

УДК 613.2 + 615.874.2

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОЙ АССОЦИАЦИИ «ЧАЙНОГО ГРИБА» ИЗ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ**Жумабекова К.А., Жумабекова Б.К.***Павлодарский государственный педагогический институт, Павлодар, e-mail: bibigul_kz@bk.ru*

Предлагается технология получения высокоактивной ассоциации «чайного гриба» из природных штаммов микроорганизмов. Для изучения видового состава популяции «чайного гриба» были взяты пробы напитка у местного населения. В полученной культуре микроорганизмов были обнаружены следующие виды: *Acetobacterium xylinum*, *Acetobacterium aceti*, *Torulopsis dattilf*, *Saccharomyces sp.*, *Hanseniaspora apiculata*. Выяснено, что устойчивое равновесие в соотношении количества клеток дрожжей (*Saccharomyces sp.*, *Torulopsis dattilf*) и двух видов уксуснокислых бактерий (*Acetobacterium xylinum* и *Acetobacterium aceti*) в ассоциации составляет 3:1:6. Оптимальные параметры культивирования, установленные опытным путем, позволяют достигнуть стабилизации новой ассоциации микроорганизмов и получить напиток стабильного качества, обеспечивающий соответствующий лечебный эффект. Работа выполнена в рамках реализации внутривузовского проекта «Разработка технологии получения биологически активной ассоциации микроорганизмов на основе природных штаммов» (2014–2015 гг.) Павлодарского государственного педагогического института.

Ключевые слова: чайный гриб, дрожжи, бактерии, микробиология, биотехнология, безалкогольные напитки**PRODUCING OF THE HIGHLY ACTIVE «KOMBUCHA» ASSOCIATION FROM NATURAL STRAINS OF MICROORGANISMS****Zhumabekova K.A., Zhumabekova B.K.***Pavlodar State Pedagogical Institute, Pavlodar, e-mail: bibigul_kz@bk.ru*

The technology for producing highly active association «Kombucha» from natural strains of microorganisms is proposed. To study the species composition of the «Kombucha» association beverage samples were taken from the local population. The resulting culture of microorganisms were detected as following: *Acetobacterium xylinum*, *Acetobacterium aceti*, *Torulopsis dattilf*, *Saccharomyces sp.*, *Hanseniaspora apiculata*. It is found that a stable equilibrium in the ratio of number of yeast cells (*Saccharomyces sp.*, *Torulopsis dattilf*) and two kinds of acetic acid bacteria (*Acetobacterium xylinum* and *Acetobacterium aceti*) in the association is 3:1:6. Optimal cultivation parameters established empirically allows to achieve stabilization of new association of microorganisms and to get a drink of stable quality, providing the appropriate therapeutic effect. This work was supported by a Pavlodar State Pedagogical Institute, Kazakhstan, grant for the project «Development of technology for production of biologically active association of microorganisms on the basis of natural strains», 2014–2015.

Keywords: Kombucha, yeast, bacteria, microbiology, biotechnology, non-alcoholic beverages

Интерес к культуре так называемого «чайного гриба» возник в связи с тем, что в литературе уже давно встречаются данные о лечебных свойствах как культуральной жидкости (настоя), так и самой его биомассы [1]. Само тело «гриба» представляет собой толстую плавающую пленку, хрящевато-слизистую и расслаивающуюся, гладкую сверху и волокнисто-лохматую снизу, непривлекательного грязновато-белого цвета, которая по общему виду несколько напоминает плавающую медузу [5]. Пленка размножается очень легко, простым отделением кусочков, помещаемых в такую же среду, где она довольно быстро разрастается. Она состоит из целлюлозы, полисахаридов, жироподобные вещества (липидную фракцию), при омылении которых обнаружен холин, и других биологически активных веществ [6, 7]. Все они являются метаболитами дрожжей и уксуснокислых бактерий и обеспечивают предположительно его лечебные свойства.

Известно, что «чайный гриб» представляет собой не отдельный самостоятельный вид гриба, а природную ассоциацию – сожительство нескольких микроорганизмов: дрожжевых грибков, сбраживающих сахара с образованием спирта и углекислого газа, и уксуснокислых бактерий, сбраживающих спирт до органических кислот, в основном уксусной. Согласно литературным данным дрожжи относятся к роду *Torula*, а уксуснокислые бактерии – *Bacterium xylinum* (по новой классификации – *Acetobacterium*). Причем основная масса своеобразного тела гриба – зооглея – является громадной колонией уксуснокислой бактерии *Acetobacterium xylinum*. Именно этой бактерии зооглея обязана своей характерной плотностью, в значительной степени обусловленной содержанием особого клетчаткоподобного вещества. По данным А.А. Бачинской [2, 3, 4, 12], эта бактерия, описанная еще в 1896 году, широко распространена в природе, встречается неред-

ко в истечениях сока у деревьев, в культуре же давно используется с целью получения уксуса домашним способом. Б.П. Василькова отмечает наличие в этом сообществе еще других дрожжеподобных грибов, относящихся к роду *Mycoderma*, а также настоящих дрожжей – *Saccharomyces* [5]. В указанном сочетании принимает участие еще другая бактерия уксуснокислого брожения *Bacterium gluconicum* [11]. Линдау Г. назвал этот «гриб» – *Medusomyces gisevii* [13].

Таким образом, в состав ассоциации «чайного гриба» может входить разное сочетание микроорганизмов в зависимости от географических зон его происхождения. Но не вызывает сомнений тот факт, что качество конечного продукта (напитка) напрямую зависит от набора входящих в состав ассоциации культур микроорганизмов.

Целью наших исследований было проведение автоселекции природных штаммов микроорганизмов для получения ассоциации «чайного гриба», обладающей высокой биологической активностью.

Материалы и методы исследования

Для изучения видового состава популяции «чайного гриба» были взяты пробы напитка у населения г. Павлодар.

Для выделения чистых культур из найденных популяций их выращивание проводили в стационарных условиях. После 3-х суток культивирования при достижении рН культуральной жидкости значения 3,5, отобранные из ферментера пробы высевали на селективные среды: сусло-агар, мясопептонный агар, агаризованный гидролизат молока. Из выросших колоний изолировали чистые культуры. По комплексу культуральных признаков и сбраживанию углеводов культуры отнесены по определителю В.И. Кудрявцева [9] и Д. Бердже [10] к следующим видам: *Acetobacterium xylinum* КМП-Б1, *Acetobacterium aceti* КМП-Б2, *Torulopsis dattilf* КМП-Д1, *Saccharomyces sp* КМП-Д3, *Hanseniaspora apiculata* КМП-Д2.

Выделенные микроорганизмы присутствовали в разных образцах «чайного гриба» как в разных сочетаниях, так и в различных количествах. Это можно объяснить разными условиями выращивания его на бытовом уровне (в домашних условиях). При подборе культур для ассоциации необходимо учитывать их взаимоотношения, которые могут быть как симбиотические, так и антагонистические.

Из выделенных чистых культур микроорганизмов была составлена смешанная культура, которую в дальнейшем выращивали в полунепрерывных условиях при 28 °С, прослеживая динамику численности микроорганизмов при длительном культивировании.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные результаты (рисунок) наглядно демонстрируют, что при ежедневной подпитке ассоциации свежей порцией среды происходит постепенное уменьшение количества клеток *Hanseniaspora apiculata*.

К восьмым суткам культивирования эти дрожжи полностью вымываются из ассоциации, что объясняется более низкой скоростью роста этой культуры по сравнению с таковой у других видов. Так как дрожжи *Hanseniaspora apiculata* характеризуются в литературе как «засорители производства», можно предположить, что отсутствие этих дрожжей в составе ассоциации не повлияет отрицательно на качественные показатели напитка.

Количество дрожжевых клеток *Torulopsis dattilf* и *Saccharomyces sp.* незначительно увеличивалось в процессе культивирования, и к моменту стационарного равновесия их соотношение равнялось 3:1.

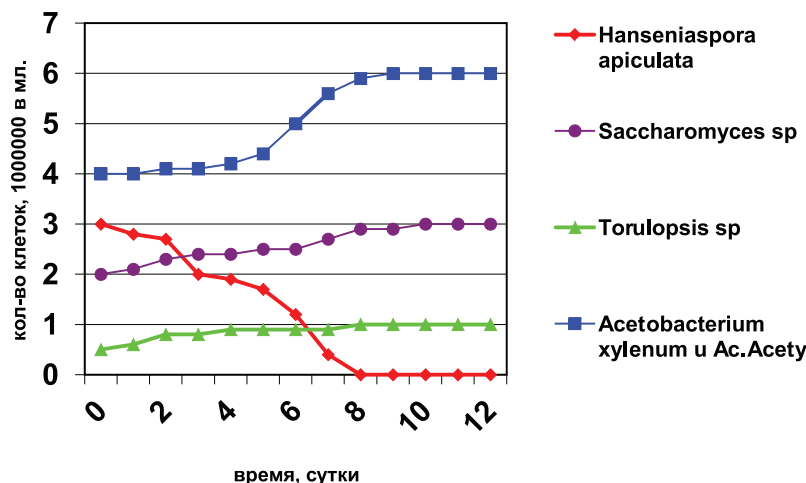
При подсчете уксуснокислых бактерий учитывали общее количество клеток двух видов, так как по морфологическим признакам они трудноразличимы. Количество этих бактерий в популяции увеличивалось и достигало максимального количества к 6-ти суткам культивирования.

После восьми суток выращивания ассоциации «чайного гриба» наступает устойчивое равновесие в соотношении количества клеток микроорганизмов *Saccharomyces sp.*, *Torulopsis dattilf*, *Hanseniaspora apiculata* и двух видов уксуснокислых бактерий *Acetobacterium xylinum* и *Acetobacterium aceti* и составляет 3:1:0:6 соответственно.

Известно, что смешанные популяции существуют в равновесном состоянии благодаря положительному межвидовому взаимодействию. Чтобы определить тип взаимодействия между популяцией уксуснокислых бактерий и дрожжей, было проверено влияние одних микроорганизмов на другие через их метаболиты.

Для этого исследовалось взаимовлияние супернатантов исследуемых культур друг на друга по методу, предложенному В.П. Коровиной с соавторами [11]. В обоих случаях выявлено влияние метаболитов, которое выразилось у дрожжей в опытным варианте в более активном выделении углекислого газа при брожении, большем накоплении биомассы по сравнению с контролем. Уксуснокислые бактерии в опытном варианте накапливали большее количество органических кислот.

Первый вид – дрожжевые культуры, потребляя сахар, образуют спирт и витамины, которые стимулируют развитие уксуснокислых бактерий. Последние, в свою очередь, путем неполного окисления сахаров и спирта образуют уксусную, глюконовую, лимонную и другие органические кислоты, которые являются дополнительным источником углерода для дрожжевых клеток. Таким образом, между популяциями устанавливается равновесие через симбиотическое взаимодействие.



Динамика видового состава дрожжевых и бактериальных клеток в условиях непрерывного культивирования

Заключение

Устойчивое равновесие в соотношении количества клеток дрожжей (*Saccharomyces sp.*, *Torulopsis dattilif*) и двух видов уксуснокислых бактерий (*Acetobacterium xylinum* и *Acetobacterium aceti*) в ассоциации составляет 3:1:6, что обеспечивает ее стабильную работу за счет симбиотических взаимоотношений микроорганизмов. Оптимальные параметры культивирования, установленные опытным путем, позволяют достигнуть стабилизации новой ассоциации микроорганизмов и получить напиток стабильного качества, обеспечивающий соответствующий лечебный эффект.

Список литературы

1. Алиев Р.К., Аллавердибеков Г.Б., Тагдиев Д.Г. К характеристике химического состава и некоторые фармакологические свойства настоя чайного гриба // Известия АН Азербайджанской ССР, Баку. – 1955. – № 7. – С. 285–287.
2. Бачинская А.А. К морфологии и биологии *Bacterium xylinum* Br. // Журнал Русский врач. – М., 1911. – № 51. – С. 2104–2108.
3. Бачинская А.А. О распространенности «чайного кваса» и *Bacterium xylinum* Br. // Журнал микробиология. – М., 1914. – № 1–2. – С. 73–85.
4. Бачинская А.А. О так называемом манчжурско-японском грибе и чайном квасе. Врачебная газета. – 1912. – № 30. – С. 1063–1911.
5. Василькова Б.П. О чайном грибе // Природа. – М., 1959. – № 7. – С. 59–60.
6. Казаринова А. Чайный гриб – ваш семейный доктор. – СПб.: ИГ «Весь», 2005. – 128 с.
7. Корзунова А.Н. Народная энциклопедия здоровья: водоросли, грибы, чайный гриб. – М.: Эксмо, 2005. – 288 с. – (Я привлекаю здоровье. Народная энциклопедия здоровья).
8. Коровина В.П., Сазонова Е.А., Вайсман И.Ш. Изучение механизма регуляции численности популяции в эксперименте на культурах бактерий // Экология. – М., 1974. – № 6. – С. 5–9.
9. Кудрявцев В.И. Систематика дрожжей // Известия АН СССР. – М., 1954. – 426 с.
10. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Холта, Н. Крига и др. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – 429 с.
11. Шасс Е.Ю. Еще о чайном грибе // Акушерство и гинекология. – 1952. – № 3. – С. 53–54.
12. Шлегель Г. Микробиология. – М.: Из-во: Наука, 1987. – С. 324–327.

13. Lindau G. Uber *Medusomycesw Gisevii*, elne neue Gattung und Art der Hefe-Pilze. Ber. der. deutsch. bot. ges. – 1913. – № 31. – С. 243.

References

1. Aliiev R.K., Allahverdibekov G.B., Tagdiev D.G. K karakteristike himicheskogo sostava i nekotorye farmakologicheskikh svojstvah nastoja chajnogo griba // Izvestija AN Azerbajdzhanskoj SSR, Baku. 1955. no. 7. pp. 285–287.
2. Bachinskaja A.A. K morfologii i biologii *Bacterium xylinum* Br. // Zhurnal Pusskij vrach. M., 1911. no. 51. pp. 2104–2108.
3. Bachinskaja A.A. O rasprostranennosti «chajnogo kvasa» i *Bacterium xylinum* Br. // Zhurnal mikrobiologija. M., 1914. no. 1–2. pp. 73–85.
4. Bachinskaja A.A. O tak nazyvaemom manchzhursko-japonskom gribe i chajnom kvase. Vrachebnaja gazeta. 1912. no. 30. pp. 1063–1911.
5. Vasilkova B.P. O chajnom gribe // Priroda. M., 1959. no. 7. pp. 59–60.
6. Kazarinova A. Chajnyj grib vash semejnyj doktor. SPb.: IG «Ves», 2005. 128 p.
7. Korzunova A.N. Narodnaja jenciklopedija zdorovja: vodorosli, griby, chajnyj grib. M.: Jeksmo, 2005. 288 p. (Ja privilekaju zdorove. Narodnaja jenciklopedija zdorovja).
8. Korovina V.P., Sazonova E.A., Vajsman I.Sh. Izuchenie mehanizma reguljacii chislennosti populjacii v jeksperimente na kulturah bakterij // Jekologija. M., 1974. no. 6. pp. 5–9.
9. Kudrjavcev V.I. Sistematika drozhzhej // Izvestija AN SSSR. M., 1954. 426 p.
10. Opredelitel bakterij Berdzh / pod red. Dzh. Houlta, N. Kriga i dr. M.: Mir, 1997. T. 1. 429 p.
11. Shass E.Ju. Eshhe o chajnom gribe // Akusherstvo i ginekologija. 1952. no. 3. pp. 53–54.
12. Shlegel G. Mikrobiologija. M.: Iz-vo: Nauka, 1987. pp. 324–327.
13. Lindau G. Uber *Medusomycesw Gisevii*, elne neue Gattung und Art der Hefe-Pilze. Ber. der. deutsch. bot. ges. 1913. no. 31. pp. 243.

Рецензенты:

Мукатаева Ж.М., д.б.н., профессор, проректор по учебной работе и новым технологиям, Павлодарский государственный педагогический институт, г. Павлодар;
Жумадилов Б.З., д.б.н., заведующий кафедрой общей биологии, Павлодарский государственный педагогический институт, г. Павлодар.

Работа поступила в редакцию 01.04.2015.