

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА

ЯЦКОВИНА НАТАЛІЯ ВІТАЛІЇВНА

Допускається до захисту:

в.о. завідувача кафедри,
ботаніки та екології
канд, біол. наук, доцент

_____ Машталер О.В.

« ____ » _____ 2025 р.

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КОМБУЧІ З РІЗНИМИ
ДОБАВКАМИ УКРАЇНСЬКИХ ВИРОБНИКІВ**

Спеціальність 091 Біологія та біохімія

Кваліфікаційна (магістерська) робота

Науковий керівник:

О.В Машталер, доцент кафедри
ботаніки та екології, доцент
канд. біол. наук

Оцінка: _____ / _____ /

Голова ЕК: _____

(підпис)

Вінниця 2025

АНОТАЦІЯ

Яцковина Н.В. Порівняльна характеристика комбучі з різними добавками українських виробників. Спеціальність 091 «Біологія та біохімія», Освітня програма «Біологія». Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, 2025

У магістерській роботі досліджено особливості формування чайного гриба в умовах вирощування без готового SCOBY, а також проаналізовано хімічні показники напою комбуча різних виробників і домашнього зразка. Показано, що за наявності необхідних мікроорганізмів та оптимальних умов формування симбіотичної культури відбувається стабільне накопичення органічних сполук, характерних для комбучі, що підтверджує можливість отримання якісного напою без використання маточного гриба. Встановлено істотні відмінності у вмісті редукуючих цукрів, глюкози та кислотності між дослідженими зразками: найвищий рівень редукуючих цукрів визначено у напої Vit-Fit, тоді як найнижчий – у зразку Spraga; концентрація глюкози в усіх зразках є мінімальною внаслідок інтенсивних метаболічних процесів; найнижчий показник рН виявлено у зразку Wild через складну рослинно-пряну композицію. Дослідження чутливості мікроорганізмів до антибіотиків показало значні відмінності у розмірах зон інгібування, що свідчить про різний рівень сприйнятливості клітин до пеніциліну, тетрацикліну, стрептоміцину та левоміцетину.

Ключові слова: комбуча, чайний гриб, редукуючі цукри, глюкоза, кислотність, антибіотики, чутливість мікроорганізмів.

Табл. 5. Рис. 6 Бібліограф.: 44 найм.

ANNOTATION

Yatskovyna N.V. Comparative characteristics of kombucha with different additives of Ukrainian producers. Specialty 091 «Biology and Biochemistry», Programme «Biology». Vasyl' Stus Donetsk National University, Vinnytsia, 2025

The master's thesis investigates the features of kombucha formation under conditions of cultivation without a ready-made SCOBY, and analyzes the chemical characteristics of kombucha beverages from various manufacturers and a homemade sample. It has been shown that in the presence of necessary microorganisms and optimal conditions for symbiotic culture formation, there is a stable accumulation of organic compounds characteristic of kombucha, confirming the possibility of obtaining a high-quality beverage without using a starter culture. Significant differences were found in the content of reducing sugars, glucose, and acidity among the studied samples: the highest level of reducing sugars was observed in the Vit-Fit beverage, while the lowest was in the Spraga sample; glucose concentration in all samples was minimal due to intensive metabolic processes; the lowest pH value was detected in the Wild sample due to its complex plant-spice composition. The study of microbial sensitivity to antibiotics revealed significant differences in inhibition zone diameters, indicating varying levels of cell susceptibility to penicillin, tetracycline, streptomycin, and chloramphenicol.

Keywords: kombucha, tea fungus, reducing sugars, glucose, acidity, antibiotics, microbial sensitivity.

Table 5. Figure 6. References: 44 titles.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1 Походження та історія використання чайного гриба.....	8
1.2 Біологічна природа симбіотичної системи чайного гриба.....	11
1.3 Хімічний склад та біологічно активні компоненти чайного гриба.....	14
1.4 Фактори, що впливають на ферментацію та якість комбучі.....	17
1.5 Потенційна користь та ефекти комбучі на здоров'я.....	19
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	22
2.1 Об'єкти та матеріали дослідження.....	22
2.2 Методи та методики дослідження.....	23
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	27
3.1 Вирощування чайного гриба без готового SCOBY.....	27
3.2 Колориметричне визначення вмісту редукуючих цукрів (за Ю.Г.Приседським та Л. Ніщенко)	32
3.3 Визначення вмісту глюкози за допомогою глюкозооксидази.....	34
3.4 Визначення рН.....	36
3.5 Визначення антибіотикорезистентності досліджених зразків	38
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	44

ВСТУП

Актуальність роботи. Комбуча (чайний гриб) є популярним ферментованим напоєм, який поєднує приємний смак і аромат з потенційною користю для здоров'я. Її актуальність зумовлена зростаючим інтересом населення до здорового способу життя, функціонального харчування та натуральних продуктів. У сучасному суспільстві комбуча розглядається як природна альтернатива солодким газованим і алкогольним напоям, оскільки має низьку калорійність і містить біологічно активні речовини. Вона приваблива для тих, хто прагне підтримувати здорову вагу та нормальну роботу організму.

До складу комбучі входять пробіотики, антиоксиданти, органічні кислоти, вітаміни та ферменти, які сприяють нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту, підтримці імунної системи, підвищенню загальної стійкості організму до несприятливих факторів середовища та поліпшенню самопочуття. Крім того, напій демонструє потенційну протимікробну активність, що робить його цікавим для використання у виробництві функціональних напоїв з профілактичними властивостями. Вивчення складу, фізико-хімічних, біологічних і протимікробних властивостей комбучі є актуальним завданням для сучасної харчової біотехнології та мікробіології і сприяє розвитку раціонального та здорового харчування.

Мета роботи: порівняти комбучу з різними добавками українських виробників за фізико-хімічними, біологічними та протимікробними показниками.

Для реалізації мети було заплановано виконання таких завдань:

1. Культивування чайного гриба (умовний контроль) без використання готового SCOBY у домашніх умовах;
2. Колориметричне визначення вмісту редуруючих цукрів за методом Ю.Г. Приседського та Л. Ніщенко.
3. Визначення вмісту глюкози за допомогою ферментативного методу з глюкозооксидазою.

4. Вимірювання показників кислотності (pH) досліджених зразків комбучі.

5. Визначення чутливості бактерій до різних антибіотиків.

Об'єкт досліджень – комбуча українських виробників, виготовлена з використанням різних рослинних, фруктових та інших натуральних добавок.

Предмет досліджень – фізико-хімічні, біологічні та протимікробні властивості комбучі з різними видами добавок, а також вплив складу добавок на формування цих показників.

Методи досліджень – у роботі використовувалися комплексні методи дослідження, включаючи біохімічні, біофізичні та фізіолого-біохімічні підходи для визначення складу та властивостей комбучі. Для оцінки протимікробної активності застосовувалися мікробіологічні методи, що дозволяють визначити вплив напою на ріст умовно-патогенних мікроорганізмів. Таке поєднання методів дає змогу всебічно оцінити як хімічні, так і біологічні параметри продукту та виявити фактори, які впливають на його якість.

Практичне значення – практичне значення роботи полягає у формуванні науково обґрунтованих даних щодо складу, біологічних та протимікробних властивостей комбучі. Це дозволяє оцінити її потенційну користь для здоров'я людини та рекомендувати як функціональний напій для включення у раціон. Результати дослідження можуть бути використані у харчовій промисловості для вдосконалення технології виробництва комбучі, створення нових рецептур із покращеними смаковими та функціональними характеристиками, а також для виробництва продуктів із підвищеною біологічною активністю.

Структура і обсяг магістерської роботи. Магістерська робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу про об'єкти та методи дослідження, експериментальної частини та висновків. Список використаних джерел включає 44 найменувань. Загальний обсяг роботи становить 47 сторінок друкованого тексту. Дослідження проводилось впродовж 2024–2025

пр. на кафедрі ботаніки та екології Донецького національного університету імені Василя Стуса.



РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Походження та історія використання чайного гриба

Історія комбучі сягає глибокої давнини та пов'язана з розвитком чайної культури й традиційних методів ферментації у Стародавньому Китаї. Походження цього напою, відомого сьогодні як комбуча або чайний гриб, датується приблизно III століттям до нашої ери, за часів династії Цінь, на північному сході Китаю [8, 42]. У давніх китайських джерелах згадується напій, відомий як «чай безсмертя», якому приписувалися численні оздоровчі властивості. Комбуча цінувалася за здатність зміцнювати імунну систему, підтримувати життєвий тонус і продовжувати молодість, а її споживання швидко поширилося серед різних соціальних верств - від імператорського двору до простолюду [15, 23].

Згідно з історичними переказами, перші згадки про напій пов'язують із правлінням імператора Цінь Ши Хуанді, для якого, за припущеннями, могли створити ферментований чай, що вважався “еліксиром довголіття”. Китай вважається не лише батьківщиною чаю, але й осередком найдавніших технологій ферментації, які надалі стали невід'ємною частиною світової харчової культури [23]. Саме в межах цих традицій виникла комбуча - продукт природного симбіозу дріжджів і бактерій, який згодом набув широкого поширення за межами Китаю.

Ймовірно, саме з Китаю комбуча потрапила до Японії приблизно у IV столітті нашої ери, коли, за переказами, корейський лікар на ім'я Комбу презентував напій імператору Інйоко як лікувальний засіб [23]. Напій швидко здобув популярність у японському суспільстві, зокрема серед самураїв, які споживали його для підвищення витривалості та сили перед битвою [33]. Звідси походить сучасна назва «комбуча», утворена від імені лікаря Комбу та слова «ча» - «чай».

У подальшому комбуча поширилася в інші країни Азії - зокрема до Індії, Кореї, Яви та Філіппін. В історичному регіоні Маньчжурія, на північному сході Китаю, вона набула особливої популярності, що підтверджують

численні історичні записи [25]. Поширення напою за межі Азії відбувалося поступово - через Шовковий шлях, який поєднував Китай з країнами Центральної Азії та Європи [10]. Саме завдяки активним торговельним і культурним зв'язкам комбуча потрапила до інших регіонів, зокрема до Східної Європи [30].

На початку XX століття напій почали активно вивчати європейські науковці. Комбуча отримала низку назв: «маньчжурський чайний гриб», «індійський чай», «чайне пиво», «чайний квас» тощо [23]. Зростання інтересу до неї було зумовлене як органолептичними властивостями, так і уявленнями про лікувальний потенціал. У цей період комбуча стала поширеним домашнім напоєм, що виготовлявся шляхом природного бродіння чаю з цукром та симбіотичною культурою мікроорганізмів.

Під час Другої світової війни популярність комбучі знизилася через нестачу цукру та чаю, однак уже у 1960-х роках вона пережила нову хвилю інтересу завдяки зростанню популярності натуральних засобів і альтернативної медицини [23]. Відродження популярності супроводжувалося науковими дослідженнями, що підтверджували потенційні переваги ферментованого чаю для травної системи, метаболізму та імунітету [19, 27].

У другій половині XX століття комбуча активно поширилася в США та країнах Західної Європи. Вперше вона привернула увагу американської спільноти у 1940-х роках, коли стала предметом досліджень у контексті функціональних напоїв [10, 12]. До 1990-х років комбуча вже асоціювалася з “натуральним еліксиром здоров'я”, і попит на неї зріс у зв'язку з модою на пробіотичні продукти. Проте у 1995 році Центри контролю та профілактики захворювань (CDC, США) повідомили про окремі випадки метаболічних ускладнень після споживання саморобної комбучі, що тимчасово зменшило її популярність [8, 40].

Попри це, у XXI столітті комбуча зазнала справжнього відродження. Зростання інтересу до пробіотичних і функціональних продуктів, а також до ферментованих напоїв із природним складом сприяло її поширенню на

світовому ринку. За даними досліджень, у 2019 році світовий ринок комбучі оцінювався у 1,84 мільярда доларів США, а прогнозовані темпи зростання до 2027 року становлять близько 23,2% [27].

Крім того, історія комбучі нерозривно пов'язана із загальною історією розвитку ферментованих продуктів, які відіграють важливу роль у становленні людських цивілізацій. Ферментовані напої та продукти харчування не лише мали харчову цінність, а й слугували елементом культурної ідентичності народів [35]. У сучасних умовах популярність комбучі продовжує зростати завдяки підвищеному інтересу до здорового харчування, мікробіому людини та природних функціональних компонентів.

Під час пандемії COVID-19 комбуча знову опинилася у центрі уваги через її потенційні імуномодуючі та противірусні властивості [8]. Вона сприймається як напій, що поєднує давні традиції ферментації з сучасними тенденціями у сфері здорового харчування [13].

У сучасний період чайний гриб, або комбуча, знову набуває широкої популярності у світі як натуральний ферментований напій із потенційними оздоровчими властивостями. Попит на продукти природного походження, що містять пробіотики, антиоксиданти та біологічно активні сполуки, сприяв відродженню інтересу до комбучі не лише серед споживачів, а й у наукових колах. У багатьох країнах Європи, Азії та Америки налагоджено промислове виробництво цього напою з використанням сучасних технологій контролю ферментації, що забезпечують стабільність якості та безпечність продукту.

Значну увагу приділяють дослідженню хімічного складу комбучі, її мікробіологічного балансу, впливу на організм людини та потенційного застосування в медицині й дієтології. За останні роки опубліковано велику кількість наукових праць, які описують антиоксидантну, протимікробну, гепатопротекторну та детоксикаційну дію напою. Особливо активно комбучу вивчають як альтернативу синтетичним функціональним напоям, зокрема через високий вміст органічних кислот (оцтової, глюконової, глюкуронової), поліфенолів та вітамінів групи В.

Сьогодні комбучу виробляють на основі не лише традиційного чорного чи зеленого чаю, а й рослинних настоїв, соків та навіть водоростей, що дозволяє розширювати асортимент і створювати продукти з різними органолептичними властивостями [28, 31]. В Україні також спостерігається зростання інтересу до чайного гриба, особливо серед малих фермерських виробництв та прихильників здорового способу життя.

Таким чином, у сучасних умовах комбуча перетворилася з домашнього ферментованого напою на перспективний об'єкт наукових досліджень та важливий сегмент ринку функціональних продуктів харчування, поєднуючи давні традиції приготування з новітніми підходами до технології виробництва.

1.2 Біологічна природа симбіотичної системи чайного гриба

Біологічна природа симбіотичної системи чайного гриба (комбучі) є складною багатокомпонентною мікробною екосистемою, у якій тісно співіснують різні види дріжджів і бактерій. Вони формують стабільний консорціум, що функціонує як єдиний живий організм [5]. Основу симбіозу становить взаємозалежність між мікроорганізмами, які забезпечують безперервність, послідовність та завершеність процесів ферментації. Таке гармонійне співіснування дріжджів і бактерій забезпечує унікальні властивості напою - стабільність складу, саморегуляцію екосистеми та відтворюваність смакових і біохімічних характеристик готового продукту [1, 6].

Процес ферментації комбучі охоплює три основні типи бродіння - спиртове, молочнокисле та оцтове. На початкових етапах провідну роль відіграють дріжджі, зокрема *Saccharomyces cerevisiae*, які гідролізують сахарозу до глюкози та фруктози, використовуючи їх як джерело енергії. Під час цього процесу утворюються етанол, вуглекислий газ та низка проміжних метаболітів, включаючи гліцерин і ефіри [39]. Вони формують ароматичний профіль напою та створюють анаеробні умови, необхідні для активізації бактерій. На наступному етапі у процес включаються оцтовокислі бактерії

родів *Acetobacter* і *Gluconobacter*, які окислюють етанол до оцтової кислоти, а також синтезують глюконову і глюкуронову кислоти, що знижують рН середовища і пригнічують розвиток сторонньої мікрофлори [1].

Симбіотична культура чайного гриба складається з двох взаємопов'язаних частин - плаваючої плівки (біоматриксу) та рідкої фази. Біоплівка, яка формується на поверхні напою, представлена бактеріальною целюлозою і є головним місцем концентрації мікроорганізмів. У її складі домінують ацетобактерії, насамперед представники виду *Komagataeibacter xylinus*, які синтезують бактеріальну целюлозу, що формує міцну, еластичну та водонепроникну структуру. Ця структура не лише захищає мікроорганізми від механічних та хімічних впливів, а й виконує низку життєво важливих функцій для підтримки симбіотичної системи.

Біоплівка забезпечує локалізацію мікроорганізмів, підтримує оптимальний доступ кисню для аеробних бактерій і стабілізує фізико-хімічні параметри середовища, включаючи вологість і температуру. Вона регулює газообмін і створює мікрооточення, яке сприяє активному метаболізму учасників симбіозу, включно з дріжджами та бактеріями, і підтримує їхню життєдіяльність у процесі ферментації.

Рідинна фаза, у свою чергу, містить переважно дріжджові клітини, які ініціюють ферментацію та постачають бактеріям проміжні продукти -етанол, глюкозу, фруктозу, амінокислоти. Важливою особливістю є те, що дріжджі та бактерії не конкурують між собою, а взаємодіють кооперативно. Дріжджі створюють для бактерій необхідні субстрати, а бактерії стабілізують середовище, запобігаючи його зараженню шкідливими мікроорганізмами. Саме ця взаємна підтримка пояснює надзвичайну стабільність симбіозу, здатного до самовідновлення навіть після тривалого зберігання [10].

Мікробна спільнота комбучі характеризується значним видовим різноманіттям, що визначає її складний біохімічний, фізико-хімічний та органолептичний профіль. Серед бактерій найчастіше зустрічаються представники родів *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* і

Komagataeibacter [11]. Ці мікроорганізми синтезують різноманітні органічні кислоти, зокрема оцтову, глюконову та глюкуронову, які не лише формують характерний смак, аромат і кислотність напою, а й виконують важливі біологічні функції. Зокрема, вони сприяють виведенню токсинів з організму людини та беруть участь у загальному процесі детоксикації, підвищуючи біологічну цінність комбучі.

У складі комбучі часто виявляють молочнокислі бактерії родів *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus* і *Bifidobacterium*, які виконують кілька ключових функцій. Вони беруть участь у формуванні кислотного балансу напою, регулюють рН середовища та сприяють стабільності ферментаційного процесу [44]. Крім того, їхня активність підвищує антиоксидантну здатність напою, сприяє накопиченню біологічно активних сполук та надає комбучі потенційних пробіотичних властивостей. Це робить напій корисним для підтримки здорової мікрофлори кишечника, оптимізації травлення та загального зміцнення імунної системи. Таким чином, мікробна спільнота комбучі формує складну симбіотичну систему, де взаємодія бактерій і дріжджів забезпечує стабільність ферментації та високу біологічну цінність кінцевого продукту [14, 34].

Дріжджі у складі чайного гриба представлені переважно видами *Saccharomyces cerevisiae*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida* та *Pichia*, і вони виконують ключову роль у підтриманні симбіотичної екосистеми комбучі. Основна функція дріжджів полягає у забезпеченні спиртового бродіння, що є початковим етапом ферментаційного процесу, необхідним для подальшого утворення оцтової та інших органічних кислот.

Дріжджі синтезують численні ферменти, здатні розщеплювати складні поліфенольні сполуки чаю на менші та більш біодоступні фракції, що сприяє збільшенню антиоксидантної активності напою. Крім того, дріжджі виділяють вітаміни групи В, ферменти та амінокислоти, які створюють сприятливі умови для росту та метаболічної активності оцтовокислих бактерій, тим самим підтримуючи стабільність симбіотичної системи [24].

Після завершення життєвого циклу дріжджові клітини піддаються автолізу, внаслідок чого у середовище надходять додаткові поживні речовини, включно з нуклеотидами, пептидами та мікроелементами, що стимулюють подальшу активність мікроорганізмів. Завдяки цьому забезпечується взаємопідтримка між дріжджами та бактеріями, формуючи збалансовану мікробну спільноту. Така взаємодія сприяє ефективному перебігу ферментації, формуванню характерного смаку та аромату комбучі, а також підвищенню її біологічної цінності та потенційних функціональних властивостей [26, 37].

Варто зазначити, що кожен компонент симбіозу виконує певну функцію у підтриманні стабільності системи. Дріжджі ініціюють ферментацію, бактерії регулюють кислотність і збагачують напій органічними кислотами, а бактеріальна целюлоза створює сприятливі умови для життєдіяльності обох груп мікроорганізмів. Завдяки такій організації комбуча є прикладом природного біотехнологічного симбіозу, у якому відбувається взаємовигідне співіснування різних типів мікроорганізмів. Така система характеризується високою адаптивністю до змін навколишнього середовища, стабільністю біохімічного складу та здатністю підтримувати екологічну рівновагу [32].

1.3 Хімічний склад та біологічно активні компоненти чайного гриба

Комбуча є традиційним ферментованим напоєм на основі чайного настою, який протягом багатьох століть використовувався в різних культурах завдяки своїм лікувально-профілактичним властивостям. Напій формується за рахунок дії симбіотичної культури бактерій та дріжджів SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), що забезпечує ферментацію цукру та чайного екстракту з утворенням широкого спектра біологічно активних сполук [41]. Процес ферментації супроводжується складною взаємодією дріжджів і бактерій, де дріжджі розщеплюють сахарозу на глюкозу, фруктозу та вуглекислий газ, що сприяє природній карбонізації напою, тоді як оцтовокислі бактерії окислюють утворений етанол до оцтової кислоти. Така синергія

мікроорганізмів дозволяє отримати комплексний продукт із високою біологічною активністю та стабільністю [22, 33].

Поліфеноли, що надходять із чайного листа, є основним джерелом антиоксидантної активності комбучі. До них відносяться катехіни, флавоноїди, теафлавіни та теарубігіни, які в процесі ферментації метаболізуються під впливом ферментів SCOBY, перетворюючись у більш біодоступні форми. Такі трансформації підвищують їхню ефективність у нейтралізації вільних радикалів та захисті клітин від оксидативного стресу. Особливої уваги заслуговує епігалокатехін-3-галат (EGCG), основний поліфенол зеленого чаю, який за даними досліджень проявляє антиоксидантну активність у 25–100 разів вищу за вітаміни С та Е [19]. Максимальна концентрація поліфенолів і, відповідно, антиоксидантна активність спостерігається залежно від типу чаю: у чорного чаю — на 8-й день ферментації, у ячмінного — на 10-й, а у рисового — на 12-й день, що свідчить про значну роль тривалості бродіння у формуванні біологічної активності напою [23, 31].

Органічні кислоти, що утворюються під час ферментації, відіграють багатофункціональну роль у комбучі. До них належать оцтова, глюконова, глюкуронова, молочна та аскорбінова кислоти. Вони забезпечують характерну кислуватість напою, створюють несприятливе середовище для патогенних мікроорганізмів, сприяють збереженню продукту та регулюють стан кишкової мікрофлори. Глюкуронова кислота, зокрема, є ключовим компонентом комбучі: вона бере участь у детоксикації організму, метаболізмі стероїдних гормонів і адреналіну, а також сприяє підтримці стану суглобів та профілактиці артрити [25]. Під час ферментації також утворюється етанол, який водночас виступає проміжним продуктом метаболізму дріжджів і стимулює ріст оцтовокислих бактерій, підвищуючи продукцію оцтової кислоти та посилюючи антимікробну активність комбучі [22, 25].

Амінокислоти, що формуються під час ферментації, включають лізин, лейцин, ізолейцин, теанін та інші сполуки, які відіграють важливу роль у

регуляції метаболізму, синтезі нейротрансмітерів і зменшенні стресових реакцій. Частина амінокислот перетворюється у біогенні аміни, які у малих концентраціях є корисними, проте їхнє надмірне накопичення може становити потенційну небезпеку для здоров'я [22].

Вітамінний склад комбучі включає водорозчинні вітаміни групи В (В1, В2, В6, В12) та вітамін С. Вітаміни групи В регулюють роботу нервової системи, підтримують нормальний обмін речовин, знижують стрес та сприяють поліпшенню когнітивних функцій. Вітамін С виконує антиоксидантну функцію, захищає печінку та нейтралізує вільні радикали, зміцнює імунітет і підтримує енергетичний баланс [14, 25].

Мінеральний склад комбучі включає калій, магній, кальцій, залізо, цинк, мідь та інші мікроелементи, що забезпечують електролітний баланс, регуляцію серцево-судинної системи та підтримку нормальних обмінних процесів [29]. Взаємодія мінералів з органічними кислотами і поліфенолами підсилює біологічну активність напою, сприяючи його детоксикаційній дії.

Хімічний склад і концентрація біологічно активних компонентів комбучі значною мірою залежать від вихідної сировини та умов ферментації. Тип та якість чайного листя, концентрація цукру, температура ферментації, тривалість бродіння та щільність культури SCOBY визначають швидкість метаболічних процесів і кінцевий склад напою [25,29]. Дослідження показують, що чорний чай забезпечує більш високу різноманітність фенольних сполук та антиоксидантну активність, а зелені та трав'яні чаї можуть формувати специфічний профіль поліфенолів і органічних кислот із певними протизапальними та нейропротекторними властивостями. Максимальний рівень органічних кислот зазвичай досягається між сьомим та чотирнадцятим днем ферментації, тоді як триваліше бродіння сприяє накопиченню амінокислот, вітамінів і органічних сполук, що підвищує функціональну активність напою [7, 22].

Таким чином, комбуча є складним багатофакторним ферментованим продуктом, у складі якого органічні кислоти, поліфеноли, амінокислоти,

вітаміни та мінерали взаємодіють, формуючи широкий спектр біологічної активності. Напій проявляє антиоксидантну, адаптогенну, антимікробну та детоксикаційну дію, сприяє підтримці імунної системи, нормалізації обмінних процесів, зниженню стресу, підвищенню концентрації уваги та покращенню функцій травної системи. Комбуча завдяки такому багатогранному складу розглядається як перспективний продукт для оздоровчого харчування та потенційного фармацевтичного застосування [20, 26].

1.4 Фактори, що впливають на ферментацію та якість комбучі

Ферментація комбучі є складним багатостадійним біохімічним процесом, який відбувається за участю симбіотичної культури дріжджів та оцтовокислих бактерій. У результаті їхньої взаємодії утворюються органічні кислоти, амінокислоти, поліфенольні сполуки, вітаміни та бактеріальна целюлоза, що формують функціональні властивості та унікальний смаковий профіль напою [22, 29]. Якість кінцевого продукту залежить від низки чинників, що визначають інтенсивність перебігу ферментації, стабільність мікробіоценозу та фізико-хімічні параметри середовища.

Одним із ключових факторів є вибір субстрату, який слугує основою для розвитку мікроорганізмів. Найчастіше використовують чайний настій, який може бути чорним, зеленим, білим або трав'яним. Кожен вид чаю відрізняється співвідношенням поліфенолів, катехинів, флавоноїдів та інших біоактивних речовин, що впливають на антиоксидантну активність напою, його колір, аромат і швидкість ферментації [10, 20]. Використання різної рослинної сировини зумовлює не лише відмінності в смакових характеристиках, але й у структурі бактеріальної целюлози, оскільки фенольні сполуки та вуглеводи виступають джерелами живлення для оцтовокислих бактерій. Додавання фруктових або овочевих компонентів до основного настою розширює спектр субстратів, впливаючи на кислотність, вміст цукрів та біоактивних метаболітів комбучі, що підсилює її оздоровчі властивості [10, 19].

Важливу роль відіграє концентрація цукру, адже саме він є основним джерелом енергії для дріжджів. Під час ферментації сахароза гідролізується до глюкози та фруктози, які мікроорганізми перетворюють на етанол, а той, у свою чергу, використовується оцтовокислими бактеріями для утворення оцтової, глюконової та інших органічних кислот [10, 26]. Оптимальний вміст сахарози забезпечує активну роботу мікроорганізмів, стабільне утворення кислот і належне формування бактеріальної плівки. Недостатня кількість цукру знижує швидкість ферментації, а його надлишок провокує інтенсивне спиртове бродіння та небажані смакові зміни [7, 29].

Температурний режим є ще одним критично важливим параметром. Від температури залежить активність дріжджів і бактерій, а отже, й швидкість утворення органічних кислот, розщеплення амінокислот і синтез ароматичних сполук [10, 19]. Підвищення температури пришвидшує біохімічні реакції, але при надмірному нагріванні накопичуються кислоти, що можуть зумовити надто різкий, гіркуватий смак. Зниження температури, навпаки, уповільнює ферментацію, через що напій може втратити характерну кислинку та ароматичну насиченість [6, 23, 43].

Не менш важливим є час ферментації. На початкових етапах переважає дріжджова активність, а згодом - оцтовокисла, тому тривалість визначає співвідношення спиртів і кислот, ароматичний профіль та антиоксидантну активність. Занадто коротка ферментація призводить до недостатньої кислотності та слабого смаку, а надмірно довга - до перекислення, деградації амінокислот і зниження біологічної цінності продукту [18, 21].

Важливим фактором є також початкова мікробна інокуляція, тобто кількість і співвідношення дріжджів і бактерій, внесених у субстрат. Від цього залежить баланс між різними стадіями ферментації, темпи росту мікроорганізмів та утворення метаболітів [14, 18]. Якщо мікробна інокуляція недостатня - процес сповільнюється, якщо надлишкова - відбувається накопичення надмірної кількості етанолу й кислот. Оптимальне співвідношення мікроорганізмів сприяє гармонійному формуванню

бактеріальної целюлози, правильному газоутворенню та стабільній консистенції напою [17, 29].

Серед додаткових умов варто зазначити аерацію та обсяг контейнера, оскільки наявність кисню є критичною для життєдіяльності оцтовокислих бактерій, які відповідають за утворення плівки з бактеріальної целюлози. Глибина та площа поверхні настою визначають інтенсивність газообміну, що впливає на стабільність мікробного середовища [29]. Не менш значущими є якість води, її рН та мінералізація - від цих показників залежить метаболічна активність мікроорганізмів, швидкість ферментації, прозорість та смак напою [19, 21].

Таким чином, усі перелічені фактори діють у комплексі, формуючи органолептичні, хімічні та біологічні характеристики комбучі. Правильна комбінація умов ферментації забезпечує отримання продукту з високим вмістом органічних кислот, стійким поліфенольним профілем, насиченим амінокислотами та антиоксидантами, а також з рівномірною структурою бактеріальної целюлози [16]. Контроль цих параметрів дозволяє досягти збалансованості між кислотністю, смаком, ароматом і функціональною цінністю комбучі [8, 26]. Отже, оптимізація всіх складових процесу є основою для виробництва напою стабільної якості, що відповідає вимогам сучасних стандартів функціональних харчових продуктів.

1.5 Потенційна користь та ефекти комбучі на здоров'я

Комбуча є традиційно ферментованим напоєм, що готують із чорного або зеленого чаю (*Camellia sinensis*), проте сучасні дослідження показують, що для її приготування можна використовувати різноманітні субстрати, включно з травами, овочами, фруктами, соєвими продуктами та кавою [7, 21]. Ферментаційний процес забезпечується симбіотичною культурою дріжджів та бактерій, відомою як SCOBY, яка розщеплює цукри та синтезує органічні кислоти, поліфеноли, амінокислоти, вітаміни та інші біологічно активні сполуки [7, 30]. У результаті формується напій з підвищеною

антиоксидантною активністю, здатний нейтралізувати вільні радикали, запобігати окислювальному стресу та підтримувати загальний біохімічний баланс організму.

Антиоксидантна активність комбучі зумовлена насамперед вмістом поліфенолів, флавоноїдів, антоціанів та фенольних кислот, які накопичуються протягом ферментації [7, 9]. Ці сполуки не лише безпосередньо нейтралізують вільні радикали, але й активують внутрішні антиоксидантні системи організму, зокрема ферменти супероксиддисмутази (SOD), каталазу (CAT), глутатіонпероксидазу (GPx), глутатіонредуктазу (GR) та глутатіон-S-трансферазу (GST) [7, 9]. Експериментальні дослідження демонструють, що регулярне вживання комбучі зменшує утворення активних форм кисню та азоту, знижує рівень перекисного окислення ліпідів і захищає клітинні структури від окислювального пошкодження [9, 21].

Вибір субстратів для ферментації відіграє ключову роль у підвищенні антиоксидантної здатності напою. Використання альтернативних джерел, таких як листя ройбушу, йерба-мате, кавові зерна, овочі та фрукти, дозволяє отримати комбучу з більш високим вмістом фенольних сполук і покращеною біодоступністю антиоксидантів. Це пояснюється дією ферментів мікроорганізмів на складні поліфенольні комплекси: під час ферментації вони розщеплюються на простіші, легше засвоювані форми, що значно підвищує їх здатність нейтралізувати вільні радикали [7, 30].

Окрім прямої антиоксидантної дії, комбуча сприяє регуляції окислювального стану організму через модуляцію ферментативних та неферментативних антиоксидантних механізмів. Дослідження на клітинних культурах та лабораторних моделях показали, що компоненти комбучі стабілізують клітинні мембрани, зменшують окислювальний стрес і підвищують активність антиоксидантних ферментів, що у сукупності забезпечує захист органів та тканин від ушкоджень, спричинених вільними радикалами [7, 9, 21].

Комбуча також має виражені протизапальні та імуномодулюючі властивості [7, 21]. Експериментальні дані свідчать, що напій зменшує вироблення прозапальних цитокінів, таких як IL-1 β , IL-6, TNF- α , та пригнічує активність ферментів циклооксигенази (COX) і індукцибельної синтази оксиду азоту (iNOS) [7, 21]. У моделях експериментального аутоімунного енцефаломієліту у мишей напої на основі чорного або зеленого чаю зменшували демієлінізацію, запальні інфільтрати та рівні оксиду азоту, що свідчить про потенціал комбучі у підтримці імунної системи та зниженні хронічного запалення [7, 21].

Окрім того, комбуча позитивно впливає на мікробіоту кишечника, стимулюючи ріст бактерій, які продукують бутират, що додатково підсилює протизапальну дію напою [30, 39]. До складу напою входять органічні кислоти (оцтова, глюконова, яблучна та молочна), амінокислоти, вітаміни та мінерали, що робить його функціональним продуктом з комплексною дією на організм [7, 9, 36]. Біологічна активність комбучі залежить від виду чайного субстрату, тривалості ферментації та температурного режиму, що визначає концентрацію антиоксидантних та протизапальних сполук [9, 21, 38].

Таким чином, комбуча є багатофункціональним ферментованим напоєм, який завдяки високому вмісту біоактивних сполук володіє антиоксидантними, протизапальними та імуномодулюючими властивостями. Використання різноманітних субстратів та контроль параметрів ферментації дозволяють регулювати біологічну активність напою, роблячи його перспективним продуктом у сфері функціонального харчування та нутрицевтики [9, 30].

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єкти та матеріали досліджень

Об'єктом дослідження є чайний гриб, відомий як SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), та його продукт ферментації - комбуча з різними добавками. Чайний гриб представляє собою симбіотичну культуру дріжджів і оцтовокислих бактерій, які взаємодіють між собою та утворюють складну багатошарову структуру: щільний верхній шар, який є основою для подальшого росту, та пухку нижню частину, з якої висять тонкі ниткоподібні структури, що складаються з дріжджів. Ця особливість морфології забезпечує оптимальні умови для ферментації, адже верхній шар підтримує цілісність культури та концентрацію активних мікроорганізмів, тоді як нижня частина забезпечує контакт з живильним середовищем і сприяє рівномірному розподілу бактерій та дріжджів.

У процесі ферментації мікроорганізми перетворюють цукри, що містяться у чайному відварі, переважно глюкозу і фруктозу, на органічні кислоти, такі як оцтова, глюконова та молочна, а також на етанол і вуглекислий газ. Етанол, утворений дріжджами, забезпечує характерний аромат і легку кислотність напою, а вуглекислий газ створює природну газовану текстуру, надаючи бульбашки та приємну шипучість. Оцтовокислі бактерії, такі як *Acetobacter* та *Gluconobacter*, перетворюють етанол на оцтову кислоту, що підвищує кислотність та стабільність комбучі, тоді як молочнокислі бактерії роду *Lactobacillus* здатні виробляти молочну кислоту, впливаючи на смак та подовжуючи термін зберігання напою. Взаємодія дріжджів і бактерій є ключовою для підтримки симбіотичного балансу, оскільки побічні продукти ферментації одного виду мікроорганізмів слугують поживними речовинами для іншого. Целюлоза, що утворюється в комбучі, формує густу мережу ниткоподібних структур, яка утримує та підтримує ріст мікроорганізмів, забезпечуючи стабільність та життєздатність культури.

2.2 Методи досліджень

Для вирощування чайного гриба використовували стандартну методику формування симбіотичної культури SCOBY у контрольованих умовах без застосування готового маточного шару. Для успішного запуску процесу забезпечували наявність необхідних мікроорганізмів, дріжджів та ацетобактерій, та створювали оптимальні умови для їхнього розвитку: аеробне середовище, стабільну температуру, відсутність прямого сонячного світла та джерело цукру. Проводили щоденне спостереження за станом культури: оцінювали щільність верхнього шару, появу тонких висячих ниток, формування піни та бульбашок, наявність осаду та зміну кольору рідини. Ці візуальні показники дозволяли оцінити рівень активності мікроорганізмів та динаміку розвитку симбіотичної культури. Крім того, звертали увагу на формування характерної структури верхнього шару SCOBY, адже його щільність, однорідність та еластичність свідчили про життєздатність та стабільність мікробної спільноти. Спостереження проводилися протягом усієї ферментації для визначення оптимального терміну збору напою та подальшого використання культури для нових циклів виробництва комбучі.

Визначення редукуючих цукрів у зразках комбучі проводили колориметричним методом за Ю.Г. Приседським та Л. Ніщенко[3]. Метод базувався на здатності редукуючих цукрів відновлювати сполуки міді у лужному середовищі з утворенням оксиду міді (I), який випадав у вигляді червоного осаду. Осад фільтрували через скляний фільтр №3 (пор 40) або №4 (пор 16), після чого розчиняли у нагрітому до 35–37 °C насиченому розчині хлориду амонію, утворюючи комплексну сполуку міді. Оптичну густину розчину визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 590 нм і порівнювали з оптичними даними стандартного розчину глюкози для обчислення концентрації редукуючих цукрів. Для проведення аналізу використовували водяну баню, піпетки об'ємом 1, 5 та 10 мл, колбу Бунзена, фільтри Шотта №3 або №4, мірні колби на 50 та 100 мл, конічні колби на 100 мл, лійки, електричну плиту, термометр, ступку з товкачиком і

спектрофотометр. Реактиви включали 4% розчин сульфату міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), лужний розчин сегнетової солі ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 4% розчин гідроксиду натрію (NaOH), 10% розчин ацетату свинцю ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), насичений розчин сульфату натрію (Na_2SO_4), насичений розчин хлориду амонію (NH_4Cl) та стандартний розчин глюкози. Лужний розчин сегнетової солі готували шляхом розчинення 200 г калій-натрій тартрату у 500 мл дистильованої води, додавання 150 г NaOH , перенесення розчину у мірну колбу на 1 л та доведення об'єму до мітки дистильованою водою. Стандартний розчин глюкози готували шляхом розчинення 100 мг глюкози у 50–60 мл дистильованої води та доведення об'єму до 100 мл у мірній колбі, отримуючи концентрацію 1 мг/мл, яку за потреби розбавляли до 0,5 мг/мл.

Для підготовки зразків 50 мл комбучі поміщали на водяну баню при 80–90 °C та екстрагували редукуючі цукри протягом однієї години з періодичним збовтуванням. Після охолодження додавали 5 мл 10% розчину ацетату свинцю для осадження білків, доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою та фільтрували через паперовий фільтр. Для усунення залишків свинцю до 50 мл фільтрату додавали 3–5 мл насиченого розчину сульфату натрію, перемішували та доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою. Підготовлений розчин використовували для проведення колориметричної реакції з мідно-лужним комплексом, після кип'ятіння суміш фільтрували, осад розчиняли у насиченому розчині хлориду амонію при 35–40 °C, доводили об'єм до 10 мл та вимірювали оптичну густину. Концентрацію редукуючих цукрів розраховували за формулою $C = C_{\text{станд}} \times (D_{\text{досл}} / D_{\text{станд}})$, де C — концентрація цукрів у дослідному розчині (мг/мл), $C_{\text{станд}}$ — концентрація стандарту (мг/мл), $D_{\text{досл}}$ — оптична густина дослідного зразка, $D_{\text{станд}}$ — оптична густина стандартного розчину.

Визначення вмісту глюкози здійснювали ферментативним методом із застосуванням глюкозооксидази. Фермент окислював глюкозу до глюконової кислоти, утворюючи перекис водню, який у присутності пероксидази, фенолу та 4-амінофеназону реагував з утворенням рожевого забарвлення.

Інтенсивність забарвлення вимірювали спектрофотометрично або фотоелектроколориметрично, що забезпечувало високу специфічність та точність визначення, оскільки інші цукри не впливали на результат. Для підготовки зразків 50 мл комбучі переносили у мірну колбу на 100 мл та нагрівали на водяній бані при 80–90 °С протягом однієї години з періодичним струшуванням. Після охолодження додавали 5 мл 10% розчину ацетату свинцю для осадження білків, доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою та фільтрували. Для усунення залишків свинцю додавали 3–5 мл насиченого розчину сульфату натрію та доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою. Аналітичний розчин змішували з робочим реагентом глюкозооксидази-пероксидази, інкубували при 37 °С протягом 12 хвилин, після чого вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 540 нм. Концентрацію глюкози розраховували за формулою $C = (E_{\text{досл}} / E_{\text{станд}}) \times C_{\text{станд}}$, де $E_{\text{досл}}$ — оптична густина дослідного зразка, $E_{\text{станд}}$ — оптична густина стандарту, $C_{\text{станд}}$ — концентрація стандартного розчину.

Рівень рН зразків комбучі визначали лабораторним рН-метром. Зразки наливали у чисту посудину, занурювали електрод, фіксували стабільне значення рН та повторювали вимірювання кілька разів для підвищення достовірності. Після завершення вимірювань електроди ретельно очищували та обробляли у спеціальному розчині для забезпечення точності та довготривалої стабільності наступних вимірювань.

Для вивчення мікробіологічного складу комбучі готували живильне середовище — картопляно-глюкозний агар (КГ). Для цього 200 г очищеної та нарізаної картоплі відварювали в 1 л води близько однієї години, фільтрували для видалення твердих частинок, додавали 10 г глюкози як джерело вуглеводів та 10 г агар-агару як желювальний компонент, доводили об'єм до 1 л та кип'ятили для повного розчинення. Після охолодження до 45–50 °С розливали у стерильні пробірки та чашки Петрі, готуючи 14 одиниць для інокуляції. Це середовище забезпечувало рівномірний ріст бактерій та дозволяло ефективно оцінювати їх морфологічні та функціональні характеристики.

Визначення чутливості бактерій до антибіотиків проводили методом дисків. На поверхню агару наносили 2–3 краплі комбучі, рівномірно розподіляли стерильним шпателем та розміщували індикаторні диски з антибіотиками: пеніцилін, стрептоміцин, левоміцетин і тетрациклін. Чашки інкубували при 30 °С протягом 72 годин. Після інкубації оцінювали ріст бактерій та визначали діаметри зон пригнічення лінійкою у міліметрах. Для підвищення точності кожну зону вимірювали у двох взаємно перпендикулярних напрямках та брали середнє значення. На основі розмірів зон оцінювали чутливість: діаметр 11–15 мм — малочутливі, 15–25 мм — чутливі, понад 25 мм — височутливі. Метод дозволяв не тільки визначити ефективність антибіотика, а й оцінити здатність мікроорганізмів комбучі до протидії антимікробним агентам, що є важливим для розуміння їх потенційного впливу на мікрофлору та безпеку напою.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Вирощування чайного гриба без готового SCOBY

У результаті проведеного експерименту було успішно вирощено повноцінну культуру чайного гриба (SCOBY) без використання готового шару, що підтверджує можливість самостійного формування симбіотичної системи з наявної стартової рідини. Для експерименту використовувався 1 літр солодкого чорного чаю, до якого додано 200 мл магазинної стартової рідини, що містила активні дріжджі та молочнокислі бактерії. Забезпечення доступу кисню за допомогою марлевого покриття створило оптимальні умови для аеробного розвитку ацетобактерій, що є ключовим фактором у формуванні полімерної плівки SCOBY.

У перші три доби культура перебувала на дні посудини, що відповідає початковій фазі розвитку чайного гриба, коли мікроорганізми адаптуються до нового середовища та починають процес активного розмноження. На сьомий день (рис. 3.1.) спостерігалось підняття культури до поверхні рідини та формування тонкого шару слизової структури, що свідчило про початок ацетобактеріального бродіння. У подальші дні SCOBY продовжував нарощувати товщину та діаметр, утворюючи щільну біоцелюлозну мембрану - продукт життєдіяльності оцтовокислих бактерій, які синтезують целюлозу з глюкози.



Рисунок 3.1. Молодий чайний гриб через 1 тиждень

Ферментація відбувалася протягом 90 днів при середній температурі 24 °C - показнику, який є оптимальним для росту і метаболічної активності дріжджів (*Saccharomyces* spp.) та ацетобактерій (*Acetobacter* spp.). Дріжджі в процесі гліколізу перетворювали сахарозу, присутню у чаї, на етанол і вуглекислий газ, тоді як ацетобактерії, використовуючи етанол як субстрат, окислювали його до оцтової, глюконової та інших органічних кислот. Завдяки цій біохімічній взаємодії напій набував характерного кисло-солодкого смаку, природного газування та приємного аромату ферментації.

Через 21 день після початку експерименту на поверхні рідини утворився первинний шар чайного гриба, який з часом продовжував потовщуватись. Після 90 днів (рис. 3.2.) культивування утворилася міцна, еластична плівка товщиною близько 1,5 см і діаметром 14 см. Отримана культура мала однорідну структуру, світло-бежеве забарвлення і продемонструвала повну життєздатність, що дозволяє використовувати її як стартову основу для наступних циклів ферментації.



Рисунок 3.2. Чайний гриб через 90 днів

Результати експерименту підтвердили, що навіть без використання готового SCOBY можливе успішне вирощування чайного гриба, якщо в

середовищі присутні необхідні мікроорганізми - дріжджі та ацетобактерії - і забезпечено відповідні умови для їхнього росту (аеробне середовище, помірна температура, наявність джерела цукру). Активна симбіотична культура забезпечила стабільне утворення органічних кислот, підтримувала баланс мікроорганізмів і сприяла формуванню пробіотичного напою з типовими властивостями комбучі.

Отриманий результат має як практичне, так і наукове значення. По-перше, він демонструє просту, доступну й ефективну методику отримання життєздатного SCOBY у домашніх умовах без застосування спеціального обладнання. По-друге, підтверджує життєздатність симбіотичної системи та стабільність її метаболічних процесів навіть без зовнішнього маточного гриба. По-третє, він підкреслює значення чайного гриба як природного джерела пробіотиків і біоактивних сполук, здатних позитивно впливати на мікрофлору кишечника, метаболічні процеси та загальний стан організму.

Таким чином, мета експерименту була досягнута повністю: вирощено здорову симбіотичну культуру SCOBY, підтверджено ефективність процесу бродіння без маточного гриба та доведено, що отриманий продукт зберігає всі корисні властивості традиційної комбучі. Зазначено динаміку росту та морфологічні характеристики чайного гриба протягом 90 днів ферментації (табл. 3.1)

Таблиця 3.1 Динаміка росту та морфологічні характеристики чайного гриба (SCOBY) протягом 90 днів ферментації

День експерименту	Візуальні спостереження SCOBY	Товщина (см)	Діаметр (см)	Структура
1	Культура осідає на дно	0	0	Рідина прозора, осад на дні
3	Культура ще на дні, початок росту	0,05	2	Початковий слизовий осад

5	Початок формування слизового шару гриба	0,1	3,5	Тонкий слизовий шар
7	Гриб піднімається до поверхні рідини	0,2	5	Тонка слизова структура
10	Гриб стає більш помітним	0,4	6,5	Більш щільна структура
14	Гриб продовжує товщати	0,6	8	Щільний, еластичний
21	Первинний шар гриба сформований	0,8	10	Щільна біоцелюлозна мембрана
30	Гриб помітно товстішає	1,0	11,5	Еластичний, однорідний
45	Гриб стає щільним	1,2	12,5	Однорідний, еластичний
60	Гриб продовжує нарощувати товщину	1,3	13	Щільний, еластичний
75	Товщина гриба майже досягла максимуму	1,4		Однорідна структура
90	Міцний, еластичний гриб	1,5	14	Однорідна, еластична мембрана

Надалі такі результати можуть бути використані для подальших досліджень з оптимізації складу ферментаційного середовища, підвищення вмісту біоактивних сполук і вдосконалення технології приготування напою з максимальними оздоровчими властивостями.

Було досліджено 4 зразки комбучі (рис. 3.3), серед яких третій зразок виготовлений власноруч, а решта — комерційні. Вибір цих зразків був

зумовлений тим, що вони представляють різні типи рецептур, складності та потенційної біологічної активності, що дає змогу комплексно порівняти їх властивості.



Рисунок 3.3 Досліджені зразки комбучі

Перший напій Vit-fit містить традиційну основу для комбучі – чорний цейлонський та зелений високогірний чай, цукор і культуру чайного гриба. Він був обраний як приклад класичного промислового продукту, виготовленого на високоякісній чайній сировині, що забезпечує стабільні властивості та є орієнтиром для стандартної ферментації. Другий зразок, Spraga, включає квіти розелли та грейпфрутовий сироп – інгредієнти, які відомі високим вмістом органічних кислот, антоціанів та флавоноїдів із протимікробною та антиоксидантною активністю. Цей напій був обраний як представник комбучі з посиленням функціонального складу. Третій зразок – домашня комбуча на основі чорного чаю — введений до дослідження як контрольний варіант із мінімальною кількістю компонентів, що дозволяє оцінити властивості базового напою без додаткових рослинних домішок. Четвертий напій, Wild, має найскладніший склад і містить суміш різних видів чаю, спецій, цитрусових та рослинних добавок, багато з яких мають підтверджену антимікробну та протизапальну активність. Саме тому цей зразок був обраний як приклад комбучі з максимально збагаченим та біологічно активним рецептурним

профілем. Такий підбір зразків дозволяє простежити, як змінюються властивості комбучі залежно від складності рецептури – від класичного базового напою до багатокomпонентного функціонального продукту.

3.2 Колориметричне визначення вмісту редукуючих цукрів (за Ю.Г. Приседським та Л.Ніщенко)

Достовірність отриманих результатів оцінювали за середнім значенням редукуючих цукрів та величиною похибки, яка показує розкид між паралельними вимірюваннями (табл 3.2). Для кожного зразка аналіз проводили у трьох повторностях, що дає можливість оцінити точність методики та відтворюваність результатів. Етапи визначення редукуючих цукрів вказані на рисунку 3.4. У першому зразку середнє значення становило 3,572 мг/г, а похибка – 0,119 мг/г, що відповідає приблизно 3,3% і свідчить про високу точність вимірювань. У другого зразка похибка була дещо більшою – 0,155 мг/г при середньому значенні 1,707 мг/г, тобто близько 9,1%. Такий розкид може бути пов'язаний зі складнішим складом напою та більшою неоднорідністю, однак він усе ще є прийнятним для колориметричних досліджень. Для третього зразка похибка становила 0,140 мг/г при середньому значенні 2,318 мг/г (приблизно 6%), що свідчить про достатню стабільність результатів для домашнього напою. Найменша похибка спостерігалась у четвертого зразка – 0,036 мг/г при середньому значенні 2,063 мг/г, тобто близько 1,7%, що вказує на найвищу однорідність зразка та найточніші результати серед усіх досліджуваних напоїв. Загалом похибки в межах 1,7–9,1% є нормальними для застосованого колориметричного методу, а трійні повторності дозволяють вважати отримані значення репрезентативними та достовірними.

Таблиця 3.2 Вміст редукуючих цукрів у зразках комбучі

№ зразка	Середнє значення редукуючих цукрів (мг/г) $\pm$ похибка
1	3,572 $\pm$ 0,119
2	1,707 $\pm$ 0,155
3	2,318 $\pm$ 0,140
4	2,063 $\pm$ 0,036



Рисунок 3.4. Етапи визначення редукуючих цукрів.

Аналіз показав, що вміст редукуючих цукрів у досліджених зразках комбучі значно різниться залежно від складу та способу приготування напою. Найвищий рівень редукуючих цукрів спостерігається у зразку Vit-Fit, де він становить $3,572 \pm 0,119$ мг/г. Це можна пояснити класичним складом напою, що містить воду, цукор та суміш чорного і зеленого чаю, оскільки високий початковий вміст цукру сприяє більшому накопиченню редукуючих цукрів у процесі ферментації. У зразку Spraga спостерігається найнижчий вміст редукуючих цукрів – $1,707 \pm 0,155$ мг/г. Його склад включає не лише цукор і чайну культуру, а й фруктові та кислотні компоненти, такі як сироп грейпфруту, лимонна кислота та розелла, які можуть активніше стимулювати метаболізм бактерій і дріжджів у складі SCOBY, сприяючи більш інтенсивному споживанню редукуючих цукрів під час ферментації. Домашній зразок має проміжний рівень редукуючих цукрів – $2,318 \pm 0,140$ мг/г, що відповідає традиційному складу домашньої комбучі з чорного чаю, цукру та культури, і відображає помірний ступінь ферментації, коли частина цукру перетворюється на органічні кислоти та інші продукти метаболізму SCOBY, але певна кількість редукуючих цукрів залишається. Зразок Wild, що містить великий набір трав, спецій і фруктів, показав $2,063 \pm 0,036$ мг/г редукуючих цукрів. Зниження вмісту порівняно із зразком Vit-Fit можна пояснити додатковим метаболізмом цукрів бактеріями та дріжджами під впливом

фруктових кислот, ефірних олій і прянощів, а також складнішою композицією напою, яка впливає на швидкість ферментації та споживання цукру. Таким чином, вміст редукуючих цукрів у комбучі прямо залежить від початкового складу напою та активності ферментаційної культури, причому класичні напої з більшим вмістом цукру містять більше редукуючих цукрів, а напої з додатковими фруктовими та трав'яними компонентами демонструють їх зниження.

3.3 Визначення вмісту глюкози за допомогою глюкозооксидази

Достовірність результатів щодо вмісту глюкози у зразках комбучі оцінювали за середніми значеннями та величинами похибок, отриманих у результаті триразових повторних вимірювань. Для першого, другого та четвертого зразків похибка становила 0,000 мг/г, що свідчить про повну збіжність паралельних вимірювань та високу точність методу у випадках з дуже низьким вмістом глюкози. Такі результати характерні для методик, коли концентрація аналіту знаходиться на нижній межі чутливості, а відтворюваність показників підтверджує стабільність проведення аналізу (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 Вміст глюкози в зразках комбучі

№ зразка	Середнє значення глюкози (мг/г) $\pm$ похибка
1	0,001 $\pm$ 0,000
2	0,005 $\pm$ 0,000
3	0,005 $\pm$ 0,001
4	0,002 $\pm$ 0,000

Третій зразок мав похибку 0,001 мг/г при середньому значенні 0,005 мг/г, що становить приблизно 20%. Підвищена відносна похибка пов'язана з надзвичайно низьким рівнем глюкози: за таких концентрацій навіть мінімальні коливання у вимірюваннях створюють суттєвий відсотковий розкид. Однак абсолютна похибка залишається малою, а триразове повторення аналізу підтверджує достатню достовірність результату. Загалом повторність у три

вимірювання та стабільність значень для більшості зразків дозволяють вважати результати точними та такими, що адекватно відображають реальний вміст глюкози у досліджених напоях.

Отримані експериментальні дані були піддані статистичній обробці з визначенням середньої похибки вимірювань та порівнянням отриманих результатів між дослідними та стандартними зразками. Розрахунки виконувалися з урахуванням варіації оптичної густини, що дозволяло підвищити точність та достовірність результатів, а також оцінити відхилення дослідів за методом Даннета при порівнянні кількох груп зразків для виявлення статистично значущих відмінностей.

Результати аналізу свідчать про те, що вміст глюкози у всіх досліджених зразках комбучі є дуже низьким, що відповідає очікуваному ефекту ферментації, під час якої значна частина цукру перетворюється на органічні кислоти та інші метаболіти. У зразку № 1 (Vit-Fit), що містив воду, цукор, чорний і зелений чай та культуру чайного гриба, концентрація глюкози становила 0,001 мг/г, що свідчить про практично повне споживання доданого цукру під час ферментаційного процесу. Це підтверджує високу активність симбіотичної культури комбучі у зразку та ефективне перетворення глюкози на енергетичні та метаболічні продукти бродіння.

Зразки № 2 (Spraga) та № 3 (домашня комбуча) показали однакову середню концентрацію глюкози 0,005 мг/г. У випадку зразку Spraga, до складу якого входили сироп грейпфрута та додаткові ароматизатори, дещо більший вміст глюкози порівняно з Vit-Fit пояснюється наявністю легкозасвоюваних цукрів, що частково залишилися після ферментації. Домашній зразок № 3, який складався з чорного чаю, цукру та культури, продемонстрував аналогічний рівень глюкози, що вказує на ефективне, але трохи менш стабільне бродіння, можливо через варіації домашніх умов, таких як температура або концентрація культури.

Зразок № 4 (Wild), що мав найбільш складний склад із численними добавками, спеціями та фруктовими компонентами, показав концентрацію

глюкози 0,002 мг/г. Це свідчить про те, що навіть за умов додавання великої кількості природних цукрів із фруктів та підсолоджувачів, ферментація за участю симбіотичної культури комбучі ефективно знижує рівень вільної глюкози до низьких значень, зберігаючи при цьому комплекс смакових і ароматичних компонентів напою.

Загалом, отримані дані демонструють, що ферментація комбучі є ефективним процесом перетворення цукрів, що забезпечує низький вміст глюкози у готових продуктах. Високий рівень ферментативної активності симбіотичної культури забезпечує мінімізацію вільних моносахаридів у напоях навіть при наявності додаткових джерел цукру, таких як сиропи або фрукти. Найнижчий вміст глюкози спостерігався у зразках із простим складом (Vit-Fit), тоді як трохи вищі значення зафіксовані у зразках із додатковими підсолоджувачами, що свідчить про збереження невеликої частини цукрів після ферментації. У цілому, результати підтверджують, що всі досліджені зразки комбучі є низькокалорійними продуктами із мінімальним вмістом вільної глюкози, що робить їх безпечними для споживання у контексті контролю рівня цукру в раціоні.

3.4 Визначення рН

Рівень рН у зразках комбучі визначався для оцінки кислотності та ступеня ферментації напоїв. Вимірювання проводили у трійному повторенні, що забезпечує оцінку відтворюваності результатів та дозволяє мінімізувати можливі похибки (таб. 3.4.).

Таблиця 3.4 Рівень рН в зразках комбучі

№ зразка	рН
1	4,00
2	3,38
3	3,15
4	2,84

Отримані значення показують різницю у кислотності між зразками: перший зразок мав рН 4,00, що відповідає помірній кислотності і свідчить про

незначний ступінь ферментації; другий зразок – 3,38, третій – 3,15, а четвертий – 2,84, що відображає більш активний процес бродіння та накопичення органічних кислот у напоях з більш складним складом або довшою ферментацією. Трійна повторність вимірювань підтверджує стабільність і достовірність результатів, а розбіжності між зразками корелюють із відомими особливостями складу та інтенсивності ферментації, що дозволяє вважати ці дані репрезентативними для аналізованих комбуч.

Найнижчий рівень pH серед усіх досліджуваних зразків був зафіксований у четвертому зразку (Wild), що свідчить про найвищу кислотність цього напою. Такий результат можна пояснити багатим складом напою, який включає численні спеції, цитрусові фрукти та трави, серед яких кардамон, лемонграс, корінь імбиру, апельсин, лайм, грейпфрут, мускатний горіх та коріандр. Ці компоненти містять природні органічні кислоти та сполуки, що стимулюють активність ацетобактерій під час ферментації, що, у свою чергу, підвищує продукцію оцтової та інших органічних кислот, створюючи характерну кислуватість напою. Крім того, комплексний склад ароматичних і фруктових інгредієнтів може впливати на метаболізм дріжджів та бактерій SCOBY, сприяючи прискоренню бродильних процесів і формуванню більш насиченого кислотного профілю. Висока кислотність цього зразка також пов'язана з природними антибактеріальними властивостями цитрусових і спецій, що додає додаткову функціональну цінність напою.

На противагу цьому, у першому зразку (Vit-Fit) pH було значно вищим, тобто середовище характеризувалося меншою кислотністю. Така різниця пояснюється особливостями промислового виробництва, де кислотність контролюється для досягнення м'якшого, більш приємного смаку та збереження оптимальних споживчих характеристик напою. Стандартизовані умови ферментації, контрольована температура, точна концентрація цукру та якісний склад сировини забезпечують рівномірне формування кислотності, що гарантує стабільність смакових якостей напою і передбачуваність його

органолептичних властивостей. Це робить продукт більш привабливим для споживачів, які віддають перевагу м'якшим, менш кислим напоям, при цьому підтримуючи функціональні властивості комбучі, такі як антиоксидантна активність та стимуляція травної системи.

Таким чином, спостережувані відмінності у рН між зразками відображають не лише вплив складу сировини та наявності додаткових ароматичних і фруктових компонентів, але й особливості технологічного процесу ферментації. У зразках із складнішою рецептурою, як Wild, поєднання спецій і фруктів стимулює інтенсивну діяльність мікроорганізмів і формує більш кисле середовище, тоді як у комерційних напоях із регульованим технологічним процесом, як Vit-Fit, кислотність контролюється для досягнення збалансованого смакового профілю та стабільності продукту.

3.5 Визначення антибіотикорезистентності досліджених зразків

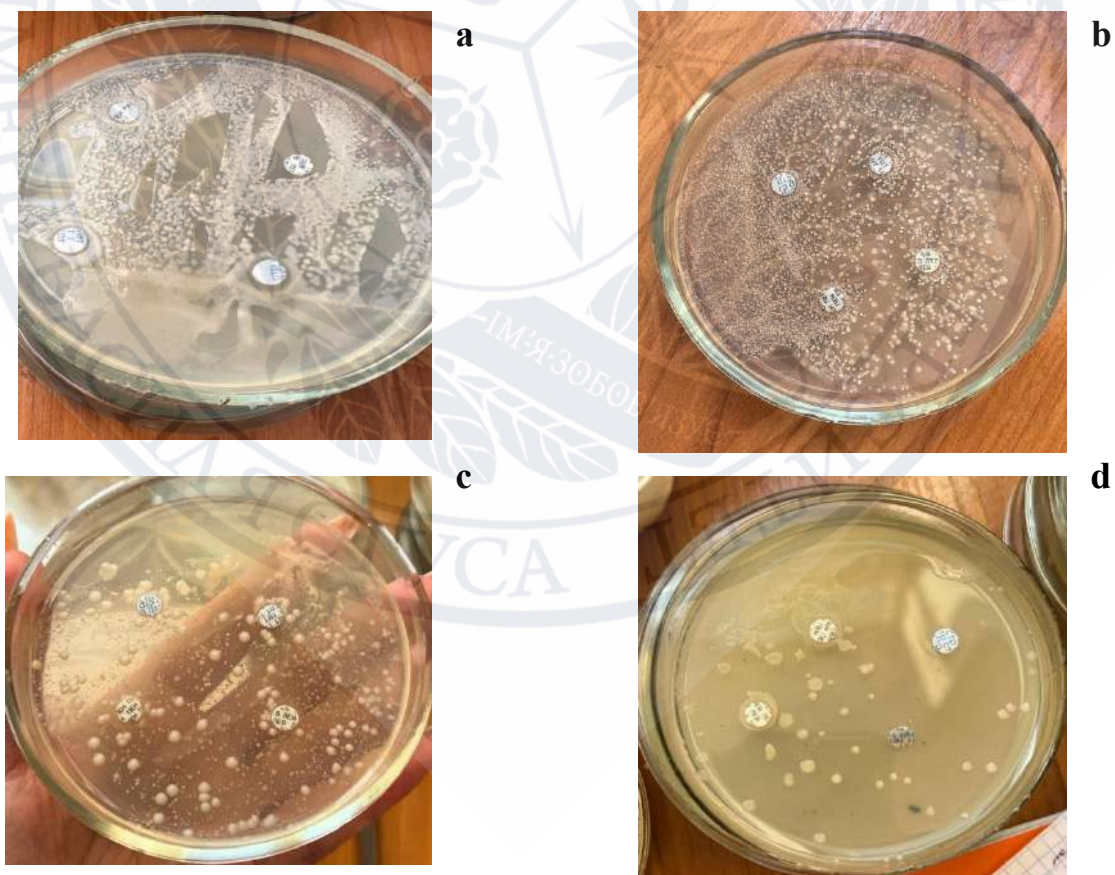


Рисунок 3.6 Дослідження антибіотикорезистентності комбучі: а – зразок №1, б – зразок №2, в – зразок №3, г – зразок №4.

Проведене дослідження дозволило на практиці ознайомитися з принципом дії антибактеріальних засобів і побачити, як різні препарати впливають на ріст мікроорганізмів. Отримані результати мають важливе значення не лише для теоретичного розуміння процесів антибіотикорезистентності, а й для подальших мікробіологічних досліджень, пов'язаних із визначенням ефективності антибіотиків та оптимізацією умов їхнього застосування.

Таблиця 3.5. Чутливість бактерій до антибіотиків. Діаметр стерильної зони, мм

№ зразка	пеніцилін	стрептоміцин	левоміцитин	тетрациклін
1	$10,0 \pm 3,00$	$11,0 \pm 1,73$	$16,0 \pm 7,93$	$7,66 \pm 1,15$
2	$31,6 \pm 5,77$	$11,6 \pm 2,88$	$18,6 \pm 14,1$	$26,6 \pm 10,4$
3	$7,00 \pm 0,00$	$10,3 \pm 4,04$	$7,33 \pm 0,57$	$7,66 \pm 0,57$
4	$17,0 \pm 11,7$	$8,33 \pm 1,15$	$7,00 \pm 0,00$	$15,3 \pm 12,7$

Достовірність результатів визначення антибактеріальної активності зразків комбучі оцінювали на основі середніх діаметрів зон пригнічення росту мікроорганізмів та відповідних похибок, отриманих у трійному повторенні експерименту (табл. 3.5). Перший зразок продемонстрував діаметри зон $10,0 \pm 3,00$ мм для пеніциліну, $11,0 \pm 1,73$ мм для стрептоміцину, $16,0 \pm 7,93$ мм для левоміцитину та $7,66 \pm 1,15$ мм для тетрацикліну. Похибки у цьому зразку свідчать про помірний розкид даних, який може бути пов'язаний із неоднорідністю напою та варіаціями у рості тестових бактерій. Другий зразок мав найбільші значення для пеніциліну та тетрацикліну ($31,6 \pm 5,77$ мм і $26,6 \pm 10,4$ мм відповідно), із похибками 18–40% відносно середнього значення, що зумовлено складнішою рецептурою та більшою активністю компонентів, здатних пригнічувати ріст бактерій. Для третього зразка похибки були найменшими, зокрема 0,00 мм для пеніциліну та 0,57 мм для левоміцитину та тетрацикліну, що свідчить про високу повторність вимірювань та однорідність напою. Четвертий зразок демонстрував значний розкид для деяких

антибіотиків (наприклад, 11,7 мм для пеніциліну та 12,7 мм для тетрацикліну), що зумовлено складним складом та варіативністю активних компонентів. Загалом результати, отримані у трьох повторностях, дозволяють вважати дані достовірними, а наявні похибки відображають природну варіативність комбучі як біологічно активного продукту.

Результати показали суттєву варіацію діаметрів, що свідчить про різний рівень сприйнятливості бактеріальних клітин до тестованих антибіотиків (рис. 3.6). Так, найбільші зони затримки росту спостерігалися у зразка №2 при дії пеніциліну (31,6 мм) та тетрацикліну (26,6 мм), що вказує на високу чутливість бактерій до цих препаратів.

У свою чергу, левоміцетин і стрептоміцин проявили помірну активність. У більшості зразків (№1, №3 та №4) діаметр стерильних зон не перевищував 15 мм, що свідчить про низьку або помірну чутливість мікроорганізмів. Наприклад, у зразка №3 усі показники були близькі до мінімальних значень (7,00–10,3 мм), що може бути зумовлено формуванням антибіотикорезистентних штамів або особливостями складу бактеріальної клітини, яка знижує проникність мембрани для антибактеріальних речовин. У зразка №4 реакція була більш різноманітною: чутливість до пеніциліну становила 17,0 мм, а до тетрацикліну 15,3 мм, що вказує на наявність середньої сприйнятливості, тоді як до інших препаратів бактерії проявили стійкість.

Найвищу ефективність у проведеному досліді продемонстрували пеніцилін і тетрациклін, тоді як стрептоміцин і левоміцетин показали слабший вплив, що може свідчити про наявність адаптаційних механізмів у певних бактеріальних штамів. Проведена робота дала змогу визначити чутливість досліджуваних бактеріальних культур до різних антибіотиків та встановити відмінності у ступені пригнічення їх росту під дією окремих препаратів.

Порівняння результатів магістерської та курсової роботи показує помітні відмінності у кількісних показниках, незважаючи на використання однакових методик. У магістерській роботі значення редукуючих цукрів були

загалом вищими, зокрема у зразку Vit-Fit – 3,572 мг/г, тоді як у класичній комбучі курсової роботи цей показник становив 1,410 мг/мл. Це пояснюється відмінністю складу зразків: у магістерській роботі зразки містили різні комерційні та домашні рецептури з класичним або більш складним набором інгредієнтів, що впливало на накопичення редукуючих цукрів під час ферментації. Вміст глюкози у магістерській роботі був нижчим (0,001–0,005 мг/г), тоді як у курсовій роботі залишки глюкози були трохи вищими (0,062–0,067 мг/мл), що свідчить про більш ефективне перетворення моносахаридів у магістерських зразках, ймовірно через активнішу ферментаційну діяльність SCOBY або більший початковий вміст цукру. Щодо pH, магістерська робота продемонструвала ширший діапазон значень (2,84–4,00), тоді як у курсовій роботі pH був більш стабільним (3,149–3,296). Такі відмінності пояснюються складом напоїв та умовами ферментації: зразки магістерської роботи містили додаткові фруктові, трав'яні та ароматичні компоненти, що стимулювали активність мікроорганізмів і прискорювали утворення органічних кислот, тоді як у курсовій роботі використовувалися більш прості рецептури з контрольованою ферментацією, що забезпечувало одноріднішу кислотність. Таким чином, магістерська робота відображає більшу варіативність редукуючих цукрів і кислотності, обумовлену складом та активністю ферментаційної культури, тоді як курсові зразки були більш однорідними і передбачуваними за фізико-хімічними показниками.

ВИСНОВКИ

1. Підтверджено можливість успішного вирощування чайного гриба без готового SCOBY за наявності дріжджів і ацетобактерій, а також оптимальних умов (аеробне середовище, стабільна температура, джерело цукру), що забезпечує формування активної симбіотичної культури з пробіотичними властивостями.

2. Визначено, що вміст редукуючих цукрів у зразках залежить від складу напою: найвищий у класичному Vit-Fit (3,572 мг/г), найнижчий у Spraga (1,707 мг/г), а домашній та Wild зразки демонструють проміжні значення (2,318 та 2,063 мг/г).

3. Отримано, що рівень глюкози у всіх зразках надзвичайно низький (0,001–0,005 мг/г), що свідчить про ефективне перетворення цукрів на органічні кислоти під час ферментації.

4. Отримано, що рівень pH варіює від 2,84 (Wild) до 4,00 (Vit-Fit), що відображає різну кислотність напоїв залежно від складу та інтенсивності ферментації; складні фруктово-пряні рецептури дають нижчий pH і більш виражену кислотність.

5. Досліджено, що антибактеріальна активність зразків відрізняється: найбільші зони пригнічення росту бактерій спостерігались у Spraga під дією пеніциліну та тетрацикліну, у інших зразках активність була помірною або низькою, що вказує на селективний характер чутливості мікроорганізмів до різних антибіотиків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Півоваров, О. А., Ковальова, О. С., Кошулько, В. С. Інноваційні технології та обладнання бродильних виробництв: навч. посіб. Дніпро: ФОП Обдимко О. С., 2025. С. 24-27.
2. Приседський, Ю. Г. Пакет програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів. Донецьк, 2005.
3. Приседський, Ю. Г. Великий практикум з фізіології та біохімії рослин (біохімічні методи досліджень). С. 129-132, 2022.
4. Федотов, О. В., Велигодська, А. К. Практикум з курсу мікологія. С. 29.
5. Ahmad, M., Khan, A., Ahmed, T. Research progress on alternative kombucha substrate: substance metabolism and transformation, efficacy, pharmacological mechanism and active component purification. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14, 1254014.
6. Ahmed, R. F., Hikal, M. S., Abou-Taleb, K. A. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha.
7. Anantachoke N., Phung L.T., Kitwetcharoen H., et al. Kombucha beverages: chemical composition and biological properties. *Beverages*, 2022.
8. Andrade, D. K. A., Wang, B., Lima, E. M. F., Shebeko, S. K., Ermakov, A. M., Khramova, V. N., Ivanova, I. V., Rocha, R. S., Vaz-Velho, M., Mutukumira, A. N., Todorov, S. D. Kombucha: An old tradition into a new concept of a beneficial, health-promoting beverage. *Foods*, 2025, Vol. 14, No. 9, P. 1547.
9. Biological Activity and Phenolic Content of Kombucha Beverages under the Influence of Different Tea Extract Substrates (Mihai R.A. et al., 2024)
10. Bishop P., Pitts E. Antioxidant and anti-inflammatory properties of kombucha. *Journal of Food Biochemistry*, 2018.
11. Bishop, P., Budner, D., Pitts, E. R., Thompson-Witrick, K. A. Chemical Composition of Kombucha.

12. Bishop, P., Budner, D., Pitts, E. R., Thompson-Witrick, K. A. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. Food Research International, 2020.
13. Centre for Applied Food Sustainability and Biotechnology (CAFSaB). “Microbial Composition, Bioactive Compounds, Potential Benefits and Risks Associated with Kombucha: A Concise Review.” Fermentation, 2023, 9(5):472.
14. Chemical Composition of Kombucha” - Beatriz García-Yagüe, María J. Salas-Mellado та ін., MDPI Beverages, vol. 8, no. 3, article 45, 2022.
15. Crum, H., LaGory, A. The Big Book of Kombucha: Brewing, Flavoring, and Enjoying the Health Benefits of Fermented Tea.
16. De Miranda J.F., Ruiz L.F., Silva C.B., Uekane T.M., Silva K.A., Gonzalez A.G.M., Fernandes F.F., Lima A.R. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties.
17. Garcia, R., Chen, Y. Kombucha Tea: A Functional Beverage and All its Aspects. Nutrition Reviews & Food Science, 2025.
18. Greenwalt C.J., Ledford R.A., Steinkraus K.H. Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented Tea Kombucha. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 1998, 31: 291–296.
19. Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., Ledford, R. A. Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. Food Microbiology, 2000, Vol. 17, No. 3, P. 171–176.
20. Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A., Bhat, R. Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose.
21. Jayabalan, R., Malbasa, R.V., Loncar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus.
22. Kitwetcharoen H., Phung L.T., Klanrit P., et al. Recent advances in production and health benefits of kombucha. Food Science & Nutrition, 2022.

23. Kitwetcharoen, H., Phung, L. T., Klanrit, P., Thanonkeo, S., Tippayawat, P., Yamada, M., Thanonkeo, P. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits.
24. Kothe, C. I., et al. Possible origins of kombucha in spontaneous fermentation. *Fermentation Science*, 2021, Vol. 7, No. 4, P. 220–228.
25. Liu, H., Tsai, W. Advances in Kombucha Tea Fermentation: A Review. *MDPI Foods & Fermentation*, 2021, 2(1), 5.
26. Malbaša, R., Vitas, J., Lončar, E., Grahovac, J., Milanović, S. Optimisation of the Antioxidant Activity of Kombucha Fermented Milk Products.
27. Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Zarei, M., Gholami, A., Lai, C. W., Chiang, W. H., Omidifar, N., Bahrani, S., Mazraedoost, S. Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine.
28. Novak, P., Russo, M. Comprehensive survey of kombucha microbial communities of 23 starters: core microbiota and dynamics. *FEMS Yeast Research*, 2023, 23(3), foaf005.
29. Nyhan, L. M., Lynch, K. M., Sahin, A. W., Arendt, E. K. Advances in Kombucha tea fermentation: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2024.
30. Oliveira, Í. A. C. L., Rolim, V. A. O., Gaspar, R. P. L., Rossini, D. Q., de Souza, R., Bogsan, C. S. B. The technological perspectives of Kombucha and its implications for production. *Beverages*, 2023, Vol. 9, No. 2, P. 33.
31. Oliveira M.F., Andrade A.S., Greenwalt C.J. Kombucha: fermentation, bioactive compounds and health effects. *Journal of Functional Foods*, 2020.
32. Patel, S., Kumar, D. Kombucha benefits, risks and regulatory frameworks: A review. *Fermented Foods Journal*, 2023, 2(1), 100045.
33. Phung, L. T., Kitwetcharoen, H., Chamnipa, N., Boonchot, N., Thanonkeo, S., Tippayawat, P., Klanrit, P., Yamada, M., Thanonkeo, P. Changes in the chemical compositions and biological properties of kombucha beverages made from black teas and pineapple peels and cores.

34. Romero, E., Silva, C. Kombucha Tea: Perceptions and Future Prospects. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 9, 1001885.
35. Silva, C., Romero, E. Kombucha: Perceptions and Future Prospects. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 9, 1001885
36. Smith, J., Lee, K. Nature of back-slopping kombucha fermentation process: microbial communities and metabolites over a 12-day fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15, 1433127.
37. Tarapčić, Veljko, Miroslav Tomić, Kristina Petrović. Kombucha fermentation: recent trends in process dynamics, compositional changes and flavour profile. *Food Research International*, 2024, 172, 112011.
38. Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Zhang, X. X., Mutukumira, A. N. Kombucha: Production and microbiological research. *Foods*, 2023.
39. Williams, A., Brown, L. Effects of processing on the preparation of kombucha: a systematic review. *International Journal of Food Science & Technology*, 2022, 58(11), 5648–5662.
40. Young S.P. The effects of kombucha on gut microbiota and immune modulation. *Nutrients*, 2019.
41. Young, S. P. Kombucha: Revered for millennia, but is it really a life-saving brew? *Ancient Origins Journal*, 2023.
42. Zhang, W., Huang, Q. Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 2022, 10(10), 1541.
43. Żelaźniewicz, W., et al. Evaluation of Microbial Dynamics of Kombucha Consortia upon Back-slopping Fermentation. *Foods*, 2023, 12, 1530.
44. Zhou Y., Liu R. “A Comprehensive Evaluation of Microbial Synergistic Metabolic Mechanisms and Health Benefits in Kombucha Fermentation: A Review” *Biology*, 2025, 14(8):952.