

Исследование биологически активных веществ в культуральной жидкости чайного гриба

Вардуи Овсепян
Мариам Бахчинян
Лилит Исраелян

DOI: <https://di.org/10.58726/27382923-ne2024.1-92>

Ключевые слова: *Medusomyces gisevii*, антибактериальные свойства, аскорбиновая кислота, белок, *E.coli*

В настоящее время человечество все больше внимания уделяет здоровью, вводя в рацион функциональные продукты. Особое значение имеют продукты питания, изготовленные из натурального сырья, имеющие высокую биологическую и пищевую ценность. Возрождение традиционных продуктов питания является важным и актуальным вопросом сохранения жизни и здоровья [7].

В последнее время наблюдается значительный интерес к разработке и внедрению функциональных продуктов питания, в том числе напитков, в ежедневный рацион. С этой точки зрения напиток из чайного гриба является хорошим средством для общего ослабления иммунитета человека при стрессе и профилактики ряда заболеваний, вызванных загрязнением окружающей среды [4].

Давно известно, что отвары чайных грибов характеризуются высокой биологической активностью, высокими лечебными и вкусовыми свойствами благодаря наличию в них различных биологически активных веществ, органических кислот, алкалоидов, антибиотиков, витаминов и т. д. Причиной такого разнообразия является то, что грибок представляет собой сложную поликультуру микроорганизмов, содержащую дрожжевые, уксуснокислые и молочнокислые бактерии и другие микроорганизмы, продуктами жизнедеятельности которых являются перечисленные вещества [3; 4].

Чайный грибок (*Medusomyces gisevii*) представляет собой симбиотическую культуру, в которой сосуществуют различные формы

- уксуснокислых бактерий (*Acetobacter sp.*, *Gluconobacter oxydans*, *Bacterium gluconicum*, *Torula*, *Dekkera*, *Pichia sp.*),
- дрожжевых грибков (*Zygosaccharomyces sp.*, *Saccharomyces sp.*) [9].

Это многослойная упругая пластинчатая структура, питательной средой для которой, как правило, является подслащенный раствор чая. В процессе жизнедеятельности составляющих, происходит ферментативное брожение чайного раствора с образованием специфического продукта, который может употребляться в качестве напитка [10; 11].

Химический состав напитка чайного гриба изучался неоднократно, однако, как было отмечено в исследованиях Л.Т. Даниэлян, опубликованные результаты зачастую отличаются друг от друга, что может быть связано с разным микробиологическим составом образцов *Medusomyces gisevii*, концентрацией питательного чайного раствора или другими модификациями питательной среды, примененными методами и временем ферментативного брожения [4; 6].

Согласно данным, напиток из чайного гриба содержит [2; 3; 7]:

- фенольные соединения, полифенолы,
- флавоноиды,
- органические кислоты – уксусная кислота, глюконовая кислота, лимонная кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, щавелевая кислота, молочная кислота, пиромалиновая кислота,
- сахароза, глюкоза и фруктоза,
- витамины B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} , С,
- 14 аминокислот, биогенные амины,
- пурины, пигменты, липиды, белки, некоторые гидролитические ферменты,
- вещества с антибактериальной активностью,
- углекислый газ CO_2 ,
- этиловый спирт,
- марганец, железо, никель, медь, цинк, свинец, кобальт, хром, кадмий,
- ферменты (липаза, амилаза).

Согласно литературным данным, культуральная жидкость *Medusomyces gisevii*, обладает выраженной противомикробной активностью, которая связана с присутствием (в составе изучавшейся жидкости) антибактериальных веществ широкого спектра действий, обладающих как бактериостатическими, так и бактерицидными свойствами [2].

Целью работы было изучить и сравнить некоторые биологически активные соединения, содержащиеся в культуральной жидкости чайного гриба, а также оценить их фармакологические свойства.

Материал и методы: Для изучения антибактериальных свойств, определения белков и аскорбиновой кислоты были использованы культуральные жидкости чайного гриба на разных стадиях культивирования.

Антибактериальную активность определяли луночным методом. В качестве среды была выбрана среда Muller Hilton M173 [8]. Антибактериальная активность изучалась в отношении штаммов *E.coli* K12DS498. Оценка антибактериальной активности определялась по диаметру ингибирования.

- 11-18 мм – умеренная,
- 20-27 мм – высокая,
- 28-30 мм – очень высокая

Количественное определение витамина С проводилось методом йодометрического титрования. Аскорбиновая кислота является сильным восстановителем и может быть определена йодометрическим методом, при определенном значении рН раствора. Аскорбиновая кислота окисляется, при титровании йодом, тем самым образуя дегидроаскорбиновую кислоту [5].

В ходе процесса содержание белка в пробах чайных грибов определяли биуретовым методом [1].

Результаты исследования: В последние годы среди исследователей наблюдается большой интерес к стимулирующему влиянию чайного гриба на рост микроорганизмов, что обусловлено синтезом большого количества различной химической природы: алкалоидов, терпеноидов, фенольных соединений, полисахаридов, витаминов. и минералов, которые могут влиять на рост микроорганизмов. Нами изучена антибактериальная активность культуральных жидкостей разных стадий роста чайного гриба. Культуральные жидкости чайных грибов луночным методом тестировали на штаммах *E.coli*. Десятидневная культуральная жидкость чайного гриба ингибировала рост кишечной палочки и проявила умеренную антибактериальную активность в количестве 30 мкл. В количестве 50 мкл десятидневная культуральная жидкость чайного гриба проявила высокую антибактериальную активность (табл. 1).

Таблица 1

**Результаты антибактериальной активности
культуральной жидкости чайного гриба на рост бактерии
E.coli K12DS498 луночным методом на среде Muller Hinton M173c**

| | Зона ингибирования | |
|--|--------------------|--------|
| | 30 мкл | 50 мкл |
| Культуральная жидкость чайного гриба (10-ый день культивирования) | 18 | 22 |
| Культуральная жидкость чайного гриба (15-ый день культивирования) | 25 | 29 |

Исследование культуральной жидкости чайного гриба на 15-ый день культивирования показал, что и при 30 мкл и при 50 мкл, чайный гриб проявил очень высокую антибактериальную активность и подавлял рост бактерии *E.coli*.

В процессе роста чайного гриба в культуральную жидкость выделяются различные биологически активные вещества. Их концентрация в культуральной жидкости увеличивается, за счет чего усиливаются антибактериальные свойства чайного гриба.

Исследование противогрибковых свойств чайного гриба показало, что он не обладает противогрибковыми свойствами.

Культуральная жидкость чайного гриба, представляющая собой продукт ферментации дрожжей и уксуснокислых бактерий, имеет очень сложный состав. Было исследовано количество аскорбиновой кислоты в культуральной жидкости чайного гриба на 5-ый день и 15-ый день культивирования.

Таблица 2

**Содержание витамина С в культуральной жидкости
чайного гриба**

| Образец | Количество витамина С (мг/100мл) | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| | 5-ый день культивирования | 15-ый день культивирования |
| Культуральная жидкость чайного гриба | 3,5 | 7,9 |

Как видно из табл. 2, синтез витамина С происходил в культуральной жидкости чайного гриба. В пробах 5-дневной культуральной жидкости чайного гриба обнаружено 3,5 мг/100мл витамина С, в 15-дневной пробе количество витамина С увеличилось и достигло 7,9 мг/100мл. За время роста чайного гриба количество витамина С в его культуральной жидкости увеличилось на 56% (диаграмма 1).

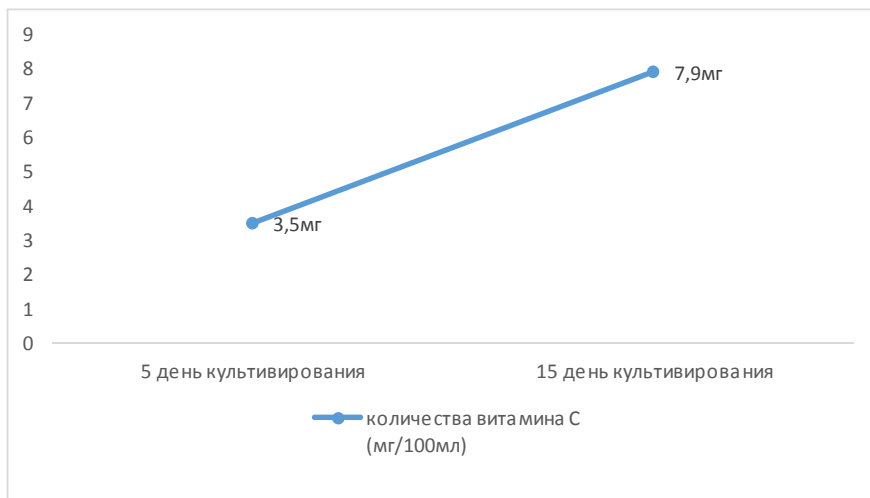


Диаграмма 1. Изменение количества аскорбиновой кислоты в разные дни роста чайного гриба

Таким образом, во время роста чайного гриба в культуральной жидкости увеличивается содержание аскорбиновой кислоты.

В культуральной жидкости чайного гриба на разных стадия культивирования было исследовано также содержание белков.

Таблица 3

Количество белков в образцах чайного гриба в разные дни культивирования

| Образец | Количество белка (мг) | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 2-ой день культивирования | 3-ий день культивирования | 4-ый день культивирования | 5-ый день культивирования |
| Культуральная жидкость чайного гриба | 4,4 | 5 | 7,5 | 8,2 |

В зависимости от стадий роста количество соединений, содержащихся в культуральной жидкости, может варьироваться. Изучая количество белков в культуральной жидкости чайного гриба, были получены следующие данные (таблица 3, диаграмма 2).

Как видно из таблицы 3, по мере роста чайного гриба, количество белка в его культуральной жидкости увеличивалось. Количество белка в двух- и трехдневной культуральной жидкости варьировало от 4,4 до 5 мг. Уже на 4 и 5 день количество достигло 7,5-8,2 мг.

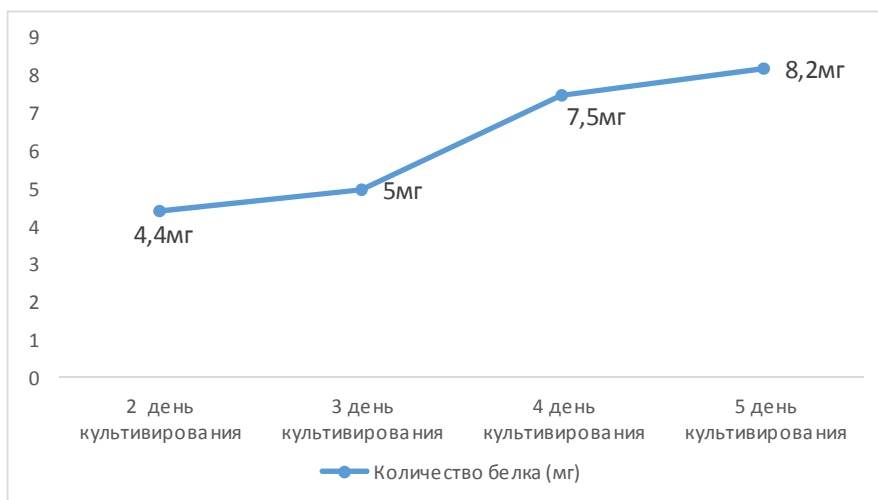


Диаграмма 2. Изменение количества белков в разные дни роста чайного гриба

На основании полученных данных, чайный гриб можно использовать как антибактериальное средство и как источник витамина С и белков.

DOI: <https://di.org/10.58726/27382923-ne2024.1-92>

Լիտերատուրա

1. Թոշունյան Ա. Հ., Հայրապետյան Ն. Շ., Կարապետյան Հ. Մ., Ընդհանուր կենսաքիմիայի լաբորատոր աշխատանքներ, Ուս. ձեռնարկ: ԵՊՀ հրատ., 2017, 244 էջ:
2. Арсеньева Т.П., Забодалова Л.А., Кудрявцева Т.А. Использование микрофлоры чайного гриба при производстве молочных продуктов лечебно-профилактического назначения. Обзорная информация, Москва: Агрониитэипп, 1997, - 16 с.
3. Даниелян Л.Т. Чайный гриб (Kombucha) и его биологические особенности. Москва: Медицина, 2005, - 176 с.
4. Зайнуллин Р.А. Влияние условий культивирования чайного гриба (kombucha) на его функциональные свойства в пищевых профилактических напитках, - 30 с.
5. Пустовалова Л.М. Практические работы по биохимии, 2004, 320 с.
6. Смирнов В.А., Климочкин Ю.Н., Витамины и коферменты, учеб. пособ. Ч. 2, Самара: Самар. гос. техн. ун-т, 2008, - 91 с.
7. Степанова А.А. Получение и исследование функционального напитка на основе чайного гриба / А.А. Степанова, Л.К. Асякина // Инновационный конвент «Кузбасс: образование, наука, инновации – 2018», Кемерово, 2018, с. 211–214.
8. CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.
9. Dutta D., Gachhui R. Nitrogen-fixing and cellulose-producing *Gluconacetobacter kombuchae* sp. nov., isolated from Kombucha tea. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2007; 57: pp. 353–357.
10. Jarrell J., Cal T., Bennett J.W. The kombucha consortia of yeasts and bacteria. Mycologist. 2000; 14: pp. 166–170.
11. Murugesan G.S., Sathishkumar M., Jayabalan R., Binupriya A.R., Swaminathan K., Yun S.E. He-patoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon Tetrachloride induced toxicity. J. Microbiol. Biotechnol. 2009; 19 (4): pp. 397-402.

Թեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկում կենսաբանական ակտիվ միացությունների ուսումնասիրումը

*Վարդուհի Հովսեփյան
Մարիամ Բախչինյան
Լիլիթ Իսրայելյան*

Հանգուցային բառեր. Medusomyces gisevii, հակաբակտերիալ հաստկություններ, ասկորբինաթթու, սպիտակուց, E.coli

Վաղուց հայտնի է, որ թեյի սնկի թուրմերը առանձնանում են կենսաբանական բարձր ակտիվությամբ, բարձր բուժական և համային հաստկություններով՝ շնորհիվ դրանցում կենսաբանորեն ակտիվ տարբեր նյութերի, օրգանական թթուների, ակալոիդների, հակաբիոտիկների և վիտամինների: Թուրմի բաղադրության նման բազմազանության պատճառն այն հանգամանքն է, որ սունկը իրենից ներկայացնում է միկրոօրգանիզմների բարդ պոլիկուլտուրա, որը պարունակում է խմորասունկ, քացախաթթվային և կաթնաթթվային բակտերիաներ և այլ միկրոօրգանիզմներ, որոնց նյութափոխանակության արտադրանքը վերը թվարկված նյութերն են: Թեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկի հակաբակտերիալ հաստկությունների ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ այն օժտված է ուժեղ հակաբակտերիալ հաստկություններով և ճնշում է E.coli բակտերիաների աճը: Թեյի սնկի աճման ընթացքում նա իր միջավայր է արտազատում տարբեր կենսաբանական ակտիվ նյութեր, և նրանց կոնցենտրացիան լուծույթում ավելանում է, որով էլ պայմանավորված՝ թեյի սնկի հակաբակտերիալ հաստկությունը ուժեղանում է: Թեյի սնկի աճման ընթացքում նրա կուլտուրալ հեղուկում տեղի է ունենում ասկորբինաթթվի սինթեզ և ավելանում է 56 %-ով:

Թեյի սնկի աճման ընթացքում նրա կուլտուրալ հեղուկում սպիտակուցների քանակությունը կազմել է 7,5-7,6 մգ:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ թեյի սունկը կարող է օգտագործվել որպես հակաբակտերիալ միջոց և որպես վիտամին C-ի և սպիտակուցի աղբյուր:

Investigation of Biologically Active Compounds in Tea Fungus Culture Fluid

Varduhi Hovsepyan
Mariam Bakhchinyan
Lilit Israelyan

Key words: *medusomyces gisevii*, antibacterial properties, ascorbic acid, protein, *E.coli*

Tea fungus decoctions have long been recognized for their notable biological activity, and high therapeutic, flavor features due to the presence of various biologically active compounds, organic acids, alkaloids, antibiotics and vitamins. The reason for such diversity in the composition of the decoction is that the mushroom is a complex polyculture of microorganisms, which contains yeast, acetic acid, lactic acid bacteria and other microorganisms, the metabolic products of which are the compounds listed above.

The investigations of the antibacterial properties of the tea fungus liquid culture have revealed strong antibacterial properties and inhibiting effects on the growth of *E. coli* bacteria.

During the growth of the tea fungus, the concentration of biologically active substances in the culture medium increases strengthening its antibacterial features. During the growth of the tea fungus, ascorbic acid synthesis within the culture fluid resulted in a remarkable 56% increase in its concentration.

The analyses conducted during the growth of tea fungus indicated a protein content ranging from 7.5 to 7.6 mg.

In conclusion, tea fungus represents a promising antibacterial agent and a natural reservoir of vitamin C and protein.

Ներկայացվել է 28.04.2024 թ.

Գրախոսվել է 10.05.2024 թ.

Ընդունվել է տպագրության 30.05.2024 թ.