

刘思琪, 樊璐瑶, 王硕, 等. 红茶菌功能性微生物开发与利用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 388–395. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023070153

LIU Siqu, FAN Luyao, WANG Shuo, et al. Research Progress on Development and Utilization of Functional Microorganisms from Kombucha[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 388–395. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023070153

· 专题综述 ·

红茶菌功能性微生物开发与利用研究进展

刘思琪¹, 樊璐瑶¹, 王 硕¹, 王 莹², 袁 磊^{1,*}

(1.扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225127;

2.南阳理工学院河南省工业微生物资源与发酵技术重点实验室, 河南南阳 473004)

摘 要: 红茶菌 (Kombucha) 是一种以糖茶水为主要发酵基质, 经酵母、醋酸菌和乳酸菌组成的共生菌群代谢所形成的天然保健饮料, 因其抗氧化、降血糖、抑菌等生理活性而深受国内外学者关注和消费者喜爱。现有研究结果表明, 红茶菌的感官品质和功能性组分差异与红茶菌发酵过程中微生物群落的组成和变化密切相关。因此, 本综述总结了红茶菌微生物群落结构及其发酵机理、红茶菌中促进特征风味和益生物质生成和细菌纤维素合成的功能性微生物, 以及当前红茶菌研究的局限性, 以期为更好地挖掘和探索我国特色红茶菌微生物资源对产品风味和益生功能的作用, 并为我国红茶菌高价值产品的工业化生产提供主要理论基础。

关键词: 红茶菌, 菌群结构, 功能性微生物, 风味物质, 益生物质

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)11-0388-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023070153



本文网刊:

Research Progress on Development and Utilization of Functional Microorganisms from Kombucha

LIU Siqu¹, FAN Luyao¹, WANG Shuo¹, WANG Ying², YUAN Lei^{1,*}

(1.School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China;

2.Henan Key Laboratory of Industrial Microbial Resources and Fermentation Technology, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China)

Abstract: Kombucha is a kind of health drink fermented by a symbiotic flora composed of yeasts, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria, with sugar and tea as the main substrates. It is popular with the researchers and consumers in the world due to its wide healthy functions including antioxidant, hypoglycemic, and antibacterial activities. Existing studies have proved that the sensory quality and functional components of Kombucha are closely related to the microbial community during its fermentation. This review summarizes the microbial community and fermentation mechanism of Kombucha, core microorganisms that promote the generation of flavors and bioactive substances, and bacterial cellulose production in Kombucha, and current limitations of relative studies. The review would provide in-depth knowledge for exploring the effects of special microorganisms on the flavor and healthy functions, and key theoretical basis for the industrial production of Kombucha.

Key words: Kombucha; microbial community; functional microorganisms; flavors; functional substances

红茶菌 (Kombucha), 又名“康普茶”、“海宝”和“胃宝”, 最早起源于我国秦朝时期, 是一种以糖和茶水为主要发酵基质, 经过酵母、醋酸菌和乳酸菌组成

的共生菌群 (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast, SCOBY) 代谢所形成的微甜、微酸且爽口的天然发酵饮品^[1]。其中富含茶多酚、有机酸、维生素、

收稿日期: 2023-07-19

基金项目: 扬州大学大学生创新训练项目 (X20220896); 国家自然科学基金 (32302953); 江苏省自然科学基金 (BK20210814); 中国博士后基金特别资助 (2021TQ0274); 河南省工业微生物资源与发酵技术重点实验室开放课题 (HIMFT20210307)。

作者简介: 刘思琪 (2001-), 女, 大学本科, 研究方向: 食品微生物, E-mail: mayjulius@outlook.com。

* 通信作者: 袁磊 (1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: lei yuan@yzu.edu.cn。

氨基酸、微量元素等功能活性成分,且已被证明具有预防癌症、提高机体免疫、预防和治疗高血压、高血脂、动脉硬化等保健功效^[2-3],因而深受全球消费者的喜爱。近年来,全球红茶菌饮料的消费量迅速增长,红茶菌注册公司在美国和欧洲已分别达 150 家和 35 家,预计到 2027 年其市场规模可达到 104.5 亿美元^[4],而在国内市场的销售规模尚未有报道。此外,我国是茶叶生产和消费大国,随着消费者对茶叶品质要求的不断提高,中低档茶叶面临销售困难的处境。因此,开发我国高品质特色红茶菌饮料能在提高茶叶综合利用率的的同时,也能振兴我国茶饮料市场^[5]。

红茶菌中微生物的生态组成是影响产品发酵品质及保健功效的关键因素。近年来,国内外学者已针对红茶菌中的微生物开展研究^[6-7],但对红茶菌中的功能性微生物以及微生物与红茶菌产品品质及生理功能的相关性尚缺乏深刻认识。针对上述存在的关键问题,本文就红茶菌微生物群落结构及其发酵机理、红茶菌中促进特征风味和生物活性物质生成的功能性微生物、以及当前优良菌株在红茶菌发酵生产过程中的局限性做综述,旨在为我国红茶菌高价值产品的工业化生产提供重要依据。

1 红茶菌微生物群落结构及其发酵机理

传统红茶菌复杂的微生物生态结构促使其形成独特的感官品质,深入研究红茶菌中微生物群落的多样性并挖掘特色菌种资源,将有助于保障最终产品的品质、食用安全性及发酵稳定性。当前,传统分离培养法和高通量测序分析法是研究红茶菌发酵体系中微生物生态结构组成的两种主要研究方法。

1.1 红茶菌微生物群落结构组成

长期以来对红茶菌中的菌群结构研究以传统分离培养法为主。大量研究结果发现,红茶菌微生物群落中的细菌主要由醋酸菌属(*Acetobacter*)、葡糖醋杆菌属(*Gluconacetobacter*)和驹形杆菌属(*Komagataeibacter*)构成。其中,醋酸菌属主要包括 *A. tropicalis*、*A. musti*、*A. lovaniensis*、*A. okinawensis* 和 *A. peroxydans* 等^[7-8]。葡糖杆菌属主要包括 *G. intermedius*、*G. liquefaciens*、*G. xylinus*、*G. potus*、*G. hansenii* 和 *G. oxydans* 等^[7-8]。驹形杆菌属主要由 *K. hansenii*、*K. europaeus* 和 *K. rhaeticus* 组成^[9-10]。尽管 *Lactobacillus satsumensis* 和 *Oenococcus oeni* 被发现是法国红茶菌发酵过程中的优势乳酸菌^[7],但乳酸菌一般难以通过传统分离培养法从红茶菌样品中分离鉴定,因此一度被“误认为”是红茶菌的非特征菌^[9,11]。此外,红茶菌中常见的酵母有 *Saccharomyces cerevisiae*、*S. uvarum*、*Pichia membranifaciens*、*Wickerhamomyces anomalus*、*Zygosaccharomyces bailii*、*Z. florentina* 和 *Z. lentus* 等^[10-11]。

由于红茶菌中大量的微生物不可培养,传统分离培养法难以有效揭示红茶菌中复杂的微生物菌群结构特征。高通量测序技术(Next Generation Sequencing, NGS)是以环境样品中所有微生物基因组为

研究对象,能一次性对可培养和不可培养微生物的 DNA 进行测定分析,这也使得人们能更加准确、快速和全面地分析红茶菌中微生物多样性。Marsh 等^[12]首次利用 NGS 技术全面地解析红茶菌的微生物群落组成,结果发现与其它传统分离培养法得到结果类似:红茶菌中 *Acetobacter* 和 *Gluconacetobacter* 的相对含量最高,且 *Gluconacetobacter* 丰度远高于 *Acetobacter*。*Lactobacillus* 和 *Lactococcus* 等乳酸菌被证明在红茶菌发酵过程中普遍存在,这也推翻了前期人们认为红茶菌中乳酸菌是非特征菌的观点。从真菌的鉴定结果看,*Zygosaccharomyces* 在样品中的相对丰度高达 95%,其次是 *Pichia*。从物种多样性的角度看,*Leuconostoc*、*Allobaculum*、*Ruminococcaceae* 和 *Enterococcus* 的部分物种,以及 *Davidiella tassiana*、*Lachancea fermentati*、*Kluyveromyces marxianus*、*Naumovozyma castelli* 和 *Wallemia sebi* 等真菌首次在红茶菌中被发现。国内的徐伟等^[13]利用宏基因组技术对发酵 7 d 的红茶菌样品进行微生物多样性分析,共鉴定出 95 个物种,优势菌种为 *Gluconacetobacter* sp. SXCC-1(29.17%)、*K. medellinensis*(7.84%)、*K. xylinus*(7.58%)、*K. rhaeticus*(7.50%) 和 *K. europaeus*(5.50%),其中高产纤维素菌种 *K. xylinus* 在红茶菌中首次被报道。此外,*L. paracasei*、*L. delbrueckii* 和 *L. acidifarinae* 等 22 种乳酸菌也被鉴定到。

1.2 影响红茶菌中微生物多样性的因素

受地理位置、气候等环境因素的影响,不同地区红茶菌样品间微生物的群落结构差异显著。李如意等^[14]采用 NGS 技术分析发现我国芜湖、西安、合肥和厦门 4 个地区采集到的特色红茶菌样品间菌群组成差异显著:芜湖样品中的优势菌属为 *Komagataeibacter*(78.1%)、*Gluconobacter*(20.4%)、*Acetobacter*(0.9%);西安样品中的优势菌属为 *Komagataeibacter*(95.2%)、*Escherichia/Shigella*(0.7%) 和 *Acetobacter*(0.6%);合肥样品中细菌群落结构组成为 *Gluconobacter*(60.7%)、*Komagataeibacter*(29.4%)、*Bacteroides*(1.2%) 和 *Ruminococcus*(0.6%);厦门样品中的优势菌属为 *Komagataeibacter*(95.7%)、*Acetobacter*(0.7%) 和 *Escherichia/Shigella*(0.4%)。但是,也有部分地区的红茶菌样品中微生物种属的相似度高,如法国西部沿海地区红茶菌样品中所鉴定到的 *Komagataeibacter*^[7] 与我国黑龙江地区红茶菌样品中^[13]所鉴定到的 *Komagataeibacter* 相似度高。由此可见,红茶菌中微生物的生态组成与地域无直接关系,但与当地温度、湿度、光照、氧气浓度等气候因素密切相关。

红茶菌中的微生物结构受发酵原料中营养组成影响。刘斌杰^[15]比较了不同发酵原料(红茶和绿茶)对发酵过程中微生物种群结构的影响,结果发现以红

茶为原料发酵的样品中细菌的组成主要为 *Gluconobacter* (76.87%) 和 *Acetobacter* (4.71%), 而真菌主要为 *Pichia* (2.13%)、*Saccharomyces* (0.025%) 和 *Brettanomyces* (0.023%)。当以绿茶为原料进行发酵时, *Acetobacter* (31.66%)、*Gluconobacter* (24.27%) 和 *Komagataeibacter* (16.37%) 为优势细菌属。此外, 优势真菌属 *Pichia*、*Brettanomyces* 和 *Saccharomyces* 的相对丰度分别为 12.21%、0.147% 和 0.014%。袁磊等^[16] 发现不同品种的红茶原料、糖和茶叶添加量等因素对红茶菌中微生物生长及产品的品质影响显著。上述研究结果表明, 茶叶中的碳源、氮源、多酚等微生物营养素种类和含量的差异对红茶菌发酵过程中微生物的生长影响显著, 但具体调控机制不明确, 仍需进一步探究。

此外, 发酵温度和时间等工艺参数也是影响红茶菌中微生物多样性的关键因素。Grassi 等^[4] 比较了在 4℃ 和室温下发酵 90 d 后红茶菌中微生物种群的变化规律。结果发现, 尽管酵母菌落总数不受发酵温度和时间的影响, *Saccharomyces* 的种类在室温下发酵 45 d 后显著降低, 且在第 90 d 时完全消失, 而 *D. anomala* 是发酵液中的优势酵母, 占酵母总量的 52%。变性梯度凝胶电泳的鉴定结果显示, 发酵时间和温度对酵母的组成影响不显著; 对于醋酸菌而言, *G. oxydans* (46%)、*Novacetimonas hansenii* (36%) 和 *K. saccharivorans* (18%) 是优势醋酸菌种, 且在 4℃ 下的相对含量未发生改变, 但在较高的室温条件下发酵 20 d 后醋酸菌的种类发现变化。Filippis 等^[17] 也发现, 发酵温度通过改变醋酸菌的生长速率进而影响红茶菌发酵过程中微生物的多样性, 从而改变红茶菌的发酵品质。因此, 在红茶菌工业化生产过程中, 应针对发酵原料及菌种的差异, 对发酵时间、温度等关键因素进行合理优化, 能有效保证产品的稳定和安全, 并提高产品的营养价值。

1.3 发酵机理

红茶菌发酵体系中的醋酸菌、酵母和乳酸菌呈复杂的互惠互利共生关系, 且菌群构成的差异导致菌液中代谢产物的种类和数量不同。由于醋酸菌无法直接利用蔗糖, 因此酵母在红茶菌发酵初期发挥“启动子”和纽带的作用, 先将蔗糖分解为葡萄糖和果糖, 再通过糖酵解作用进一步将单糖转化为生成乙醇和 CO_2 ^[18]。接着, 当发酵体系中存在葡萄糖和乙醇时, 醋酸菌开始快速生长繁殖, 以葡萄糖和果糖为碳源开始生长并生成乙酸、葡萄糖酸等代谢产物并形成纤维素膜^[19-20]。例如, 张妍等^[21] 从红茶菌样品中分离鉴定到 *Gluconobacter asai* 和 *Saccharomycodes ludwigii*, 单独培养 *G. asai* 产细菌纤维素的速率慢且产量低, 而将这两种菌复配发酵所得细菌纤维素的产量大幅提高, 证明这两株菌可通过相互作用影响红茶菌的发酵和细菌纤维素的合成。可见, 在红茶菌发酵中期, 醋酸菌和酵母呈现出极度依赖的互惠共生关

系, 即酵母菌在生长阶段所产生的乙醇能使醋酸菌生成更多的乙酸, 而乙酸又能促进酵母菌产生乙醇^[22]。发酵体系中存在的乙醇和乙酸亦能减少发酵过程中外界微生物污染的风险。同时, 醋酸菌能将葡萄糖转化成葡萄糖酸内酯和葡萄糖醛酸, 这两种物质是红茶菌饮料中重要的功能物质, 具有抗癌、护肝、调节机体免疫等功效^[23-24]。另外, 红茶菌中的乳酸菌能利用醋酸菌和酵母代谢生成的谷氨酸、精氨酸、组氨酸等氨基酸、以及维生素等代谢产物进行生长繁殖, 并将发酵液中的糖转化为乳酸, 但乳酸菌的发酵能力随乙醇含量的增加而逐渐减弱^[25]。

2 红茶菌中促进特征风味和益生物物质生成的功能性微生物

红茶菌中微生物代谢导致发酵液风味和益生物质的种类和数量存在差异, 因此在对微生物多样性研究的基础上, 进一步挖掘有助于红茶菌特征风味物质形成和益生物物质生成的功能微生物, 并解析微生物的代谢机理, 可为进一步开发高品质、高营养价值的红茶菌产品提供重要依据。

2.1 促进红茶菌特征风味物质生成的功能微生物

红茶菌的风味物质主要来源于发酵原料本身, 以及共生菌群在发酵过程中所形成的一系列代谢产物。可见, 微生物代谢在红茶菌发酵过程中对风味品质的形成起关键作用, 即在微生物群落的共同驱动下, 发酵过程中的一系列生化反应能引起发酵液中醇、醛、酸、酯等风味物质的形成, 从而赋予红茶菌特殊的感官风味品质^[26-27]。

红茶菌中酵母种类及相对丰度的差异导致其产生的风味活性物质种类和成分也不尽相同。在常见的红茶菌酵母中, *Z. bailii* 能通过酯化反应产生一系列酯类风味化合物, *Z. rouxii* 在发酵过程中能产生高级醇、芳香杂醇和呋喃酮类等风味化合物, 而 *S. cerevisiae* 能产生己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯以及乙酸异戊酯等酯类物质^[28]。而檀馨悦等^[28] 认为发酵过程中, 酵母能利用自身的脱氢酶、转氨酶和脱羧酶这 3 种酶将支链氨基酸、芳香族氨基酸和蛋氨酸转化成高级醇, 而高级醇或乙醇在乙酰辅酶 A 的作用下通过合成反应产生酯类风味物质。Yao 等^[27] 进一步通过宏基因组学结合顶空固相微萃取气质联用的方法分析红茶菌发酵过程中与风味物质相关的微生物群落, 结果发现发酵液中的主要风味物质(酸类、酯类)的形成与 *Komagataeibacter*、*Gluconacetobacter*、*Saccharomyces*、*Acetobacter*、*Novacetimonas* 及 *Pichia* 相关性高, 而醇类物质的产生与 *S. cerevisiae*、*Candida californica* 和 *N. hansenii* 的丰度呈正相关。此外, *B. bruxellensis* 通过促进发酵液中 α -柏木烯等萜类物质风味的形成来增强甜味和木香味。尽管如此, 红茶菌中未鉴定出的微生物种类和相对丰度与发酵液特殊风味形成的相关性仍需进一步探究。因此, 通过选择 *S. cerevisiae* 和 *Candida* sp

等能促进高级醇和萜烯类等风味物质生成的微生物作为发酵主要菌种,能促进发酵液中花果果香等愉悦气味的形成。可见,酵母代谢形成的代谢产物是红茶菌饮料中的主要风味物质,赋予产品果香、花香和植物香等怡人香气^[28]。因此,优质产香酵母菌株的挖掘是提高产品感官品质的关键。

关于红茶菌中的核心细菌,驹形杆菌属的丰度被报道与苯甲醛、3-羟基-2-丁酮、乙酸-2-苯乙酯、糠醛和 3-乙酸-2-丁酮等风味物质的含量正相关,赋予产品特殊的杏仁味及油脂味^[29]。醋杆菌属则与苯甲醛、3-羟基-2-丁酮、乙酸-2-苯乙酯、糠醛、3-乙酸-2-丁酮、酯类和杂环芳香物质等风味化合物的形成密切相关,赋予产品刺激性酸味的感官特性^[30-31]。Tran 等^[32]从红茶菌样品中分离到两株酵母 *B. bruxellensis*、*Hanseniaspora valbyensis* 和一株醋酸菌 *Acetobacter indonesiensis*,并解析这三株菌与红茶菌中特殊风味物质形成的相关性。结果发现,发酵液中大多数酯类物质的形成与 *H. valbyensis* 相关,醇类物质的生成与这两种酵母均密切相关,乙酸的生成与 *A. indonesiensis* 相关,而饱和脂肪酸的生成与这三种微生物均密切相关。因此,如何通过生物调控降低发酵液中刺激性酸味的形成,调节发酵液中醋酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、琥珀酸、柠檬酸等有机酸的比例,是提高产品品质的关键^[33]。

因此,挖掘红茶菌中地域性菌株并验证特殊菌株发酵产生的特殊风味物质,阐明红茶菌代谢途径,探究原料、微生物和风味物质三者之间的关系,将为我国特色红茶菌产品的开发提供新思路。

2.2 促进红茶菌中生物活性物质生成的功能微生物

红茶菌中醋酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸等有机酸,以及氨基酸、茶多酚、黄酮类化合物、D-葡萄糖二酸-1,4-内酯等活性物质具有抗癌、护肝、预防心血管疾病、提高机体免疫、调节肠道健康等生理功效,而这些物质的形成与红茶菌中的功能性微生物密切相关^[3,34-35]。因此,挖掘红茶菌中参与益生物质生成的菌株是提高产品生物活性的关键。例如,Nguyen 等^[36]从红茶菌样品中分离到一株高耐酸的 *Dekkera bruxellensis* KN89 和一株产葡萄糖醛酸的 *Gluconacetobacter intermedius*,两株菌按 4:6 的比例进行复配发酵 7 d 后,发酵液中的葡萄糖醛酸产量可达 175.8 mg/L,这也为葡萄糖醛酸的工业化生产奠定一定基础。Wang 等^[37]将红茶菌中分离到的一株 *Komagataeibacter oboediens* SW-1 与 *S. cerevisiae*、*Wickerhamomyces anomalus* 和 *Lactobacillus plantarum* 按 2:2:1:1 进行复配发酵后,发酵液中的多酚和黄酮类化合物分别能提高 55.96% 和 88.89%。类似的,对红茶菌样品中分离到的 *Acetobacter pasteurianus*、*G. xylinus* 和 *Z. bailii* 复配发酵后,发酵液中的多酚和黄酮含量显著提高,同时表现出较强的抗氧化和抗菌活性^[38]。Li 等^[39]研究发现,红茶菌样品中分离

到的 *Starmerella davenportii* 和 *G. intermedius* 分别具有很强的产乙醇和乙酸能力。尽管如此,不同功能性菌株复配提高红茶菌发酵液中活性物质产量尚缺乏机理研究。

2.3 细菌纤维素的生物合成

红茶菌发酵的过程中,茶水的气液表面形成的细菌茶纤维素不但能降低发酵体系受外部竞争者和微生物污染的风险,也被证明在食品、医药行业等领域具有重要作用。目前发现,参与红茶菌细菌纤维素合成的主要微生物是 *K. hansenii* 和 *G. xylinus* 等^[40-41]。红茶菌细菌纤维素的生物合成过程复杂,通常需要多种酶参与。例如,木醋杆菌通过利用葡萄糖合成细菌纤维素的过程通常需要四种酶参加:首先,葡萄糖激酶催化葡萄糖生成葡萄糖-6-磷酸,随后葡萄糖磷酸异构酶催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖-1-磷酸。接着,焦磷酸化酶能将葡萄糖-1-磷酸转化为尿苷二磷酸葡萄糖,最后在细胞膜上被纤维素合成酶催化形成细菌纤维素^[42]。微生物合成的细菌纤维素具有高纯度、精细的空间结构、高持水性、高机械强度、生物合成可控性等优点,因而可被用于椰果的制作、稳定剂、乳化剂和增稠剂等食品添加剂的制作、以及生物活性物质的递送载体等^[43]。

细菌纤维素的生物合成易受发酵工艺的影响。例如,吴家奇等^[44]通过响应面优化红茶菌细菌纤维素生产条件,发现当发酵体系中的茶汤浓度为 0.83%、蔗糖浓度 10.42%、装液量 70.22%、培养温度 29.33 ℃ 时,细菌纤维素产量可高达 4.21 g/L,且合成的纤维素具有纳米级别的超微网状结构、纯度高且纤维素强度好。此外,发酵过程中的菌株相互作用也会影响细菌纤维素的合成。王洁琛等^[45]通过研究醋酸菌和酵母菌相互作用对细菌纤维素合成的影响发现,*B. bruxellensis* 和 *Z. bisporus* 的乙醇等代谢产物能促进 *K. intermedius* 合成细菌纤维素,且酵母细胞的疏水性还有助于加强细菌纤维的结构。

2.4 其他功能性菌株的鉴定与应用

红茶菌中的微生物除具有促进红茶菌特征风味物质和益生物质生成的功能外,也被报道具有一定的毒素降解、抑菌、良好的发酵特性等功效,极大地丰富了红茶菌中微生物的利用场景。例如,Ben 等^[46]从红茶菌中分离到的三株酵母 *Pichia occidentalis*、*Candida sorboxylosa* 和 *Hanseniaspora opuntiae* 对黄曲霉毒素 B1 的降解率分别达 59%、39% 和 37%,可作为生物生物防治剂用于食品中真菌毒素污染的防控。Tu 等^[47]从红茶菌中筛选到一株具有良好发酵特性酵母菌 *S. davenportii* Do18,该菌株耐胆盐、pH 和温度能力强,且具有降低胆固醇的能力。将该菌株用于红茶菌发酵实验,结果发现发酵液中多酚和类黄酮含量高,且抗氧化和抗菌能力强。Diguta 等^[48]从红茶菌中筛选到两株益生菌戊糖片球菌 *Pediococcus pentosaceus* 和 *P. acidilactici*。这两株菌耐酸、

胆盐和冷冻干燥能力强,且具有抗氧化活性和抑制 *Salmonella enterica* Typhimurium、*Listeria monocytogenes*、*Bacillus cereus* 和 *Staphylococcus aureus* 等食源性致病菌的能力。郭志华等^[49]从红茶菌中筛选出3株能降解亚硝酸盐(大于93%)的乳酸菌植物乳杆菌和干酪乳杆菌,这两株益生菌发酵性能及耐胃肠道性好,无抗生素耐药性且不产生有害代谢物。高茜等^[50]从红茶菌中鉴定到的四株植物乳杆菌也均表现出较好的发酵特性、耐酸和胆盐能力。这些菌株均可作为潜在的优质发酵菌株用于开发高品质的发酵食品。上述研究均证明红茶菌是自然界中重要的微生物资源库,因此在对红茶菌进行微生物多样性研究的同时,需要进一步挖掘其中的优质菌种资源。

3 红茶菌研究的局限性

3.1 发酵体系稳定性差

红茶菌中菌群结构复杂且微生物组成差异大,加上传统半开放式的发酵体系易引起杂菌污染,因此难以保证红茶菌产品的品质、安全性和稳定性。通过从红茶菌样品中分离优质微生物资源并进行合理复配,可有效提高红茶菌的发酵稳定性并降低发酵周期^[9]。例如,谭培科等^[51]将红茶菌中分离到的3株酵母菌 *Brettanomyces bruxellensis*、*Zygosaccharomyces bisporus*、*Metschnikowia fructicola* 和1株醋酸菌 *Komagataeibacter intermedius* 进行菌种复配和发酵工艺优化后,发酵产品的品质、抗氧化活性、抑菌性能以及发酵稳定性均得到显著提高。但是,这种发酵方式与传统红茶菌复杂菌群发酵形成的风味化合物相比口感单一,因此需进一步探索纯菌混合发酵生产红茶菌饮料的可能性。

此外,尽管目前已有大量研究对红茶菌发酵工艺中的发酵温度、发酵时间、微生物接种量、原料添加量等条件进行优化,但由于不同菌株发酵能力和发酵原料的差异对微生物代谢、最终产品的品质影响较大,导致很多已优化的发酵工艺未必具有通用性^[9,16],这是亟待解决的难题之一。

3.2 工业发酵工艺标准化程度低

当前利用发酵罐或模拟工业大批量发酵红茶菌饮料的工艺优化研究少,而实验室小规模摇瓶培养发酵工艺难适用于大型发酵罐的发酵工艺中^[52]。当前,未有相关文献报道大型发酵罐发酵生产红茶菌发酵液的报道。任亮^[53]在摇瓶发酵工艺的基础上,进一步对5 L发酵罐发酵工艺条件中的搅拌速度进行优化,发现在150 r/min的搅拌速率下微生物对碳源的利用率最高。然而这些研究尚属少数,且未涉及到产业化所需的连续发酵和高密度发酵等关键发酵技术优化,难以满足当前红茶菌标准化和工业化的要求。

3.3 发酵产品口感相对单一

醋酸菌是在发酵过程中是红茶菌菌群中的优势菌,其产生的醋酸具有强烈的酸感,对红茶菌发酵液的贡献最大,这就导致红茶菌发酵饮料酸感强烈且口

感相对单一,难以被消费者接受。因此,如何提高红茶菌产品的感官品质是当前工业化生产所面临的重要难题。

研究发现,通过添加乳酸菌或酵母等功能菌种强化红茶菌发酵,对协调有机酸组成、改善红茶菌的风味与保健功效、提高产品品质具有重要意义。例如,夏霄璇等^[54]通过外源添加短乳杆菌强化传统红茶菌的发酵,结果发现优化后的红茶菌中乳酸含量增加到3.08 g/L,乙酸含量降低19.8%且有机酸组成更协调。此外,产品的颜色透亮、口感柔和、气味清香。其中,风味化合物的种类增加了17种,包括5种醇类、1种醛类、2种酯类、3种酮类、2种酸类、2种酚类和2种其他化合物。在这些风味化合物中,3-羟基-2-丁酮、2-甲基四氢噻吩-3-酮和甲基庚烯酮能赋予产品奶油香、栗子香和青草柑橘味的感官风味特点。此外,橙花醇、 γ -十一内酯、4-乙基愈创木酚等风味化合物的含量也大幅增加。Van-wyk等^[55]研究发现,添加 *Pichia kluyveri* 能促进红茶菌中乙酸异戊酯和乙酸苯乙酯等酯类风味化合物的形成,并能够赋予产品特殊的果香味。此外,Wang等^[56]发现,一定强度的超声处理能通过促进红茶菌中相关微生物与风味物质合成基因表达,从而辅助红茶菌发酵产生叶醇、苯乙醇、4-萜烯醇和异戊酸等风味物质。

优化发酵原料中糖的组成也能提高红茶菌产品的感官品质。例如,Malbasa等^[57]以糖蜜替代传统的蔗糖为原料进行红茶菌的发酵,结果发现,糖蜜中的转化糖和氨基氮等化合物能降低发酵液中令人不愉悦的乙酸产生、提高乳酸的含量,并提高产品的感官品质。

3.4 相关红茶菌类产品的缺乏

当前,市场上相关红茶菌类产品单一,难以满足人们对多元化产品的需求。随着对红茶菌保健功能的认知不断提高,越来越多的研究者以果蔬、牛奶等茶叶外的其他可食用原料为发酵基质、利用红茶菌为发酵菌株研制出丰富的红茶菌类产品^[58]。例如,肖萍等^[59]以藜麦为基质进行红茶菌发酵研究,发现发酵第2 d时发酵液中的总酚和黄酮含量最高,且对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基、超氧阴离子自由基、羟基自由基清除能力和铁离子还原力远高于传统红茶菌发酵液的能力。徐家豪等^[60]以柑橘为原料进行红茶菌发酵工艺优化,发现当乳酸菌添加量0.40%、蔗糖添加量15%、发酵温度32℃、发酵4 d时的感官最佳。然而,这些研究并未深入探讨不同的发酵原料和工艺对发酵过程中微生物群落的组成的影响。

3.5 潜在安全风险

茶叶在种植过程中通常会使用农药,但农药难降解、毒性大且易残存,长期使用会对人体健康构成严重危害^[61-62]。此外,传统半开放式的发酵方式、红茶菌不规范的传代等因素会导致红茶菌发酵液中存

在 *Listeria monocytogenes*、*Salmonella enterica* 等食源性致病菌^[63-64],这也凸显了建立标准规范的红茶菌生产工艺及菌剂传代培养的紧迫性。最后,也有少量数据表明饮用红茶菌会造成急性肾功能衰竭、肝脏和过敏并发症等潜在健康风险,但目前仍不能确定这些疾病与红茶菌消费的直接关系,仍有待进一步地科学性评价^[34]。因此,相关企业应严格把控红茶菌的生产过程,执行良好生产规范和标准操作规程,并采用包括选用无污染的发酶剂,保证设备安全卫生、无金属或其他化学物质浸出等措施。

4 结论与展望

红茶菌饮料已成为受全球消费者追捧的工业化生产饮料之一,其发酶工艺优化、微生物多样性、发酶液化学组成及其功效分析等方面成为研究热点,但其生产质量标准尚不明确。红茶菌发酶原料多样性、菌种来源复杂性和发酶条件差异性等因素导致其发酶过程中微生物组成差异显著,并进一步影响产品的品质、安全和保健功效。本文结合现有红茶菌研究结果,综述了国内外红茶菌中微生物组成差异,以及发酶过程中影响微生物群落变化的因素。进一步地,针对红茶菌中促进红茶菌风味物质和益生物质生成、以及功能性微生物进行阐述,分析了发酶原料、微生物和风味及益生物质三者间具有一定的相关性,但对发酶液中风味物质及益生物质的产生和变化机制尚缺乏系统研究。上述问题的有效解决将为筛选具有潜在功能因子的菌种以及我国特色红茶菌产品的开发提供新思路。未来的研究热点可进一步通过高通量筛选法对我国特色红茶菌微生物资源进行挖掘,并对菌株复配比例、不同菌种复配下菌种间互作机理、发酶工艺等进行探究,旨在为我国特色红茶菌产品的工业化生产提供理论依据。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] ABACI N, DENIZ F S S, ORHAN I E. Kombucha-An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review [J]. *Food Chemistry X*, 2022, 14: 100302.
- [2] OJO A O, DE SMIDT O. Microbial composition, bioactive compounds, potential benefits and risks associated with kombucha: A concise review [J]. *Fermentation*, 2023, 9: 472.
- [3] MORALES D. Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 105: 323-333.
- [4] GRASSI A, CRISTANI C, PALLA M, et al. Storage time and temperature affect microbial dynamics of yeasts and acetic acid bacteria in a Kombucha beverage [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 382: 109934.
- [5] PRADHAN S, PRABHAKAR M R, PARVATHY K R K, et al. Metagenomic and physicochemical analysis of Kombucha beverage produced from tea waste [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 60: 1088-1096.
- [6] DIEZ-OZAETA I, ASTIAZARAN O A. Recent advances in Kombucha tea: Microbial consortium, chemical parameters, health implications and biocellulose production [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 377: 109783.
- [7] COTON M, PAWTOWSKI A, TAMINIAU B, et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93: fix048.
- [8] WANG B, RUTHERFURD-MARKWICK K, ZHANG 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.
- [9] BARBOSA C D, UETANABARO A P T, SANTOS W C R, et al. Microbial-physicochemical integrated analysis of Kombucha fermentation [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 148: 111788.
- [10] WANG B, RUTHERFURD-MARKWICK K, NAREN N, et al. Microbiological and physico-chemical characteristics of black tea Kombucha fermented with a New Zealand starter culture [J]. *Foods*, 2023, 12: 2314.
- [11] 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酶生产 [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.]
- [12] MARSH A J, O'SULLIVAN O, HILL C, et al. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (tea fungus) samples [J]. *Food Microbiology*, 2014, 38: 171-178.
- [13] 徐伟,葛阳阳,陈翠婷,等. 基于宏基因组技术分析传统红茶菌中菌群组成及其主要代谢通路 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39(5): 119-129. [XU W, GE Y Y, CHEN C T, et al. Microorganism composition and main metabolic pathways analysis of traditional Kombucha by metagenomic technology [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(5): 119-129.]
- [14] 李如意,陈建新,汪芳,等. 4 种特色红茶菌发酶液感官品质、理化特性及菌群结构比较研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3197-3204. [LI R Y, CHEN J X, WANG F, et al. Comparative study on sensory quality, physicochemical properties and community structure of 4 kinds of characteristic Kombucha fermentation broth [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021, 12(8): 3197-3204.]
- [15] 刘斌杰. 不同茶叶对茶菌发酶饮料中菌群结构和生化成分的影响 [D]. 福州: 福建师范大学, 2020. [LIU B J. Effects of tea substrates on microbial communities and biochemical components of fermented tea beverages [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2020.]
- [16] 袁磊,张国华, SADIQ F A, 等. 发酶条件对红茶菌发酶品质及风味的影响 [J]. *食品科学*, 2017, 38(2): 92-97. [YUAN L, ZHANG G H, SADIQ F A, et al. Effects of fermentation conditions on quality and flavor of Kombucha [J]. *Food Science*, 2017, 38(2): 92-97.]
- [17] FILLIPPIS F D, TROISE A D, VITAGLIONE P, et al. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation [J]. *Food Microbiology*, 2018, 73: 11-16.

- [18] LI H S, DWITANTO J, TOH K Y, et al. The microbial composition and functional roles of different kombucha products in Singapore[J]. *Cyta- Journal of Food*, 2023, 21: 269–274.
- [19] 汪鹏辉, 张慧霞, 刘斌杰, 等. 红茶菌群中菌株相互作用影响菌体生长和代谢[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(2): 426–436.
- [20] WANG P H, ZHNG H X, LIU B J, et al. Interaction of strains in Kombucha microbial community affects their growth and metabolism[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(2): 426–436.
- [21] LAUREYS D, BRITTON S J, DE CLIPPELEER J, et al. Kombucha tea fermentation: A review [J]. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3): 165–174.
- [22] 张妍, 徐伟, 傅徐阳. 红茶菌产细菌纤维素菌种分离与初步鉴定[J]. *食品工业*, 2012, 33(10): 123–125.
- [23] ZHANG Y, XU W, FU X Y. Isolation and identification of microbes from Kombucha producing bacterial cellulose[J]. *Food Industry*, 2012, 33(10): 123–125.
- [24] 邱卫华. 红茶菌微生物群落多样性及其分析方法的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(24): 311–317.
- [25] QIU W H. Research advances on microbial diversity and its analytical methods of Kombucha[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(24): 311–317.
- [26] 李晓敏, 王晴, 檀馨悦, 等. 红茶菌成分及功能研究进展[J]. *中国酿造*, 2020, 39(10): 5–10.
- [27] LI X M, WANG Q, TAN X Y, et al. Research progress on composition and functions of Kombucha [J]. *China Brewing*, 2020, 39(10): 5–10.
- [28] KAPP J M, SUMNER W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit[J]. *Annals of Epidemiology*, 2019, 30: 66–70.
- [29] MIRANDA-CASTILLEGUA D E, MARTINEZ-PENICHE R A, NADAL M, et al. Enological qualities and interactions between native yeast and lactic acid bacteria from Queretaro, Mexico[J]. *Journal of Food Science*, 2018, 83(7): 1904–1912.
- [30] MENG Y C, WANG X J, LI Y H, et al. Microbial interactions and dynamic changes of volatile flavor compounds during the fermentation of traditional Kombucha[J]. *Food Chemistry*, 2024, 430: 137060.
- [31] YAO L Y, ZHANG J, LU J, et al. Revealing the influence of microbiota on the flavor of Kombucha during natural fermentation process by metagenomic and GC-MS analysis[J]. *Food Research International*, 2023, 169: 112909.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] ZHU Y P, ZHANG F F, ZHANG C N, et al. Dynamic microbial succession of Shanxi aged vinegar and its correlation with flavor metabolites during different stages of acetic acid fermentation[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1–10.
- [35] HUANG Z R, HONG J L, XU J X, et al. Exploring core functional microbiota responsible for the production of volatile flavour during the traditional brewing of Wuyi Hong Qu glutinous rice wine[J]. *Food Microbiology*, 2018, 76: 487–496.
- [36] ZHAO Z J, SUI Y C, WU H W, et al. Flavour chemical dynamics during fermentation of Kombucha tea[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2018, 30: 732–741.
- [37] TRAN T, BILLET K, TORRES-COBOS B, et al. Use of a minimal microbial consortium to determine the origin of Kombucha flavor[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 836617.
- [38] WANG S, LI C, WANG Y, et al. Changes on physiochemical properties and volatile compounds of Chinese Kombucha during fermentation[J]. *Food Bioscience*, 2023, 55: 103029.
- [39] LEAL J M, SUAREZ L V, JAYABALAN R, et al. A review on health benefits of Kombucha nutritional compounds and metabolites[J]. *Cyta-Journal of Food*, 2018, 16: 390–399.
- [40] ESATBEYOGLU T, AYDIN S S, SUBASI B G, et al. Additional advances related to the health benefits associated with Kombucha consumption[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023(1): 1–18.
- [41] 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: 1149–1155.
- [42] WANG X T, WANG D H, WANG H M, et al. Chemical profile and antioxidant capacity of Kombucha tea by the pure cultured Kombucha[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 168: 113931.
- [43] 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 and Technology*, 2020, 55: 3327–3333.
- [44] LI R Y, XU Y Q, CHEN J X, et al. Enhancing the proportion of gluconic acid with a microbial community reconstruction method to improve the taste quality of Kombucha[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 155: 112937.
- [45] SUBBIAHDOSS G, OSMEN S, REIMHULT E. Cellulosic biofilm formation of *Komagataeibacter* in Kombucha at oil-water interfaces[J]. *Biofilm*, 2022, 4: 100071.
- [46] NGUYEN V T, FLANAGAN B, GIDLEY M J, et al. Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha[J]. *Current Microbiology*, 2008, 57(5): 449–453.
- [47] 郑梅霞, 刘波, 朱育菁, 等. 细菌纤维素的生物合成及在食品工业的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(19): 6412–6421.
- [48] ZHENG M X, LIU B, ZHU Y J, et al. Bacterial cellulose biosynthesis and application on food industry[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 10(19): 6412–6421.
- [49] LAAVANYA D, SHIRKOLE S, BALASUBRAMANIAN P. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 295: 126454.
- [50] 吴家奇, 李力, 白金, 等. 响应面法优化红茶菌细菌纤维素生产条件[J]. *现代食品科技*, 2024, 40(6): 1–10.
- [51] WU J Q, LI L, BAI J, et al. Optimization of production conditions of Kombucha bacterial cellulose by response surface method[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2024, 40(6): 1–10.
- [52] 王洁琛, 陈志周, 王颖, 等. 红茶菌中醋酸菌和酵母菌的分离鉴定及其相互作用[J]. *中国酿造*, 2020, 39(3): 126–130.
- [53] WANG J C, CHEN Z Z, WANG Y, et al. Isolation, identification and interaction of acetic acid bacteria and yeast in Kombucha [J]. 2020, 39(3): 126–130.
- [54] BEN T F, MANSOUR C, BEN J K, et al. Aflatoxin B-1 degradation by microorganisms isolated from Kombucha culture[J]. *Toxicon*, 2020, 179: 76–83.
- [55] TU C H, HU W X, TANG S J, et al. Isolation and identifica-

- tion of *Starmerella davenportii* strain Do18 and its application in black tea beverage fermentation[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2020, 9: 355–362.
- [48] DIGUTA C F, NITOI G D, MATEI F, et al. The biotechnological potential of *Pediococcus* spp. isolated from Kombucha microbial consortium[J]. *Foods*, 2020, 9: 1780.
- [49] 郭志华, 王聪, 陈红玲. 红茶菌中降解亚硝酸盐乳酸菌的筛选、鉴定及其功能特性[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(8): 309–316.
- [GUO Z H, WANG C, CHEN H L. Studies on screening, identification and functional properties of nitrite degrading lactic acid bacteria in Kombucha [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 21(8): 309–316.]
- [50] 高茜, 黄燕华, 汪倩倩, 等. 红茶菌中乳酸菌的筛选及其生长特性[J]. *乳业科学与技术*, 2018, 41(2): 5–10. [GAO X, HUANG Y H, WANG Q Q, et al. Screening and growth characteristics of lactic acid bacteria from Kombucha[J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2018, 41(2): 5–10.]
- [51] 谭培科, 陈志周, 逯笑萌, 等. ‘红茶菌’发酵饮料生产工艺及其功能特性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(21): 8359–8367. [TAN P K, CHEN Z Z, LU X M, et al. Study on production process and functional activity of the ‘Kombucha’ fermented beverage[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021, 12(21): 8359–8367.]
- [52] 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*, 43(15): 138–145.]
- [53] 任亮. 红茶菌发酵工艺的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013. [REN L. Study on progress of kombucha industrial fermentation [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2013.]
- [54] 夏霄璇, 王博, 方芳. 乳酸菌强化红茶菌发酵的工艺优化[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(11): 185–192. [XIA X X, WANG B, FANG F. Enhancement of Kombucha fermentation by addition of lactic acid bacteria[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(11): 185–192.]
- [55] VAN-WYK N, BINDER J, LUDSZUWEIT M, et al. The influence of *Pichia kluyveri* addition on the aroma profile of a Kombucha tea fermentation[J]. *Foods*, 2023, 12: 1938.
- [56] WANG Z, AHMAD W, ZHU A, 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.
- [57] MALBASA R, LONCAR E, DJURIC M, et al. Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses[J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(3): 926–932.
- [58] FREITAS A, SOUSA P, WURLITZER N. Alternative raw materials in Kombucha production[J]. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2022, 30: 100594.
- [59] 肖萍, 赵可欣, 蔡倩倩, 等. 以藜麦为基质的红茶菌发酵液抗氧化活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(2): 37–43. [XIAO P, ZHAO K X, CAI Q Q, et al. Antioxidant activity of fermented quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) with Kombucha consortium [J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(2): 37–44.]
- [60] 徐家豪, 林静嫦, 张舒宁, 等. 柑橘红茶菌饮料发酵工艺的优化[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(4): 106–113. [XU J H, LIN J C, ZHANG S N, et al. Optimization of fermentation technology of citrus black tea beverage[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(4): 106–113.]
- [61] 陈文辉, 王华威, 李建勋, 等. 基于亲水型低共熔溶剂的分散液液微萃取技术测定茶叶中的农药多残留[J]. *核农学报*, 2023, 37(9): 1823–1832. [CHEN W H, WANG H W, LI J X, et al. Determination of Pesticide residues in tea using dispersive liquid-liquid microextraction with hydrophilic deep eutectic solvent[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(9): 1823–1832.]
- [62] FERNANDES I D A, MACIEL G M, BORTOLINI D G, et al. The bitter side of teas: Pesticide residues and their impact on human health [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2023, 179: 113955.
- [63] YUAN L, FAN Y L, HOU J, et al. Metagenomic analysis reveals microbial community and functional capacity in Kombucha [J]. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2022, 14: 1–8.
- [64] VILLARREAL-SOTO S A, BOUJILA J, PACE M, et al. Metabolome microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 333: 108778.