

Гришин А.Г.,

Студент магистратуры

2 курс, кафедра «Технологии бродильных производств и виноделие»

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых

Производств»

Россия, г. Москва

Комонов Р.А.,

Студент магистратуры

2 курс, кафедра «Технологии бродильных производств и виноделие»

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых

Производств»

Россия, г. Москва

Уоли Ш.Д.,

Студент магистратуры

2 курс, кафедра «Технологии бродильных производств и виноделие»

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых

Производств»

Россия, г. Москва

Мехедова Е.А.,

Студентка бакалавриата

4 курс, кафедра «Технологии бродильных производств и виноделие»

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых

Производств»

Россия, г. Москва

Научный руководители: Шаненко Е.Ф.,

кандидат биологических наук, доцент,

Доцент кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие»

ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых

Производств»

Россия, г. Москва
Мухамеджанова Т.Г.
кандидат технических наук, доцент,
Доцент кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие»
ФГБОУ ВО «Московский Государственный Университет Пищевых
Производств»
Россия, г. Москва

ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ EUROTIIUM CRISTATUM НА ЛИСТЬЯХ ИВАН-ЧАЯ

Аннотация: В статье приведен подбор параметров культивирования гриба *Eurotium cristatum* на нетипичном для него сырье – Иван-чае (*Chamaenérion angostifolium*). Произведена оценка интенсивности роста гриба при различных параметрах культивирования и выбраны наиболее оптимальные параметры.

Ключевые слова – ферментация, чай, чанные напитки, Хей Ча, Фуджуаньский кирпичный чай, *Chamaenérion angostifolium*.

Annotation: The article presents the selection of cultivation parameters for the fungus *Eurotium cristatum*, a non-typical raw material for it - Ivan tea (*Chamaenérion angostifolium*). The fungal growth rate was estimated at various cultivation parameters and the most optimal parameters were selected.

Key words - fermentation, tea, tea drinks, Hei Cha, Fujuan brick tea, *Chamaenérion angostifolium*.

Чай – один из самых популярных напитков в мире. Чай получают из листьев *Caméllia sinénsis* путем ферментации чайного листа. Эти листья содержат много фенольных соединений, в том числе богаты катехинами (галат эпигаллокатехина, эпикатехин, галлокатехин, эпигаллокатехин и другие). Фенольные соединения обуславливают биологическое действие чая на организм,

такие как защита от окислительного стресса, ускорение общего метаболизма и пребиотическая активность. [1,2]

В Европе широко распространены зеленый и черный чай. Стоит отметить, что термин «черный чай» используется только в Европейских странах, на родине чая – Китае – его классифицируют как красный чай. [3]

В последнее время идет широкое распространения других видов чая таких как , Оолонг, Пуэр, Хей Ча и фиточаев – чайных напитков приготовленных не из листьев *Caméllia sinénsis* например Мате, Ройбуш, Иван-чай и другие. [1]

Особое место занимают постферментированные чаи (Пуэр, Хей Ча) технология которых сильно отличается от других видов чая. Ключевую роль в их технологии занимает процесс постферментации (вторичной ферментации), который происходит под действием микроорганизмов. Накопление микробных метаболитов сильно отличает эти виды чая как по вкусовым особенностям, так и по воздействию на организм человека. Также и отличаются доминирующее в технологическом процессе микроорганизмы для Пуэра это – *Aspergillus spp.*, для Хей Ча – *Eurotium spp.* [4]

Чай Хей Ча помимо всего прочего обладает антидизентерийным действием, а также подавляет рост гнилостных бактерий за что его используют в традиционной китайской медицине. Среди выделенных микроорганизмов, участвующих в цветении чая – особом технологическом процессе развития грибов на поверхности чая, выделены несколько видов гриба *Eurotium* такие как *E. cristatum*, *E. repens* и *E. rubrum* и другие. Доминирующим мицелилярным грибом оказался *Eurotium cristatum*, с его жизнедеятельностью и связывают особые свойства чая Хей Ча. [5]

Eurotium cristatum является теломорфой, то есть половой стадией *Aspergillus cristatus*. Это один и тот же микроорганизм, но размножающийся половым и бесполом способом соответственно. При развитии теломорфы *E. cristatum* образуются специализированные половые органы – клестотеции – представляющие собой сумку (аск) в которой развиваются споры гриба. Развитие гриба на чае Хей Ча можно видеть невооруженным взглядом в виде золотистых

колоний, которые являются показателем качества чая. Колонии на агаре Чапека растут медленно при температуре 25°C и имеют диаметр 5,0-6,0 см через три недели культивирования. В молодом возрасте гриб имеет ярко желтый цвет за что и получил название «золотые цветы». По мере старения культуры цвет меняется на бледно желтый, почти оливковый. В обычных условиях конидий не образует. Рост гриба считается ключевой стадией в технологии Хей Ча, так как происходящие при его воздействии биохимические процессы ответственны за биологический эффект чая и его вкус. [6,7]

Во время производства зеленого и черного чая происходит процесс окисления фенольных соединений под действием ферментов чайного листа и кислорода воздуха (автоокисление). От степени окисления зависит вкус и цвет чая. Постферментации же подвергается сильно окисленный (черный по Европейской классификации) чай, при его производстве происходят сложные процессы разложения и трансформации окисленных фенольных соединений чайного листа под действием микроорганизмов. Эти процессы во много противоположны процессу автоокисления обычного чая: идет расщепление галата эпигаллокатехина до галловой кислоты и других метаболитов. Активное протекание этих реакции позволяет предположить необходимость богатого фенольного комплекса для успешного развития *E. cristatum*. [5]

Целью нашей работы было подобрать параметры культивирования гриба *E. cristatum* на Российском сырье – Иван-чае для дальнейшей работы по созданию постферментированного Иван-чая.

В качестве сырья для ферментации был выбран прошедший автоферментацию лист Иван-чая промышленно выпускаемый фирмой Мойчай.ру.

Посевной культурой была чистая культура *E. cristatum*, выделенная из китайского чая Хей Ча из коллекции кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие» МГУПП. Для подготовки посевного материала производили смыв культуры гриба с поверхности сусло агара (8%) и засев

суспензии спор и мицелия гриба объемом в 3 см³. Вся работа проводилась с соблюдением условий асептики и антисептики.

Для изучения влияния температуры на культуру гриба использовали термостат. Для изучения влияния влажности Иван-чай увлажняли до определенных значений, для предотвращения подсыхания субстрата во время культивирования в термостате создавали влажную атмосферу при помощи источника воды, свободно испаряющейся в термостате. Влажность сырья определяли высушиванием до постоянной массы.

Интенсивность развития гриба определяли визуально по развитию на субстрате «золотых цветов» - то есть мицелия гриба и методом смыва и посева на чашки Петри с подсчетом выросших колоний и выражением их на КОЕ/г. Стоит отметить условность определения КОЕ/г из-за возможности распада мицелия гриба на отдельные фрагменты при засеве культуры на субстрат.

На первом этапе работы для изучения принципиальной возможности роста гриба *E. cristatum* на Иван-чае, сильно отличающимся от *Camellia sinensis* количеством и составом фенольных веществ был произведен посев культуры гриба на несколько субстратов: 1) водный экстракт (гидромодуль 1:20, температура заваривания 90°C, время экстрагирования 10 минут) Иван-чая; 2) агаризированный экстракт Иван-чая (экстракт с добавлением 2% агар-агара) и 3) листьев Иван-чая с влажностью 45%. Температура культивирования была выбрана стандартная для культивирования грибов - 30°C. Культивирование велось в течении 14 дней, по истечении которых было оценено наличие колоний.

Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1. Наличие признаков роста на субстрате культуры *E. cristatum*

Визуальный признак	Питательная среда		
	Водный экстракт	Агаризованный экстракт	Листья Иван-чая
Развитие мицелия гриба	++	+++	+++
Образование «золотых цветов»	+	++	++
Признаки старения культуры	-	-	-

* «+++» - ярко выраженное наличие признака;

«++» - средневыраженное наличие признака;

«+» - слабовыраженное наличие признака;

«-» - отсутствие признаков роста и развития гриба

Как видно из таблицы рост был во всех 3-х образцах, что доказывало возможность культивирования гриба на Иван-чае. Для дальнейших исследований были выбраны листья Иван-чая как наиболее подходящий субстрат для дальнейших целей исследования.

Следующим этапом было подбор температуры культивирования. Листья Иван-чая засеивали культурой гриба и культивировали при температуре 25°, 30°C и 37°C в течении 14 дней. По истечении срока культивирования делали оценку интенсивности роста гриба. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2. Интенсивность роста *E. cristatum* в зависимости от температуры

Интенсивность роста гриба	Температура, °C		
	25	30	37
	++	+++	+++
КОЕ/г	683	1014	986

Как видно из таблицы 2 наибольшее число КОЕ/г было при температуре 30°C. Наиболее близкое число КОЕ/г было также при температуре 37°C но при данном способе культивирования наблюдалось явление старения культур, поэтому для дальнейшей работы была выбрана температура в 30°C.

Для определения оптимальной влажности литься Иван-чая увлажняли до содержания влаги в нем до 30%, 40% и 50% масс.

Таблица 3. Интенсивность роста *E. cristatum* в зависимости от влажности субстрата

Интенсивность роста гриба	Влажность, % масс.		
	30	40	50
	++	+++	++
КОЕ/г	994	1252	1115

Как видно из таблицы 2 наибольший рост отмечен при содержании влаги в 40% масс. Также близкие значения были получены при влажности 50% масс. однако при такой влажности наблюдалось выделение свободной влаги на дне сосуда, в котором проводилась культивация гриба, что мешает дальнейшим технологическим операциям, поэтому была выбрана влажность 40% масс.

Еще раз следует отметить большую погрешность определения КОЕ/г и невозможность определения точного количества гриба в посевном материале. Поэтому ведущим методом был визуальный контроль.

По полученным результатам были выбраны следующие параметры культивирования *E. cristatum* на листьях Иван-чая: температура 30°C, влажность субстрата 40% масс..

Список используемой литературы:

1. Пакен, П. Функциональные напитки специального назначения [Текст] / П. Пакен. -СПб: Профессия, 2010. - 496 с.

2. Афолина Светлана Николаевна, Лебедева Елена Николаевна, Сетко Нина Павловна Биохимия компонентов чая и особенности его биологического

действия на организм (обзор) // Оренбургский медицинский вестник. 2017. №4 (20).

3. Сайт компании «Чайный дом 5 O`CLOCK [Электронный ресурс]. URL: <http://5oclocktea.com.ua/> (дата обращения: 29.05.2020).

4. Zhang, Liang & Zhang, Zheng-zhu & Zhou, Yi-bin & Ling, Tiejun & Wan, Xiao-chun. (2013). Chinese dark teas: Postfermentation, chemistry and biological activities. Food Research International. doi: 53.600-607.10.1016/j.foodres.2013.01.016.

5. A. Xu, Y. Wang, J. Wen, p. Liu, Z. Liu, Z. Li. Fungal Community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea. International Journal of Food Microbiology, 46, 2011, 14-22. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.024

6. Рябинин Игорь Андреевич СИСТЕМА ВИДОВ РОДА ASPERGILLUS MICHELI В СВЕТЕ ИССЛЕДОВАНИЙ НАУЧНОЙ ШКОЛЫ CENTRAALBUREAU VOOR SCHIMMELCULTURES (ОБЗОР) // Проблемы медицинской микологии. 2016. №4.

7. Сайт «Mycobank» [Электронный ресурс]. URL: <http://www.mycobank.org> (дата обращения: 08.06.2020).