

红茶菌菌种主要代谢产物的试验研究

吴 薇, 盖宝川, 籍保平*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 本文介绍了红茶菌中几种主要代谢产物的生成特性, 不同菌种及其不同组合所产生的代谢产物的种类和数量都各不相同。结果表明, 菌种 A22 具有很强的代谢葡萄糖生成酸的能力, 它可以产生大量的 D-葡萄糖二酸 1,4 内酯, 它是红茶菌中的主要功能因子, 另外, A22 还可产生较多的其它有益成分, 如葡萄糖酸、葡萄糖醛酸和葡萄糖二酸等, 而乙酸的含量适中。因此, 该菌种是生产具有解毒、抗癌作用的红茶菌功能性饮料的理想菌种。
关键词: 红茶菌; 代谢; D-葡萄糖二酸 1,4 内酯

D-Glucaric Acid and Other Metabolites in Kombucha

WU Wei, GAI Bao-chuan, JI Bao-ping*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: This paper introduced the different characteristics of several principal metabolites in different Kombucha strains. The kinds and quantities of these metabolites were different in different strains and in different formulations. The conclusions were that the strain A22 had a strong ability of metabolize glucose to acid. It could produce high quantity of D-glucaric acid 1,4 lactone, the main functional factor in Kombucha and other beneficial components such as gluconic acid, glucuronic acid and glucaric acid etc. The quantity of acetic acid was appropriate. So this strain was the ideal strain to produce Kombucha of the functions of relieving poison and resisting cancer.

Key words: Kombucha; metabolite; D-glucaric acid 1,4 lactone

中图分类号: S759.81

文献标识码 A

文章编号 10002-6630(2004)12-0147-05

红茶菌饮料的成分和功能特性主要决定于培养液中主要代谢产物的种类与数量^[1], 为了研究红茶菌中各个菌种及其不同组合与菌液主要代谢产物的种类与数量之间的关系, 作者选择从红茶菌中分离到的全部酵母菌和醋酸菌, 对它们的各种组合的主要代谢产物(乙酸、乙醇、D-葡萄糖二酸 1,4 内酯)进行试验研究。

乙酸既是醋酸菌的主要代谢产物, 又是主要的功能性成分之一。乙醇是酵母菌的主要代谢产物^[2]。测定还原糖、总酸的变化可以了解各菌种或菌种组合的代谢葡萄糖产生有机酸的能力, 另通过考察总酸与乙酸的差值, 可从理论上判断可能的葡萄糖酸、葡萄糖醛酸的产量。葡萄糖醛酸和葡萄糖二酸 1,4 内酯都是葡萄糖的氧化产物, 也是红茶菌中重要的功能因子, 虽然二者的作用原理不同, 但作用效果相似, 都具有解毒防癌的功效^[3~6]。本文将葡萄糖二酸 1,4 内酯作为研究的重点。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 酵母菌 Y11、Y13 种子液(Y1 号培养基), 木醋杆菌 M 种子液(A1 号培养基), 甲醇酸单胞菌 A22 种子液(A1 号培养基)。

1.1.2 培养液 红茶(3%)+葡萄糖(20%)+水 150ml。

1.1.3 ZD-2 型自动电位滴定计

1.2 试验方法

将培养好的种子液按表 1 设计要求接入各装有 150ml 培养液的三角瓶中, 每个处理分别接种 5 瓶, 混匀后各处理取出一瓶测定初始总酸和还原糖, 乙酸、葡萄糖二酸 1,4 内酯和乙醇的初始值以“0”计。之后, 将接好的其它培养液置于 30℃ 静止培养。每隔一天各处理取出一瓶测定总酸、还原糖、乙酸、葡萄糖二酸 1,4 内酯和乙醇的含量, 8d 后停止培养, 取出最后一批样品测定结果。

收稿日期: 2004-02-03 * 通讯作者

作者简介: 吴薇(1970-), 女, 讲师, 硕士, 主要从事农产品加工与贮藏研究。

1.3 检测方法

1.3.1 还原糖的测定 直接滴定法, GB/T15038-94。

1.3.2 总酸的测定 电位滴定法, GB/T15038-94。

1.3.3 D-葡萄糖二酸1,4内酯的测定 气相色谱法^[7]。

1.3.4 乙醇、乙酸的测定 气相色谱法, GB/T15038-94。

2 结果与分析

2.1 各指标检测结果 如表2所示。

2.2 各处理乙酸、葡萄糖二酸1,4内酯、乙醇、还原糖和总酸变化结果 见图1~5。

2.3 单一菌种各指标变化情况 见图7~9。

2.4 结果分析

表1 不同菌种组合对葡萄糖的利用情况实验设计(ml)

处理	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Y11	7.5	0	0	0	7.5	7.5	7.5	0	0	0	7.5	7.5	0	7.5	7.5
Y13	0	7.5	0	0	7.5	0	0	7.5	7.5	0	7.5	7.5	7.5	0	7.5
M	0	0	7.5	0	0	7.5	0	7.5	0	7.5	7.5	0	7.5	7.5	7.5
A22	0	0	0	7.5	0	0	7.5	0	7.5	7.5	0	7.5	7.5	7.5	7.5

表2 各处理试验结果(g/L)

项目	时间 (d)	处 理														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
乙 酸	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	0.6	0.2	0.6	0.4	0.5	0.5	2.3	0.2	0.4	0.5	0.6	1.6	1.0	1.4	1.2
	4	0.7	0.2	0.9	0.9	0.4	0.6	0.6	1.4	0.6	0.7	2.1	2.4	1.2	2.6	8.1
	6	0.8	0.0	8.1	2.2	0.7	13.0	10.0	8.6	12.1	2.7	7.9	4.3	1.9	9.1	10.5
	8	0.6	0.0	11.6	6.9	0.8	20.2	6.1	10.5	2.0	3.9	19.8	6.1	1.7	12.7	8.0
总 酸	0	0.6	0.7	1.0	0.8	0.6	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	0.7	0.7	0.8	0.8	0.4
	2	1.5	0.8	1.4	1.3	1.7	1.7	2.6	1.6	2.9	1.7	1.7	3.6	2.3	2.4	3.0
	4	1.6	0.8	1.8	5.8	2.0	3.8	3.6	5.1	5.5	5.5	3.0	11.9	6.9	9.3	7.4
	6	2.5	0.8	12.8	19.1	2.3	15.4	17.1	14.6	18.4	13.9	11.8	12.1	9.6	14.5	16.9
	8	3.0	0.8	23.0	32.3	3.0	22.8	6.6	20.4	23.9	21.8	23.2	15.7	17.9	20.9	20.1
还 原 糖	0	194.2	97.7	194.2	190.8	205.2	184.3	192.5	181.3	201.4	187.5	194.2	174.0	190.8	169.9	181.3
	2	181.3	197.0	194.2	167.3	167.3	169.6	181.3	164.8	194.2	169.9	172.6	167.3	178.3	167.3	164.8
	4	154.4	196.3	184.2	154.4	166.7	147.9	164.1	156.7	154.4	169.4	129.6	152.2	166.7	161.5	154.4
	6	128.0	194.4	161.5	154.4	119.3	138.2	156.7	137.3	154.4	154.4	125.0	145.8	159.1	147.9	150.0
	8	108.2	194.0	148.0	116.0	99.6	118.4	137.2	127.8	118.4	150.0	122.3	144.2	150.0	138.9	132.4
乙 醇	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	10.0	0.6	3.6	0.3	8.2	8.8	4.7	2.4	0.1	0.6	9.4	1.6	0.2	0.6	2.8
	4	11.3	0.6	2.4	0.6	13.0	10.4	6.2	6.2	0.4	0.5	3.2	0.4	0.9	1.3	8.5
	6	20.6	0.3	5.0	1.3	20.4	8.6	0.2	0.5	3.7	0.7	12.7	0.2	1.2	3.3	1.4
	8	24.9	0.5	1.5	2.8	31.3	13.6	16.3	1.6	1.1	1.3	7.4	0.2	1.0	2.4	2.3
葡 萄 糖 二 酸 1,4内 酯	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	1.3	0.4
	4	0.8	0.0	1.7	3.7	0.7	0.6	0.6	1.5	1.4	1.7	1.3	0.1	1.1	2.0	3.2
	6	1.0	0.0	1.7	5.3	0.7	1.0	1.4	1.3	2.2	1.1	0.8	1.8	5.3	4.6	4.4
	8	1.4	0.4	1.8	8.0	0.7	1.2	1.3	1.5	3.9	8.6	1.7	3.1	3.7	3.3	3.4

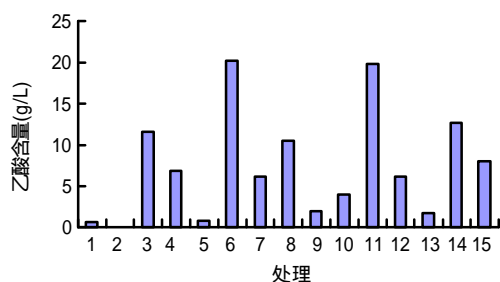


图1 各处理乙酸变化情况

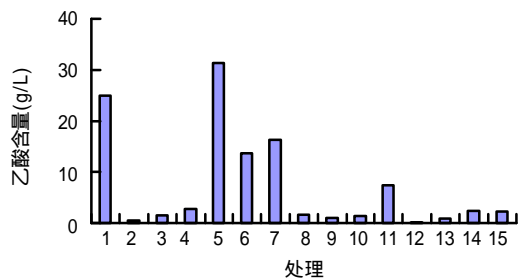


图2 各处理乙醇变化情况

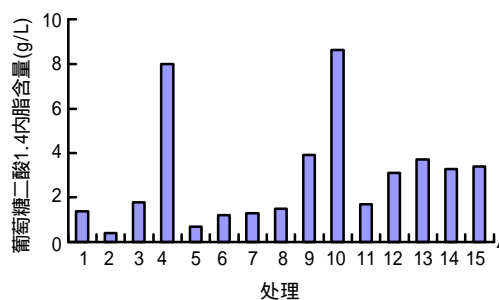


图3 各处理葡萄糖二酸1.4内酯变化情况

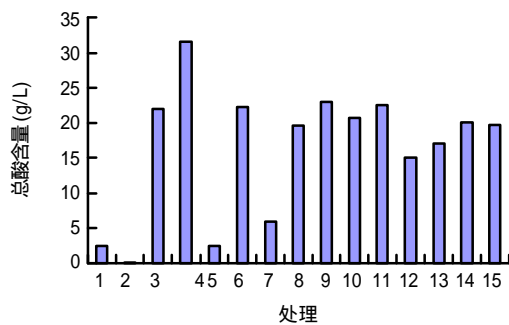


图4 各处理总酸变化情况

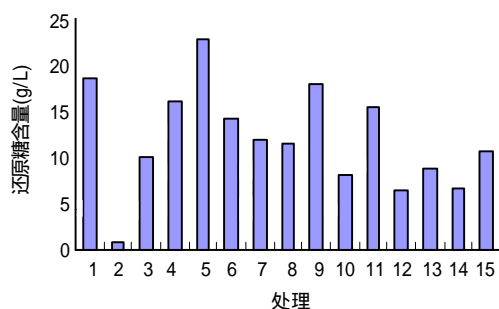


图5 各处理还原糖消耗情况

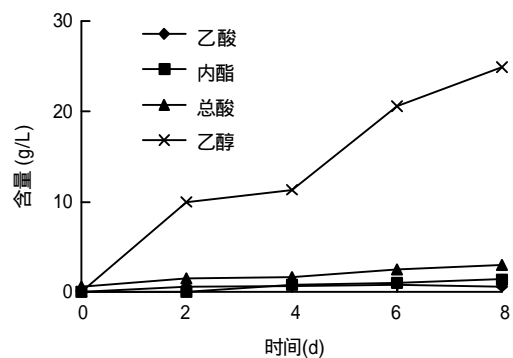


图6 处理1各指标变化曲线

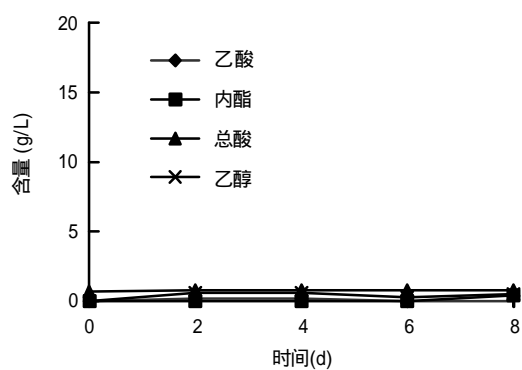


图7 处理2各指标变化曲线

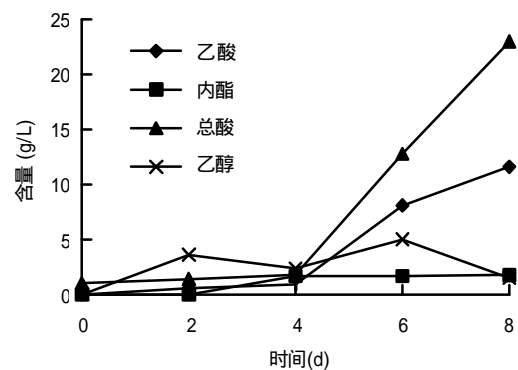


图8 处理3各指标变化曲线

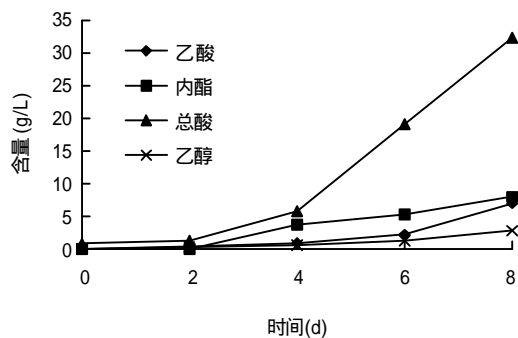


图9 处理4各指标变化曲线

还原糖下降最多,同时乙醇产量最高而其它指标都很低的是处理1(Y11)和处理5(Y11+Y13),处理2(Y13)的还原糖下降极少,乙醇产量也极低,总酸基本上没有变化。结合以上三个处理的结果可以看出:酵母Y11具有很强的发酵力,能快速代谢葡萄糖产生大量的乙醇,而酵母Y13发酵力很弱,在该培养液条件下生长代谢作用很微弱。

总酸增加较多($\geq 15\text{g/L}$)的有处理3、4、6、8、9、10、11、12、13、14、15,说明这些处理的菌种有较强的代谢葡萄糖产生有机酸的能力。从这些处理的乙酸和葡萄糖二酸1,4内酯的测定结果可以将这些处理分为两组来分析,其中处理3、6、8、11、14的乙酸产量较高($\geq 10\text{g/L}$),处理4、9、10、12、13、14、15的葡萄糖二酸1,4内酯的产量较高($\geq 3\text{g/L}$)。

在乙酸产量较高的这些处理中,它们的菌种分别是M+Y11(处理6)、M+Y11+Y13(处理11)、M+Y11+A22(处理14)、M(处理3)、M+Y13(处理8),以上这些处理中,都有M存在,说明M是产生乙酸的主要菌种。而当有酵母菌Y11存在(处理6和处理11)时,发酵液中的乙酸含量几乎是M单独培养(处理3)时的2倍。

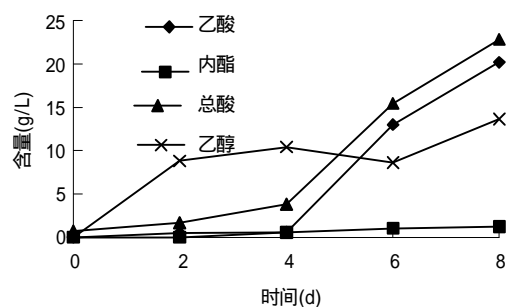


图10 处理6各指标变化曲线

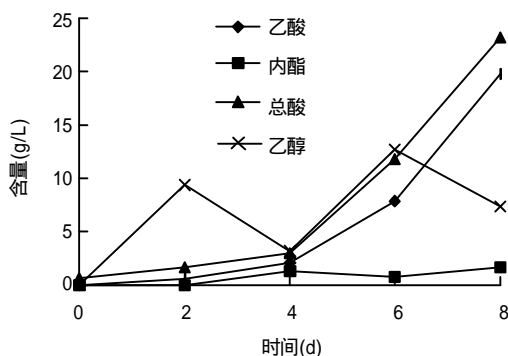


图11 处理11各指标变化曲线

结合上面这两个处理的各指标变化曲线可以看出,在培养初期,主要是Y11发酵产乙醇,随着乙醇的大量产生,M开始将乙醇氧化产生大量乙酸,因此,乙醇在初期增加很快,而到2d后增加趋缓,或有下降,而乙酸的量却在4d后快速增加。但同时,在乙酸增加的

刺激下,Y11又开始产生较多乙醇。这一现象与他人研究结果相一致,说明Y11和M之间互惠互利的关系。因此,M和Y11共同培养产生的乙酸量比M单独培养要多得多。处理14中虽然有M和Y11,但由于A22的存在,与Y11形成一定的竞争关系,使得乙醇的含量一直维持在较低水平,该处理的乙酸除少部分来自乙醇,其它主要来自M和A22的葡萄糖代谢途径。由于Y13发酵力很弱,对各指标基本没有什么影响,所以处理8与处理3的各指标结果相似。

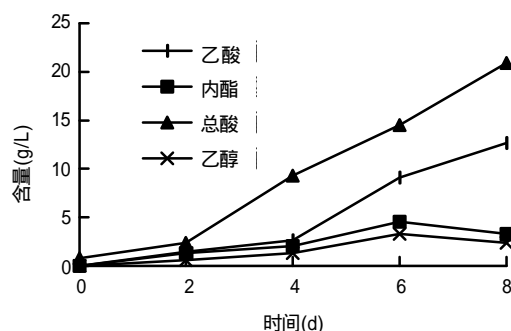


图12 处理14各指标变化曲线

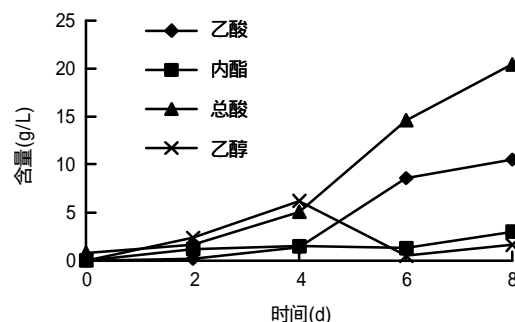


图13 处理8各指标变化曲线

在葡萄糖二酸1,4内酯产量较高的处理中,它们的菌种分别是A22+M(处理10)、A22(处理4)、Y13+A22(处理9)、Y11+Y13+A22(处理12)、Y13+M+A22(处理13)、Y11+M+A22(处理14)、Y11+Y13+M+A22(处理15),这些处理中都有A22,且其中处理10和处理4的产量最高,是其它4个处理的2倍多。又由于处理3(M)的葡萄糖二酸1,4内酯产量较低,所以可以认定A22是产生葡萄糖二酸1,4内酯的主要菌种。另从处理4的总酸和乙酸含量看,它的总酸增加值是本次试验的15个处理中最高的(32.3g/L),而乙酸值虽然也达到了 6.9g/L 的水平,但二者之间的差值很大,而葡萄糖二酸1,4内酯的生成途径是葡萄糖 \rightarrow 葡萄糖酸 \rightarrow 葡萄糖醛酸 \rightarrow 葡萄糖二酸 \rightarrow 葡萄糖二酸1,4内酯,由此可以推测该处理中可能含有高含量的葡萄糖酸、葡萄糖醛酸和葡萄糖二酸。A22代谢葡萄糖的主要途径就是上述途径,而次要途径是葡萄糖经EMP途径后,再氧化生成乙酸。

处理 10 的葡萄糖二酸 1,4 内酯含量虽然与处理 4 相似,但它的还原糖下降值和总酸增加值以及乙酸含量都比处理 4 和处理 3 少,说明 A22 与 M 混合培养时,二者存在竞争关系,而在这个关系中,A22 占据了相对优势。图 14 是处理 10 的各指标变化曲线图。

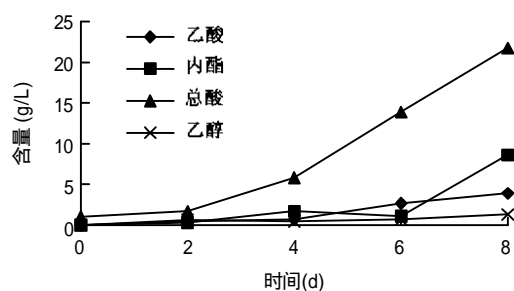


图 14 处理 10 各指标变化曲线

如按 Y13 发酵力弱,它的存在对各指标基本上没有影响的结果推测,处理 9 应该与处理 4 的结果相似,但实际上并非如此。图 15 是处理 9 的各指标变化曲线图。

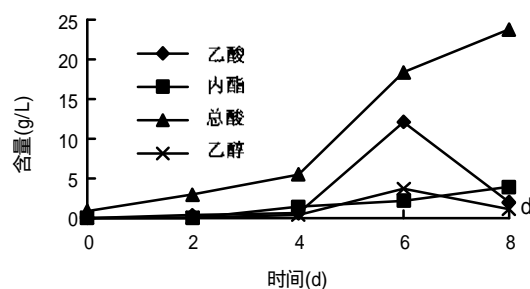


图 15 处理 9 各指标变化曲线

该处理的各物质产量和变化过程与处理 4 有很大差异,可能是由于 A22 的代谢产物中的某些成分为 Y13 的生长提供了条件,使得它发酵力有所增强而产生一定量的乙醇,而这些乙醇又被 A22 氧化成乙酸,因此该处理的乙酸含量在培养 6d 时达到了 11.5g/L,而 A22 单独培养

在此时的乙酸含量仅为 2.1 g/L。在乙酸达到一定量时,A22 又将乙酸氧化成二氧化碳和水。但毕竟 Y13 产乙醇的能力较弱,对 A22 利用葡萄糖产酸的影响并不太大,因此,该处理的葡萄糖二酸 1,4 内酯的含量较高,而在乙酸被分解的情况下,总酸仍能保持较高水平。

A22 与其它两个或三个菌种组合的处理(12、13、14、15)中,虽然葡萄糖二酸 1,4 内酯的含量也较高,但由于 A22 与它们之间存在竞争关系,因此,这些处理的还原糖下降值、总酸增加值和葡萄糖二酸 1,4 内酯的含量都不及 A22 单独培养的处理 4。

综合以上的结果分析,可以得到如下结论:菌种 A22 有很强的代谢葡萄糖产酸能力,可以产生高含量的功能因子—葡萄糖二酸 1,4 内酯,以及其它有益成分,如葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、葡萄糖二酸等,乙酸的含量适中,且由于乙酸具有较强的刺激性,不宜过多存在于饮料中,因此,该菌种是生产具有解毒、抗癌功能的茶菌饮料的理想菌种。菌种 M 与 Y11 组合可以产生大量的乙酸,因此,该组合可以用于生产功能性醋酸饮料。

参考文献:

- [1] Philippe J BLANC. Characterization of the Tea Fungus Metabolites[J]. Biotechnology Letters, 1996, 18(2): 139-142.
- [2] Kombucha Tea: What's All the Hoopla, <http://www.kombu.de/hoopla.htm>
- [3] Günther W Frank. The Fascination of Kombucha, <http://www.kombu.de/fasz-eng.htm>
- [4] Collen Allen. Past Research on Kombucha 1915-1964, <http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha-research.html>
- [5] Günther W Frank. The Kombucha Journal, <http://www.kombu.de/index.htm>
- [6] Michael R Roussin. Analyses of Kombucha Ferments: Report on Growers, <http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha-research-mroussin2toc.html>

信 息

瑞士拟修订饲料条例

瑞士日前拟修订饲料条例,涉及转基因饲料,预计于 2005 年 1 月 1 日生效,意见反馈截止日期为 2004 年 10 月 30 日。

瑞士对饲料条例进行修订是为了实施 2004 年 1 月 1 日生效的关于非人类基因技术的瑞士联邦法。具体修订内容为:转基因饲料的加工者必须通告买主该产品为转基因生物,并且要提供可用于产品溯源追踪的文件;转基因饲料的加工者必须采取适当措施以防止转基因生物与非转基因生物混杂;转基因派生饲料的标签必须明示以保证消费者的自由选择。

专家提醒,对瑞士出口饲料的企业应关注最终通过的饲料条例修正案,按照新要求加贴标签并提供相关证明文件。