

УДК 663.12/14

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОТИ «ТІБЕТСЬКИЙ ГРИБОК» ДЛЯ РОЗРОБКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО КОМПОЗИЦІЙНОГО МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ

О.І. Вічко, Н.С. Щеглова, В.Г. Червецова, З.В. Губрій, О.В. Швед, В.П. Новіков

*Дослідження мікробіоти «тібетський грибок» для розробки функціонального композиційного мікробного препарату. - О.І. Вічко, Н.С. Щеглова, В.Г. Червецова, З.В. Губрій, О.В. Швед, В.П. Новіков. - Визначено склад мікроорганізмів з природної асоціації «тібетський грибок», що включає дріжджі та молочно-кислі бактерії, які належать до роду *Lactobacillus*.*

Ключові слова: Тібетський гриб, функціональний напій, мікробна асоціація, динаміка кислотності.

Адреса: Національний університет „Львівська політехніка”, вул. С. Бандери, 12, м. Львів, Україна, 79013, e-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua

*Research of microbiota the «Tibet fungus» for development of functional compositional microbial preparation. – O.I. Vichko, N.S. Scheglova, Z.V. Gubrij, O.V. Shved, V.P. Novikov. - The combination of microorganisms form natural association “Tibetius fungus: was indicated to include yeasts and milk-acid bacteria’s, which belong to *Lactobacillus* origin.*

Keywords: Tibet fungus, functional drink, microbial association, dynamics of acid formation.

Address: National University “Lvivska Polytehnika”, 12, S. Bandery str., Lviv, Ukraine, 79013, e-mail: vnovikov@polynet.lviv.ua

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями

В науковій і народній медицині молочнокислі продукти застосовують не лише як харчові продукти, але і як лікувально-профілактичні засоби, які вживають за відповідними показами. Деякі з них, наприклад кефір, йогурт, готують і в домашніх умовах, отримуючи щоденно свіжий продукт. До числа таких домашніх продуктів слід віднести також і напої, одержані з «індійського грибка», «тібетського грибка», «чайного грибка» [1].

Використання бактеріальних препаратів з пробіотичних культур як коректорів нормальної мікрофлори та медіаторів біохімічних реакцій і фізіологічних функцій організму людини має перспективу застосування в харчовій промисловості та медицині, передбачає створення нових ферментованих напоїв та харчових продуктів, пробіотиків, імунокоректорів та ад'ювантів.

Результати попередніх випробувань добровольцями продуктів ферментації нетрадиційних мікробних асоціацій, що вживали їх з метою профілактики, а також для лікування, спонукали нас до пошуку шляхів отримання молочнокислих функціональних продуктів, спрямованих на покращення загального стану здоров'я людей, лікування і профілактики дисбактеріозів.

Робота продовжує цикл досліджень кафедри технології біологічно активних сполук, фармацевції

та біотехнології з розробки технології одержання функціональних напоїв з природних мікробних асоціацій.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Про дослідження та розробку технології отримання функціональних молочних напоїв, що містять живі мікроорганізми, які виконують функції пробіотиків та нормалізують склад і біологічну активність мікрофлори травного каналу людини, подано ряд статей та патентів. В основному, ці роботи пов'язані з дослідженням напоїв з чайного гриба, квасу, йогуртів та кефірів. Відомі такі пробіотичні напої та нутріцевтики як «Віталін», «Лактік», «Лактовіт», «Лактобактерин», «Біфідобактерин».

Аналіз літературних джерел свідчить, що основними компонентами для нутріцевтиків є селекційні бактерії *Lactobacillus delbrückii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, а для парафармацевтиків – бактерії роду *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*) [2,4]. Досліджені штами пробіотичних культур молочнокислих бактерій (*Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus* 51, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus rhamnosus* та інші) можуть використовуватись для

створення препаратів супроводу при проведенні хіміотерапії [3,5].

Серед дріжджових культур, що можуть входити до складу асоціацій, відносять дріжджі роду *Torula*, а також *Zygosaccharomyces fermentati*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces kefir*, *Candida tibeticus*, тощо [1,6].

Мета роботи. Визначити склад мікроорганізмів природної асоціації «тібетського грибка», виділити чисті культури для розробки комбінованої закваски та технології функціонального молочнокислого напою.

Об'єкт дослідження. Природна мікробна асоціація «тібетський грибок», що використовується в нетрадиційній медицині і дає результати покращення загального стану здоров'я при споживанні волонтерами.

Експериментальна частина. Природну мікробіоту «молочний грибок» культивували в колбах Ерленмеєра, об'ємом 250 мл, з робочим об'ємом 100 мл в стаціонарних умовах при кімнатній температурі. Поживне середовище, яке використовували для вирощування даної мікробіологічної асоціації – стерилізоване молоко ($p=0,5$ атм,

$t=20$ хв). Пересів культури проводили кожні 2-3 доби шляхом промивання посівного матеріалу у стерильній водопровідній воді та його наступного переносу в колбу із стерильним молоком. Посівного матеріалу давали у кількості 5% від маси поживного середовища.

Виділення чистих культур проводили на середовищі сусло-агар та агаризованому середовищі МРС [1,8]. Первинну ідентифікацію виділених культур здійснювали із застосуванням світлового мікроскопу MBL-2100 (фірма «Krüss», ФРН). Мікрофотографії препаратів отримані з використанням цифрового фотоапарату «Canon». Активну кислотність визначено методом рН-метрії, а загальну – стандартними методами потенціометричного титрування [7,8].

Результати досліджень

Встановлено, що жива мікробіота (грибок) на середовищі з молоком представляє собою гроноподібну щільну асоціацію, що під мікроскопом складається із бактерій з дріжджовими клітинами (фото 1).

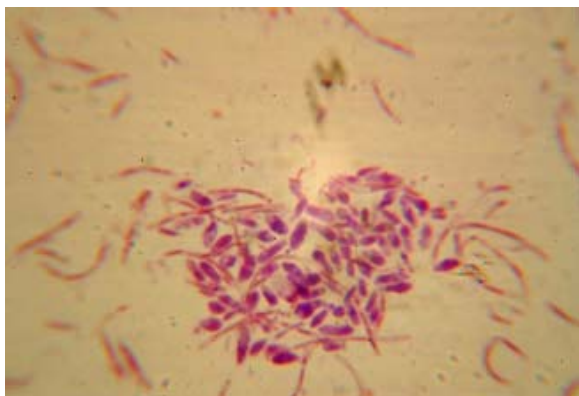


Фото 1. Мікробіота «Тібетського гриба»
Photo 1. *Microorganisms association of «Tibeticus fungi»*

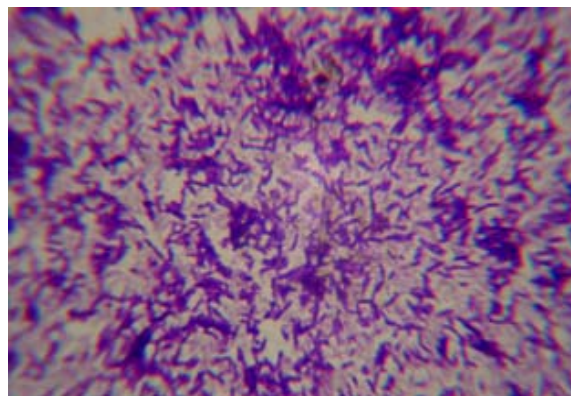


Фото 2. Лактобацили в чистій культурі, виділені з гроноподібної асоціації
Photo 2. *Lactobacillus in pure culture separated fungi association.*

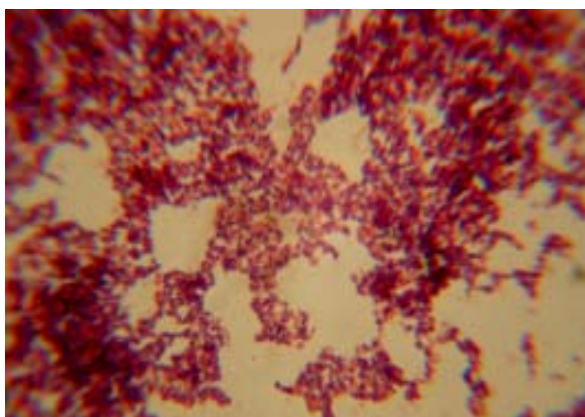


Фото 3. Вільні лактобацили 2 в чистій культурі, виділені з культуральної рідини
Photo 3. *Free Lactobacillus in pure culture from separated*

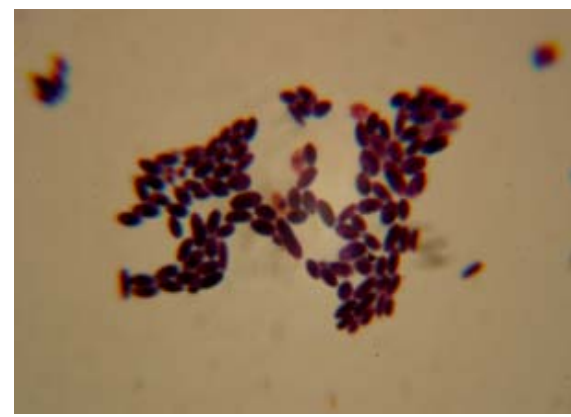


Фото 4. Дріжджові клітини в чистій культурі, виділені з твердої гроноподібної маси
Photo 4. *Yeast cells in pure culture separated from solid*

from liquid phase

В культуральній рідині спостерігається другий тип лактобацил - короткі палички.

На вище вказаних агаризованих середовищах розділяються три типи колоній. За комплексом морфологічних та фізіологічних ознак виділені чисті культури первинно ідентифіковані як *Lactobacillus* (дві грампозитивні культури (фото 2 і 3)) та дріжджі (фото 4).

Для встановлення закономірностей росту та метаболізму досліджуваної та подальшого проце-

phase

су розробки технологічних параметрів вивчено динаміку кислотоутворення.

Композиційні культури мікроорганізмів характеризуються достатньо високою здатністю до кислотоутворення, що створює перспективу для розробки технології нового кисломолочного продукту.

Таблиця 1. Динаміка кислотоутворення (°Т).

Table 1. Dynamics of acid formation. (°T).

Час t , год	Значення загальної кислотності при температурах				
	15°C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
0 ($pH_{\text{вих}}=6,7$)	17°Т	17°Т	17°Т	17°Т	17°Т
1	23	23	15	28	35
2	25	31	34	36	39
3	32	35	38	40	43
4	36	41	44	48	52
5	38	46	52	59	66
6	46	51	56	64	73

Висновок

Кисломолочний продукт отриманий при дії мікробіологічної асоціації «тібетський грибок» має високу харчову цінність, лікувальні властивості, а також унікальний смак та аромат. Такі властивості роблять цей продукт багатобіаційними ринковим товаром, тому важливо стандартизувати цей продукт, визначити складові мікробіологічної асоціації та їх співвідношення.

При дослідженні мікробної асоціації «тібетський грибок» виділено три види чистих культур. За морфологічними та фізіологічними ознаками проведена їх первинна ідентифікація. Встановлено, що асоціація складається з культури дріжджів та двох видів лактобацил. Отримані результати є основою розробки мікробного комплексного препарату для створення напою з регульованим складом і властивостями.

1. Елинов Н.П., Ларина О.Г. Микробиота природной ассоциации «Тибетский рис». Проблемы медицинской микологии. – 1999.– Том 1, №1. – С. 51-56.
2. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. – М.: Товариш-во научн. изд. КМК, 2004. - 221 с.
3. Дехтяренко Н.В., Позднякова К.С., Советова О.В., Типлинська К.В., Шинкаренко Л.М. Відбір штамів пробіотичних культур молочнокислих бактерій для створення препаратів супроводу при проведенні хіміотерапії. II Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Збірник тез. Львів, 2006. – С. 286-287.
4. Коваленко Н.К., Касумова С.А., Мучник Ф.В. Скрининг штаммов молочнокислих бактерий, обладающих гипохолестеринемической активностью, и их практическое использование. Микробиол. журн. – Т. 66. – 2004. – С. 38-41
5. Kerry Powell Tibetan Fungus Enlisted in Cancer Fight - Researchers pin hopes on pigment in Chinese remedy. Edmonton Journal April 6, 1995. – P. 59-64.
6. Квасников Е.И., Щепанова И.Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. – К.: Наукова думка, 1991. - 328с.
7. Ловачева Г.Н. і ін. Стандартизація и контроль качества продукции. – М.: Экономика, 1990. – С. 114-119.
8. Макаревич М.А., Шейман В.И. Практические занятия по товароведению продовольственных товаров. – М.: Гостиздат, 1954. – 367 с.
9. Практикум по микробиологии. // Под ред. И.С. Егорова. – М.: Изд. МГУ, 1986. – 278 с.

Отримано: 10 травня 2008 р.

Прийнято до друку: 12 травня 2008 р.