

韩颖, 王茜, 侯晨梓, 等. 红茶菌发酵荞麦浆醋饮的工艺优化及品质分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 167–175. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100158

HAN Ying, WANG Qian, HOU Chenzi, et al. Optimization of Fermentation Process and Quality Analysis of Buckwheat Vinegar Fermented by Kombucha[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 167–175. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100158

· 工艺技术 ·

红茶菌发酵荞麦浆醋饮的工艺优化及品质分析

韩颖¹, 王茜¹, 侯晨梓¹, 卜贤盼^{2,3}, 唐德剑^{2,3}, 赵育^{1,*}

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710000;

2. 安康市富硒产品研发中心, 陕西安康 725000;

3. 农业农村部富硒产品开发与质量控制重点实验室, 陕西安康 725000)

摘要: 本文以荞麦浆为原料, 采用红茶菌发酵荞麦浆制备荞麦浆醋饮。以荞麦浆发酵液总酸含量及感官评分为指标, 探究不同荞麦浆可溶性固形物含量、红茶菌接种量、发酵温度对发酵液品质的影响, 确定发酵最佳工艺条件; 在最佳工艺条件下制备荞麦浆醋饮, 探究发酵过程中荞麦浆 pH、总酸、总酚、总黄酮及有机酸含量的变化。结果表明, 红茶菌发酵荞麦浆醋饮最佳工艺条件为可溶性固形物含量 13%, 红茶菌接种量 15%, 发酵温度 30 ℃; 在此优化条件下, 发酵过程中, 荞麦浆 pH 降低、总酸升高, 还原糖含量先升高后下降, 总酚含量升高、黄酮含量先下降后升高, 乙酸、乳酸、琥珀酸含量增加, 苹果酸和丙二酸含量先增加后降低; 发酵 9 d 后得到的荞麦浆醋饮总酸含量 32.96 g/L, 总酚含量 1.72 g/L, 总黄酮含量 2.55 g/L, 酸度适宜, 口感柔和, 具有浓郁的荞麦香气和保健功能。

关键词: 荞麦, 红茶菌, 发酵, 工艺优化, 有机酸

中图分类号: TS275.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)16-0167-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100158



本文网刊:

Optimization of Fermentation Process and Quality Analysis of Buckwheat Vinegar Fermented by Kombucha

HAN Ying¹, WANG Qian¹, HOU Chenzi¹, BU Xianpan^{2,3}, TANG Dejian^{2,3}, ZHAO Yu^{1,*}

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710000, China;

2. Ankang R & D Center for Se-enriched Products, Ankang 725000, China;

3. Key Laboratory of Se-enriched Products Development and Quality Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Ankang 725000, China)

Abstract: In this study, buckwheat syrup was used as the raw material and was fermented by kombucha to produce the buckwheat vinegar. Based on the total acid content and the sensory score of buckwheat vinegar, the effects of different content of soluble solid, inoculation amount of kombucha and fermentation temperature on the quality of buckwheat vinegar were investigated, and the optimal process conditions for buckwheat syrup fermentation by kombucha were determined. Subsequently, the buckwheat vinegar was fermented under these optimal technological conditions, changes in pH value, total acids, total phenols, total flavonoids as well as organic acids of buckwheat syrup during the fermentation process were explored. The results showed that the optimal fermentation conditions of buckwheat vinegar by kombucha were as follows: Soluble solid content was 13%, kombucha fungus inoculation amount was 15%, fermentation temperature was 30 ℃. Under this optimized condition, during the fermentation process, pH was decreased, the total acid was increased,

收稿日期: 2021-10-18

基金项目: 西安市科技局项目 (20193049YF037NS037); 陕西省科技厅项目 (2019NY-131)。

作者简介: 韩颖 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵工艺, E-mail: 137212531@qq.com。

* 通信作者: 赵育 (1988-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品发酵学, E-mail: yuzhao@snnu.edu.cn。

the reducing sugar content was increased first and then decreased, the total phenol content was increased, the flavonoid content was decreased first and then increased, the contents of acetic acid, lactic acid and succinic acid increased, while the contents of malic acid and malonic acid increased first and then decreased. After 9 days of fermentation, the total acid, total phenol and total flavonoid contents of the obtained buckwheat vinegar were 32.96, 1.72 and 2.55 g/L, respectively. The final vinegar had suitable acidity, soft taste, strong buckwheat aroma, and health care function.

Key words: buckwheat; kombucha; fermentation; process optimization; organic acid

荞麦属蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)植物,又名三角麦、乌麦等,目前主要有甜荞(Buckwheat)和苦荞(Tartary buckwheat)两个栽培品种^[1]。荞麦作为一种杂粮作物和药食同源食材,不仅含有丰富的膳食纤维、多种维生素及较为均衡的氨基酸蛋白质等,还富含生物类黄酮及高活性蛋白等生物活性成分,特别是其含有较多其他谷类粮食作物缺乏的黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎症、降三高多种生理功效,是一种集营养、保健、治疗于一体的健康食品^[2]。近年来,随着人们健康意识的提高,对荞麦及其制品的研究开发逐渐受到重视,如利用荞麦制酒、茶以及面包和药品等。

红茶菌饮料又名康普茶、海宝或胃宝,是以红茶/绿茶为原料,加入蔗糖,以糖茶水为发酵基质,由醋酸菌、酵母菌及乳酸菌等多种微生物共同发酵而形成的传统酸性饮料^[3]。红茶菌饮料中含有丰富的醋酸、葡萄糖酸、D-葡萄糖二酸-1,4-内酯、乳酸、茶多酚及氨基酸等有益成分,具有抑菌、提高机体免疫、抗癌及预防高血脂、高血压等心血管疾病的保健功效^[4-5]。

近年来,随着消费者健康保健意识的提升,国内外对红茶菌饮料的研究越来越广泛和深入,其原料的选择越来越丰富,例如以果汁、蔬菜汁、牛奶和葛根等多种原料为底物,发酵得到与传统红茶菌饮料风格各异,具有特殊风味和特定保健功能的新型红茶菌醋饮^[6-7]。与其他发酵食品相同,红茶菌饮料的风味和品质控制受到菌种及发酵工艺等因素的影响。目前国内对红茶菌发酵饮料的工艺条件优化主要集中在发酵温度、初始 pH、茶叶浓度、加糖量和接种量等方面,一般通过总酸含量、感官评分等评价指标确定最优发酵条件^[8]。

目前,荞麦和红茶菌这两种具有很强功能性的食品正处于研究热点,而将两者结合起来,采用红茶菌发酵荞麦浆制备醋饮的工艺研究还未见报道。因此,本研究以荞麦浆为原料,采用红茶菌对其进行发酵,探究荞麦浆可溶性固形物含量(soluble solid content, SSC)、红茶菌接种量及发酵温度对荞麦浆发酵醋饮品质的影响,以总酸含量及感官评价为指标确定各因素最优参数,得出红茶菌发酵荞麦浆的理想工艺条件,同时,在此优化条件下,测定了发酵后荞麦浆醋饮有机酸、总酚、总黄酮等理化指标。本研究旨在将荞麦和红茶菌两种具有功能性的食品结合到一起,通过酒精发酵、乳酸发酵、醋酸发酵这一复合发

酵,得到一款具有双重保健功效的功能性醋饮,研究结果将为荞麦以及红茶菌的精深开发及产业链的延伸提供新的思路和参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

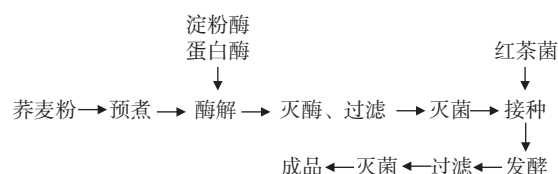
荞麦粉 靖边县荞庆源农产品加工有限公司; 红茶菌 陕西师范大学果蔬深加工工程技术研究中心提供; α -淀粉酶 生物试剂,酶活 ≥ 3700 U/g,北京奥博星生物技术有限责任公司; 碱性蛋白酶 分析纯,酶活 ≥ 200000 U/g,英国 BDH 公司; 福林酚 分析纯, Sigma-Aldrich 上海贸易有限公司; 没食子酸 分析纯,天津大茂化学试剂厂; 芦丁 分析纯,上海 Dadmas-Beta 有限公司; 丙二酸、苹果酸、乳酸、琥珀酸、冰乙酸、富马酸 分析纯,上海源叶生物科技有限公司。

GSP-9080MBE 型隔水式恒温培养箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; WFJ2000 型可见分光光度计 上海龙尼科仪器有限公司; Ultimate3000 型高效液相色谱仪 Thermo 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 红茶菌的活化 参考 Cvetkovic 等^[9]的方法制备红茶菌培养液,将茶叶与水以质量比 1:400 取量,待水沸腾后放入茶叶包及 10% 白糖,搅拌溶解后取出茶包,冷却至 35 °C 以下备用。将制备好的培养液装入无菌大容量烧杯中,加入 10% 原菌液,纱布封口,置于 30 °C 温箱中培养 7 d。

1.2.2 荞麦发酵醋饮制备工艺流程



1.2.3 红茶菌发酵荞麦浆操作要点 荞麦浆制备: 将荞麦粉与水以 1:10 混合,预煮至 90 °C 保持 1 h,制成荞麦原液。在荞麦原液中加入 0.30% α -淀粉酶, 0.20% 碱性蛋白酶,于 50 °C 下酶解 6 h,升温至 90 °C 保持 15 min,并于 100 °C 煮沸 10 min 使淀粉充分液化,以碘液测试为浅黄色为液化终点,用无菌纱布过滤样液,得到荞麦浆。

红茶菌的接种: 在制备好的荞麦浆中加入 10% 活化后的红茶菌液,纱布封口,得到荞麦浆待发酵液。

荞麦浆的发酵:将制备好的荞麦浆待发酵液置于 30 ℃ 条件下发酵 9 d(经预实验证明发酵 9 d 后发酵液总酸含量无明显变化)。

过滤与灭菌:发酵 9 d 后得到荞麦浆发酵液,纱布过滤,于 121 ℃ 下高压灭菌 15 min,冷却,即得到红茶菌荞麦醋饮成品。

1.2.4 红茶菌发酵荞麦浆单因素实验

1.2.4.1 荞麦浆 SSC 确定 经测定荞麦浆原液 SSC 为 8%,为确定红茶菌发酵荞麦浆的最适荞麦浆 SSC,通过采用蒸馏水稀释荞麦浆或向荞麦浆中加白砂糖而使荞麦浆 SSC 达到 7%、10%、13%、16%,接入 10% 红茶菌液,纱布封口,于 30 ℃ 条件下发酵 9 d(经预实验证明发酵 9 d 后发酵液总酸含量无明显变化),发酵过程中每天取样测定发酵液总酸含量。

1.2.4.2 红茶菌接种量确定 为确定红茶菌在荞麦浆中的最适接种量,调整荞麦浆 SSC 为 10%,分别接入 5%、10%、15%、20% 红茶菌,纱布封口,于 30 ℃ 条件下发酵 9 d(经预实验证明发酵 9 d 后发酵液总酸含量无明显变化),发酵过程中每天取样测定发酵液总酸含量。

1.2.4.3 发酵温度确定 为确定红茶菌发酵荞麦浆最适温度,调整荞麦浆 SSC 为 10%,接入 10% 红茶菌液,纱布封口,分别于 20、25、30、35 ℃ 下至发酵 9 d(经预实验证明发酵 9 d 后发酵液总酸含量无明显变化),发酵过程中每天取样测定发酵液总酸含量。

1.2.5 红茶菌发酵荞麦浆工艺正交试验 参考 Wang 等^[10]的方法,以总酸含量为指标筛选出最佳单因素条件,根据单因素实验结果设计 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验,正交试验因素水平如表 1 所示,以总酸及感官评价为指标确定红茶菌发酵荞麦浆的最佳工艺条件。

表 1 红茶菌发酵荞麦浆工艺正交试验因素水平设计
Table 1 Orthogonal test factor level table of kombucha fermented buckwheat milk syrup process

水平	A荞麦浆SSC(%)	B红茶菌接种量(%)	C发酵温度(℃)
-1	10	10	25
0	13	15	30
1	16	20	35

综合加权评分法参考李敏等^[11]的方法,在红茶菌发酵荞麦浆正交试验中,对总酸含量和感官评分两项指标进行综合加权评分,确定各指标权重,以满分 100 分计。总酸含量权重分值 40 分,感官评价权重分值 60 分,综合评分为各指标加权评分之和。

$$Y_i = a \times \frac{w_i}{w_0}$$

式中: Y_i 表示指标加权得分,分; a 表示指标权重分值,分; W_i 表示指标实际试验结果, g/L 或分; W_0 表示最佳试验结果(总酸最佳值为 36.15 g/L,感

官评分最佳值为 88 分), g/L 或分。

1.2.6 指标测定

1.2.6.1 总酸含量测定 参考 GB/T 12456-2021^[12]《食品中总酸的测定》,采用酸碱滴定法。

1.2.6.2 感官评价 荞麦醋饮的感官评分标准如表 2 所示,为保证不同发酵样品感官评价结果的准确性与标准化,对所选取的 10 名感官评定人员(男女比例 1:1)进行红茶菌感官属性的认知与鉴评培训,使各感官评定人员对红茶菌的香气、口感、形态与色泽特性和强度进行了解,并确定了描述红茶菌感官品质的特征术语。

表 2 荞麦浆醋饮感官评定标准
Table 2 Criteria for sensory evaluation of buckwheat fermented beverage

指标	评价标准(100分)	权重(100%)
香气	香气柔和,具有荞麦特有酿造酸性香气,无不良气味(21~30)	30
	有刺激味,具有荞麦特有酿造酸性香气,稍有不良气味(11~20)	
	无荞麦特有酿造酸性香气,具有不良气味(1~10)	
口感	口感好,酸度适宜,无异味(21~30)	30
	口感较好,酸度不适宜,无异味(11~20)	
	口感较差,酸度不适宜,有异味(1~10)	
形态	液体澄清,透明,允许存在少量沉淀(16~20)	20
	液体较澄清,透明,有沉淀(8~15)	
	液体浑浊,不透明,有较多沉淀(1~7)	
色泽	色泽光亮均匀,呈淡黄色(21~30)	20
	色泽均匀,呈淡黄偏白色(11~20)	
	色泽暗淡,呈白色(1~10)	

1.2.6.3 荞麦浆发酵过程中 pH 测定 参考 GB/T 5009.237-2016^[13]《食品 pH 值的测定》,使用 pH 计直接测定。

1.2.6.4 荞麦浆发酵过程中还原糖含量测定 参考索化夷等^[14]的方法绘制葡萄糖标准曲线。建立回归方程为: $y=0.9864x-0.0024$, 决定系数 $R^2=0.9981$ 。取发酵样液 1 mL,按葡萄糖标准曲线步骤进行,根据回归方程计算还原糖含量。

1.2.6.5 荞麦浆发酵过程中总酚含量测定 采用 Folin-Ciocalteu 法测定总酚含量,参考 Wu 等的方法^[15]绘制没食子酸标准曲线。建立回归方程为 $y=15.618x+0.0652$, 决定系数 $R^2=0.9919$ 。

发酵样液中总酚含量测定:吸取样品 0.5 mL,按没食子酸标准曲线步骤进行,采用回归方程计算荞麦浆发酵液总酚含量。

1.2.6.6 荞麦浆发酵过程中总黄酮含量测定 参考 Li 等的方法^[16]绘制芦丁标准曲线。建立回归方程为 $y=0.7724x-0.016$, 决定系数 $R^2=0.9923$ 。

发酵样液中总黄酮含量测定:取 1 mL 样液,按芦丁标准曲线步骤进行,采用回归方程计算发酵液中总黄酮含量。

1.2.6.7 荞麦浆发酵过程中有机酸含量测定 采用 HPLC 法测定^[17], Diamonsil C_{18} 色谱柱,流动相为 0.04 mol/L 磷酸二氢钾(pH2.7),流速 0.4 mL/min,柱

温 30 ℃, 进样量 20 μL , 检测波长 210 nm。

样品测定: 取发酵后荞麦浆上清液, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 滤液用于上机分析。

1.3 数据处理

所有试验均做 3 个重复测定, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。数据统计及作图使用 Excel 2010 软件进行, 采用 SPSS 24.0 软件对数据进行显著性分析 ($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 红茶菌发酵荞麦浆工艺的单因素实验

2.1.1 SSC 对荞麦浆发酵过程中总酸的影响 由图 1 可知, 荞麦浆初始可溶性固形物含量影响荞麦浆发酵过程中总酸含量, 不同 SSC 的荞麦浆在发酵前 7 d 总酸含量均迅速上升, 继续发酵总酸含量逐渐趋于稳定, 至第 9 d 时总酸含量无明显变化, 其中 SSC 为 13% 的荞麦浆发酵液总酸含量最高, 达到 33.08 g/L, 其次为 SSC 为 10%、16% 和 7% 的荞麦浆发酵液, 对应总酸含量由高到低依次为 31.57、30.76 和 23.92 g/L。结果表明红茶菌发酵 SSC 为 13% 的荞麦浆时具有较好的产酸能力, 能获得总酸含量较高的荞麦浆发酵液。

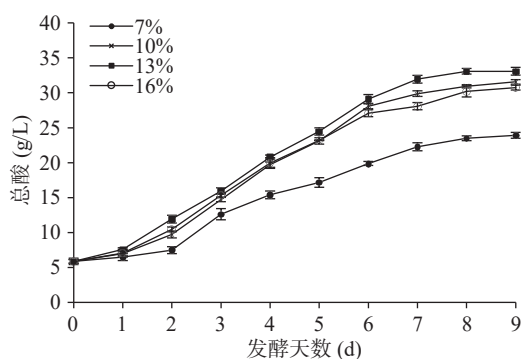


图 1 SSC 对荞麦浆发酵过程中总酸的影响

Fig.1 Effects of SSC on the total acid in the fermentation process of buckwheat syrup

2.1.2 红茶菌接种量对荞麦浆发酵过程中总酸的影响 由图 2 可知, 红茶菌接种量影响荞麦浆发酵过程中总酸含量, 不同红茶菌接种量的荞麦浆在发酵过程中总酸含量均呈上升趋势, 第 8 d 起趋于稳定, 至发酵第 9 d 时发酵液总酸含量由高到低依次为红茶菌接种量为 15%、20%、10% 和 5% 的荞麦浆发酵液, 对应总酸含量由高到低依次为 36.64、35.64、35.80 和 34.76 g/L。结果表明当红茶菌接种量为 15% 时, 能够获得总酸含量较高的荞麦浆发酵液。

2.1.3 发酵温度对荞麦浆发酵过程中总酸的影响

由图 3 可知, 发酵温度影响荞麦浆发酵过程中总酸含量, 不同发酵温度下荞麦浆发酵液总酸含量在发酵前 8 d 时迅速上升, 发酵第 9 d 时总酸含量无明显变化, 至发酵第 9 d 时发酵液总酸含量由高到低依次为 30、35、25 和 20 ℃ 条件下发酵的荞麦浆, 对应总

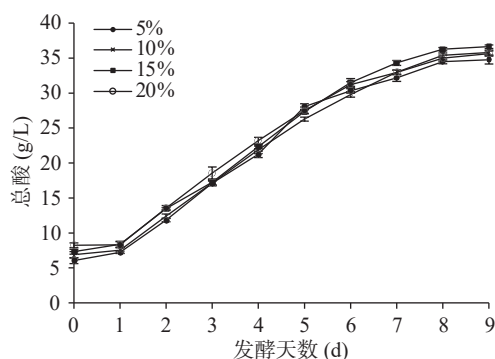


图 2 红茶菌接种量对荞麦浆发酵过程中总酸的影响

Fig.2 Effects of kombucha inoculation amount on total acid in the fermentation process of buckwheat syrup

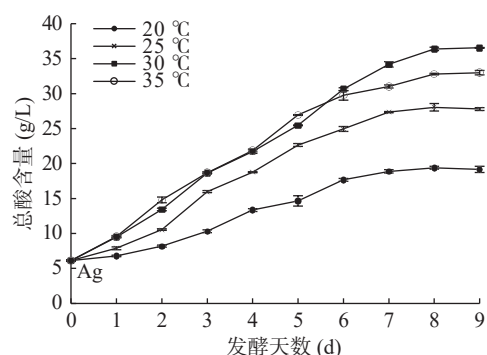


图 3 发酵温度对荞麦浆发酵过程中总酸的影响

Fig.3 Effects of fermentation temperature on the total acid in the fermentation process of buckwheat syrup

酸含量依次为 36.56、33.00、27.80 和 19.16 g/L。结果表明发酵温度为 30 ℃ 时更利于红茶菌发酵荞麦浆, 此条件下能够获得总酸含量较高的荞麦浆发酵液。

2.2 红茶菌发酵荞麦浆工艺正交试验

红茶菌发酵荞麦浆工艺正交试验结果及直观分析如表 3 所示, 各因素对荞麦浆发酵液总酸含量影响大小为发酵温度>荞麦浆 SSC>红茶菌接种量; 由总酸含量方差分析表 4 可知, 荞麦浆 SSC 和红茶菌接种量对荞麦浆发酵液总酸含量具有显著性影响 ($P<0.05$), 发酵温度对荞麦浆发酵液总酸含量影响极显著 ($P<0.01$)。总酸含量正交试验优组合为 $A_2B_2C_2$, 即荞麦浆 SSC13%、红茶菌接种量 15%、发酵温度 30 ℃。

由表 3 可知, 各因素对荞麦浆发酵液感官评分影响大小为红茶菌接种量>荞麦浆 SSC>发酵温度; 由感官评分方差分析表 5 可知, 荞麦浆 SSC 及红茶菌接种量对荞麦浆发酵液感官评分具有显著性影响 ($P<0.05$), 发酵温度对荞麦浆发酵液感官评分影响极显著 ($P<0.01$); 感官评分正交试验优组合为 $A_2B_1C_2$, 即荞麦浆 SSC13%、红茶菌接种量 10%、发酵温度 30 ℃。

正交试验结果不一致时, 通过综合评价选出最优配方。综合评价由总酸含量 (Y_1)、感官评分 (Y_2) 加权得出。考虑消费者对于感官评分重视程度,

表 3 红茶菌发酵荞麦浆工艺正交试验结果及直观分析

Table 3 Orthogonal test results and visual analysis of kombucha fermented buckwheat syrup process						
实验组	A荞麦浆SSC	B红茶菌接种量	C发酵温度	总酸含量(g·L ⁻¹)	感官评分(分)	综合评价(分)
1	-1	-1	-1	28.40	79	81.74
2	-1	0	0	33.98	88	93.41
3	-1	1	1	31.56	77	83.57
4	0	-1	0	34.94	87	93.70
5	0	0	1	36.15	84	92.89
6	0	1	-1	29.91	80	83.93
7	1	-1	1	32.76	86	90.84
8	1	0	-1	29.64	75	80.29
9	1	1	0	32.68	74	82.67
对总酸含量的影响						
K1	92.44	97.44	87.95			
K2	101.00	99.77	101.60			
K3	95.08	94.15	100.47			
k1	30.81	32.48	29.32			
k2	33.67	33.26	33.87			
k3	31.69	31.38	33.49			
R	8.56	5.62	13.65			
因素主次顺序 C>A>B 优组合 A ₂ B ₂ C ₂						
对感官评分的影响						
K1	244.00	252.00	234.00			
K2	251.00	247.00	249.00			
K3	235.00	231.00	247.00			
k1	81.33	84.00	78.00			
k2	83.67	82.33	83.00			
k3	78.33	77.00	82.33			
R	16	21	15			
主次顺序 B>A>C 优组合 A ₂ B ₁ C ₂						
对综合评价值的影响						
K1	258.82	266.28	245.96			
K2	270.52	266.59	269.78			
K3	253.80	250.71	267.30			
k1	86.27	88.76	81.99			
k2	90.17	88.86	89.93			
k3	84.60	83.39	89.10			
R	16.72	15.88	23.82			
主次顺序C>A>B 优组合A ₂ B ₂ C ₂						

表 4 总酸含量方差分析结果

Table 4 Results of variance analysis of total acid content					
因素	平方和	自由度	标准差	F值	显著性
模型	52.96	6		35.93	*
A-荞麦浆SSC	9.28	1	0.31	37.76	*
B-红茶菌接种量	24.26	1	0.67	98.73	*
C-发酵温度	36.27	1	0.67	147.59	**
残差	0.4914	2			
总和	53.46	8			

注: *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$; 表5~表6同。

设定感官评价权重值最大,总酸含量次之。

综合评价值直观分析如表 3 所示,正交试验中所得综合评价值最高组合为荞麦浆 SSC10%、红茶菌接种量 10%、发酵温度 30 ℃,此条件下得到的荞麦浆发酵液总酸浓度为 34.94 g/L,感官评分为 87 分;对正交试验结果进行直观分析,得出综合评价值

表 5 感官评价方差分析结果

Table 5 Results of variance analysis of sensory evaluation					
因素	平方和	自由度	标准差	F值	显著性
模型	221.81	6		24.01	*
A-荞麦浆SSC	94.50	1	0.77	61.38	*
B-红茶菌接种量	81.48	1	1.67	52.92	*
C-发酵温度	44.02	1	1.67	28.59	**
残差	3.08	2			
总和	224.89	8			

优组合为 A₂B₂C₂,即荞麦浆 SSC13%、红茶菌接种量 15%、发酵温度 30 ℃,各因素对荞麦浆发酵液综合评分影响为发酵温度>荞麦浆 SSC>红茶菌接种量,因此,下文荞麦醋饮的制备条件选取综合评价值优组合 A₂B₂C₂,即在荞麦浆 SSC13%、红茶菌接种量 15%、发酵温度 30 ℃ 制备荞麦醋饮。此外,由综合评价方差分析表 6 可知,荞麦浆 SSC、红茶菌接种

量、发酵温度均对荞麦浆发酵液综合评分影响显著($P<0.05$)。

表6 综合评价方差分析结果

Table 6 Results of variance analysis of comprehensive evaluation

因素	平方和	自由度	标准差	F值	显著性
模型	245.30	6		29.78	*
A-荞麦浆SSC	92.31	1	0.72	67.23	*
B-红茶菌接种量	93.44	1	1.58	68.05	*
C-发酵温度	103.48	1	1.58	75.37	*
残差	2.75	2			
总和	248.05	8			

2.3 荞麦浆发酵过程中pH及总酸含量变化

选取正交试验最优因素水平,当荞麦浆SSC13%,红茶菌添加量15%,发酵温度30℃时对荞麦浆用红茶菌进行发酵,荞麦浆发酵过程中pH和总酸含量变化由图4所示,荞麦浆pH在发酵前8d时显著下降($P<0.05$),继续发酵pH趋于稳定,第9d时pH降为3.10;荞麦浆总酸含量在发酵过程中显著上升($P<0.05$),由发酵第0d的6.72 g/L上升至第9d的32.96 g/L。

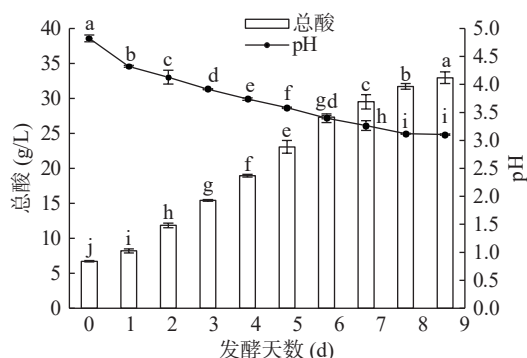


图4 荞麦浆发酵过程中pH和总酸含量变化

Fig.4 Changes in pH and total acid concentration of buckwheat syrup during the fermentation

注:图中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);图5~图6同。

2.4 荞麦浆发酵过程中还原糖含量变化

在最优因素水平下对荞麦浆进行红茶菌发酵,荞麦浆发酵过程中还原糖含量变化如图5所示,还原糖含量在发酵前5d时呈显著上升趋势($P<0.05$),由第0d的8.60 g/L上升到第5d的29.09 g/L,继续发酵还原糖含量显著下降($P<0.05$),至第9d还原糖含量降至最低3.71 g/L。

2.5 荞麦浆发酵过程中总酚及总黄酮含量变化

由图6a可知,荞麦浆在发酵过程中总酚含量呈显著上升($P<0.05$),由第0d的0.78 g/L上升到第9d的1.72 g/L;荞麦浆在发酵过程中总黄酮含量变化由图6b所示,发酵前3d发酵液中总黄酮含量显著下降($P<0.05$),由第0d的2.05 g/L下降至第3d的1.52 g/L,继续发酵发酵液中黄酮含量显著上升($P<$

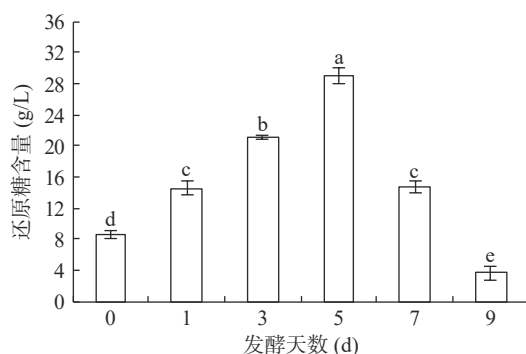


图5 荞麦浆发酵过程中还原糖含量变化

Fig.5 Changes of reducing sugar content in buckwheat syrup during the fermentation

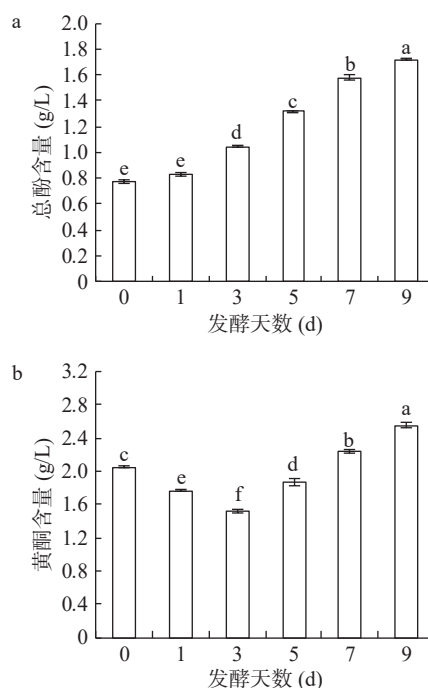


图6 荞麦浆发酵过程中总酚及总黄酮含量变化

Fig.6 Changes in contents of total phenols and flavonoids in buckwheat syrup during the fermentation

注:a表示荞麦浆发酵过程中总酚含量变化;b表示荞麦浆发酵过程中总黄酮含量变化。

0.05),至第9d时上升为2.55 g/L,且发酵液最终总黄酮含量显著高于初始黄酮含量($P<0.05$)。

2.6 荞麦浆发酵过程中有机酸含量变化

2.6.1 有机酸混合标品线性关系 不同有机酸保留时间、峰面积及标准曲线方程由表7所示,各有机酸标准品决定系数(R^2)均大于0.9910,呈现出良好的线性关系和高拟合置信度。

2.6.2 荞麦浆发酵过程中有机酸含量变化 红茶菌发酵荞麦浆过程中有机酸含量变化如表8所示,在发酵过程中乙酸含量始终呈显著上升($P<0.05$),为荞麦浆发酵过程中产生的主要有机酸种类,由第0d的1.40 g/L上升至第9d的18.53 g/L;乳酸含量在发酵过程中由第0d的0.48 g/L显著上升到第9d的6.46 g/L($P<0.05$),至第9d时含量仅次于乙酸;

表 7 不同有机酸保留时间、峰面积及标准曲线方程
Table 7 Retention time, peak area and standard curve equation of different organic acids

序号	有机酸种类	保留时间	峰面积	标准曲线方程	决定系数 R^2
1	苹果酸	9.404	5.9044	$y=1.0750x+3.2170$	0.9997
2	丙二酸	10.166	4.9277	$y=1.2586x+1.7811$	0.9988
3	L-乳酸	11.354	3.2927	$y=0.7048x-0.1425$	0.9998
4	乙酸	12.528	3.5577	$y=0.6782x-0.2679$	0.9991
5	富马酸	15.199	4.0488	$y=0.7378x+2.2042$	0.9942
6	琥珀酸	16.482	5.0246	$y=0.9422x+2.669$	0.9971

表 8 荞麦浆发酵过程中各有机酸含量变化
Table 8 Changes in the contents of organic acids during the fermentation of buckwheat syrup

有机酸(g·L ⁻¹)	天数(d)					
	0	1	3	5	7	9
苹果酸	0.29±0.03 ^a	1.21±0.03 ^b	3.78±0.12 ^c	4.29±0.03 ^d	7.19±0.04 ^e	2.92±0.06 ^f
丙二酸	0.97±0.05 ^a	2.69±0.06 ^b	9.91±0.13 ^c	12.28±1.25 ^d	1.52±0.08 ^a	0.41±0.05 ^a
L-乳酸	0.48±0.05 ^a	1.17±0.06 ^b	1.59±0.03 ^c	2.73±0.08 ^d	5.42±0.05 ^e	6.46±0.08 ^f
乙酸	1.40±0.08 ^a	6.90±0.09 ^b	8.36±0.24 ^c	9.49±0.05 ^d	13.2±0.11 ^e	18.53±0.14 ^f
富马酸	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^a	0.03±0.00 ^a	0.03±0.00 ^a	0.04±0.00 ^b
琥珀酸	2.38±0.03 ^a	3.29±0.02 ^b	3.49±0.14 ^c	3.81±0.07 ^d	3.98±0.12 ^d	3.99±0.11 ^d

注: 表中不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

苹果酸含量在发酵前 7 d 显著上升($P<0.05$), 至第 7 d 时含量达到最高 7.19 g/L, 继续发酵苹果酸含量显著下降($P<0.05$); 丙二酸含量在发酵前 5 d 显著上升($P<0.05$), 至第 5 d 时含量达到最高 12.28 g/L, 继续发酵丙二酸含量显著下降($P<0.05$); 琥珀酸含量在发酵过程中先明显上升后趋于稳定, 发酵第 9 d 时含量为 3.99 g/L; 富马酸含量在发酵过程中无显著变化且含量较低($P>0.05$), 发酵至第 9 d 时富马酸含量为 0.04 g/L。

3 讨论

在红茶菌发酵荞麦浆工艺单因素实验中, 无论 SSC 是多少, 发酵过程中总酸含量均上升。这是由于在荞麦浆中添加适量蔗糖后, 红茶菌中的酵母菌、醋酸菌和乳酸菌利用蔗糖和其他营养元素生成了乙酸等有机酸, 导致总酸含量上升; 若初始 SSC 太高, 可能对酵母菌发酵产生一定的抑制作用, 因此当 SSC 超过 13% 时, 总酸含量又有所降低^[18]。宋清鹏等^[19]对红茶菌发酵饮料的研究也表明初始 SSC 为 14% 时, 产酸量最高, 其次为 10%、18% 和 6%, 因此确保适宜的 SSC 有利于控制菌种发酵程度。

在红茶菌接种量对总酸含量的影响试验中, 发酵至第 9 d 时接种 15% 红茶菌的发酵液总酸含量最高, 其次分别为接种量 20%、10% 和 5% 的荞麦浆, 这是由于当红茶菌接种量不断增加, 菌体大量生长繁殖促进发酵, 但接种量过高一方面会使菌体大量繁殖使发酵液中的营养成分被过度分解利用, 导致发酵液总酸含量下降, 另一方面菌体大量繁殖会产生大量代谢产物导致细胞出现老化、自溶等现象^[18]。

在对适宜发酵温度的确定试验中, 至发酵第 9 d

时在 30 ℃ 条件下能获得总酸含量最高的荞麦浆发酵液, 其次为 25、20 和 35 ℃ 条件下得到的发酵液, 这是由于当发酵温度升高时, 微生物细胞内酶活性提高, 微生物生长加快, 促进发酵从而产酸较高; 但温度过高会加速菌体的生长, 使得菌体提前老化, 因此导致发酵液总酸含量降低^[20]。

红茶菌在发酵荞麦浆的过程中产生酸而引起发酵液 pH 下降, 在发酵至第 9 d 时发酵液 pH 降为最低 3.10。红茶菌发酵荞麦浆包括乙醇发酵和醋酸发酵两个阶段, 发酵初期为乙醇发酵阶段, 此时主要由酵母菌利用蔗糖产生乙醇和 CO₂, 后期为醋酸发酵阶段, 醋酸菌利用初期酵母产生的乙醇生成乙酸等多种有机酸, 此外, 乳酸菌利用酵母菌的代谢产物逐渐生长繁殖, 并产生乳酸^[21]。有机酸的生成引起发酵液 pH 降低, 荞麦浆在发酵 8~9 d 时 pH 无明显变化, 此时总酸含量仍在增加, 这可能是由于红茶菌液具有缓冲作用, 当红茶菌发酵生成的 CO₂ 于水后会产生 HCO₃⁻, 与有机酸所释放的 H⁺ 发生反应, 导致即使在醋酸发酵阶段能够产生大量的酸而 pH 仍保持稳定^[22]。

荞麦浆在发酵过程中还原糖含量呈现先上升后下降趋势, 这是由于在红茶菌乙醇发酵阶段, 由于醋酸菌不能直接利用蔗糖或利用蔗糖速度很慢, 此时酵母菌成为主要生长代谢菌, 将蔗糖分解为葡萄糖和果糖^[23], 从而使发酵液中还原糖含量显著上升($P<0.05$)。继续发酵至发酵液中累积有足量葡萄糖、果糖和乙醇, 此时醋酸菌开始大量生长繁殖, 使葡萄糖、果糖氧化生成葡萄糖酸、乙酸等代谢产物, 同时醋酸菌将酵母菌产生的乙醇氧化生成乙酸^[24], 因此还原糖含量开始下降。

荞麦浆在发酵过程中总酚含量呈上升趋势, 总

黄酮含量在发酵前3 d时逐渐降低,继续发酵时呈上升趋势。荞麦浆发酵过程中总酚及总黄酮含量的上升可能是由于荞麦浆中存在残渣,在发酵过程中由于发酵液酸碱度的变化及微生物分泌出各种酶等,使得残渣中结合态酚类及黄酮类化合物分解溶出^[25-26];另一方面,红茶菌可能将原料中本身的大分子的多酚和黄酮类物质变成了新的小的酚类及黄酮类化合物,使多酚和黄酮的种类及含量增加^[27];而发酵初期发酵液中总黄酮含量下降可能是由于在发酵初期游离态的黄酮醇类物质易与醋液中糖苷结合形成配糖体,使黄酮类物质中的毛地黄黄酮、杨梅黄酮、山奈酚及槲皮素含量降低^[28]。

乙酸为红茶菌发酵荞麦浆过程中产生的主要有机酸种类,在发酵初期乙醇发酵阶段,乳酸菌生长繁殖使乳酸含量显著上升($P<0.05$),酵母菌可将丙酮酸转化为乙酸,使乙酸含量显著上升($P<0.05$),同时酵母菌在乙醇发酵过程中可生成琥珀酸,琥珀酸含量呈显著上升趋势($P<0.05$)^[29],苹果酸及丙二酸随着发酵的进行含量逐渐上升;继续发酵进入醋酸发酵阶段,醋酸菌在有氧条件下大量生长繁殖,将葡萄糖和乙醇氧化为乙酸,致使乙酸含量大幅增加^[18];此外,醋酸菌能够氧化糖类物质为葡萄糖酮酸或葡萄糖酸,再进一步氧化生成乳酸及琥珀酸,在发酵末期部分乳酸菌可通过苹果酸-乳酸发酵(Malo-lactic fermentation, MLF)较为专一地分解苹果酸,生成乳酸和 CO_2 ^[30],这也对发酵末期发酵液中苹果酸含量有显著下降进行了解释;富马酸作为各个代谢途径的中间产物,随着醋酸发酵的进行变化趋势不显著且含量不高,表明富马酸在微生物代谢途径中不易大量积累^[31]。

4 结论

本研究以荞麦粉为原料,采用红茶菌发酵制备荞麦浆醋饮。考察初始荞麦浆SSC、红茶菌接种量、发酵温度对荞麦浆发酵液总酸含量和感官评分的影响,确定荞麦浆最佳发酵工艺条件为荞麦浆SSC13%、红茶菌接种量15%、发酵温度30℃;将最佳发酵条件用于红茶菌发酵荞麦醋饮,发酵结束时发酵液总酸含量为32.96 g/L,总酚和总黄酮含量均较发酵前显著上升($P<0.05$);经测定在发酵过程中发酵液乙酸含量增幅最显著($P<0.05$),至发酵结束时乙酸含量为18.53 g/L,其次为乳酸及琥珀酸。总体而言,通过红茶菌发酵制得的荞麦醋饮酸度适宜、口感柔和,具有良好的荞麦酿造气味,并且较荞麦浆本身具有更高的营养价值,能够为开发一种具备保健功能的荞麦醋饮料提供参考。然而由于红茶菌菌种组成复杂,易被污染,难以确保红茶菌发酵饮料的稳定性及安全性,因此,在今后的研究中应深入探究和解决这两个问题,为实际生产提供理论依据。

参考文献

- [1] 史建强,李艳琴,张宗文,等.荞麦及其野生种遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(3):443-450. [SHI J Q, LI Y Q, ZHANG Z W, et al. Genetic diversity of buckwheat and its wild species[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(3): 443-450.]
- [2] QIN P, QIANG W, FANG S, et al. Nutritional composition and flavonoids content of flour from different buckwheat cultivars [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(5): 951-958.
- [3] JARRELL J, CAL T, BENNETT J W. The kombucha consortia of yeasts and bacteria[J]. Mycologist, 2000, 14(4): 166-170.
- [4] NGUYEN N K, NGUYEN P B, NGUYEN H T, et al. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid[J]. LWT- Food Science and Technology, 2015, 64(2): 1149-1155.
- [5] ULUSOY A, TAMER C E. Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. sativus var. *atrorubens* Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus ideaus*) for kombucha beverage production[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019, 13: 1524-1536.
- [6] SASKAYA P, AKAN E, KINIK O. Use of kombucha culture in the production of fermented dairy beverages[J]. LWT- Food Science and Technology, 2020, 137: 110326.
- [7] 梅瀚杰,胡文峰.国内外红茶菌研究进展[J].食品工业科技,2018,39(17):335-341,351. [MEI H J, HU W F. Research progress of kombucha study in the world[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(17): 335-341,351.]
- [8] KATRAZYNA N, SIONEK B, IWONA Ś, et al. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties[J]. Water Science & Technology, 2017, 32(5-6): 55-61.
- [9] CVETKOVI D, MARKOV S, DGURI M, et al. Specific interfacial area as a key variable in scaling-up kombucha fermentation [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 85(3): 387-392.
- [10] WANG W L, SHI-JUN Y U, ZHANG C Y, et al. Study on the fermentation technology of Chuju fermented beverage by kombucha[J]. Yinshan Academic Journal (Natural Science Edition), 2018, 32(4): 30-35.
- [11] 李敏,吴宝川,关志强,等.适宜添加剂预处理提高罗非鱼片冻融-热泵干燥品质[J].农业工程学报,2014,30(17):295-304. [LI M, WU B C, GUANG Z Q, et al. Improving the quality of tilapia fillets freeze-thaw combined with heat pump drying using suitable additive pretreatment[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30(17): 295-304.]
- [12] 国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局.GB/T 12456-2021 食品安全国家标准 食品中总酸的测定[S].北京:中国标准出版社,2021. [National Health Commission and State Administration for Market Regulation. GB/T 12456-2021 National food safety standard determination of total acids in food[S]. Beijing: China Standards Press, 2021.]
- [13] 全国信息与文献标准化技术委员会第6分委员会. GB/T 5009.237-2016 食品 pH值的测定[S].北京:中国标准出版社,2016. [The sixth subcommittee of the National Information and

[1] 史建强,李艳琴,张宗文,等.荞麦及其野生种遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(3):443-450. [SHI J Q, LI Y

- Documentation Standardization Technical Committee. GB/T 5009.237-2016 Determination of pH value of food[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [14] 索化夷, 赵欣, 骞宇, 等. 永川豆豉发酵过程中总糖和氨基酸变化与滋味的形成[J]. *食品科学*, 2015, 36(21): 100–104. [SUO H Y, ZHAO X, QIAN Y, et al. Changes in total sugar and amino acids, and formation of taste compounds in Yongchuan Douchi during fermentation[J]. *Food Science*, 2015, 36(21): 100–104.]
- [15] WU C Y, TI A, JING Q A, et al. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice[J]. *LWT*, 2020, 122: 109064.
- [16] LI J E, FAN S T, QIU Z H, et al. Total flavonoids content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 1022–1027.
- [17] 马倩倩, 吴翠云, 蒲小秋, 等. 高效液相色谱法同时测定枣果实中的有机酸和 V_C 含量[J]. *食品科学*, 2016, 37(14): 149–153. [MA Q Q, WU C Y, PU X Q, et al. Simultaneous determination of organic acids and vitamin C in jujube fruits by HPLC[J]. *Food Science*, 2016, 37(14): 149–153.]
- [18] 化志秀, 鲁周民, 芦艳, 等. 红枣汁酒精发酵工艺参数的优化[J]. *食品科学*, 2013, 34(1): 175–179. [HUA Z X, LU Z M, LU Y, et al. Optimization of process parameters for alcoholic fermentation of jujube juice[J]. *Food Science*, 2013, 34(1): 175–179.]
- [19] 宋清鹏, 胡卓炎, 赵雷, 等. 龙眼果肉发酵红茶菌饮料[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(1): 216–221. [SONG Q P, HU Z Y, ZHAO L, et al. Optimization of processing parameters for kombucha fermentation of lon aril[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(1): 216–221.]
- [20] 邓春丽, 韦芳兰, 苏辉兰, 等. 响应面法优化芒果果醋发酵工艺研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(2): 116–120, 141. [DENG L C, WEI F L, SU H L, et al. Optimization of mango vinegar fermentation process by response surface methodology[J]. *China Condiment*, 2020, 45(2): 116–120, 141.]
- [21] LI S, LI P, FENG F, et al. Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2015, 99(12): 4997–5024.
- [22] JAYABALAN R, SUBTHADEVIA P, MARIMUTHU S, et al. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation[J]. *Food Chemistry*, 2008, 109(1): 227–234.
- [23] 唐思颖, 涂传海, 胡文秀, 等. 红茶菌发酵黄浆水的体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2019, 40(17): 1–6. [TANG S Z, TU C H, HU X W, et al. Antioxidant activity of fermented soy whey with Kombucha consortium[J]. *Food Science*, 2019, 40(17): 1–6.]
- [24] RASU, JAYABALAN, RADOMIR, et al. A review on Kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(4): 538–550.
- [25] CHENG K C, WU J Y, LIN J T, et al. Enhancements of isoflavone aglycones, total phenolic content, and antioxidant activity of black soybean by solid-state fermentation with *Rhizopus* spp.[J]. *European Food Research & Technology*, 2013, 236(6): 1107–1113.
- [26] SUN T Y, LI J S, CHEN C. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage[J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2015, 23(4): 709–718.
- [27] 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.
- [28] HERTOOG M G. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1996, 50(2): 63–71.
- [29] 梁璋成, 何志刚, 林晓婕, 等. 黄酒酿造酵母菌发酵过程的有机酸代谢研究[J]. *福建农业学报*, 2016, 31(3): 289–292. [LIANG A C, HE Z G, LIN X J, et al. Study on organic acid metabolism of rice wine yeast during fermentation[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 31(3): 289–292.]
- [30] CALIGIANI A, ACQUOTI D, PALLA G, et al. Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution ^1H NMR spectroscopy[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 585(1): 110–119.
- [31] 吕艳歌, 马海乐, 张志燕, 等. 山西老陈醋醋酸发酵过程中有机酸的变化分析[J]. *中国酿造*, 2013, 32(5): 55–58. [LÜ Y G, MA H L, ZHANG A Y, et al. Analysis of organic acids in aerobic solid-fermentation culture of Shanxi super-mature vinegar[J]. *China Brewing*, 2013, 32(5): 55–58.]