

СОСТАВ И СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЭКСТРАКТОВ ЛИШАЙНИКА USNEA BARBATA

Лыскова Н. С., Базарнова Ю. Г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»,
Высшая школа биотехнологии и пищевых технологий
Санкт-Петербург, РФ

Лишайники являются классическим объектом изучения различных аспектов функционирования симбиотических организмов как специализированных систем, сформированных генетически разными партнерами. Тем не менее экспериментальных работ, посвященных изучению свойств лишайников, сравнительно немного.

Лишайники представляют собой довольно большую (около 26 тыс. видов, свыше 400 родов) и очень своеобразную группу комплексных организмов, тело которых состоит из гриба и водоросли [1].

Двойственная структура лишайников была открыта лишь в 1867 г. С. Швенденером, который высказал гипотезу о дуализме лишайников на основании опытов А. С. Фаминцина и О. И. Баранецкого. До этого периода обнаруженные в лишайниках клетки водорослей не воспринимались как отдельный организм. Уоллрот в 1825 г. считал их репродуктивными структурами лишайников и назвал гонидиями (этот термин применяется до настоящего времени) [2]. В наши дни двойственная природа лишайников уже ни у кого не вызывает сомнений [3].

По литературным данным химический состав лишайников можно разделить на две большие группы: вещества первичного и вторичного метаболизма. Благодаря подобному сочетанию, лишайники отличаются от других растительных организмов набором уникальных свойств, поэтому и нашли применение в различных отраслях промышленности и медицины [4-6].

Наиболее ценными фитоконпонентами лишайников являются лишайниковые кислоты, которые не образуются в других систематических группах растений, благодаря которым лишайники способны проявлять выраженное антибактериальное воздействие по отношению к грамположительным микроорганизмам [1]. Наиболее перспективной среди них, с точки зрения промышленного использования, является усниновая кислота, которая обладает различными видами физиологической активно-

сти: противовирусной, антибиотической, анальгетической, антибактериальной, инсектицидной [7]. Представляют интерес барьерные и антиоксидантные свойства фитокомпонентов лишайников.

Целью настоящей работы являлось изучение состава и свойств физиологически активных фитокомпонентов лишайника *Usnea barbata*.

В качестве объектов исследования были выбраны экстракты лишайника семейства Parmeliaceae (Уснея бородатая – *Usnea Barbata* (L.) Weber ex F.H.Wigg.), полученные путем мацерации сухого лишайника. Известно, что основным действующим веществом данного вида лишайника является усниновая кислота [1].

Сбор образцов слоевищ лишайника проводили в начале ноября 2015 г. в Архангельской области. Лишайник высушивали при комнатной температуре в течение нескольких суток и хранили в герметичной упаковке при комнатной температуре.

Для приготовления образцов экстрактов и исследования состава и свойств фитокомпонентов лишайника *Usnea barbata* использовали следующие приборы и оборудование: ванна ультразвуковая УЗВ2-0,16/18, весы лабораторные ADAM HCB 123, лабораторная мельница ЛЗМ, термостат лабораторный ТС-1/20, шкаф сушильный WOF-50, лампа Vilber Lourmat VL-6.LC с фильтрами 253 нм, рефрактометр ИРФ-454Б2М, спектрофотометр Perkin-Elmer 550S UV/VIS.

Для получения экстрактов навеску сухого измельченного сырья заливали экстрагирующей смесью в соотношении 1 : 40 по массе. Для приготовления экстрагирующих смесей использовали бидистиллированную воду; этиловый спирт 96%; водно-этанольные смеси с содержанием этанола 40% и 70% (по объему); 1,4-диоксан (ч.д.а.) и смесь 1,4-диоксана с водой в соотношении 1 : 1 (по объему). Для увеличения полноты экстрагирования фитокомпонентов лишайника использовали УЗ-обработку экстрактов с частотой 18 кГц и ультразвуком.

Условия проведения экстракции и состав экстрагирующих смесей приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Состав экстрагирующих смесей и условия проведения экстракции

Экстрагент	Условное обозначение образцов экстрактов	
	Мацерация 70 °С, 30 мин	Мацерация 40 °С, 30 мин, УЗ 18 кГц
Вода	1	1*
Этиловый спирт – вода 2:3	2	2*
Этиловый спирт – вода 7:3	3	3*
96 %-ный этиловый спирт	4	4*
1, 4-диоксан – вода 1:1	5	5*
1, 4-диоксан	6	6*

После экстрагирования вытяжки отделяли от шрота на бумажном фильтре и центрифугирования (14000 об/мин, 3 мин). Надосадочную жидкость использовали для дальнейших исследований.

В полученных экстрактах определяли общее содержание фенольных соединений (ФС) методом калибровочного графика по хлорогеновой кислоте, используя реактив Фолина-Чокальтеу ($\lambda=730$ нм) [8]; содержание сухих веществ – рефрактометрическим методом; массовую долю сухого остатка – высушиванием при температуре $(130\pm 2)^\circ\text{C}$.

Содержание фенолов в полученных экстрактах лишайника в зависимости от растворителя изменяется в пределах от 3,01 мг/г до 13,45 мг/г.

Установлено, что наибольшая полнота извлечения фенольных соединений достигается при использовании смеси 1,4-диоксана с водой (1:1). Наибольшее количество экстрактивных веществ извлекается 40%-м этиловым спиртом (0,34-0,35%), меньше всего – диоксаном (0,08-0,11%). УЗ увеличивает переход фенольных соединений в экстракты.

Содержание растворимых углеводов определяли методом ионно-эксклюзионной ВЭЖХ [9]. Исследуемый экстракт сгущали под вакуумом, после чего разбавляли 0,5 мл воды, вносили 0,1 мл концентрированной серной кислоты и выдерживали в термостате при температуре 106°C в течение 2,5 ч, после чего гидролизат подвергали повторному сгущению. Полученный гидролизат использовали для определения моносахаридов. Разделение проводили на стеклянной колонке 9x500 мм с ионообменной смолой Hitachi 2614 в H⁺-форме при 55°C . Подвижная фаза: 10 мМ хлорная кислота; 1,0 мл/мин. Детектор: УФ, 210 нм. Объем вводимой пробы 50 мкл.

Моносахариды хорошо растворимы в воде, поэтому их содержание в экстрактах 1* и 4* намного выше, чем в экстракте 6* (табл. 2). Кроме углеводов в экстрактах обнаружены метанол, глицерин и некоторые кислоты: лимонная и янтарная.

Таблица 2 – Результаты исследований содержания некоторых сахаров в экстрактах лишайника *Usnea barbata* методом ионно-эксклюзионной ВЭЖХ

Компонент	Время выхода	Содержание сахаров, мг/л		
		1*	4*	6*
Олигосахариды	12,4	1115	760	349
Глюкоза	19,3	85	70	7
Галактоза	20,4	70	79	5

Содержание усниновой кислоты определяли методом спектроскопии в УФ и видимой области спектра. Для количественного анализа усниновой кислоты в экстрактах лишайника *Usnea barbata* использова-

ли метод эталона ($\lambda=230$ нм) [10-12]. Выявлено, что наиболее эффективным экстрагентом для извлечения усниновой кислоты из лишайника является 1,4-диоксан (270 мкг/мл). В водном экстракте ее содержится примерно в 3,5 раза меньше (73 мкг/мл).

Значения антиоксидантной активности полученных экстрактов лишайника *Usnea barbata* составили от 200 до 3300 условных оптических единиц. Выявлено, что из трех исследуемых образцов только диоксановый экстракт лишайника является замедлителем процесса окисления липидов [13].

Для оценки барьерных свойств экстрактов лишайника *Usnea barbata* исследовали их антимикробную активность методом диффузии в питательную среду МПА [14, 15]. Об антимикробной активности судили по образованию зон задержки роста внесенной в питательную среду тест-культуры вокруг дисков с исследуемым экстрактом. В качестве тест-культуры использовали искусственный возбудитель микробиологической порчи *Bacillus subtilis* (штамм 78А) из коллекции лаборатории МИП «Аналитика. Материалы. Технологии» (СПбПУ, ВШБТИПТ). Показано, что фитоконпоненты в составе диоксанового экстракта исследуемого лишайника способны угнетать рост бактерий *Bac. subtilis*. Определены эффективные концентрации экстракта для проявления бактериостатического эффекта, которые составили 167 мг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лиштва А. В. «Лихенология»: учеб.-метод. пособие / А. В. Лиштва. –Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2007. – 121 с.
2. Яцына, А. П. «Практикум по лишайникам» / А. П. Яцына, Л. М. Мерзвинский. – Витебск: УО «ВГУ им. П. М. Машерова», 2012. – 224 с.
3. Андреев М. П., Ахти Т., Войцехович А. А., Гагарипа Л. В., Гимельбрайт Д. Е., Давыдов Е. А. «Флора лишайников России» - Товарищество науч. изд. КМК, 2014. – 536 с.
4. Использование лишайников в пищу [Электронный ресурс: <http://www.ecosystema.ru>].
5. Использование лишайников для бальзамирования [Электронный ресурс: <http://www.ecosystema.ru>].
6. Курсанов А. Л., Дьячков Н. Н. Лишайники и их практическое использование. Москва-Ленинград: Издательство академии наук СССР, 1945. – 56 с.
7. Соколов Д. Н., Лузина О. А., Салахутдинов Н. Ф. «Усниновая кислота: получение, строение, свойства и химические превращения». Успехи химии 81 (8). 2012. - 747-768 с.
8. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. – 239 с.
9. Monika Waksmundzka-Hajnos, Joseph Sherma High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. CRC Press, 2010. – P. 996.
10. Marcano V., Alcomer V. R., Mendez A. M. Occurrence of usnic acid in *Usnea laevis* Nylander (lichenized Ascomycetes) from the Venezuelan Andes. J Ethnopharmacol 66, 1999. – P. 343-346.
11. Cansarana D., Kahyab D., Yurdakulola E., Atakolb O. Identification and Quantitation of Usnic Acid from the Lichen *Usnea* Species of Anatolia and An-timicrobial Activity // Zeitschrift für Naturforsch. 2006, April 4/May 10.— P 773-776.

12. Nunes P. S., Jesus D. C., Bezerra M. S. et al. Validation of a UV-VIS Spectrophotometric method for the determination of usnic acid /collagen-based membranes // *Scientia Plena*, 2015, №11. P. 1-9.
13. Saranyapiriya Gunasekaran, Vinoshene Pillai Rajan, Surash Ramanathan, Vikneswaran Murugaiyah, Mohd. Wahid Samsudin, Laily B Din. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubroincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents // *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2016. №Vol 20 No 1. P. 1 - 13.
14. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания, от 04.02.2004.
15. Lina Abuiraq, Ghassan Kanan, Mohammed Wedyan, Ahmed El-Oqlah. Efficacy of Extracts of Some Lichens for Potential Antibacterial Activity // *RJPBCS*. 2015, №6(1). – P. 318-331.

УДК 663.43 (476,6)

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОИЗВОДСТВА «ЖИВОГО» ПИВА

Макарушко А. Н., Будай С. И.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

Пиво считают древнейшим напитком «радости и бодрости духа». Наши предки варили пиво без пастеризации и пищевых добавок (консервантов). Под термином «живое» пиво понимают пенный напиток, который не подвергают фильтрации и пастеризации перед употреблением. «Живое» пиво разливают в тару сразу же после завершения процесса брожения. В этом случае его окончательное дозревание проходит в таре, поэтому «живое» пиво относят к весьма ценным и более дорогостоящим напиткам.

В химический состав «живого» пива входят Са, Мп, Р и Fe. Известно много полезных свойств «живого» пива. Оно понижает артериальное давление и стабилизирует уровень холестерина в крови. «Живое» пиво гурманы используют для маринования шашлыка. Однако его употреблять рекомендуется в умеренных количествах. Основной вред «живого» пива заключается в наличии алкоголя. Его калорийность составляет 39 кКал на 100 г.

В качестве сырья для производства «живого» пива используют: ячмень пивоваренный, хмель и его экстракты, дрожжи пивные, подготовленную воду и зернопродукты без приготовления солода. Из пивоваренного ячменя получают светлый, тёмный, карамельный и жжёный солод [1].

Для приготовления качественного пива рекомендуется использовать воду из артезианской скважины. Её подвергают очистке с помо-