujemny powierzchni komórki drożdży. Fragmenty polisacharydowe mannoprotein łączą się z resztami asparaginy, treoniny lub seryny w proteinowym fragmencie cząsteczki poprzez mostki diacetylochitobiozowe lub wiązania N-glikozydowe (19, 31).

Polimery N-acetyloglukozoaminy, czyli chityna, stanowią zaledwie od 2% do 4% suchej masy komórki (1, 27). W przypadku działania na komórkę związków chemicznych zaburzających biosyntezę ściany komórkowej, komórka uruchamia tzw. mechanizm wyrównawczy (*compensatory mechanism*), którego skutkiem jest wzrost zawartości polimeru acetyloglukozoaminy do ok. 20% suchej masy.

Aguilar-Uscanga i François (1) potwierdzili doświadczalnie, że zawartość β -glukanów i mannarów w ścianie komórkowej grzybów jednokomórkowych jest ściśle uzależniona od warunków wzrostu, na które decydujący wpływ mają źródła węgla i azotu w pożywce hodowlanej, kwasowość czynna i temperatura. Nie bez znaczenia pozostaje także sposób prowadzenia hodowli. Odnotowano różnice w składzie chemicznym ściany komórkowej między drożdżami hodowanymi w kolbach poddawanych wytrząsaniu oraz w fermentorze. W literaturze źródłowej niewiele jest jednak informacji z tego zakresu (1). Badania biotechnologiczne nad biosyntezą składników ściany komórkowej drożdży i określeniem wpływu czynników środowiskowych indukujących ekspresję genów odpowiadających za syntezę poszczególnych polisacharydów są interesującym zagadnieniem naukowym ze względu na właściwości funkcjonalne glukanów i mannoprotein. Są one obszarem zainteresowania przemysłu farmaceutycznego, spożywczego, paszowego i kosmetycznego. W niniejszym opracowaniu przedstawiono zdolności wiązania substancji szkodliwych oraz dzia-

łanie przeciwdrobnoustrojowe składników ściany komórkowej drożdży.

Wiązanie substancji toksycznych przez składniki ściany komórkowej drożdży

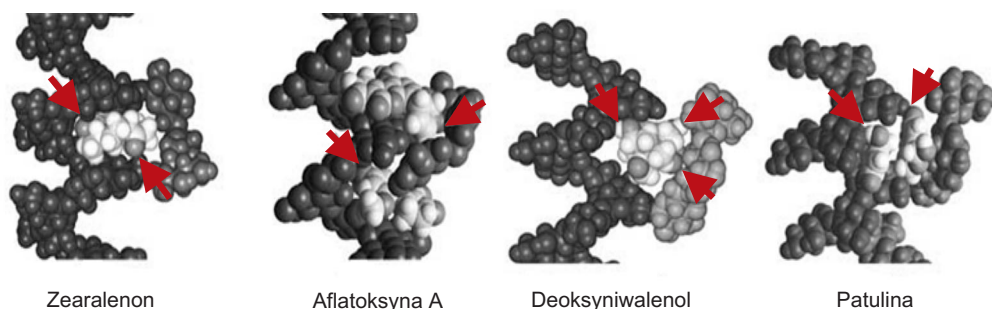
Wykorzystywanie mikroorganizmów żywych bądź składników ich komórek do usuwania zanieczyszczeń chemicznych (dekontaminacja biologiczna) jest znaną, wciąż rozwijającą się strategią współczesnej biotechnologii. Interesujące wyniki uzyskiwane są w przypadku stosowania żywych komórek drożdży bądź składników ich ścian komórkowych, do usuwania mikotoksyn z układów modelowych *in vitro*, pasz lub żywności (4, 10, 12, 15, 23, 24, 26-28, 32). Badania nad funkcjonalnością składników ściany komórkowej stwarzają możliwość zagospodarowania biomasy komórkowej drożdży lub składników ścian komórkowych stanowiących produkt odpadowy m.in. przy wytwarzaniu piwa i wina oraz białek pochodzenia mikrobiologicznego.

Mikotoksyny są produktami przemian metabolicznych grzybów strzępkowych toksycznymi dla ludzi i zwierząt domowych. Do grupy tych związków należą m.in.: aflatoksyny, ochratoksyna A, patulina, fumonizyny, zearalenon, trichoteceny, sterigmatocystyna czy womitoksyna (26). Pierwsze publikacje traktujące o wykorzystaniu drożdży do adsorpcji toksycznych metabolitów pleśni sięgają lat siedemdziesiątych (27).

Shetty i wsp. (26) prowadzili badania nad zdolnością wiązania aflatoksyny B₁ przez żywe komórki drożdży. Badano różne szczepy grzybów jednokomórkowych spośród dwunastu gatunków, tj.: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces fibuligera*, *Saccharomyces ludwigii*, *Candida crusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida catenulanta*, *Pichia anomala*, *Pichia membranefaciens*, *Zygosaccharomyces balii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Debaromyces hansenii* oraz *Trichosporum mucoides*. Eksperyment prowadzono w 1 cm³ podłoża modelowego (bufor PBS zawierający 5 µg aflatoksyny B₁), w którym początkowa liczba komórek drożdży była ustalona na poziomie 10⁸ jtk. Hodowlę prowadzono przez 72 h w temp. 25°C. Stwierdzono, że szczepy z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* oraz *Candida crusei* wiązały ponad 60% mikotoksyny zawartej w podłożu modelowym. Pozostałe drożdże wykazywały zdolność wiązania toksyny na poziomie 15%, co było zależne od szczepu.

Dewegowda i wsp. (10) podają, że w badaniach prowadzonych *in vitro* mannan izolowany ze ścian komórkowych drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wiązał mikotoksyny z wydajnością 95%, przy czym największe obniżenie zawartości obserwowano w przypadku zearalenonu i fumonizyny B₁, przy jednoczesnej niewielkiej redukcji zawartości deoksyniwalenolu.

Wyniki prac różnych zespołów badawczych wskazują, że w wiązaniu toksyn przez drożdże uczestniczą zarówno β -glukany, mannoproteiny, jak i glukomannany (23, 36, 37). W oparciu o dane piśmiennictwa (5,



Ryc. 2. Wizualizacja komputerowa interakcji mikotoksyn z pojedynczą heliksą łańcucha β -(1,3)-D-glukanu. Strzałki wskazują wiązania wodorowe (38)

27) stwierdzono, że usuwanie substancji szkodliwych z wykorzystaniem drożdży opiera się bardziej na adhezji do składników ścian komórkowych niż na tworzeniu wiązań kowalencyjnych, ponieważ martwe komórki nie tracą omawianych właściwości. Budowa ściany komórkowej drożdży wskazuje, że na jej powierzchni istnieją obszary uczestniczące w fizycznej adsorpcji związków chemicznych (27). Doświadczenie Bejaoui i wsp. (5) pozwoliło ustalić, że martwe komórki drożdży lub izolaty ścian komórkowych efektywniej obniżały zawartość toksyny (adsorpcja 95%) w porównaniu z komórkami żywymi (adsorpcja 35%), co potwierdza fizyczną naturę tych oddziaływań. Wydajność adsorpcji była wprost proporcjonalna do liczby komórek drożdży w środowisku doświadczalnym. Stwierdzono, że w procesie tym już w ciągu 5 minut związaniu z drożdżami ulegało 90% toksyny.

Nadal niewiele wiadomo o mechanizmie chemicznych interakcji poszczególnych mikotoksyn ze składnikami ściany komórkowej drożdży i ich wzajemnym powinowactwie. Przestrzenny model wiązania wybranych mikotoksyn z glukanami drożdży zaproponowali Yannikouris i wsp. (38) – ryc. 2.

Yannikouris i wsp. (38) oraz Jouany i wsp. (12) uzyskali interesujące wyniki badań, studiując interakcje zachodzące między zearalenonem i β -glukanami przy wykorzystaniu H-NMR oraz w oparciu o zjawisko dyfrakcji promieni X i uzyskane spektra UV. Zaobserwowali, że β -(1,3)-glukany wytwarzały z badaną przez nich toksyną bardzo stabilne wewnątrz-spiralne kompleksy stabilizowane łańcuchami β -(1,6)-glukanów. W tak powstających połączeniach identyfikowano wiązania wodorowe oraz występowanie oddziaływań opierających się na siłach van der Waalsa. Wydaje się zatem, że składniki polisacharydowe są głównym miejscem wiązania związków toksycznych, a proces zachodzi w różnych miejscach cząsteczki, zależnie od wiązanej substancji.

Shetty i Jespersen (27), powołując się na badania innych autorów, podają, że istnieje zależność stopnia wiązania ochratoksyny A przez komórki drożdży od wartości parametru pH. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* poddawano procesowi sterylizacji i łączono w stosunku 4/6 (% wagowe) z biomasą drożdży odpadowych po fermentacji piwa. Najwyższy stopień

wiązania toksyn występował w pH 3, co wskazywało, że jest to proces opierający się na fizycznych oddziaływaniach ściany komórkowej drożdży z ochratoksyną. Podobną tendencję opisują Yiannikouris i wsp. (38). Określili oni stopień adsorpcji zearalenonu przez β -glukany w pH 3, pH 6 i pH 8. W środowisku kwaśnym i obojętnym obserwowano

najwyższą zdolność wiązania toksyny (64-77%), która obniżała się wraz ze wzrostem alkaliczności środowiska. Autorzy tłumaczyli ten fakt odczynem alkalicznym środowiska, który może doprowadzać do niszczenia trójwymiarowej konformacji β -glukanów. W konsekwencji powstaje pojedyncza spirala i/lub cząsteczki o strukturze przypadkowego zwoju. Proces taki utrudnia powstawanie oddziaływań wodorowych i sił van der Waalsa między omawianym polisacharydem i toksyną. Stwierdzono, że β -(1,3)-glukany o wysokim stopniu rozgałęzienia β -(1,6)-glukanami są bardziej odporne na działanie środowiska alkalicznego (12).

Dostępnych jest wiele informacji dotyczących wykorzystania ścian komórkowych drożdży jako dodatków do pasz, mających za zadanie ograniczać toksyczne oddziaływanie mikotoksyn. Podawane są przykłady wykorzystywania ścian komórkowych drożdży, pozyskiwanych z biomasy odpadowej po procesie fermentacji alkoholowej, jako dodatków do pasz dla drobiu znacząco obniżających szkodliwe działanie aflatoksyn (25). Powstające kompleksy mikotoksyna–składnik ściany komórkowej drożdży są prawdopodobnie stabilne w układzie pokarmowym zwierząt, dzięki czemu toksyny są wydalane wraz z kałem z organizmu zwierzęcia. Taki rodzaj mechanizmu obronnego ma tę zaletę, że nie zostają związane substancje odżywcze (25). Aktywność β -glukanów wynika również z faktu, że na 1 g czynnego składnika preparatu przypada około 20 m² powierzchni zdolnej adsorbować mikotoksyny. Dodatek β -glukanu do paszy dla zwierząt w ilości 2 g/kg masy ciała powodował obniżenie toksycznego działania tych substancji (15, www.international.inra.fr: „Yeast cell wall extracts to contact the effects of mycotoxins in pigs”). Kusumaningtyas i wsp. (18) odnotowali obniżenie zawartości aflatoksyny B1 w paszy dla kurcząt, do której dodawano drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. W próbkach z dodatkiem drożdży stężenie aflatoksyny B1 po 5, 10 i 15 dniach prowadzenia doświadczenia było istotnie niższe w porównaniu z zawartością w próbkach kontrolnych, tj. wynosiło, odpowiednio, 0,6326, 2,7472 oraz 2,5044 ppm. Zawartość w próbkach bez dodatku drożdży była na poziomie 1,5828 ppm, 3,8628 ppm oraz 3,5607 ppm. Zdolność redukcji zawartości toksyn wytwarzanych przez *Aspergillus flavus* obserwo-

wano także dla drożdży z gatunków *Pichia guilliermondii*, *Candida krusei* WRL-035 i *Kluyveromyces spp.* W badaniach na szczurach dodatek składników ściany komórkowej drożdży do diety zwierząt nie powodował oznak toksyczności, jedynie przy dawce powyżej 5 g/dzień stwierdzono w nielicznych przypadkach biegunkę, bóle brzucha i wzdęcia (2).

W eksperymencie Swamy i wsp. (28) kontrolowano 175 świń karmionych paszą zanieczyszczoną mikotoksynami pleśni z rodzaju *Fusarium*. Zwierzęta podzielono na pięć grup, w zależności od składu diety. Grupie kontrolnej podawano ziarna nieskażone mikotoksynami. Grupę drugą zwierząt karmiono ziarnami skażonymi 5,5 ppm detoksyniwalenolu, 0,5 ppm 15-acelolodeoksyniwalenolu, 26,8 ppm kwasu fusarynowego i 0,4 ppm zearelanonu. Kolejne grupy otrzymywały z dietą ziarna zanieczyszczone wymienionymi mikotoksynami oraz dodatkiem, odpowiednio, 0,05%, 0,10% i 0,20% glukomannanów drożdży. Stwierdzono, że suplementacja glukomannanami zapobiegała niektórym zmianom indukowanym przez mikotoksyny. Efektywność składników ściany komórkowych drożdży w przeciwdziałaniu toksyczności metabolitów pleśni wykazali również w badaniach na zwierzętach Raju i Devegowda (23), Aravind i wsp. (4), Ringot i wsp. (24) i inni.

Badania *in vivo* udowodniły ponadto, że β -glukany zapobiegają niszczącemu wpływowi czynników mutagennych na komórki. Mechanizm działania glukanów polegał prawdopodobnie na wiązaniu aminoantracenu, co uniemożliwiało interakcję tego związku z komórkowym DNA (20).

W odniesieniu do dekontaminacji żywności, wyniki badań również potwierdzają możliwość wykorzystywania martwych komórek *Saccharomyces cerevisiae* do usuwania ochratoksyny A z soku grapefruitów (5). Var i wsp. (32) określali natomiast zdolność wiązania wtórnych metabolitów pleśni przez 21 szczepów drożdży izolowanych z winogron. Żywe komórki drożdży (10^8 jtk/cm³) oraz martwe, uzyskane pod wpływem wysokiej temperatury, inkubowano przez 4 godziny w 25°C w podłożach modelowych, tj. buforze PBS oraz białym winie, zawierających 10 ng ochratoksyny A. Zdolność adsorpcji ochratoksyny przez żywe komórki drożdży mieściła się w zakresie 1,96-26,11% w przypadku PBS oraz 4,75-21,40% w winie. Drożdże *Candida famata* D7 oraz *Candida lusitana* D11 w najwyższym stopniu obniżały zawartość toksyny w podłożach doświadczalnych. Dla komórek żywych była to odpowiednio redukcja na poziomie 26,11% i 23,46%. W przypadku komórek martwych najwyższą wydajnością wiązania ochratoksyny w winie (30,45%) cechował się szczep *Candida famata* D7. Autorzy wysunęli hipotezę zakładającą, że znaczącą rolę w dekontaminacji odgrywały mannoproteiny ściany komórkowych. Zdaniem naukowców, międzygatunkowe różnicowanie struktury fizycznej omawianych glikoprotein (ładunek całkowity, rozmieszczenie ła-

dunku, wielkość porów oraz powierzchnia właściwa) odpowiadało za odmienne zdolności adsorpcji toksyn przez badane drożdże.

Składniki ściany komórkowych drożdży wykazują właściwości chemisorpcji w stosunku do różnych pierwiastków metalicznych, w tym metali toksycznych, jak rtęć, ołów czy uran. Ułatwiają w ten sposób ich usuwanie np. ze ścieków przemysłowych bądź, jeśli spożywane z dietą, odpowiadają za ich wydalanie z organizmu, zapobiegając tym samym wchłanianiu (33). W przypadku żywych komórek drożdży zjawisko wiązania kationów może mieć jednocześnie charakter biosorpcji, gdy w wiązanie zaangażowany jest transport aktywny komórki. Potwierdzono, że skutecznymi biosorbentami dla metali ciężkich mogą być drożdże z rodzajów *Saccharomyces*, *Candida* czy *Pichia* (33). Kratochvil i Volesky (17) prowadzili badania nad wiązaniem przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae* pierwiastków metalicznych z roztworów wodnych. W przypadku ołowiu obserwowano wiązanie na poziomie około 300 mg Pb/g suchej masy drożdży, w odniesieniu do miedzi było to około 20 mg Cu/g suchej masy drożdży, natomiast chromu i niklu – około 40 mg/g suchej masy drożdży. Stężenie radioaktywnego uranu ulegało obniżeniu o blisko 300 mg U/g suchej masy drożdży.

Jednocześnie mannoproteiny ściany komórkowych drożdży uczestniczą w procesie kowalencyjnego wiązania kationów metali niezbędnych dla przebiegu metabolizmu komórkowego, np. magnezu, cynku, selen. Stwarza to szansę pozyskiwania biopleksów lepiej przyswajalnych przez organizmy ludzkie i zwierzęce w porównaniu z preparatami mineralnymi tych pierwiastków (6).

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe składników ściany komórkowej drożdży

Preparaty ściany komórkowych drożdży stymulują układ odpornościowy ludzi i zwierząt, przez to odgrywają rolę w kształtowaniu oporności komórkowej. Korzystnie wpływają na zwalczanie zakażeń bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych i pasożytniczych, co pozwala na ich wykorzystanie w terapii przeciwzakaźnej (20). Mantanovani i wsp. (20) wskazali, że β -glukan ograniczał wzrost bakterii *Escherichia coli* oraz *Bacillus subtilis*. Zmodyfikowany chemicznie glukan do formy kationowej efektywniej ograniczał wzrost Gram-ujemnych *Escherichia coli* w porównaniu z Gram-dodatnimi bakteriami *Bacillus subtilis*. Mogło to wynikać z interakcji dodatnio naładowanej cząsteczki glukanu, podstawionej grupami aminowymi, z obdarzoną ładunkiem ujemnym powierzchnią bakterii Gram-ujemnych. W wyniku takich oddziaływań dochodzi do przerwania ciągłości błony komórkowej i w konsekwencji do zahamowania wzrostu bakterii.

Kogan i Kocher (15) badali przeciwdrobnoustrojowe właściwości polisacharydów preparatu Bio-Mos firmy Alletech Inc. (Nicholasville, KY) pozyskiwanych

ze ścian komórkowych drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Preparat ten stosowany jest w suplementacji diety trzody chlewnej. Test przeciwdrobnoustrojowego działania β -glukanów i α -mannanów polegał na określaniu zdolności aglutynacji 258 szczepów bakterii patogennych. Badany preparat wykazywał zdolność aglutynacji wobec 56% badanych bakterii. Najwyższą aktywność wykazano w odniesieniu do gatunków *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* oraz *Clostridium spp.*

Niektóre β -glukany izolowane z grzybów dzięki odpowiednim mechanizmom immunomodulującym skutecznie zwalczają większość bakterii chorobotwórczych w tym antybiotykoopornych (9). Betafektin z *Saccharomyces cerevisiae* okazał się skuteczny w zapobieganiu infekcjom ran wywołanych przez *Staphylococcus aureus*, łącznie ze szczepami opornymi na antybiotyki β -laktamowe (w tym na metycylinę). Makrofagi otrzewnowe myszy leczonych glukaniem izolowanym z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* były bardziej aktywne w zwalczaniu zakażeń wywołanych bakterią *Pseudomonas brasiliensis*. Prawdopodobnie składniki ścian komórkowych drożdży pomagają również usuwać mikroorganizmy chorobotwórcze z przewodu pokarmowego na drodze ich fizycznego wiązania. Ponadto uczestniczą w tworzeniu ochronnej bariery śluzowej (biopowłoki) w jelicie, która utrudnia patogenom adhezję do komórek nabłonka jelita. Hamowane jest także wydzielanie toksyn w przebiegu infekcji (15). Z drugiej strony, preparaty zawierające β -glukany, np. Alpha Pharma, stanowiący wyekstrahowany komponent mannooligosacharydowy – MOS czy Biolex-Beta HP w postaci wyciągu drożdżowego, są powszechnie wykorzystywane jako źródło prebiotyków. Alpha Pharma jest stosowana w hodowli drobiu, trzody chlewnej i bydła w dawce 0,5-1 kg/t paszy treściwej, a Biolex-Beta HP u przeżuwaczy w ilości 5 g/kg paszy treściwej. W żywieniu zwierząt, w celu uzyskania lepszych efektów działania prebiotycznego, β -glukany mogą być stosowane w połączeniu z probiotykami, czyli jako synbiotyki (29).

β -glukan wykazuje również działanie przeciwgrzybicze, np. zymozan chronił komórki gospodarza nie tylko przed infekcjami powodowanymi przez *Pseudomonas carinii*, ale także *Candida albicans*. U zwierząt objętych terapią opartą na łączeniu leków przeciwgrzybiczych z immunostymulatorami w postaci β -glukanów drożdżowych obserwowano lepszy efekt przeciwdziałania zakażeniom wywołanym przez *Aspergillus fumigatus* (9).

Istotnym problemem badań biotechnologicznych i medycznych są choroby ludzi i zwierząt wywoływane przez pasożyty, takie jak: *Eimeria*, *Toxoplasma*, *Neospora* czy *Cryptosporidium*. Profilaktyka chorób pasożytniczych, oprócz przestrzegania zasad higieny, polega na podawaniu środków o działaniu przeciwpasożytniczym. Suplementacja diety β -glukanami potwierdziła ich aktywność przeciwpasożytniczą u kur-

czaków. Dodatek 0,05% preparatów ściany komórkowej drożdży wywołał znaczącą redukcję ilości jaj pasożytów usuwanych wraz z kałem, tj. z $32\,805 \pm 572,8$ oocytów/g kału w próbkach pobieranych od zwierząt grupy kontrolnej do $6505 \pm 128,06$ oocytów/g kału kurcząt suplementowanych β -glukanami (11). Autorzy wysunęli przypuszczenie, że β -glukany wpływały na zwiększenie odpowiedzi humoralnej organizmu kurcząt oraz immunologicznej odpowiedzi komórkowej. Prawdopodobnie aktywowane subpopulacje limfocytów T, tj. limfocyty T pomocnicze (CD4+) oraz limfocyty T cytotoksyczne (CD8+) ograniczały proces rozmnażania pasożytów w przewodzie pokarmowym badanych zwierząt. Glukany należą bowiem do grupy substancji modyfikujących odpowiedź odpornościową organizmu (16, 29). Pobudzają m.in. makrofagi, monocyty, neutrofile do produkcji cytokin, a przez to dochodzi do aktywacji limfocytów i produkcji odpowiednich przeciwciał (29). Suplementacja diety zwierząt glukaniem pozyskiwanymi ze ścian komórkowych drożdży należy do nieinwazyjnych metod oddziaływania na organizmy, czyli polega na ich podawaniu wraz z paszą (34). Można je stosować zamiast syntetycznych stymulatorów odpowiedzi immunologicznej (29).

Mayell (21) podaje, że β -glukany drożdży, jak: sonifilan, lentinan, zymozan wykazywały skuteczność przeciwko czynnikom wirusowym. Kakumu i wsp. (13) zaobserwowali, że sonifilan umożliwiał kontrolowanie przewlekłego zapalenia wątroby typu B poprzez modulację komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Ara i wsp. (3) zaobserwowali natomiast wpływ zymozanu *Saccharomyces cerevisiae* na zwiększenie odporności immunologicznej u osób zakażonych wirusem niedoboru odporności (HIV).

Podsumowanie

Wyniki badań naukowych dokumentują ważną rolę β -glukanów i mannoprotein drożdży w biologicznej dekontaminacji szkodliwych metabolitów pleśni, jak również aktywność przeciwdrobnoustrojową składników ściany komórkowej drożdży. Mechanizm takiej aktywności nadal pozostaje przedmiotem studiów wielu ośrodków badawczych. Istnieją jednak dowody wskazujące na możliwość wykorzystania funkcjonalnych właściwości składników ściany komórkowej drożdży zarówno w przemyśle spożywczym, paszowym, jak i farmaceutycznym. Są to obiecujące substancje w promocji zdrowia ludzi i zwierząt. Ważne jest, że ich produkcja może opierać się na hodowli biomasy drożdży w podłożach zawierających różnego rodzaju odpady przemysłowe lub na pozyskiwaniu tych składników z komórek drożdży poprodukcyjnych. Ponieważ zagadnienia z zakresu funkcjonalności składników ścian komórkowych drożdży są nadal nie do końca poznane, otwiera to interesującą perspektywę prowadzenia dalszych prac badawczych w kierunku dokładnego opisanie szlaków biosyntezy ściany

komórkowej drożdży oraz zrozumienia biologicznej aktywności jej składników budulcowych.

Piśmiennictwo

1. Aguilar-Uscanga B., François J. M.: A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Lett. Appl. Microbiol.* 2003, 37, 268-274.
2. Alonso-Sande M., Teijeiro-Osorio D., Remuñán-López C., Alonso M. J.: Glucomannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 72, 453-462.
3. Ara Y., Saito T., Takagi T., Hagiwara E., Miyagi Y., Sugimama M., Kawamoto S., Ishii N., Yoshida T., Hanashi D., Koshino T., Okada H., Okuda K.: Zymosan enhances the immune response to DNA vaccine for human immunodeficiency virus type-1 through the activation of complement system. *Immunology* 2001, 103, 98-105.
4. Aravid K. L., Patil V. S., Devegowda G., Umakantha B., Ganpule S. P.: Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poultry Sci.* 2003, 82, 571-576.
5. Bejaoui H., Mathieu F., Taillandier P., Lebrihi A.: Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *J. Appl. Microbiol.* 2004, 97, 1038-1044.
6. Błażej S., Duszkiewicz-Reinhard W., Gniewosz M., Mazurkiewicz B.: Lokalizacja magnezu w komórkach drożdży paszowych *Candida utilis* ATCC 9950 wzbogaconych o ten pierwiastek. *Acta Sci. Pol.* 2004, 3, 95-110.
7. Bohn J. A., BeMiller J. N.: (1,3)- β -glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydr. Polym.* 1995, 28, 3-14.
8. Chaffin L. W., Lopez-Ribot L. J., Casanova M., Gozalbo D., Martinez P. J.: Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function and expression. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998, 62, 130-180.
9. Chen J., Seviour R.: Medicinal importance of fungal β (1-3), β (16)-glucans. *BMS* 2007, 635-652.
10. Dewegowda G., Arvind B. I. R., Morton M. G.: *Saccharomyces cerevisiae* mannooligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. *Proc. Australian Poultry Science Symposium, Sydney* 1996, s. 103-106.
11. Gómez-Verduzco G., Cortes-Cuevas A., López-Coello C., Ávila-González E., Nava G. M.: Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria* sp. *Acta Vet. Scand.* 2009, 51, 11-17.
12. Jouany J. P., Yannikouris A., Bertin G.: The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of *Saccharomyces cerevisiae* have been identified. *Arch. Zootech.* 2005, 8, 26-50.
13. Kakumu S., Ishikawa T., Wakita T., Yoshioka K., Ito Y., Shinagawa T.: Effect of sifofiran, a polysaccharide, on interferon gamma, antibody production and lymphocyte proliferation specific for hepatitis B virus antigen in patients with chronic hepatitis. *Int. J. Immunopharmacol.* 1991, 13, 969-975.
14. Klis M. F., Mol P., Hellingwerf K., Brul S.: Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002, 26, 239-256.
15. Kogan G., Kocher A.: Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Sci.* 2007, 109, 161-165.
16. Kogan G., Staško A., Bauerová K., Polovka M., Šoltés L., Brezová V., Navarová J., Mihalová D.: Antioxidant properties of yeast (1-3)- β -glucan studied by electron paramagnetic resonance spectroscopy and its activity in the adjuvant arthritis. *Carbohydr. Polym.* 2005, 61, 18-28.
17. Kratochvil D., Volesky B.: Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends Biotechnol.* 1998, 16, 291-300.
18. Kusumaningtyas E., Widiastuti R., Maryam R.: Reduction of aflatoxin B1 in chicken feed by using *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus* and their combination. *Mycopathologia* 2006, 162, 307-311.
19. Lipke P. N., O valle R.: Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *J. Bacteriol.* 1998, 180, 3735-3740.
20. Mantanovani M. S., Bellini M. F., Angeli J. P. F., Oliveira R. J., Silva A. F., Ribeiro L. R.: β -Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. *Mutation Res.* 2008, 658, 154-161.
21. Mayell M.: Maitake extracts and their therapeutic potential. *Alternative Medicine Rev.* 2001, 6, 48-60.
22. Ogawa K., Matsuda K., Tamari K., Kiyo-Oka S.: A glucomannan from *Candida utilis*: Characterization of oligosaccharides from partial acid hydrolyzate of the glucomannan. *Agr. Biol. Chem.* 1978, 42, 1101-1109.
23. Raju M., Devegowda G.: Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin. *Br. Poultry Sci.* 2000, 41, 640-650.
24. Ringot D., Lerzy B., Bonhoure J. P., Auclair E., Oriol E., Larondelle Y.: Effect of temperature on in vitro ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives. *Process Biochem.* 2005, 40, 3008-3016.
25. Santin E., Paulilo A. C., Maiorka A., Nakaghi L. S. O., Macan M., de Silva A. V. F.: Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Int. J. Poultry Sci.* 2003, 2, 241-344.
26. Shetty P. H., Hald B., Jespersen L.: Surface binding of aflatoxin B₁ by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int. J. Food Microbiol.* 2006b, 113, 41-46.
27. Shetty P. H., Jespersen L.: *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci. Technol.* 2006a, 17, 48-55.
28. Swamy H. V. L. N., Smith T. K., MacDonald E. J., Boermans H. J., Squires E. J.: Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on swine performance, brain regional neurochemistry and serum chemistry and efficiency of a polymeric glukomanan mycotoxin adsorbent. *J. Anim. Sci.* 2002, 80, 3257-3267.
29. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.: Betaglukany alternatywą antybiotykowych stymulatorów wzrostu. *Życie Wet.* 2007, 82, 842.
30. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.: Wpływ prebiotyków na procesy immunologiczne u zwierząt. *Medycyna Wet.* 2008, 64, 262-264.
31. Tizard I. R., Carpenter R., McAnally B. H., Kemp M. C.: The biological activities of mannans and related complex carbohydrates. *Mol. Biother.* 1989, 1, 290-297.
32. Var I., Erginkaya Z., Kabak B.: Reduction of ochratoxin A levels in white wine by yeast treatment. *J. Inst. Brew.* 2009, 115, 30-34.
33. Wang J., Chen C.: Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol. Adv.* 2009, 27, 195-226.
34. Wójcik R., Małaszewska J., Trapkowska S., Siwicki A. K.: Wpływ β -1,3/1,6-D-glukanu na nieswoiste komórkowe mechanizmy obronne jagniąt. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 84-86.
35. Yannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.-G., Bertin G., Jemmet G.: Adsorption of zearalenone by β -D-glucans in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J. Food Prot.* 2004a, 67, 1195-1200.
36. Yannikouris A., Andre G., Buleon A., Dussap C.-G., Bertin G., Jemmet G., Canet I., François J.: Comprehensive conformational study of key interactions involved in zearalenone complexation with β -D-glucans. *Biomacromol.* 2004c, 5, 2176-2185.
37. Yannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.-G., Bertin G., Jemmet G.: Alkali extraction of β -D-glucans from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and study of their adsorptive properties towards zearalenone. *J. Agric. Food Chem.* 2004b, 52, 3666-3673.
38. Yannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.-G., Bertin G., Jemmet G.: Influence of pH on complexing of model β -D-glucans with zearalenone. *J. Food Prot.* 2004 d, 67, 2741-2746.

Adres autora: dr inż. Anna Bzducha-Wróbel, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa; e-mail: anna_bzducha_wrobel@sggw.pl