

УДК 663.577

ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРИРОДНОЇ АСОЦІАЦІЇ MEDUSOMYCES GISEVII

О.П. Стрілець, Національний фармацевтичний університет

Резюме. Досліджені властивості природної асоціації «чайний гриб» *Medusomyces gisevii*, поживні середовища, параметри і умови культивування. Визначені оптимальна температура культивування, фізико-хімічні характеристики отриманого ферментованого напою. Вивчено антимікробну активність культуральної рідини. Встановлено широкий спектр протимікробної дії. Проведені дослідження є перспективними для створення біологічно активної добавки з використанням «чайного грибу» *Medusomyces gisevii* з антимікробною активністю.

Ключові слова: консорціум «чайний гриб» *Medusomyces gisevii*, властивості, культивування, антимікробна активність.

Вступ. Протягом останніх років в Україні і в світі активно проводиться розробка нових видів функціональних напоїв, які мали б позитивний, оздоровлюючий вплив на організм людини. На сьогодні йде активна розробка нових функціональних напоїв на різних основах, а саме: хімічно одержані напої, які містять синтетичні вітаміни; різноманітні кваси на основі натуральних компонентів; енергетичні напої; напої, які містять еубіотичні мікроорганізми [1, 3].

Перспективним напрямком є одержання функціональних напоїв на основі природних консорціумів мікроорганізмів, які мають багатокомпонентний склад та володіють заданими функціональними властивостями. Виробництво таких продуктів базується на вдосконаленні біотехнологічних процесів з використанням природних асоціацій мікроорганізмів, які призначені для нормалізації і підтримки біоценозу шлунково-кишкового тракту, утворення комплексу необхідних корисних біологічно активних речовин (БАР) [5].

Серед населення України є достатньо популярним вживання напоїв, отриманих у домашніх умовах в результаті процесу зброджування природними асоціаціями мікроорганізмів типу «рисовий гриб», «молочний гриб», «чайний гриб» та інш. [3, 7, 8].

«Чайний гриб» – медузоміцет (*Medusomyces gisevii*) один із найдрівніших організмів, що використовує людина. Його перше описування склав німецький міколог Ліндау в 1913 році.

Вивченням складу медузоміцета і цілющих властивостей його настою займаються з кінця XIX століття. У теперішній час «чайний гриб» *Medusomyces gisevii* і ферментований напій на його основі переживає черговий період пильної уваги дослідників в усьому світі. *Medusomyces gisevii* є зооглеєм, тобто живим організмом, утвореним симбіозом, – спільним існуванням організмів: дріжджового гриба й оцтової бактерії. В народній медицині цей симбіоз відомий вже давно під назвою «Чайний гриб». У процесі життєдіяльності консорціуму мікроорганізмів виділяється велика кількість метаболітів, – біологічно активних сполук, які можуть бути використані у промислових синтезах [4, 7, 8].

Культуральна рідина містить: органічні кислоти – оцтову, глюкуронову, яблучну, лимонну, піровиноградну та фосфорну; у великій кількості – цукри, у невеликих концентраціях: спирт, пігменти, ліпіди, вітаміни, а також ферменти: каталазу, протеазу, зимазу, амілазу, антибіотичні речовини.

Продукти метаболізму даного консорціуму є основою для розробки напою профілактично-лікувального характеру. Крім того, нативний розчин можна використовувати як джерело різних ферментів і органічних кислот. Завдяки своїм пробіотичним властивостям, напій може стати ефективним профілактично-лікувальним засобом проти багатьох захворювань [4].

Багаторічне вживання настою «чайного гриба» показало ефективність його використання для лікування та профілактики

багатьох видів захворювань. Гриб може лікувати шлунково-кишкові захворювання, має знеболюючі та протизапальні ефекти, знімає головний біль, запалення, ангіну тощо. Великий інтерес мають антимікробні властивості «чайного гриба» [7]. Тому на кафедрі біотехнології Національного фармацевтичного університету проводиться робота, яка присвячена вивченню властивостей, умов культивування та фармакологічної дії культуральної рідини «чайного грибу» *Medusomyces gisevii*.

Метою даної роботи є вивчення мікробіологічних властивостей природної асоціації «чайний гриб» *Medusomyces gisevii*, вибір оптимальних умов для одержання напою та дослідження антимікробної активності культуральної рідини.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом досліджень є природна асоціація «чайний гриб» *Medusomyces gisevii* та напій, одержаний в результаті культивування вищеназваної асоціації. Групуєчись, мікроорганізми консорціуму утворюють щільну, шарову структуру. Товщина залежить від кількості циклів ферментації, але вона має свій максимум, при досягненні якого культура починає розділятися. Нижня зростаюча поверхня шорська, має нитчасті відростки. Верхня частина гладка. Забарвлення медузоміцета може бути різних відтінків коричневого кольору, в залежності від чаю, який використовується в якості поживного середовища. Товщина тіла гриба залежить від його віку. При проведенні досліджень використовували загальноприйняті мікробіологічні, аналітичні, фізико-хімічні методи [6]. Антимікробну активність культуральної рідини гриба вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [2]. Цей метод ґрунтується на здатності активніючих речовин дифундувати в агарове середовище, яке попередньо засіяно культурами мікроорганізмів. Мікроскопування проводили за допомогою світлопольного мікроскопа Granum W 10.

Препарати для мікроскопування фарбували простими і диференційно-діагностичними методами. Кислотність досліджуваного напою

(°Т) визначали методом об'ємного титрування лугом в присутності індикатора (фенолфталеїна).

При вивченні мікробіологічних властивостей використовували наступні поживні середовища: м'ясо-пептонний агар (МПА), агар Сабуро, середовище для виділення оцтовокислих бактерій, середовище для ідентифікації молочнокислих бактерій, середовище Чапека [6]. В якості тест-культур для визначення антимікробної активності культуральної рідини були обрані чисті культури з Американської колекції культур (АТСС): грамозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* АТСС 25293, спорова культура *Bacillus subtilis* АТСС 6633, грамнегативна культура *Escherichia coli* АТСС 25922. Антифунгальну дію з'ясовували відносно дріжджоподібного грибу роду *Candida* - *Candida albicans* АТСС 885-653 [2].

Для культивування мікробної асоціації *Medusomyces gisevii* як живильне середовище використовували солодкий (10% цукру) розчин чаю (1%) чорного або зеленого. Слід зазначити, що необхідно використовувати воду кип'ячену, в сирій воді багато розчинних солей кальцію (солей жорсткості води), які утворюють з глюконоювою кислотою глюконат кальцію, що випадає в осад. Культивування проводили при різних температурах (від 17 до 25 °С), без доступу прямого сонячного світла і з доступом кисню. Грибне тіло після кожного циклу культивування промивали під проточною водою.

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з даними літератури природний консорціум *Medusomyces gisevii* складається з кількох видів мікроорганізмів, тому було проведено культивування суспензії тіла гриба на різних елективних поживних середовищах. Встановлено, що природна асоціація медузоміцет складається з мікроорганізмів, які належать до дріжджів, оцтовокислих і молочнокислих бактерій. На поживному середовищі Чапека спостерігали наявність білих, глянцеви, непрозорих, круглих колоній з рівним краєм. Мікроскопування фарбованих препаратів

показало овальні клітини здатні до брунькування. За попередньою ідентифікацією ця культура була віднесена до роду *Saccharomyces*. Морфологічна ідентифікація бактеріальних культур виявила присутність молочнокислих (*Lactobacillus*) і оцтовокислих (*Acetobacter*) мікроорганізмів. Бактерії віднесені до роду *Lactobacillus*, які на елективному середовищі формували прозорі точкові колонії, що склалися з паличок, розташованих попарно. Другий від бактерій, віднесений до роду *Acetobacter* формував білі, непрозорі, матові круглі колонії з клітинами, які мають форму довгих паличок.

Для отримання ферментованого напою проводили культивування «чайного грибу» на середовищах чорного і зеленого чаїв. У свіжому напої процес переробки цукру починають дріжджі, зброджуючи його до етилового спирту і вуглекислоти. Далі бактеріальні культури окислюють спирт, що утворився, до оцтової кислоти. Накопичуючись, вона зупиняє роботу дріжджів. В результаті з солодкого чаю утворюється специфічний напій, що містить крім основних компонентів (спирту, оцтової кислоти) комплекс біологічно активних речовин. Результати досліджень наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Культивування чайного грибу *Medusomyces gisevii* і його властивості

Середовище	Характеристика ферментованого напою	Органолептичні властивості ферментованого напою	Термін збродження, доба	pH розчину	Кислотність, єГ
На основі чорного чаю	Темно-коричневий колір, помірна прозорість	Відчувається характерний запах бродіння, смак приємний	5-6	3,7±0,1	65,0±0,6
На основі зеленого чаю	Світло-коричневий колір, прозорий	Запах бродіння менш виразний, смак приємний, освіжаючий	6-7	4,1±0,1	68,8±0,7

Примітка: n=5, P≤0,05

Отримані результати, наведені у табл. 1, свідчать, що в результаті культивування *Medusomyces gisevii* на середовищі, яке містить чай (чорний або зелений) та цукор, утворюється напій з приємним кислуватим смаком. Отриманий за допомогою чорного чаю напій зброджується швидше (5-6 діб), напій отриманий на зеленому чаї (6-7 діб) має більш освіжаючий присмак.

Проведені дослідження показали, що оптимальним температурним режимом культивування грибу *Medusomyces gisevii* є 22-25 °C. При температурі нижче 20 °C активність грибу знижувалася, приріст біомаси «чайного грибу» відбувався повільніше і якість отриманого напою погіршувалась.

Для вивчення антимікробних властивостей настою «чайного грибу»

проводили культивування протягом 10 – 12 діб для більшого накопичення антибіотичних речовин, а саме медузину, а також інших біологічно активних компонентів: кислот, вітамінів, ферментів. Результати досліджень антимікробної активності культуральної рідини наведені у таблиці 2.

Дані, які отримані експериментально та представлені в таблиці 2, свідчать про те, що культуральна рідина «чайного грибу» настояна як на чорному так і на зеленому чаї володіє протимікробною дією різного ступеню по відношенню до бактеріальних культур і дріжджеподібного гриба роду *Candida*, що вказує на широкий спектр антимікробної активності. Слід зазначити, що найбільшу активність *Medusomyces gisevii* проявляє по відношенню до грампозитивної культури *Staphylococcus aureus* і

грамнегативної – *Escherichia coli*, однак настій на зеленому чаї проявив більшу протимікробну активність. Даний факт може бути пов'язаний з більшим накопиченням у настої зеленого чаю

антибіотичних речовин, кислот, вітамінів і інших БАР, що додає йому додаткові антибактеріальні та тонізуючі властивості, ніж у настої з чорним чаєм.

Таблиця 2

Антимікробні властивості культуральної рідини мікробної асоціації *Medusomyces gisevii*

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
На основі чорного чаю	16,6±0,5	13,4±0,5	15,6±0,5	12,4±0,5
На основі зеленого чаю	19,4±0,5	14,6±0,5	16,8±0,7	12,8±0,4

Примітка: n=5, P<0,05

Висновки

Проведений комплекс досліджень з вивчення властивостей природної асоціації *Medusomyces gisevii* показав наявність у складі грибу дріжджів, оцтовокислих і молочнокислих бактерій з певними морфологічними особливостями. Визначено оптимальні умови культивування «чайного грибу» на середовищі з додаванням чорного і зеленого чаїв, встановлено фізико-хімічні показники отриманих напоїв: титрована

кислотність – 65-70 °Т, рН в межах 3,5-4,5. Показана антимікробна активність культуральної рідини «чайного грибу» по відношенню до бактерійних і грибкових культур. Отримані результати є перспективними для подальшого вивчення притимікробних властивостей продуктів культивування «чайного гриба» *Medusomyces gisevii* з метою створення біологічно активних добавок з антимікробними властивостями.

Література

1. Вітряк О.П. Удосконалення технології безалкогольних напоїв бродіння з використанням нетрадиційних культур мікроорганізмів. - К., 2002. – 19 с.
2. Волянський Ю.Л. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Широбоков і інш. – Київ, 2004.- 38 с.
3. Домарецький В.А. Технологія екстрактів, концентратів і напоїв із рослинної сировини / В.А. Домарецький, В.Л. Прибильський, М.Г. Михайлов – Вінниця: Нова Книга, 2005. – 408 с.
4. Лунева Н.М. *Medusomyces gisevii* на страже здоров'я / Н.М. Лунева, Н.В. Глазова, А.Н. // Серкова Молодежний научний форум: Естественные и медицинские науки. Электронный

сборник статей. – М.: Изд. «МЦНО». – 2015. – №3(21). – С. 6-13.

5. Новіков В.П. Тенденції розвитку комерційної біотехнології / В.П. Новіков, Ю.І. Сидоров, О.В. Швед // Вісник НАН України. – 2008. – №2. – С. 25-39.

6. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-ге вид., доп. І перероб. – К.: НУХТ, 2010. – 632 с.

7. Щеглова А.В. Чайный гриб. Чудо-целитель в трехлитровой банке. – М.: РИПОЛ классик, 2007. – 64 с.

8. Dufresne C. Tea, Kombucha, and health: a review / C. Dufresne, E. Farnworth // Food Research International. – 2000. – № 33. – P. 409-421.

Науковий рецензент доктор фармацевтичних наук, професор Шматенко О.П.