

传统红茶菌优势菌株的复配筛选与品质分析

孟岳成¹ 张天齐¹ 陈 杰¹ 陈徐亮¹ 李延华^{1,2}

(1. 浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310018; 2. 浙江省微生物重点实验室, 浙江 杭州 310018)

摘要: [目的] 筛选得到发酵传统红茶菌的最佳菌种组合。[方法] 对分离自传统红茶菌中的菌种进行产酸、产醇能力测定, 将筛选出的 3 株醋酸菌和 4 株酵母菌复配组合成 12 组发酵剂用以发酵红茶菌, 通过气相色谱—质谱(GC-MS)联用技术并结合产品的理化指标、微生物指标、感官评价指标进行分析。[结果] 发酵组 M6(食糖驹形杆菌与酿酒酵母)与 M12(醋酸杆菌与布鲁塞尔酒香酵母)达到发酵终点时酸度分别为 0.537, 0.495 g/100 g, 高于绝大部分发酵组; 微生物菌数达到所有发酵组的平均水平; 茶多酚、咖啡因、乙醇含量等指标相较于部分发酵组具有显著性差异($P < 0.05$); 通过 GC-MS 分析发现, M6 与 M12 发酵组的特征风味物质为乙酸乙酯, 质量分数分别为 20.12%, 19.08%; 结合感官评价分数确定 M6 与 M12 发酵组在风味色泽与组织状态上均优于其他发酵组。[结论] M6 与 M12 发酵组能够作为传统红茶菌的有效发酵剂, 为传统发酵红茶菌提供良好的理化指标与风味物质, 提高其感官质量。

关键词: 红茶菌; 菌种复配; 组合筛选; 风味分析

Screening for combination and quality analysis of dominant strains of traditional kombucha

MENG Yuecheng¹ ZHANG Tianqi¹ CHEN Jie¹ CHEN Xuliang¹ LI Yanhua^{1,2}

(1. School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China;
2. Key Laboratory for Food Microbial Technology of Zhejiang Province, Hangzhou, Zhejiang 310018, China)

Abstract: [Objective] To obtain the best strain combination for fermenting traditional kombucha by screening the bacterial strains. [Methods] The strains isolated from traditional kombucha are evaluated in terms of the production of acids and alcohols. Three strains of acetic acid bacteria and four strains of yeast screened out are combined to form 12 fermentation groups for the production of kombucha, which are analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with the physicochemical and microbiological assays and sensory evaluation of the products. [Results] The acidity of the fermentation groups M6 (*Komagataeibacter saccharivorans* and *Saccharomyces cerevisiae*) and M12 (*Acetobacter* and *S. cerevisiae*) at the fermentation endpoint is 0.537 g/100 g and 0.495 g/100 g, respectively, higher than that of most fermentation groups. The microbial counts of the two groups reach the average level of all the fermentation groups. The two groups show significant differences in content of tea polyphenols, caffeine, and ethanol compared with some fermentation groups ($P < 0.05$). GC-MS results reveal that the characteristic flavor compound in M6 and M12 groups is ethyl acetate, with the mass fractions of 20.12% and 19.08%, respectively. The results above combined with the sensory evaluation scores suggest that the M6 and M12 groups are superior to the other fermentation groups in terms of flavor, color, and sensory quality. [Conclusion] The M6 and M12 fermentation groups can be used as effective strain combinations for the production of traditional kombucha, improving the physicochemical indexes, flavor compounds, and sensory quality of traditional kombucha.

Keywords: kombucha; strain combination; combination screening; flavor analysis

基金项目: 浙江省科技厅重点研发项目(编号: 2019C02091)

通信作者: 李延华(1979—), 女, 浙江工商大学副教授, 硕士生导师, 博士。E-mail: liyanhua607@163.com

收稿日期: 2024-02-21 改回日期: 2025-08-14

引用格式: 孟岳成, 张天齐, 陈杰, 等. 传统红茶菌优势菌株的复配筛选与品质分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(12): 11-18.

Citation: MENG Yuecheng, ZHANG Tianqi, CHEN Jie, et al. Screening for combination and quality analysis of dominant strains of traditional kombucha[J]. Food & Machinery, 2025, 41(12): 11-18.

红茶菌, 又称康普茶, 起源于中国秦朝时期。传统的红茶菌是由红茶经过醋酸菌、酵母菌等有益微生物共同发酵而成的功能性茶饮料^[1], 具有丰富的营养物质, 红茶菌中咖啡因含量相较于红茶液低, 而茶多酚和蛋白质等功能物质含量相较于茶汤变化很小, 同时增加了锌、铁等微量元素, 具有较好的治疗胃肠道疾病、增强机体免疫力等功效^[2]。红茶菌在发酵过程中产生的一些多酚类化合物和有机酸, 在预防癌症和增强免疫力方面有重要作用。此外, 红茶菌饮料中的多酚类物质及葡萄糖醛酸等活性物质在抗氧化功能方面起着重要作用^[3-5]。

在红茶发酵过程中, 由于酵母菌与醋酸菌的相互作用形成了多种风味物质, 给予了红茶菌独特的感官风味^[6]。发酵菌种的选用是赋予红茶菌品质特性的关键, 在红茶菌体系内不同益生菌种的相互作用可以产生大量活性物质并为其提供特征风味。Wang 等^[7]从新西兰在售的红茶菌样品中分离并鉴定出了一系列发酵特征菌种, 如醋酸杆菌、布鲁塞尔酒香酵母等, 进一步明晰了红茶菌中的微生物体系。徐素云等^[8]对木糖驹形杆菌(*Komagataeibacter xylinus*)、拜耳接合酵母(*Zygosaccharomyces bailii*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)的菌种组合发酵红茶菌进行了研究, 发现在 30℃发酵 7 d 时红茶菌的口感更加和谐。Wang 等^[9]采用巴氏醋酸杆菌(*Acetobacter pasteurianus*)、木糖驹形杆菌(*Komagataeibacter xylinus*)和拜耳接合酵母(*Zygosaccharomyces bailii*)混菌发酵制备红茶菌, 发现混菌发酵的协同作用可产生更高浓度的有机酸、总酚和黄酮。檀馨悦等^[10]发现, 红茶菌的风味物质来自茶底物及其衍生物、加入的糖底物以及糖茶水在发酵过程中形成的代谢产物, 复配多种非酿酒酵母可提高红茶菌风味的丰富程度。随着红茶菌工业化生产的需求不断增多, 选用能够维持良好发酵效果的菌种组合并有效缩短红茶菌发酵成熟的时间也愈发重要, 但目前对红茶菌的研究主要集中在其菌种结构分析以及发酵工艺优化方面。研究拟对从传统红茶菌菌种中筛选的 3 株醋酸菌和 4 株酵母菌进行复配组合, 对 12 组复配菌种发酵组进行红茶菌发酵, 并结合感官评价结果, 预期得到几种优势菌种的复配组合来提升红茶菌的品质, 以期为推动红茶菌工业的高质量、标准化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氯化钠: 分析纯, 广东光华科技股份有限公司;
碳酸钙: 分析纯, 建德市莲顺钙化有限公司;
酵母浸出粉: 分析纯, 杭州微生物试剂有限公司;
一水葡萄糖: 分析纯, 永华化学科技(江苏)有限公司;
琼脂粉、蛋白胨: 分析纯, 青岛海博生物技术有限公司;
吐温 80: 分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司;

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)、葡萄糖酵母浸粉蛋白胨培养基(GYP): 生化级, 杭州微生物试剂有限公司;

酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YPD): 生化级, 青岛海博生物技术有限公司;

氯化三苯基四氮唑(TTC): 分析纯, 上海源叶生物科技有限公司;

重铬酸钾: 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

无水乙醇、甘油、浓硫酸: 分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

电子天平: AL104 型, 瑞士 Mettler Toledo 公司;

精密天平: ARA520 型, 奥豪斯国际贸易公司;

精密 pH 计: DELTA320 型, 瑞士 Mettler Toledo 公司;

恒温恒湿培养箱: BSC-250 型, 上海双旭电子有限公司;

高速离心机: H1601R 型, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

摇床: SKY-200B 型, 上海苏昆仪器仪表有限公司;

超净工作台: SW-CJ-2FD 型, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;

数显恒温水浴锅: HH-4 型, 国华电器有限公司;

气相色谱—质谱联用仪: 7890A-5975C 型, 美国 Agilent 公司;

SPME 萃取装置: 57304 型, 美国 Sigma 公司;

电热鼓风干燥箱: GZX-9140MBE 型, 北京鸿达天矩试验设备有限公司;

液相色谱—质谱联用仪: 1200-6210 型, 美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 优良产酸醋酸菌与产醇酵母菌的筛选 将实验室保存的醋酸菌与酵母菌分别用 GYP 与 YPD 液体培养基活化两次, 菌株详细信息见表 1 与表 2。取活化后的醋酸菌与酵母菌菌液 1 mL 加入到 9 mL 液体培养基中, 分别在 30、28℃下振荡培养 48 h 后, 按 Zou 等^[11]的方法进行酸度测定。将实验室初步筛选保藏所得酵母菌(见表 2)于 YPD 培养基中活化并分成两部分, 一部分传代 2 次后按 3 g/100 mL 的添加量接种到 100 mL 已灭菌的茶糖水中, 于 28℃下发酵 48 h 后对其 pH 值和酸度进行测定。另一部分划线接种于 PDA 固体培养基中, 倒入含有 TTC 的上层葡萄糖琼脂培养基, 于 28℃下培养 2 h 后观察并记录培养基颜色变化。根据菌落颜色深浅判断菌株产醇能力的强弱(颜色越深, 产乙醇能力越强^[12])。

1.3.2 发酵剂的制备 将筛选后得到的优良醋酸菌和酵

表 1 醋酸菌菌株[†]

菌株编号	菌种名称
M-A1	中间葡萄糖醋杆菌(<i>G. intermedius</i>)
M-A2	中间葡萄糖醋杆菌(<i>G. intermedius</i>)
M-A3	中间葡萄糖醋杆菌(<i>G. intermedius</i>)
M-A4	中间葡萄糖醋杆菌(<i>G. intermedius</i>)
M-A5	食糖驹形杆菌(<i>K. saccharivorans</i>)
M-A6	中间驹形杆菌(<i>K. intermedius</i>)
M-A7	醋酸杆菌(<i>Acetobacter</i>)
M-A8	醋酸杆菌(<i>Acetobacter</i>)

† 菌种名称相同的菌种均为同属不同种。

表 2 酵母菌菌株[†]

菌株编号	菌种名称
M-Y1	二孢接合酵母(<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>)
M-Y2	布鲁塞尔酒香酵母(<i>Brettanomyces bruxellensis</i>)
M-Y3	二孢接合酵母(<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>)
M-Y4	酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
M-Y5	斯塔莫酵母(<i>Starmarella davenportii culture</i>)
M-Y6	二孢接合酵母(<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>)
M-Y7	布鲁塞尔酒香酵母(<i>Brettanomyces bruxellensis</i>)
M-Y8	二孢接合酵母(<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>)
M-Y9	斯塔莫酵母(<i>Starmarella davenportii culture</i>)
M-Y10	布鲁塞尔酒香酵母(<i>Brettanomyces bruxellensis</i>)

† 菌种名称相同的菌种均为同属不同种。

母菌进行复配组合,得到 12 组红茶菌发酵剂,以原始茶汤为空白对照组(M0)。如表 3 所示,在醋酸菌液体培养基与 YPD 液体培养基中传代 2 次,使菌株恢复活力。根据传统红茶菌发酵特性并参照左勇等^[13]对红茶菌发酵条件的研究结果,确定总接种量为茶汤体积的 6%, $V_{\text{醋酸菌}}:V_{\text{酵母菌}}=2:1$ 。

1.3.3 红茶菌饮料的制备与收集 红茶菌发酵参照林娟等^[14]的方法并稍作改进:茶叶于 90℃浸提 15 min 后过滤得到茶汤,向茶汤中添加 8%的蔗糖,灭菌冷却至室温后向茶汤中接种发酵剂,在培养箱中恒温发酵 5 d。每个发酵组进行 3 次独立发酵,用无菌离心管分别收集不同发酵

表 3 发酵红茶菌的起始发酵剂编号

红茶菌发酵编号	发酵菌种
M1	中间葡萄糖醋杆菌+二孢接合酵母(M-A2+M-Y3)
M2	中间葡萄糖醋杆菌+酿酒酵母(M-A2+M-Y4)
M3	中间葡萄糖醋杆菌+斯塔莫酵母(M-A2+M-Y5)
M4	中间葡萄糖醋杆菌+布鲁塞尔酒香酵母(M-A2+M-Y10)
M5	食糖驹形杆菌+二孢接合酵母(M-A5+M-Y3)
M6	食糖驹形杆菌+酿酒酵母(M-A5+M-Y4)
M7	食糖驹形杆菌+斯塔莫酵母(M-A5+M-Y5)
M8	食糖驹形杆菌+布鲁塞尔酒香酵母(M-A5+M-Y10)
M9	醋酸杆菌+二孢接合酵母(M-A8+M-Y3)
M10	醋酸杆菌+酿酒酵母(M-A8+M-Y4)
M11	醋酸杆菌+斯塔莫酵母(M-A8+M-Y5)
M12	醋酸杆菌+布鲁塞尔酒香酵母(M-A8+M-Y10)

时间的红茶菌样品。

1.3.4 红茶菌饮料指标测定

- (1) pH 值:用 pH 计测定。
- (2) 酸度:参照 GB 5009.239—2016。
- (3) 菌落数:醋酸菌参照 GB 4789.35—2023;酵母菌参照 GB 4789.15—2016。
- (4) 茶多酚含量:参照 GB/T 21733—2008。
- (5) 乙醇体积分数:参照 Chakravorty 等^[3]的方法。
- (6) 咖啡因含量:参照 GB 5009.139—2014。

1.3.5 挥发性风味物质测定 参照 Peng 等^[15]的方法,修改如下:将萃取头老化 40 min 后,插入到预热 30 min 后的样品瓶中,伸出萃取头,萃取 30 min 后,收回萃取头,最后通过气质联用,测定风味物质。

GC 条件:色谱柱为 DB-WAX (60 m×0.25 mm×0.5 μm),进样口温度 240℃,进样量 1 μL,分流比 10:1,恒流模式,柱流量 2 mL/min,柱温:从 60℃开始,以 10℃/min 速度升高到 240℃,然后保持 20 min。

MS 条件:EI 离子源,离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,质量数扫描范围 33~500 amu,发射电流 100 μA。

1.3.6 感官评价 组织具有红茶菌感官评定经验的专业人员 10 位,参照表 4 对试验样品进行感官评价。

表 4 红茶菌感官评分表

项目	评分标准
口感风味	茶香浓郁,滋味适口(3 分以上);滋味适中,无涩味,无异味(2~3 分);滋味较苦,涩味较重(2 分以下)
色泽	色泽棕黄,清澈透亮(2 分以上);颜色均匀,棕黄色(1~2 分);颜色偏深或偏浅(1 分以下)
组织状态	液体清澈,沉淀较少(2 分以上);发酵液一般清澈,存在部分沉淀(1~2 分);发酵液较为浑浊,有较大部分沉淀(1 分以下)

1.4 数据处理

所有试验均进行 3 次测定,所得数据采用 Microsoft Excel 2024 统计和计算。利用 GC-MS 仪器配置的 MassHunter Workstation 软件进行 GC-MS 数据分析。采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析(Duncan 新复极差检验法,显著水平 $P<0.05$),用 Origin 制作折线图和柱状图,通过热图和聚类分析对风味物质进行筛选提取。

2 结果与分析

2.1 优良醋酸菌的筛选

对筛选得到的 8 株醋酸菌进行液体培养后,测定其培养液的酸度。由图 1 可知,M-A2、M-A5、M-A8 菌株的产酸量明显高于其他菌株($P<0.05$),培养液酸度分别为 0.467,0.519,0.609 g/100 g。因此,以 M-A2、M-A5、M-A8 作为后续混菌发酵的菌种。

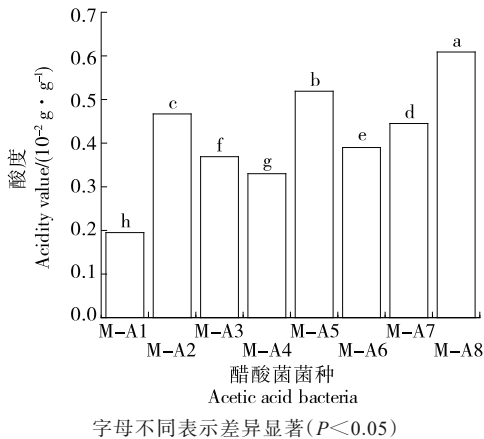


图 1 醋酸菌菌种发酵红茶菌的酸度
Figure 1 Acidity of kombucha fermented by different strains of acetic acid bacteria

2.2 优良酵母菌的筛选

2.2.1 酵母菌产醇能力的筛选 由表 5 可知,对酵母菌 PDA 培养基进行 TTC 显色反应后,M-Y2、M-Y3、M-Y4、M-Y5、M-Y9、M-Y10 颜色较深,表明这些菌株产醇能力较好。对菌株产醇能力进行定量测定,得到乙醇体积分数为 1.695%~3.848%,其中产醇能力最佳的酵母菌为 M-Y3,其次为 M-Y9、M-Y4、M-Y5。

2.2.2 酵母菌产酸特性及风味品质 由表 6 可知,M-Y1、M-Y3、M-Y6、M-Y8 二孢接合酵母中,M-Y3 的酸度最高为 0.027 g/100 g,pH 值为 4.37,其发酵风味较好。M-Y2、M-Y7、M-Y10 酒香酵母中,M-Y10 的酸度最高 0.034 g/100 g,pH 值为 3.99,且发酵风味较好。M-Y5、M-Y9 的斯塔莫酵母中酸度最高为 0.074 g/100 g,pH 值为 3.02。综合酵母菌产醇能力和产酸特性分析,选取 M-Y3、

表 5 酵母菌产醇特性†

菌种编号	定性分析	定量分析/%
M-Y1	+	1.877±0.026 ^e
M-Y2	++	2.575±0.091 ^d
M-Y3	++	3.848±0.047 ^a
M-Y4	++	3.209±0.022 ^e
M-Y5	++	3.199±0.068 ^e
M-Y6	+	1.695±0.003 ^b
M-Y7	+	2.422±0.014 ^e
M-Y8	+	2.044±0.063 ^f
M-Y9	++	3.484±0.017 ^b
M-Y10	++	2.575±0.012 ^d

† “+”表示加入 TTC 2 h 后,培养基颜色深浅程度;同列字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表 6 酵母菌产酸特性及组织状态†

菌株编号	酸度/ (10 ⁻² g · g ⁻¹)	pH	风味品质
M-Y1	0.022±0.002 ^{cd}	4.57±0.01 ^b	有茶香,有醇味,发酵液清澈
M-Y2	0.018±0.003 ^{de}	4.57±0.03 ^b	无茶香,有异味,发酵液浑浊
M-Y3	0.027±0.003 ^e	4.37±0.04 ^e	有茶香,醇味明显,发酵液较清澈
M-Y4	0.023±0.001 ^{cd}	4.49±0.07 ^b	有茶香,醇味明显,发酵液清澈
M-Y5	0.074±0.002 ^a	3.02±0.02 ^e	无茶香,有醇味,发酵液浑浊且有气泡
M-Y6	0.017±0.004 ^{de}	4.52±0.02 ^b	有茶香,醇味较淡,发酵液清澈
M-Y7	0.014±0.006 ^e	3.98±0.07 ^d	无茶香,有醇味,发酵液浑浊
M-Y8	0.015±0.004 ^e	4.75±0.04 ^a	有茶香,无醇味,发酵液很清澈
M-Y9	0.015±0.003 ^e	4.50±0.12 ^b	有茶香,有醇味,发酵液浑浊且有气泡
M-Y10	0.034±0.002 ^b	3.99±0.06 ^d	无茶香,有醇味,发酵液清澈

† 同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

M-Y4、M-Y5、M-Y10 作为后续发酵菌种。

2.3 不同红茶菌发酵组产酸能力

由图 2 可知,随着红茶菌发酵的进行,发酵组的 pH 值逐渐下降,酸度逐渐增加。M3、M7、M11 在发酵后期酸度增加程度趋于平缓,且酸度都低于 0.15 g/100 g,可能是醋酸菌和酵母菌在发酵时,酵母菌大量生长,从而使醋酸菌的生长被抑制^[16]。此外,M2、M5、M6、M12 产酸量都高于 0.50 g/100 g,pH 值在 3.00~3.25,相较于其他发酵组在产酸性能和产酸速率方面都具有优异性,说明这些发酵组中的菌种能够以更好的产酸性能互作作用于菌株之间的

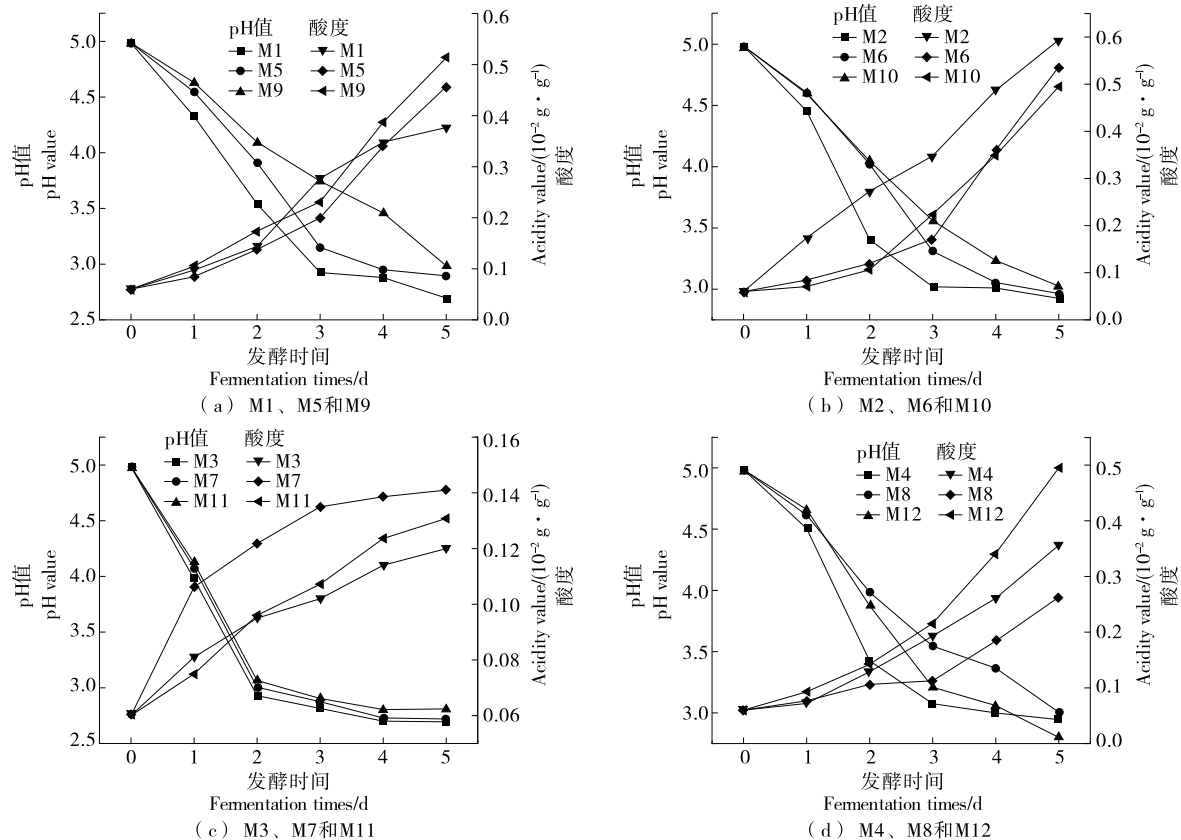


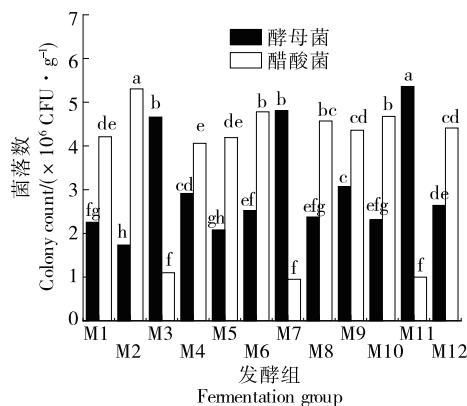
图2 发酵红茶菌样品的pH值与酸度测定

Figure 2 pH and acidity of kombucha samples

代谢过程。

2.4 不同红茶菌发酵组微生物指标

由图3可知,M3、M7、M11发酵组醋酸菌菌落数均在 $1.0 \times 10^6 \text{ CFU/g}$ 左右,远低于其他发酵组,而添加斯塔莫酵母菌的发酵组菌落数远高于其他发酵组,可能是由于斯塔莫酵母发酵性能远优于其他酵母菌,抑制了醋酸菌



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图3 混菌发酵红茶菌菌落计数

Figure 3 Colony counts of kombucha samples obtained by mixed fermentation

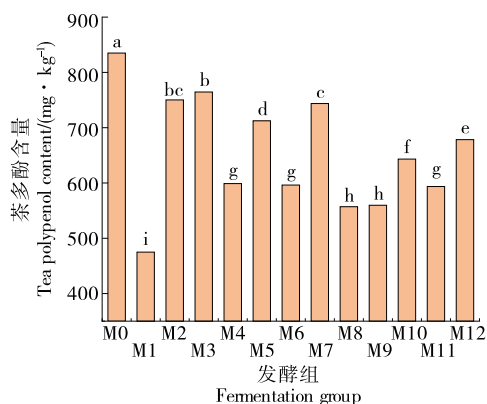
的生长活动^[17]。结合产酸能力分析发现,终产物醋酸菌落数在 $1.0 \times 10^6 \text{ CFU/g}$ 以上的发酵组产酸性能显著优于M3、M7、M11发酵组。

2.5 不同红茶菌发酵组茶多酚含量

由图4可知,原始茶汤(M0)的茶多酚含量比其他发酵组高($P < 0.05$),达到 834.97 mg/kg 。在红茶菌发酵过程中微生物活动会导致茶多酚降解^[18],使得茶多酚含量下降,M1发酵组的茶多酚含量最低为 474.89 mg/kg ,相对应的M1发酵组醋酸菌活菌数较高,pH值和可滴定酸度相对较高,对茶多酚含量有一定的影响^[19]。

2.6 不同红茶菌发酵组咖啡因含量

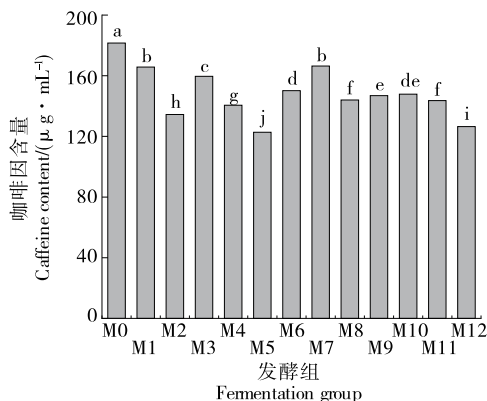
由图5可知,咖啡因含量最高的为原始茶汤(M0),达到 181.56 mg/kg 。随着红茶菌发酵的进行,咖啡因的含量不断降低,可能是咖啡因作为氮源在发酵过程中被红茶菌中的微生物所利用消耗^[20],使得发酵红茶菌的咖啡因含量比发酵初始含量低,M3、M7发酵组咖啡因含量相较于其他发酵组高,在发酵过程中这2个发酵组的醋酸菌活动被抑制,酵母菌大量增殖,对氮源的消耗相较于其他发酵组低,在12组发酵组中,M1、M7发酵组的咖啡因含量为 165.71 、 166.43 mg/kg ,其他发酵组的咖啡因含量为 $120 \sim 150 \text{ mg/kg}$ 。



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 不同红茶菌发酵组茶多酚含量变化

Figure 4 Changes in the content of tea polyphenols in different fermentation groups for kombucha production



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 不同红茶菌发酵组咖啡因含量变化

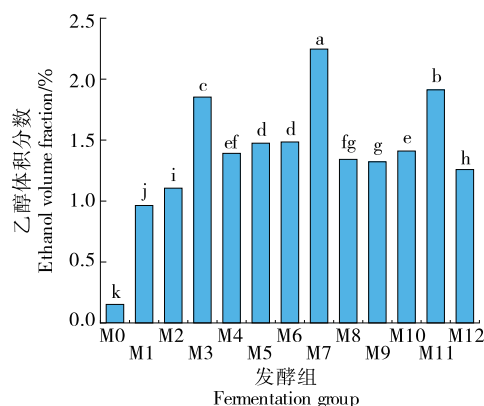
Figure 5 Changes in the content of caffeine in different fermentation groups for kombucha production

2.7 不同红茶菌发酵组乙醇体积分数

由图 6 可知,随着发酵的进行红茶菌发酵终产物的乙醇体积分数均比原始茶汤高,由于 M3、M7、M11 发酵组酵母菌生长速度快,且醋酸菌数目较低,导致其乙醇体积分数较高,分别为 1.85%、2.25%、1.91%,其他发酵组的乙醇体积分数为 1.00%~1.50%,结合微生物指标能够推断出其他发酵组在醋酸菌大量生长的状态下利用体系中的醇类物质来代谢产酸^[21],所以其体积分数较低。

2.8 不同红茶菌发酵组挥发性风味物质

通过 HS-SPME-GC-MS 技术对糖茶水及 12 组混菌发酵红茶菌进行风味物质分析鉴定,经过 NIST 1.1 谱库检索及挥发性化合物匹配度分析后,利用热图进行可视化分析,得到图 7,从样品中共采集到 74 种化合物。12 组发酵红茶菌中酸类物质总含量最高,其次是醇类风



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 6 不同红茶菌发酵组乙醇体积分数变化

Figure 6 Changes in volume fraction of ethanol in different fermentation groups for kombucha production

味物质,说明这两种物质在红茶菌风味中起到重要作用^[22]。

添加醋酸杆菌的 M9、M10、M11、M12 发酵组乙酸质量分数高于添加中间葡萄糖杆菌和食糖驹形杆菌的发酵组,而添加食糖驹形杆菌的 M5、M6、M8 发酵组中特征风味物质 3-甲基丁酸的质量分数较高,分别达到 11.05%、7.81%、7.62%。从醇类风味物质来看,添加斯塔莫酵母菌的发酵组中醇类物质质量分数为 69.93%~88.79%,添加酿酒酵母的发酵组的乙醇和异戊醇质量分数高于添加二孢接合酵母和酒香酵母的发酵组。从酯类风味物质来看, M2、M6、M10、M12 发酵组的特征风味乙酸乙酯质量分数 (分别为 21.67%、20.12%、19.20%、19.08%) 高于其他发酵组。

整体上,相较于未添加发酵剂的红茶汤 M0,各发酵组在酸类、醇类、酯类与醛类的风味丰富度与含量上均优于 M0 并具有红茶菌风味, M2、M6、M10、M12 发酵组特征风味物质乙酸乙酯质量分数高于其他发酵组,为红茶菌提供了香气物质。

2.9 不同红茶菌发酵组感官评价

由图 8 可知,添加斯塔莫酵母的 M3、M7、M11 发酵组在口感风味上远低于其他发酵组,造成这种差异的原因是红茶菌发酵不成熟,体系中醋酸菌未经过充分繁殖与代谢,导致红茶菌整体风味不佳。此外 M6 与 M12 发酵组在口感风味方面远远优于其他发酵组,同时在色泽与组织状态上也得到了良好评分,可能是在红茶菌发酵过程中食糖驹形杆菌和醋酸杆菌相对于葡萄糖杆菌具有更好的风味,而酒香酵母、酿酒酵母能产生较多的醇类和酯类物质,使其滋味优于其他酵母菌发酵^[23-24]。

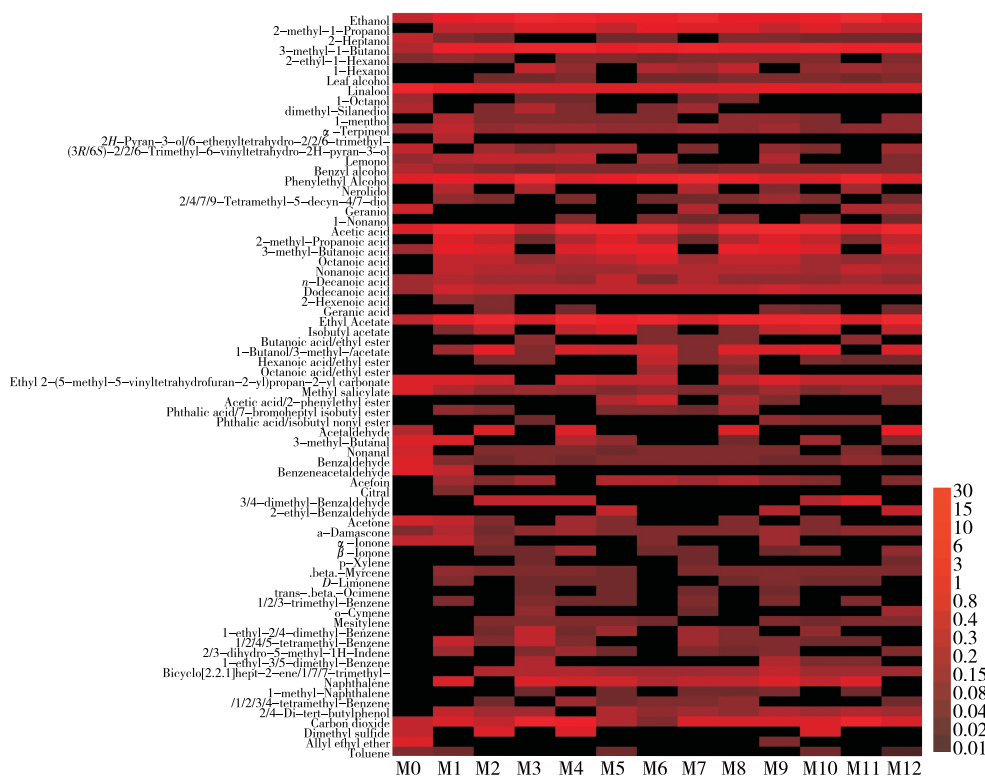


图7 12组混菌发酵红茶菌挥发性风味物质热图

Figure 7 Heat map of volatile flavor compounds of 12 mixed fermentation groups for kombucha production

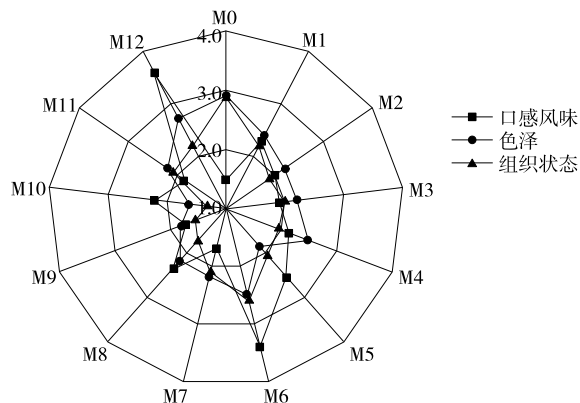


图8 红茶菌感官品评雷达图

Figure 8 Sensory evaluation radar chart of kombucha

3 结论

以醋酸菌的产酸和酵母菌的产醇能力为指标筛选出优势菌种来组合复配发酵红茶菌,对所得到的12个发酵组进行一系列的理化指标测定、感官评价及风味分析。通过研究发现,不同红茶菌优势菌株的复配组合发酵组产品在理化指标、风味上有着显著差异($P<0.05$),通过GC-MS测定发现特定菌种的添加能够对红茶菌的特征风味物质起到促进作用,感官评价发现由食糖驹形杆菌和

酿酒酵母复配、醋酸杆菌和布鲁塞尔酒香酵母复配发酵的红茶菌具备良好的理化指标与风味,并获得了较高的感官评价分数,适合作为发酵组合来发酵红茶菌,后续可针对所筛选出的两组发酵组合开展进一步的工艺改进与技术研究。

参考文献

- [1] LANDIS E A, FOGARTY E, EDWARDS J C, et al. Microbial diversity and interaction specificity in kombucha tea fermentations[J]. mSystems, 2022, 7(3): e0015722.
- [2] CHEN N, HAN B S, FAN X W, et al. Uncovering the antioxidant characteristics of black tea by coupling *in vitro* free radical scavenging assay with UHPLC-HRMS analysis[J]. Journal of Chromatography B, 2020, 1145: 1122092.
- [3] CHAKRAVORTY S, BHATTACHARYA S, CHATZINOTAS A, et al. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 220: 63-72.
- [4] GAGGIÀ F, BAFFONI L, GALIANO M, et al. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity[J]. Nutrients, 2018, 11(1): 1.
- [5] EVA I, KRISTÍNA M, MARGARITA T, et al. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of

- kombucha tea beverage[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57(5): 1 840-1 846.
- [6] TRAN T, GRANDVALET C, VERDIER F, et al. Microbial dynamics between yeasts and acetic acid bacteria in kombucha: impacts on the chemical composition of the beverage[J]. Foods, 2020, 9(7): 963.
- [7] WANG B Y, RUTHERFURD-MARKWICK K, ZHANG X X, et al. Isolation and characterisation of dominant acetic acid bacteria and yeast isolated from kombucha samples at point of sale in New Zealand[J]. Current Research in Food Science, 2022 (5): 835-844.
- [8] 徐素云, 王艳萍, 周聪, 等. 纯种混合发酵红茶菌工艺优化及品质分析[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(15): 138-145.
- XU S Y, WANG Y P, ZHOU C, et al. Optimization and quality analysis of pure and mixed fermentation of kombucha[J]. Food Research and Development, 2022, 43(15): 138-145.
- [9] WANG S, ZHANG L M, QI L B, et al. Effect of synthetic microbial community on nutraceutical and sensory qualities of kombucha[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020, 55(10): 3 327-3 333.
- [10] 檀馨悦, 黎琪, 王晴, 等. 红茶菌中风味物质相关功能微生物的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 327-335.
- TAN X Y, LI Q, WANG Q, et al. Progresses in functional microorganisms associated with flavor compounds in kombucha tea[J]. Food Science, 2020, 41(11): 327-335.
- [11] ZOU C, LI R Y, CHEN J X, et al. Zijuan tea-based kombucha: physicochemical, sensorial, and antioxidant profile[J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130322.
- [12] GUO W Y, LOBACHEV K S. Genetic screens to study GAA/TTC and inverted repeat instability in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N. J.), 2020, 2 056: 103-112.
- [13] 左勇, 边名鸿. 红茶菌发酵条件的控制研究[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 228-231.
- ZUO Y, BIAN M H. Optimization of fermentation conditions for kombucha tea[J]. Food Science, 2011, 32(11): 228-231.
- [14] 林娟, 叶秀云, 曹泽丽, 等. “红茶菌”中微生物的分离及纯菌混合发酵生产[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 39-48.
- LIN J, YE X Y, CAO Z L, et al. Isolation of microbes from kombucha and kombucha fermentation with pure culture combinations[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(2): 39-48.
- [15] PENG X H, YUE Q, CHI Q Q, et al. Microbial diversity and flavor regularity of soy milk fermented using kombucha[J]. Foods, 2023, 12(4): 844.
- [16] GERARIS KARTELIS I, KARANTONIS H C, GIAOURIS E, et al. Kombucha fermentation of olympus mountain tea (*sideritis scardica*) sweetened with thyme honey: physicochemical analysis and evaluation of functional properties[J]. Foods, 2023, 12(18): 3 496.
- [17] VILLARREAL-SOTO S A, BEAUFORT S, BOUAJILA J, et al. Understanding kombucha tea fermentation: a review[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(3): 580-588.
- [18] JAYABALAN R, SUBATHRADEVI P, MARIMUTHU S, et al. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 227-234.
- [19] GREENWALT C J, STEINKRAUS K H, LEDFORD R A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects[J]. Journal of Food Protection, 2000, 63 (7): 976-981.
- [20] HARRISON K, CURTIN C. Microbial composition of scoby starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America[J]. Microorganisms, 2021, 9(5): 1 060.
- [21] WANG Z, AHMAD W, ZHU A F, et al. Identification of volatile compounds and metabolic pathway during ultrasound-assisted kombucha fermentation by HS-SPME-GC/MS combined with metabolomic analysis[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 94: 106339.
- [22] JANG S S, MCINTYRE L, CHAN M, et al. Ethanol concentration of kombucha teas in British Columbia, Canada [J]. Journal of Food Protection, 2021, 84(11): 1 878-1 883.
- [23] TRAN T, GRANDVALET C, VERDIER F, et al. Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 2 050-2 070.
- [24] ANSARI F, ALIAN SAMAKKHAH S, BAHADORI A, et al. Health-promoting properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* as a probiotic; characteristics, isolation, and applications in dairy products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(4): 457-485.