第 25卷 第 1期
2009年 1月
甘肃科技
Gansu Science and Technology
Vol.25 No.1
Jan. 2009

红茶菌的制备及其主要菌种的初步分离

刘晓风, 纪春艳, 李志忠
(兰州理工大学 生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050)

摘 要: 以糖、茶、水为原料, 经醋酸菌、酵母菌和乳酸菌等多种微生物共同发酵制成了红茶菌营养保健饮品; 利用制备选择培养基进行直接分离的方法, 对其中的醋酸菌、酵母菌和乳酸菌等主要菌种进行了初步分离。

关键词: 红茶菌; 制备; 培养基; 菌种; 分离
中图分类号: Q946

红茶菌是由红茶 (或用绿茶、乌龙茶、苦丁茶、花茶等)、白糖 (或冰糖、蜂蜜)和水酿制而成。它在我国流传应用已有 150余年的历史, 近些年国内外医学界应用红茶菌的实践表明, 红茶菌能治疗多种慢性疾病, 如高血压、动脉硬化、冠心病、糖尿病、便秘、痔疮、肥胖症、斑秃、白发、白内障、风湿性关节炎、胃炎、痢疾、贫血、核黄素缺乏等[1-3]。另外由于红茶菌富含维生素 C、维生素 B等营养素, 并含有 3种对人体有益的微生物 (如酵母菌等), 因此能调节人体生理机能, 促进新陈代谢, 帮助消化, 防止动脉硬化, 抗癌, 养生强身, 成为一种盛行全世界的养生保健饮料[4-6]。因此, 目前国内外对这样一种保健饮品的研制方法也是方兴未艾, 特别是根据不同人的保健需求或口味要求进行的改进或调整的制备方法, 更是备受关注。越来越多的新奇而又简单的制作工艺纷纷被研制开发, 其中以最为简单的家庭培养方法更引人注目。但是, 由于家庭培养受到家庭中接种条件及培养温度等条件的影响, 容易受到杂菌污染, 很难控制产品的质量, 更为重要的是红茶菌都是以混合菌种家庭培养的方式被应用和流传的, 而这样的方式存在种种不利因素, 从而限制了它的应用和发展。因此, 探求一种简单的制备方法和有效的菌种分离方法, 是进一步深入研究红茶菌的前提。

1 红茶菌的制备

1.1 材料与仪器

茶 (红茶、绿茶、花茶均可, 本次实验选用产自河南信阳的毛尖茶叶为原料) 10 g; 糖 (白糖、冰糖、蜂蜜均可, 本次实验选用市场上常见的粗粒状散装白糖为原料) 50 g; 自来水 500 mL; 母种菌液 100 mL (一般母种菌液要提前购买, 本次实验所用菌液为实验室提供); 1% 的高锰酸钾消毒液约 2 L (自行配制); 锥形瓶 1个 (1 000 mL); 普通纯棉纱布若干; 生物培养箱 (上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

1.2 培养方法[7]

1.2.1 糖茶水的配置

首先将 500 mL水煮沸, 后将茶叶 10 g放入, 沏开浸泡约 10 min (茶叶用量可比平时喝的茶水略浓一些), 过滤去掉茶叶后备用; 然后将白糖 50 g放入茶水中, 继续将糖、茶水加热约 3~5 min, 其目的是将糖全部煮开溶化, 并达到消毒灭菌作用; 最后, 在停止加热后, 将其盛入已消过毒的 1 000 mL锥形瓶中, 并将其瓶口用 3~4层纱布盖上 (防止杂物或灰尘进入), 冷却至室温。

1.2.2 接种

将红茶菌母种菌液约 100 mL (根据其母种菌液浓度或是个人口味自行调整其用量)倒入已冷却的茶糖水中, 随即将容器口用 3~4层纱布盖严并用线绳扎紧, 这样既利于红茶菌的生长还可以防尘防蝇。最后把培养容器放到清洁、背光、温暖的地方进行发酵培养 (此次实验因在实验室进行, 故选用生物培养箱 30℃培养, 其效果更佳)。

1.2.3 培养程序时间

培养红茶菌需要一定的温度, 一般在 30℃左右, 需一周时间。培养中液面上生长一层薄膜, 随着培养时间的增加, 膜逐渐加厚, 形似海蜇皮状。培养过程中有 CO_2 的小气泡冒出, 红茶菌液散发出一种酸香气味, 尝起来有酸梅汤味道, 即可饮用。

1.3 红茶菌培养制作工艺流程

工艺流程: 茶叶、白糖、水→煮沸 10~15 min→冷却→过滤→茶糖水→装瓶→接菌种 (菌种膜菌液)→扎口→发酵培养→成品。

1.4 结果与讨论

经过一周的发酵培养, 成功获得红茶菌液约

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

450mL。实验严格按照要求进行操作是获得成功的关键，其中消毒灭菌一步更为重要，使用的各种配制工具、容器等全用 1%高锰酸钾严格消毒，切忌使用带油的工具、容器。

实验中仍存在一些问题，如当培养继续进行到第 10天的时候，菌液表层长出白毛状物。出现此现象，经查阅相关文献[4-8]可能有两种解释：一是因为受到接种条件的影响，造成了杂菌污染或是受温度的影响（如温度过低，不仅要延长培养时间，也容易造成污染，即适宜较低低温下的杂菌生长）；二是其出现的白色物为正常的菌团，因当对其菌液进行培养过程中，其菌液浓度逐渐升高，而当其达到一定浓度后就可作为母液，如再对其进行培养的话，就相当于在培养母液的基础上进行菌种的培养，良好的菌母就会浮在液面，呈乳白色半透明胶质菌团。但究竟白毛状物为何物，有待进一步考证。

1.5 结论

（1）实验室和家庭制备红茶菌都是非常可行的，而且操作工艺简单。

（2）制备红茶菌的过程中，对器皿消毒和培养过程中对温度的控制是非常重要的两个环节。

（3）为了保持菌液中酵母菌和乳酸菌的活性，培养成熟的菌液应随倒随喝，不应装入不同瓶内，宜冷藏在冰箱中，随时饮用。

（4）资料报道，当发现菌膜上生长霉菌如红、绿、黑毛状物等，均不能再继续饮用，必须再更新菌膜及菌液，重新制作。

（5）如糖尿病患者宜用蜂蜜或蛋白糖，培养时间需要 10~15天。

（6）为了避免菌液过酸，刺激肠胃，甚至引起并发性的酸中毒，可用冷开水冲稀菌液饮用，但忌用冰冻水。

（7）红茶菌是营养饮料，服后一般无副作用。但有些初饮者服用红茶菌后会有副作用，如兴奋、失眠、胃酸、轻度腹泻、皮肤发痒等。如能坚持饮用，大多症状会自行消失。

2 红茶菌的主要菌种的分离

2.1 材料与培养基

菌种（实验室提供母种菌液）；酵母菌培养基 Y1号：麦芽粉 4g，琼脂 4g，自来水 200mL。醋酸菌培养基 A1号：葡萄糖 20g，酵母浸膏 2g，碳酸钙 4g，琼脂 3g，蒸馏水 200mL。乳酸菌培养基 L1号：葡萄糖 4g，酵母浸膏 1g，蛋白胨 1g，琼脂 3g，蒸馏水 200mL。

实验时需要移液管（5mL、1mL、0.1mL）、接种针和培养皿等玻璃器皿。

2.2 方法[8]

2.2.1 制备培养基

酵母菌培养基：将 4g麦芽粉放入 200mL水中充分加热搅拌，直至粉末中的细小颗粒全部变软并融化在水中后，将琼脂加入，不断搅拌，待其全部融化停止加热。将其倒入锥形瓶中，用棉花和牛皮纸将其封口，待高温湿热灭菌。

醋酸菌培养基：将 20g葡萄糖和 2g酵母浸膏放入 200mL蒸馏水中加热，边加热边搅拌，待其全部溶解后放入 4g碳酸钙，继续搅拌，待其溶解后加入 3g琼脂，不断搅拌待其全部溶解后停止加热。将其倒入锥形瓶中，用棉花和牛皮纸将其封口，待高温湿热灭菌。

乳酸菌培养基：将 1g酵母浸膏和 4g葡萄糖依次加入 200mL蒸馏水中，加热搅拌，待其融化后加入蛋白胨 1g，继续加热搅拌，随后将 3g琼脂加入搅拌，待其全部融化后停止加热。将其倒入锥形瓶中，用棉花和牛皮纸将其封口，待高温湿热灭菌。

2.2.2 灭菌及倒培养基

将三锥形瓶放入高压蒸汽灭菌锅内，用 115℃高温灭菌约 30min，将移液管和培养皿用报纸包好进行高温干热灭菌；将灭菌后的培养基倒入灭菌后的培养皿中，每种培养基倒 3－4个培养皿。全部操作要求在无菌操作室中进行。

2.2.3 稀释菌种液及接种

将已活化的红茶菌混合菌种振荡混匀后，用灭菌的移液管吸 5mL菌液入带玻璃珠的 45mL无菌水中，充分振荡，使溶液混匀。然后吸取 1mL入 9mL无菌水中，依次稀释为 10^{-2}，10^{-3}，10^{-4}，10^{-5}，10^{-6}。分别吸后 2个稀释度的菌液各 0.1mL到不同的分离培养基中，用刮刀（本试验用接种针将其弯成环形代替）涂匀。每个稀释度重复 2次。

将醋酸菌和乳酸菌培养基接种后于 30℃培养，酵母菌培养基接种后于 28℃培养。观察菌落（斑）生长情况。

2.3 结果

经过一周（7天）的培养，有 5个培养基（其中为接种稀释度为 10^{-5}的酵母菌培养基和醋酸菌的培养基各两个和接种稀释度为 10^{-5}的乳酸菌的培养基一个）中有菌落出现，另有 7个培养基中未见菌落。

（下转第 3页）

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

成，提高了甘肃省的国际影响力。到 2007年，甘肃省已和 5大洲、30多个国家建立了科技合作关系。甘肃省自然能源研究所和中国农科院兰州兽医研究所被批准为国家级“国际科技合作基地”；中科院兰州近物所“国际反质子与离子大科学研究合作机构”被列入国家级“国际科技合作重点科研机构”；“联合国工业发展组织国际太阳能技术促进转让中心”项目已开工建设。国际科技合作项目在引导国外合作机构资金投入、推动甘肃省产业结构调整等方面成效显著，扩大了甘肃省的国际科技影响力，为加大国际合作力度、宣传甘肃起到了非常积极的作用。

2.5 法制环境不断完善，保障作用日趋明显

甘肃省先后颁布实施了《甘肃省科学技术进步条例》、《甘肃省促进科技成果转化条例》、《甘肃省技术市场条例》、《甘肃省发展民营科技企业条例》、《甘肃省专利保护条例》等地方性科技法规，同时制定了一批具有可操作性的科技政策规章，对加强技术创新、促进科技成果转化、保护知识产权、发展高科技产业、深化科技体制改革、鼓励科技人员脱颖而出等方面发挥了较好的导向作用。

加大了科技执法力度，依法推进了地方科技进步。优化了科技企业政策环境，完善了民营科技企业认定管理制度，增加了各级中小企业创新基金对民营科技企业的支持力度；完善了技术市场管理与服务的功能，优化了技术市场环境，促进了技术交易与成果转化；积极受理处理专利纠纷案件，加大了打击侵犯知识产权活动的力度。

参考文献：

[1] 张天理. 2007甘肃科技发展报告[M]. 甘肃科学技术出版社，2007.

[2] 张天理. 2006甘肃科技发展报告[M]. 甘肃科学技术出版社，2006.

[3] 张天理. 2005甘肃科技发展报告[M]. 甘肃科学技术出版社，2005.

[4] 张天理. 2003甘肃科技发展报告[M]. 甘肃科学技术出版社，2004.

[5] 甘肃年鉴编委会. 2007甘肃年鉴[M]. 中国统计出版社，2007.

[6] 甘肃年鉴编委会. 2006甘肃年鉴[M]. 中国统计出版社，2006.

[7] 甘肃年鉴编委会. 2005甘肃年鉴[M]. 中国统计出版社，2005.

[8] 张天理. 2007甘肃科技统计年鉴[M]. 2007.

[9] 张天理. 2006甘肃科技统计年鉴[M]. 2006.

[10] 甘肃省地方史志编纂委员会，甘肃省科技史志编纂委员会. 甘肃省志第六十卷科学技术志[M]. 甘肃文化出版社，1995.

（上接第 148页）因此从混合菌种中共分离得到 5株菌种，它们分别是：两株酵母菌，两株醋酸菌和一株乳酸菌。

2.4 讨论

实验严格按照操作要求进行无菌操作，是最终获得分离菌种的成功关键。但其中有 7个培养基中未见菌落，分析其原因可能有二：一是因为稀释浓度过低（因所有接种稀释度为 10^{-6}的培养基均未见菌落出现）；二是将菌液接种入培养皿时，移液管离酒精灯太近，其中菌种被杀死了。

实验结果只是按理论原则得到分离后的菌种，但并未对所得到的菌种做进一步的验证，故结果尚待证实。可进一步参考有关文献，进行深入研究，将其分离得到的菌种进行鉴定，并可进一步对各菌种的特性进行研究，了解菌种的分类地位，只有得到了纯菌种，才能解决菌种保存时间、接种量控制、杂菌控制、保持菌种活力和控制产品质量等多方面的问题，才有可能对每一个菌种以及它们的各种组合的各种代谢特征、培养条件、培养液成分和可能的功能效果等方面进行深入细致的研究。

参考文献：

[1] 食品科技杂志社. 红茶菌与健康长寿[M]. 工商出版社，1981.

[2] 段葆兰. 健康之友红茶菌[M]. 科学普及出版社，1982.

[3] 红茶菌在线查询[EB]. 中国茶叶协作网（http://www.teanet.com.cn/），2005－11－25.

[4] Günther W Frank. The Fascination of Kombucha[EB]. http://www.kombu.de/fasz-eng.htm, 1991－12－28.

[5] Michael R Roussin. Analyses of Kombucha Ferments: Report on Growers[EB]. http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha-research-mroussin2.toc.html, 1996－11－31.

[6] Biljana Bauer-Petrovska, Lidija Petrushevska-Tozi. Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink[J]. International journal of Food Science and Technology, 2000, 35: 201－205.

[7] 红茶菌饮料及其酿制方法在线查询[EB]. 贵州农经网（http://www.gznw.gov.cn/），2005－12－31.

[8] 吴薇，盖宝川，籍保平. 红茶菌混合菌种的分离与鉴定[J]. 食品科学基础研究，2003，12（4）：56-57.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net