Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение

средняя общеобразовательная школа №3

«Лишайник Cladonia stellaris-

природный антисептик»

Автор: Кильдина Юлия Ураловна, ученица 9 «А» класса,

Муниципальное бюджетное общеобразовательное

учреждение средняя общеобразовательная школа №3

Руководитель: Петренко Елена Николаевна, учитель

Биологии, Муниципальное бюджетное

общеобразовательное учреждение средняя

общеобразовательная школы №3

Сургут, 2020

«Лишайник Cladonia stellaris - природный антисептик»

«Аннотация»

В данной работе изучена антибактериальная активность лишайниковых веществ, входящих в состав Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris). Определено наличие усниновой кислоты и степень ее активности, доказаны антисептические свойства. Проведены исследования пищевой ценности лишайника, рассмотрены возможности применения его в домашнем консервировании, выпечки хлеба и доказаны экспериментально. На основании проведенных экспериментов сделаны выводы, что использование антибактериальных лишайниковых веществ может привести к снижению роста резистентности болезнетворных микроорганизмов к ряду имеющихся антибиотиков.

**Содержание**

Введение 4

Глава 1. Теоретическая часть 5

1.1. Систематическое положение 5

1.2. Экология и распространение ягеля 6

1.3. Особенности анатомо – морфологического строения лишайников

рода Cladonia 6

1.4. Биохимический состав ягеля 7

1.5. Применение лишайников рода Cladonia в пищевой промышленности 9

1.6. Применение лишайников рода Cladonia в медико-биологической практике 9

Глава 2. Практическая часть исследования 10

2.1. Определение видового состава лишайников рода Кладония (Cladonia)

в окрестностях г. Сургута 10

2.2. Определение наличия усниновой кислоты в Кладонии звездчатой

(Cladonia stellaris) 10

2.3. Выявление антибактериальной активности усниновой кислоты 12

2.4. Определение белков, углеводов, жиров в составе Кладонии звездчатой

(Cladonia stellaris) 14

2.5. Действие усниновой кислоты на белки 15

Заключение 16

Список используемой литературы 18

Приложение 1 19

Приложение 2 19

Приложение 3 21

Приложение 4 25

Приложение 5 27

Приложение 5 28

**Введение**

Лишайники относятся к мало исследованным организмам, которые с давних времен и до настоящего времени остаются загадкой, в науке очень мало фактов о времени их происхождения, так как почти нет данных по ископаемым лишайникам [7]. Однако же еще в конце прошлого столетия особый интерес вызывали бактерицидные свойства лишайниковых веществ. Но открытие антибиотиков и появление технологий их быстрого получения стали причиной снижения интенсивности изучения лишайниковых веществ как антисептических средств. В настоящее время происходит рост резистентности болезнетворных микроорганизмов к ряду имеющихся антибиотиков, появляются штаммы не чувствительные к ним, а исследований лишайников как источника веществ с антибактериальной активностью недостаточно, поэтому изучение антисептических свойств лишайниковых веществ, становится вновь актуальной темой.

Возрастает количество людей, у которых проявляются аллергические реакции на различные консерванты, применяемые в пищевой промышленности.

Нами были обнаружены научные факты использования лишайников рода Кладония (Cladonia), в частности Кладонии звёздчатой (Cladonia stellaris) в приготовлении некоторых блюд на Руси, Японии, Китае и других странах, а также применение их в медицинских целях [7].

Мы решили экспериментальным путем установить, на каких свойствах лишайника основано их использование в пищевой промышленности, какое вещество, входящее в состав лишайника, проявляет антибактериальную активность.

**Актуальность исследования:** определив лишайниковое вещество, обладающее антибактериальной активностью можно использовать Кладонию звёздчатую (Cladonia stellaris) как природный антисептик.

**Гипотеза:** усниновая кислота, входящая в состав лишайниковых веществ Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) обладает антибактериальной активностью, благодаря чему ее можно использовать как природный антисептик, и применять лишайник в домашнем консервировании и хлебопечении, что увеличит срок их хранения.

**Цель исследования**: изучить антибактериальную активность лишайниковых веществ

Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) для использования её в качестве природного антисептика.

**Задачи исследования:**

1) изучить научно – популярную литературу, Интернет источники по теме исследования;

2) изучить видовой состав лишайников рода Кладония (Cladonia) в окрестностях г. Сургута;

3) рассмотреть биологию лишайников рода Кладония (Cladonia);

4) экспериментальным путем доказать наличие усниновой кислоты в составе Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) и определить степень ее активности;

5) выявить антибактериальную активность усниновой кислоты;

6) определить наличие белков, углеводов и жиров в составе Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris);

7) доказать безопасность применения Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) в качестве консервантов при домашнем консервировании овощей и выпечки хлеба.

**Методы:**

- анализ научно-популярной литературы, Интернет источников по теме исследования;

- сбор полевого материала;

- сравнение;

- опытно-поисковая работа;

- обобщение.

**Объект исследования**: лишайник Кладония звездчатая (Cladonia stellaris).

**Предмет исследования:** антибактериальное действие усниновой кислоты.

**Новизна исследования** заключается в том, что с помощью химических реакций доказана безопасность примененияКладонии звездчатой (Cladonia stellaris) в пищу человеком, предложены рецепты приготовления домашней консервации и выпечки хлеба в домашних условиях с использованием лишайника.

**Практическая значимость:** исследований лишайников как источника веществ с антибактериальной активностью недостаточно, поэтому изучение антисептических свойств лишайниковых веществ и применение их на практике, позволит снизить рост резистентности болезнетворных микроорганизмов.

**Глава 1. Теоретическая часть**

**1.1. Систематическое положение**

Царство: Грибы (Fungi)

Отдел: Аскомикота (Ascomycota)

Класс: Леканоромицеты (Lecanoromycetes)

Порядок: Леканоровые (Lecanorales)

Семейство: Кладониевые (Cladoniaceae)

Род: Кладония (Cladonia)

Вид: Кладония звездчатая (Cladonia stellaris)

**1.2. Экология и распространение ягеля**

Ягель или олений мох – это группа лишайников, которая включает в себя 40 видов, их выделяют в род Cladonia.

Виды, относящиеся к роду Cladonia, приспосабливается к обитанию в различных климатических условиях, они могут произрастать как в теплых регионах, так и при довольно суровых и снежных зимах. Однако растет он очень медленно, удлиняясь до 5 мм в год.

Закономерности географического распространения ягеля изучены еще недостаточно. С одной стороны, отмечается приуроченность определенных видов к тем или иным природным зонам, (например, есть виды, приуроченные к зоне таежных лесов), с другой стороны приуроченность к субстрату. По приуроченности к субстрату, виды данного рода, относятся к напочвенным, или эпигейным лишайникам. Они должны выдерживать сильную конкуренцию со стороны высших растений, которые достаточно быстро растут, поэтому они редко встречаются на плодородных почвах и достигают большего развития в местах, мало пригодных для высших растений из-за незначительной питательности субстрата или неблагоприятных климатических условий, например, на песчаных почвах, в тундрах, на торфяниках, в лесах. Особенно пышно разрастаются в тундре и лесотундре, где часто занимают громадные площади и определяют характер ландшафта, на опушках хвойного леса, в сухих сосняках - это так называемые боры- беломошники. Покров из кладоний бывает сильно развит и в лиственничных лесах Восточной Сибири [8].

Широко распространенные виды «оленьего мха»: кладония оленья (C. rangiferina), кладония звездчатая (C. stellaris), кладония лесная (C. sylvaticaf).

Лишайники рода Cladonia не прихотливы к почвам, климатическим условиям, но не переносят загрязнение воздуха, поэтому встречаются в небольшом количестве или совсем отсутствуют на территориях с загрязнением атмосферного воздуха [10].

**1.3. Особенности анатомо – морфологического строения лишайников рода Cladonia**

Ягель или олений мох – это группа лишайников, которая включает в себя 40 видов, их выделяют в род Cladonia. На территории Ханты – Мансийского автономного округа встречаются 19 видов, в окрестностях Сургута нами было обнаружено четыре вида данного рода: Cladonia stellaris (звездчатая, прежде она называлась альпийской), Cladonia rangiferina (оленья), Cladonia fimbriata(бахромчатая) и Cladonia sylvatica (лесная).

Слоевище лишайников рода Cladonia является переходной формой между листоватыми и кустистыми лишайниками, они считаются радиально – кустистыми. Тело образовано двумя типами слоевища: горизонтальным – чешуйчатым и вертикальным – различной формы выростами и кустиками, растущими вверх от чешуек. При образовании слоевища сначала вырастают горизонтальные чешуйки в диаметре 2-5 мм, иногда они имеют вид небольших листков диаметром 10-20 мм, беловатые или зеленоватые. Они трехслойные, различается верхний корковый слой, слой водорослей или цианобактерий и сердцевину. Через некоторое время на поверхности чешуек появляются вертикально направленные выросты – подеции, их форма разнообразна: простые, неразветвленные, шиловидные или в виде роговидных выростов, сильно разветвленные в виде кустиков. Первичное корковидное слоевище по мере роста лишайника быстро исчезает, а вторичное слоевище (подеции) сильно разветвляется и имеет вид кустиков, их нижняя часть постепенно отмирает, а на верху, продолжают расти [8].

У лишайников рода Cladonia гетеромерный тип таллома: верхняя кора таллома образована плотным переплетением гиф гриба (микобионт), дальше располагается слой, состоящий из клеток водоросли (фикобионт). Гифы гриба верхней коры затеняют водоросли, защищая от губительного воздействия прямых солнечных лучей, таким образом, обеспечивая благоприятные условия для процесса фотосинтеза. Гифы заходят в слой, где располагаются водоросли и образуют мелкие разветвления, которые плотно примыкают к клеткам водоросли, гриб получает от фотосинтезирующей водоросли углеводы. Дальше располагается сердцевина – это слой, который образован рыхло переплетенными гифами гриба. Сердцевина способствует поддержанию внутри таллома определенной влажности и воздушной среды, что необходимо для самих гиф, а также для клеток водоросли. За сердцевиной расположена нижняя кора, состоящая из плотно переплетенных гифов гриба [2].

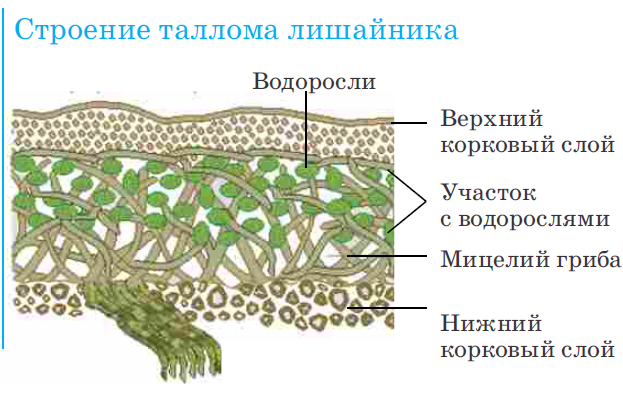


Рис. 1. Строение таллома лишайника

**1.4. Биохимический состав ягеля**

Вещества, содержащиеся в ягеле, подразделяются на первичные и вторичные. К первичным веществам относятся вещества, которые участвуют в клеточном обмене и строении тела лишайника, к вторичным – клеточные продукты обмена веществ, их называют лишайниковыми кислотами [1].

Таблица 1. Химический состав ягеля

|  |  |
| --- | --- |
| Наименование | Содержание, % |
| Белки | 4,87 |
| Липиды | 5,09 |
| Минеральные вещества | 3,95 |
| Углеводы | 56-82 |
| Клетчатка | 2-45 |
| Усниновая кислота | 1,08 |
| Витамин С, мг/100 г | 11,4 |
| [β-каротин,](https://ru.wikipedia.org/wiki/%CE%92-%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F) мг/100 г | 10,3 |

Первичные лишайниковые вещества, в основном представлены углеводами. В гифах обнаружены хитин и полисахариды лихенин и изолихенин. Лихенин называют еще лишайниковым крахмалом, количество доходит до 50% на сухое вещество. В оболочках гиф содержатся гемицеллюлозы, в межклеточных пространствах – пектиновые вещества, которые впитывают воду, вызывают набухание слоевища [1].

Вторичные лишайниковые вещества представлены безазотистыми соединениями фенольного характера, близкие по своей природе к дубильным веществам растений, но более простого строения, на их долю приходится до 55 сухой массы. Общее количество этих веществ достигает 270, из которых около 80 встречается только в лишайниках. Лишайниковые кислоты, входящие в состав почти не растворимы в воде. Одни из них бесцветны, другие окрашены в желтый, красный, бурый, или черный цвета и почти все имеют горький вкус [1].

В слоевище лишайниковые кислоты располагаются на стенках грибных гиф в виде водонерастворимых кристаллов и являются результатом взаимодействия фито- и микобионта. В состав ягеля входят леканоровая, протоцентратовая и усниновая кислоты. Усниновая кислота обладает сильным антибактериальным действием. Лишайниковые кислоты являются стимуляторами симбиоза фото - и микобионта, а также облегчают доставку углеводов и азотистых соединений из фотобионта к микобионту, увеличивая проницаемость оболочки водорослевой клетки. Лишайниковые кислоты – регулируют активность некоторых лишайниковых ферментов и создают запас органического вещества в талломе. Кроме того, кислоты покровного слоя затеняют водоросли, находящиеся в слоевище, и предохраняют их от воздействия прямых солнечных лучей, а кристаллы лишайниковых кислот на стенках грибных гиф делают их несмачиваемыми, именно по таким воздушным гифам в слоевище поступает кислород, углекислый газ, атмосферный азот, используемый при дыхании, фотосинтезе [10].

В большом количестве содержатся дисахариды (сахароза) и полисахариды (маннит, эритрит, сифулин). В состав ягеля входит большое количество ферментов: амилаза, каталаза и др. В состав входят витамины: С, В и др. [10].

Установлено, что в состав лишайника входят макро- и микроэлементы, Co, Ni, Mo, Au присутствует в тех же концентрациях, что и в высших растениях, а содержание Zn, Cd, Sn намного выше [10].

**1.5. Применение лишайников рода Cladonia в пищевой промышленности**

Использование рода Cladonia известно очень давно, из исландского мха (Cetraria islandica) варили кисель, студни и использовали как добавку к муке, сегодня ее используют для производства спирта, так как углеводы лишайников в кислой среде при нагревании гидролизируются до глюкозы, которая легко сбраживается дрожжами в спирт. Сведения о производстве в России спирта из лишайников известно с 1870 г. [1].

В Японии лишайники рода Cladonia, как деликатес добавляют в суп или салат, также и в Северной Америке многие виды этого рода используют в пищу.

Ягель на Руси издавна использовали при выпечке хлеба, в целях сохранения свежести продукта и улучшении его качества. Лишайниковый крахмал отличается способностью разбухать и растворяться в горячей воде, при охлаждении образуя студни, которые хорошо усваиваются организмом, усиливая выделение желудочного сока, возбуждая аппетит. Кулинарное использование лишайников обусловлено желирующими свойствами их отваров, кроме того они обогащают блюда и кулинарные изделия минеральными веществами и витаминами. Немаловажен тот факт, что лишайники рода Cladonia оказывают бактерицидное действие, что делает его применение наиболее актуальным [4].

**1.6. Применение лишайников рода Cladonia в медико-биологической практике**

Полисахариды лихенин и изолехенин оказывают противовоспалительное действие, покрывая тонким слоем поврежденные слизистые оболочки, предохраняют их от раздражения и облегчают регенерацию поврежденных тканей. Известно использование лишайников рода Cladonia в качестве антибиотического средства против стафилококков, стрептококков, грибов, простейших и вирусов. Их высокая антибиотическая активность связана с присутствием усниновой кислоты и ее производных, относящихся к лишайниковым кислотам.

Полученная из лишайников усниновая кислота в виде уснината натрия называлась «Бинан» и применялась в качестве наружного средства для лечения ран, ожогов, трещин, с появлением синтетических антибиотиков препарат был снят с производства [3].

**Глава 2. Практическая часть исследования**

**2.1. Определение видового состава лишайников рода Кладония (Cladonia) в окрестностях г. Сургута**

В августе – сентябре 2018 года нами были собраны образцы лишайников рода Кладония (Cladonia) и с помощью специалистов кафедры ботаники СурГУ определен их видовой состав – это Cladonia stellaris (звездчатая, прежде она называлась альпийской), Cladonia rangiferina (оленья), Cladonia fimbriata(бахромчатая) и Cladonia sylvatica (лесная) [5,9] (приложение 1).

Наиболее часто встречаемыми видами при маршрутном методе обследования оказались: Кладония звездчатая (Cladonia stellaris) и Кладония оленья (Cladonia sylvatica).

**2.2. Определение наличия усниновой кислоты в Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris)**

Изучая биологию лишайников рода Кладония, в литературных источниках мы встретили информацию, которая очень нас заинтересовала:

1) в состав лишайников входят лишайниковые кислоты, среди которых усниновая кислота, подавляющая развитие микроорганизмов и некоторых низших грибов, но при поедании ягеля оленями, она не воздействует на их симбиотических бактерий, живущих в кишечнике [11];

2) Кладония звездчатая (Cladonia stellaris) относится к съедобным видам лишайников рода Кладония [7].

Достоверность данной информации мы решили проверить экспериментальным путем.

Эксперимент 1.

Лабораторное оборудование и реактивы: индикаторы (лакмус, метиловый оранжевый), универсальная индикаторная бумага, пробирки, стаканчики, цифровой USB-датчик рН.

Нами был приготовлен экстракт Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) и проведены исследования кислотности (показатель рН) объекта усниновой кислоты при помощи различных индикаторов и цифрового USB-датчика рН. Результаты представлены в таблице.

Таблица 2. Определение кислотности

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Индикатор или  рН-датчик | Цвет индикатора в кислой среде и интервал перехода | Результаты эксперимента |
| Индикатор лакмус. | Красный  рН<5. | рН <5,  **среда кислая**  (окраска индикатора изменилась от фиолетовой в красную) |
| Индикатор метиловый оранжевый. | Бледно-оранжевый  3,1 < рН < 4,4. | рН от 3,1 до 4,4,  **среда средне -кислая**  (окраска индикатора из ярко оранжевой перешла в бледно-оранжевую) |
| Универсальная индикаторная бумага  рН от 0 до 12. | Бледно-оранжевый  3 < рН < 4. | рН от 3 до 4,  **среда средне -кислая**  (окраска индикаторной бумаги из желтой перешла в бледно-оранжевую) |
| Цифровой USB-датчик рН. | - | рН=3,53 ед. рН,  **среда средне-кислая**. |

**Вывод:**Обнаруженное в экстракте лишайника Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris), вещество является кислотой средней силы со значением рН около 3,5 ед. рН. Результаты, полученные с использованием разных индикаторов и цифрового USB-датчика, хорошо коррелируют между собой (приложение 2).

Эксперимент 2.

В данном эксперименте нам необходимо было приготовить вытяжку из двух образцов почв. Первый образец был взят непосредственно под произрастающими лишайниками Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris), а второй образец почвы в удалении 14 метров, где лишайник не произрастал. Вытяжки профильтровали и поместили в три пробирки каждую.

Вытяжка первого образца почвы:

1 пробирка (вытяжка + лакмус) – фиолетовое окрашивание переходит в красное, что указывает на слабокислую среду.

2 пробирка (вытяжка+ метиловый оранжевый) – окраска оранжевая, что указывает на pH среду 3-4.

3 пробирка контрольная.

Вытяжка второго образца почвы:

1пробирка (вытяжка + лакмус) – фиолетовое окрашивание, что указывает на наличие нейтральной среды.

2 пробирка (вытяжка+ метиловый оранжевый) – окраска желтая, что подтверждает нейтральную среду.

3 пробирка (вытяжка+ фенолфталеин) – раствор бесцветный, что указывает на наличие нейтральной среды.

**Вывод:** мы предполагаем, что лишайники произрастают на кислых почвах, и способствуют поддержанию ее кислотности, при отмирании слоевища в почву попадают и лишайниковые вещества, в том числе и усниновая кислота (приложение 2).

**2.3. Выявление антибактериальной активности усниновой кислоты.**

Эксперимент 3. Домашнее консервирование огурцов.

Эксперимент был начат 26.10.17 г. закончен 11.02.20 г. Нами было законсервировано пять банок огурцов емкостью 700 гр.: 1-я банка контрольная: на 1 л. кипяченной воды, 2 с. л. поваренной соли, 1 с. л. сахара, 1/3 ч. л. 70% уксусной кислоты, 1 таблетка [асецилсилециловой](https://www.google.com/search?q=%D0%BA%D0%B0%D0%BA+%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%B0%D1%82%D1%8C+%D0%B0%D1%81%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D1%81%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9&nfpr=1&sa=X&ved=0ahUKEwj6qtPKyvzgAhXNJpoKHVNGBnQQvgUIKygB) кислоты, лавровый лист и чеснок; 2-я банка – из раствора убрали уксусную кислоту, добавили слоевища предварительно промытой Кладонии звездчатой; 3-я банка – из раствора убрали [асецилсилециловую](https://www.google.com/search?q=%D0%BA%D0%B0%D0%BA+%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%B0%D1%82%D1%8C+%D0%B0%D1%81%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D1%81%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9&nfpr=1&sa=X&ved=0ahUKEwj6qtPKyvzgAhXNJpoKHVNGBnQQvgUIKygB) кислоту, добавили слоевище Кладонии звездчатой; 4 - я банка – из раствора убрали уксусную кислоту и [асецилсилециловую](https://www.google.com/search?q=%D0%BA%D0%B0%D0%BA+%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%B0%D1%82%D1%8C+%D0%B0%D1%81%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D1%81%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9&nfpr=1&sa=X&ved=0ahUKEwj6qtPKyvzgAhXNJpoKHVNGBnQQvgUIKygB) кислоту добавили слоевище Кладонии звездчатой; 5-я банка из раствора убрали уксусную кислоту, [асецилсилециловую](https://www.google.com/search?q=%D0%BA%D0%B0%D0%BA+%D0%BF%D0%B8%D1%81%D0%B0%D1%82%D1%8C+%D0%B0%D1%81%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D1%81%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9&nfpr=1&sa=X&ved=0ahUKEwj6qtPKyvzgAhXNJpoKHVNGBnQQvgUIKygB) кислоту, соль, чеснок, лавровый лист. Залили огурцы кипяченной остывшей водой, добавили слоевище Кладонии звездчатой. Все банки плотно закрутили крышками и поставили на хранение в шкаф, находящийся в лаборантской кабинета биологии. Доступа света не наблюдалось, средняя температура составляла +17 С. В течении 27,5 месяцев мы наблюдали за изменениями, которые происходили с нашими консервантами. В 12 месяцев во всех пяти банках никаких изменений не наблюдалось. От 13 до 17 месяцев, как в контрольной банке, так и в банках № 2,3,4 наблюдали небольшой осадок на дне, а в банке №5 раствор остается прозрачным до настоящего времени. (приложение 3).

**Вывод**: усниновая кислота, входящая в состав лишайника Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) обладает антибактериальной активностью и подавляет развитие микрофлоры.

Эксперимент 4. Выращивание микрофлоры на питательных средах.

Приготовили три питательные среды в объеме 100 мл. каждая. Для приготовления первой питательной среды 100 г. ячменя высыпали в емкость, залили 500 мл. воды. довели до кипения и варили на медленном огне 30 минут, затем раствор профильтровали через несколько слоев марли. Получившийся отвар перелили в небольшую емкость и на медленном огне вновь довели до кипения, добавили 100 г. агар-агара хорошо перемешивая. После приготовления готовую среду сразу же разлили в две чашки Петри, в одну добавили экстракт Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) (приложение 3).

Для приготовления второй питательной среды взяли 150 г. картофеля, тщательно отмыли его от земли, не очищая, нарезали небольшими кубиками, высыпали в емкость, залили 500 мл. воды, довели до кипения и варили на медленном огне 30 мин. Полученный раствор также отфильтровали и поступили точно так же как в предыдущем случае (приложение 3).

Для приготовления третьей питательной среды взяли 200 г. мяса, залили 500 мл. воды довели до кипения и проварили в течении 30 минут добавляя воду при ее испарении для получения нужного объема – 100 г. отвара. Полученный раствор отфильтровали и продолжили эксперимент как в двух предыдущих случаях (приложение 3).

По истечению трех дней на питательных средах, в которые не был добавлен экстракт Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris), стала появляться плесень (приложение 3).

В лаборатории кафедры биологии и биотехнологии СурГу нам помогли выяснить, что на первой питательной среде проросли споры гриба рода Pinicillum, а на второй и третьей питательных средах был обнаружен гриб рода Mucor (приложение 3).

В питательных средах, куда был добавлен экстракт лишайника, плесень стала появляться только на 12 день.

**Вывод:** плесень на питательных средах из ячменя и картофеля появилась раньше, чем на питательной среде, основу которой составил мясной отвар. Мы предположили, что в питательной среде на ячменной и картофельной основе больше углеводов, а на мясной основе – белков и жиров, поэтому заселение двух первых сред произошло быстрее. Более длительное заселение наблюдалось образцов питательных сред, в которые был добавлен экстракт лишайника, соответственно это доказывает, что усниновая кислота, входящая в состав Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) проявляет антибактериальную активность.

Эксперимент 5. Использование Кладонии звездчатой для выпечки хлеба в домашних условиях

Нами было приготовлено тесто по рецепту, указанному в теоретической части исследования. Тесто было разделено на две одинаковые емкости, первый замес произвели без добавления лишайника, а второй с измельченным слоевищем Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris).

В течение 1 часа образцы теста поднимались в одинаковых по объему формах, после чего мы поместили его в предварительно разогретую духовку и выпекали в течение 1 часа.

После готовности и остывания оба образца были помещены в полиэтиленовые пакеты, плотно завязаны, т.е. были созданы благоприятные условия для развития плесневого грибка. Опыт был заложен 7.03.19.

12.03.19. на образце, в котором отсутствовал лишайник, появилась плесень. Которая интенсивно стала разрастаться, на образце хлеба, в который мы добавили измельченную Кладонию звездчатую на 15.03.19. наличие грибка не отмечаем. Эксперимент продлится до появления плесени 22.03.19 (приложение 4).

Образец хлеба с добавление лишайника нами был использован в пищу, горького вкуса, как предполагалось, не отмечаем.

**Вывод:** тесто в форме без добавления лишайника увеличивалось в объеме быстрее, после выпечки изделие оказалось также меньше в диаметре мы предполагаем, что лишайниковые вещества, предположительно усниновая кислота подавляла размножение дрожжей. Плесень на образце хлеба с добавлением лишайника появилась на 10 дней позже, что указывает на антисептические свойства Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris). Следовательно, ее можно использовать для выпечки хлеба с целью продления срока хранения хлебобулочных изделий.

**2.4. Определение наличия белков, жиров и углеводов в составе Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris).**

Лишайники рода Cladonia используются в пищу животными, а Кладония звездчатая (Cladonia stellaris) съедобна для человека, мы решили выяснить экспериментальным путем наличия в ней ценных для нашего организма органических веществ.

Эксперимент 6. Определение белков и углеводов.

В эксперименте использовали экстракт Кладония звездчатая (Cladonia stellaris). В экстракт лишайника поместили гидроксид натрия, а затем сульфат меди (II), наблюдали фиолетовое окрашивание, что указывает на наличие белков и углеводов. Затем полученный раствор нагрели на спиртовке, он поменял окраску на коричневый, что подтверждает наличие углеводов, в частности глюкозы.

При реакции экстракта лишайника с раствором йода на обнаружение крахмала, фиолетового окрашивания не получили.

При нанесении на слоевище лишайника концентрированной азотной кислоты, наблюдали его желтое окрашивание, что подтверждает наличие белков (приложение 5).

Эксперимент 7. Определение жиров.

В экстракт лишайника добавили перманганата калия. Наблюдали изменение окраски раствора с малиновой на бурую, что указывает на наличие соединений с двойными связями, не исключено, что это жирные непредельные кислоты, входящие в состав липидов (приложение 5).

**Вывод:** в состав лишайника Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) входят белки, жиры, углеводы – это позволяет обеспечить организм органическими соединениями при ее употреблении.

**2.5. Действие усниновой кислоты на белки.**

Далее у нас возник вопрос: «Если усниновая кислота обладает антибактериальной активностью, то она должна подавлять деятельность бактерий в кишечнике человека и животных?». Чтобы найти ответ на этот вопрос мы выполнили эксперименты:

Эксперимент 8. Биохимическое действие усниновой кислоты на белок яйца.

Реактивы и оборудование***:*** Спирт этиловый (96%-ный), кислота соляная 10%-ный раствор, усниновая кислота, яичный белок, пробирки.

В четыре пробирки прилили по 1 мл яичного белка. Первую пробирку оставили в качестве сравнения. Во второю пробирку добавили усниновую кислоту, в третью – соляную кислоту, в четвертую этиловый спирт. Соляная кислота и спирт необратимо разрушает белок, коагулируя его. Усниновая кислота не коагулирует белок (приложение 6).

**Вывод:** усниновая кислота – кислота средней силы. Она не вызывает коагуляцию белка и является биологически безопасной для бактерий кишечника, позвоночных и беспозвоночных животных, что подтверждает ее важнейшее значение в пищевой цепи питания, а также применения Кладонии звездчатой в пищу человеком

В ходе выполнения нашего исследования у нас возникло предположение, что при пережевывании лишайника в ротовой полости идет его обработка слюной, которая имеет слабощелочную среду, и при взаимодействии с усниновой кислотой наблюдается нейтрализация последней. Мы провели эксперимент.

Эксперимент 9. Нейтрализация усниновой кислоты ферментами слюны.

Поместили в пробирку 4-5 мл. усниновой кислоты и добавили такой же объем слюны человека.

Первая пробирка контрольная, которая указывает на наличие кислой среды, во второй пробирке произошел процесс нейтрализации при действии ферментов слюны, и цвет указывает на наличие нейтральной среды (приложение 6).

**Вывод:**Кладония звездчатая безопасна для человека и может применяться в пищевой промышленности.

**Выводы:**

1. Нами была изучена научно-популярная литература и Интернет источники по теме исследования, которая позволила нам убедиться в уникальности симбиотических взаимоотношений, выработавшихся в ходе эволюционного процесса между гетеротрофным грибом (микобионт) и автотрофной водорослью или цианобактерией (фикобионт). Кроме того, мы узнали, что общее название Ягель или «Олений мох» включает в себя 40 видов лишайников рода Кладония (Cladonia).

2. Используя маршрутный метод, нами были собраны образцы лишайников рода Кладония (Cladonia), которые встречаются в окрестностях Сургута. С помощью специалистов кафедры ботаники СурГу мы определили их видовой состав – это Cladonia stellaris (звездчатая, прежде она называлась альпийской), Cladonia rangiferina (оленья), Cladonia fimbriata(бахромчатая) и Cladonia sylvatica (лесная).

3. Мы изучили физиологию и экологию лишайников рода Кладония (Cladonia), а в частности вид Кладонию звездчатую (Cladonia stellaris), которая наиболее распространена в окрестностях города Сургута.

4. Нами была обнаружена усниновая кислота в экстракте Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris). Мы выяснили, что она является кислотой средней силы со значением рН около 3,5 ед. рН. Результаты, полученные с использованием разных индикаторов и цифрового USB-датчика, хорошо коррелируют между собой.

5. Усниновая кислота, входящая в состав лишайника Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) обладает антибактериальной активностью и подавляет развитие микрофлоры, это мы выяснили экспериментальным путем при внесении экстракта лишайника в приготовленные нами питательные смеси.

6. Экспериментальным путем мы определили, что в состав лишайника входят белки, углеводы, жиры, что имеет пищевую ценности при использовании Кладонии звездчатой (Cladonia stellaris) в пищу.

7. В ходе эксперимента с яичным белком мы доказали, что усниновая кислота не воздействует на животные белки и не вызывает их разрушения. Кроме того, уже в ротовой полости под действием ферментов слюны происходит ее нейтрализация, а следовательно, Кладония звездчатая (Cladonia stellaris) является съедобным лишайником как для животных так и для человека и может применяться в домашнем консервировании и выпечки хлеба.

8. Мы убедились в том, что усниновая кислота обладает бактерицидными свойствами, проводя эксперимент с консервированием огурцов и выпечкой хлеба в домашних условиях, и пришли к выводу, что ее использование может заменить химические консерванты, что положительно скажется на здоровье человека, а также продлит срок хранения хлебобулочных изделий.

Список используемой литературы

1. Аньшакова, В.В., Степанова, А.В., Смагулова, А.Ш. Химический анализ лешайников как потенциального биосырья //Современные проблемы науки и образования. – 2014. - №6.

2. Зубарев, А.И., Гончарова Е.А. Метод биоиндекации загрязнения окружающей среды на примере лишайников //Молодой ученый. – 2018. - №25. – с. 6-10.

3. Керимов, Ю.Б. Лишайники как источник фармакологической активности веществ /Ю.Б. Керимов// Фармация. – 1980. – 29. №5. – с. 51-58.

4. Кравченк, О.Ю. Перспективы применения лишайников в биотехнологии хлебобулочных изделий. – ГОУВПО «Иркутский гос. Технический университет» (ИрГТУ). 2010. – 137 с.

5.Мучник, Е.Э., Исарова, И.Д., Казакова, М.В. Учебный определитель лишайников Средней России: учебно-методическое пособие /Е.Э. Мучник, И.Д. Исарова, М.В. Казакова. – Рязань, 2011. – 360 с.

6. Седельников, Н.В. Лишайники проектируемого природного парка «Маньинский» /Н.В. Седельников [электронный ресурс] – Режим доступа: Cyberlenika.ru

7. Седельников, Н.В. Жизнь в поисках Сфинкса / Н.В. Седельников. //Наука в Сибири. – 2009. № 9. - с.7.

8. Тарасова, В.Н. Лишайники: физиология, экология, лихеноиндикация: учебное пособие / В.Н. Тарасова, А.В. Сонина, В.И. Андросова. - Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2012. – 267 с.

9.Томин, М. П. Определитель кустистых и листоватых лишайников СССР / М. П. Томин. – Минск, 1999. – 312 с.

10.Тарасова, В.Н., Сонина, А.В., Андросова В.И. Лишайники: физиология, экология, лехеноиндекация // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. - №11-1. – с. 76-77.

11.Храмченкова, О.М. Антибактериальные свойства экстрактов из четырех видов лишайников / О.М. Храмченкова. [Электронный ресурс] – Режим доступа: чьдгшд/рфтвду/123456789/12126