

# ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN LÊN MEN VÀ NỒNG ĐỘ ĐƯỜNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA NƯỚC UỐNG KOMBUCHA LÁ ỒI RỪNG (*Psidium guajava* L.)

Đặng Thị Ngọc Dung<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Trung<sup>2</sup>, Nguyễn Quang Vinh<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại học Tây Nguyên

<sup>3</sup>Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên

## TÓM TẮT

Những công bố gần đây cho thấy, lên men kombucha từ thảo dược có thể nâng cao hoạt tính sinh học của thảo dược đối với sức khỏe. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian lên men và hàm lượng đường sucrose đến chất lượng cảm quan và hoạt tính sinh học nước uống lên men kombucha có bổ sung lá ổi rừng. Nghiên cứu cho thấy, lên men kombucha lá ổi rừng có khả năng làm tăng tổng hàm lượng polyphenol (TPC), flavonoid (TFC), hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase so với dịch lá ổi rừng chưa lên men. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cũng xác định được thời gian lên men phù hợp cho sản phẩm kombucha lá ổi rừng là 12 ngày với nồng độ đường bổ sung là 80g/L. Sản phẩm nước uống kombucha lá ổi rừng giàu hàm lượng polyphenol tổng (TPC = 20,21mg GAE/100mL) và flavonoid tổng (14,83 mg QE/100mL) với hoạt tính chống oxy hóa theo khả năng bắt gốc tự do DPPH (47,37%), ABTS (57,35%) và năng lực khử sắt FRAP (2,83) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase (83,5%). Nước uống kombucha lá ổi có hàm lượng chất khô hòa tan là 6,13%, hàm lượng đường khử là 11563,48  $\mu$ g/mL, độ pH là 2,84 và hàm lượng acid tổng là 6,61 g/L, với mức độ ưa thích chung của người tiêu dùng là 6,81 điểm.

**Từ khóa:** Kombucha lá ổi rừng, polyphenol, flavonoid, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Kombucha là một sản phẩm lên men truyền thống từ trà đen hoặc trà xanh bởi hệ vi khuẩn acetic và nấm men. Ngoài trà đen và trà xanh, kombucha còn được lên men từ dịch chiết thảo mộc, dược liệu (Vitas *et al.*, 2020). Nhu cầu về kombucha tiếp tục tăng trên toàn cầu, chủ yếu là do lợi ích sức khỏe được công bố và các đặc tính cảm quan hấp dẫn của nó (Wang *et al.*, 2023). Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng kombucha có các hoạt tính sinh học quan trọng như giải độc, chống tác hại của các gốc tự do (Aung & Eun, 2021), cung cấp năng lượng và tăng cường hệ miễn dịch. Các hoạt tính sinh học của kombucha chủ yếu đến từ hoạt động của polyphenol và các hợp chất được tạo ra trong quá trình lên men (Kim *et al.*, 2023). Đáng chú ý, quá trình lên men có thể giúp gia tăng hàm lượng polyphenol và các chất chuyển hóa có lợi, TPC và TFC tăng lần lượt 3,53 và 5,2 lần (Kim *et al.*, 2023); catechin, epicatechin, caffeine, acid caffeic, acid gallic và rutin trong kombucha đã tăng lên; hoạt tính chống oxy hóa của kombucha được tăng cường lên tới 2,88 lần (Kim *et al.*, 2023). Bên cạnh đó, Francis M Mann và đồng tác giả (2017) đã chứng minh rằng kombucha trà đen có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase tuyến tụy (IC<sub>50</sub> = 0,16±0,06% mL/U); trong khi đó hoạt tính này không có trong dịch trích trà đen (Mann *et al.*, 2017).

Lá ổi rừng (*Psidium guajava* L.) là cây thuốc mọc hoang tự nhiên tại rừng M'Đrak, tỉnh Đắk Lắk, được người dân địa phương sử dụng với nhiều mục đích khác nhau: kiểm soát tiêu chảy, giải quyết các vấn đề về dạ dày và điều chỉnh lượng đường trong máu ở những người mắc bệnh đái tháo đường (ĐTĐ). Các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng lá ổi là nguồn giàu các thành phần polyphenolic và flavonoid, với các hợp chất chính là acid gallic, catechin, rutin, quercetin, apigenin, quercitrin, vitexin và apigenin-7-O-D-glucopyranoside (Nguyen *et al.*, 2022). Chiết xuất lá ổi rừng có hoạt tính trung hoà gốc tự do, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase cao nên có tiềm năng hỗ trợ bệnh đái tháo đường (Nguyen *et al.*, 2023; 2022). Các công bố gần đây cho thấy, polyphenol được xem là chất xơ sinh học có tiềm năng ứng dụng như một nhóm chất tiềm năng trong kích sự phát triển của lợi khuẩn như *Bifidobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* và ức chế sự phát triển của hại khuẩn như *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* và *Helicobacter pylori* (Plamada & Vodnar, 2021). Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được thời gian lên men và nồng độ đường bổ sung để sản xuất nước uống lên men kombucha có bổ sung lá ổi rừng có giá trị cảm quan và hoạt tính sinh học tốt.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Trà xanh: Trà Đại Gia - Thái Nguyên, Trà Đại Gia được sản xuất theo quy trình làm trà truyền thống của Tân Cương Thái Nguyên với quy mô công nghiệp. Lá ổi rừng được thu hái tại M'Đrak, tỉnh Đắk Lắk sấy ở 50°C đến

đạt độ ẩm <10% (w/w). SCOBY (Symbiotic culture of bacteria and yeast) được cung cấp bởi công ty TNHH Xuất nhập khẩu Foodplus.

Thuốc thử Folin – Ciocalteu, gallic acid, quercetin (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>), ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), α-amylase (Sigma, Mỹ); ethanol, methanol, DMSO (dimethylsulfoxide), tinh bột, NaCl, D-glucose, NaOH, Potassium Sodium Tartrate tetrahydrate, NaNO<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, Trichloroacetic acid, Ferric chloride (Xinglong, Trung Quốc). Các hoá chất nêu trên đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

## Phương pháp nghiên cứu

### Bố trí thí nghiệm

Để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian (0, 3, 6, 9, 12, 15 ngày) đến chất lượng kombucha lá ôi rừng, dịch trà được chuẩn bị bằng cách cho 100mL nước 80°C vào 5g hỗn hợp trà xanh – lá ôi rừng (lá trà xanh/lá ôi = 25/75 (g/g)), siêu âm 20 phút; sau đó lấy 24g scoby + 60ml dịch chiết trà + 15ml dịch môi (dịch nuôi scoby) cho vào bình chứa 1000ml dịch đường 5%; tiến hành lên men trong ở nhiệt độ phòng. Theo thời gian lên men sẽ xác định hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học (hàm lượng polyphenol tổng - TPC, flavonoids tổng - TFC), hoạt tính chống oxy hóa xác định theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup>, đánh giá năng lực khử sắt FRAP), hoạt tính ức chế α-amylase, lượng đường khử, giá trị cảm quan để chọn thời gian lên men thích hợp cho sản phẩm kombucha lá ôi rừng.

Tiếp theo, các nghiệm thức với nồng độ đường khác nhau (40, 50, 60, 70 và 80 g/L) được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường trong quá trình lên men đến chất lượng kombucha. Các nghiệm thức nồng độ đường khác nhau của kombucha lá ôi rừng được đánh giá về hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học TPC, TFC, hoạt tính chống oxy hóa xác định theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup>, đánh giá năng lực khử sắt FRAP, hoạt tính ức chế α-amylase, độ pH, hàm lượng acid tổng, hàm lượng đường khử và giá trị cảm quan của sản phẩm.

pH: xác định bằng cách sử dụng thiết bị đo Hanna HI2210-02.

**Phương pháp xác định hàm lượng acid tổng:** được xác định theo TCVN 4589:1988. Hàm lượng acid tổng được tính theo công thức:  $TA = \frac{K \cdot V}{v} \times 1000$  (g/L); Trong đó V: thể tích trung bình của NaOH 0,1N, mL; v: thể tích mẫu đem chuẩn độ, mL; K: hệ số của loại acid tương ứng với 1mL NaOH 0,1N.

**Phương pháp xác định hàm lượng đường khử:** phương pháp DNS (Axit Dinitrosalicylic) theo Trần Thị Giang và đồng tác giả (2022).

**Phương pháp xác định hàm lượng chất khô hòa tan (TSS):** được xác định theo độ Brix bằng cách sử dụng khúc xạ kế.

**Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng (TPC):** được xác định theo phương pháp của Folin- Ciocalteu, 1927.

**Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid tổng (TFC):** được xác định theo phương pháp của Jia & đồng tác giả (1999).

**Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH:** hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH (2,2- diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate) được tiến hành theo Nguyen Quang Vinh và Eun (2011). Trolox được sử dụng làm đối chứng dương. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH được tính theo mg trolox equivalent (mg TE/g chất khô).

**Hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS:** hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) được tiến hành theo Nguyen Quang Vinh và Eun (2011). Trolox được sử dụng làm đối chứng dương. Hoạt tính bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> được tính theo mg trolox equivalent (mg TE/g chất khô).

### Hoạt tính chống oxy hóa theo FRAP: theo Nguyen Quang Vinh và Eun (2011)

Lấy 1ml của dịch trà được trộn với dung dịch đệm phosphate (2,5ml, 0,2M, pH 6,6) và kali ferricyanua [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] (2,5ml, 1%). Các hỗn hợp này sau đó được ủ ở 50°C trong 20 phút. Sau đó bổ sung thêm (2,5ml) acid trichloroacetic (10%), sau đó hỗn hợp này được ly tâm trong 10 phút ở 1036 x g. Lớp trên của các dung dịch (2,5ml) được trộn riêng với nước cất (2,5ml) và FeCl<sub>3</sub> (0,5ml, 0,1%), và các mức độ hấp thụ được đo ở bước sóng 700nm bằng máy đo UV-Vis. Kết quả thu được dựa trên chất chuẩn là Trolox hấp thụ tại bước sóng 700nm.

### Phương pháp xác định hoạt tính ức chế α-amylase theo Nguyen và đồng tác giả (2022)

Quá trình tiến hành bằng cách trộn 200 μL dịch kombucha với nồng độ nghiên cứu với 300 μL dung dịch α-amylase (2 μg/mL) và ủ ở 37°C trong 10 phút. Tiếp theo, bổ sung 400 μL dung dịch tinh bột 1% trong đệm phosphate và tiếp tục ủ ở 37°C trong 20 phút. Phản ứng kết thúc bằng cách bổ sung 2 mL dinitrosalicylic acid và đun sôi 10 phút, sau đó làm nguội đến nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của mẫu ở bước sóng 540 nm. Kết quả được so sánh với mẫu kiểm chứng chỉ chứa 500 μL dung dịch đệm, 400 μL dung dịch tinh bột và 2 mL

dinitrosalicylic acid.

**Phương pháp đánh giá cảm quan thị hiếu được xác định** (Cung Thị Tố Quỳnh *et al.*, 2018): Mục đích nhằm đánh giá mức độ ưa thích về mùi, vị, màu sắc, trạng thái, mức độ chấp nhận chung của các mẫu kombucha lên men theo các công thức khác nhau. Hội đồng cảm quan gồm 60 người. Mỗi người thử sẽ nhận được 5 cốc mẫu trà được mã hóa bằng ba chữ số tránh sự trùng lặp và 1 cốc nước thanh vị. Một phiếu hướng dẫn yêu cầu người đánh giá mức độ ưa thích của mình đối với các chỉ tiêu trên thang điểm thị hiếu bao gồm 9 điểm. Cục kì không thích: 1; Rất không thích: 2; Không thích: 3; Tương đối không thích: 4; Không thích, không ghét: 5; Tương đối thích: 6; Thích: 7; Rất thích: 8; Cục kì thích: 9.

**Phương pháp xử lý số liệu**

Các thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại. Kết quả nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 22 để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, độ chính xác, sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 5\%$  giữa các mẫu. Các biểu đồ được vẽ trên phần mềm excel 2016.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Ảnh hưởng của thời gian lên men đến hoạt tính sinh học, chất lượng cảm quan sản phẩm kombucha lá ổi rừng**

Thực vật đã được sử dụng như một nguồn cung cấp thành phần hoạt tính sinh học trong hàng ngàn năm và nhu cầu về các thành phần tự nhiên đã tăng lên trong thập kỷ qua. Một số nghiên cứu cho thấy quá trình lên men kombucha có thể làm thay đổi thành phần và tăng hoạt tính sinh học của các dịch chiết thực vật (Aung & Eun, 2021; Cardoso *et al.*, 2020). Bảng 1 thể hiện sự thay đổi về thành phần và hoạt tính sinh học của nước uống kombucha lá ổi rừng theo thời gian lên men. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và flavonoid tổng số (TFC) tăng theo thời gian lên men và đạt giá trị lớn nhất vào ngày thứ 12 (23,29 mg GAE/100mL và 17,48 mg QE/100mL). Xu hướng tăng TPC và TFC theo thời gian lên men từ ngày 0 đến ngày thứ 12 tương đồng với kết quả nghiên cứu của Thinzar Aung & Jong-Bang Eun (2021) trên kombucha táo biển. Sự thay đổi hàm lượng polyphenol tổng số có thể do hoạt động của enzyme và/hoặc độ pH thấp trong quá trình lên men đã phân cắt các hợp chất phenolic glucoside hoặc tannin trong nguyên liệu thành các hợp chất phenolic tự do (Cardoso *et al.*, 2020).

Hoạt tính chống oxy hóa tăng dần trong giai đoạn đầu của quá trình lên men và sau đó giảm xuống trong các ngày tiếp theo (Bảng 1). Trong đó, hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH tăng dần và đạt cao nhất 51,79% (ngày thứ 9), sau đó giảm xuống 45,21% vào ngày thứ 12, và 44,15% vào ngày thứ 15. Tuy nhiên, hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS của nghiên cứu đạt cao nhất vào ngày thứ 12 (53,24%), sau đó giảm xuống 51,14% vào ngày thứ 15. Quá trình lên men có liên quan đến việc tăng hoạt tính chống oxy hóa vì có sự giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao vào môi trường sau khi lên men (Cardoso *et al.*, 2020). Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH và các gốc hydroxyl tăng lên khi tăng thời gian lên men kombucha từ trà đen và trà xanh (Massoud *et al.*, 2022). Sự gia tăng khả năng chống oxy hóa có mối tương quan thuận với hàm lượng polyphenol tổng số trong quá trình lên men (Aung & Eun, 2021).

**Bảng 1. Ảnh hưởng thời gian lên men lên TPC, TFC, hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP, hoạt tính ức chế  $\alpha$  amylase, hàm lượng đường khử của kombucha lá ổi rừng**

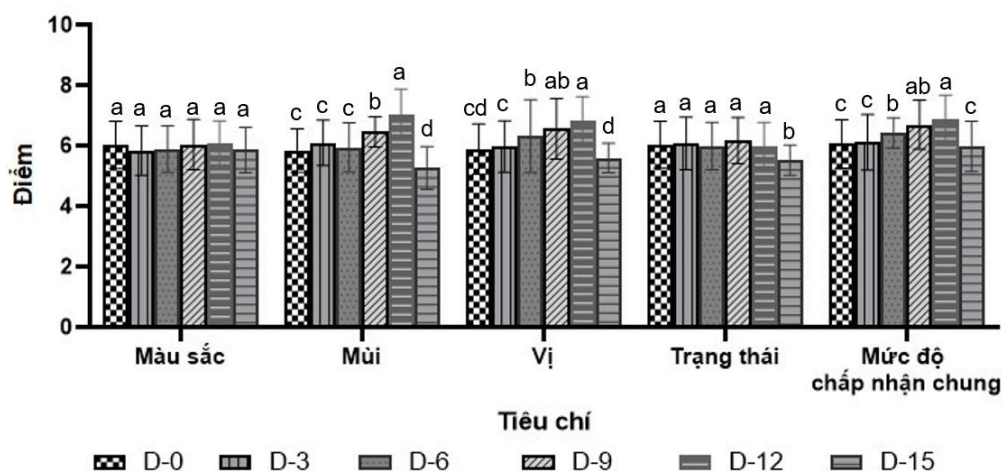
Thời gian lên men (ngày)	0 (D-0)	3 (D-3)	6 (D-6)	9 (D-9)	12 (D-12)	15 (D-15)
Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) (mg GAE/100 mL)	18,06±0,36 <sup>e</sup>	19,9±0,16 <sup>d</sup>	20,31±0,12 <sup>c</sup>	21,43±0,15 <sup>b</sup>	23,29 <sub>a</sub> ±0,26	23,03±0,2 <sup>a</sup>
Hàm lượng flavonoid tổng (TFC) (mg QE/100 mL)	13,38±0,82 <sup>d</sup>	14,03±0,47 <sup>c</sup>	15,18±0,59 <sup>c</sup>	16,45±0,35 <sup>b</sup>	17,48 <sub>a</sub> ±0,60	16,05±0,68 <sup>e</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH (%)	42,03±1,35 <sup>d</sup>	47,95±0,7 <sup>b</sup>	48±0,6 <sup>b</sup>	51,79±0,74 <sup>a</sup>	45,21 <sub>c</sub> ±0,05	44,15±0,67 <sup>c</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS (%)	45,87±1,82 <sup>c</sup>	47,38±0,34 <sup>c</sup>	49,9±0,3 <sup>b</sup>	50,43±0,68 <sup>b</sup>	53,24 <sub>a</sub> ±0,61	51,14±1,74 <sup>b</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo FRAP	2,55±0,04 <sup>b</sup>	2,31±0,07 <sup>d</sup>	2,41±0,06 <sup>c</sup>	2,47±0,0 <sup>bc</sup>	2,77±0,01 <sup>a</sup>	2,47±0,09 <sup>bc</sup>
Hoạt tính ức chế $\alpha$ amylase (%)	16,89±0,98 <sup>e</sup>	27,89±1,28 <sup>d</sup>	40,31±7,25 <sup>c</sup>	48,47±1,38 <sup>b</sup>	55,68 <sub>a</sub> ±1,53	44,41±1,92 <sup>b</sup>
Hàm lượng đường khử ( $\mu$ g/mL)	1815,43±13,88 <sup>f</sup>	3884,37±34,57 <sup>e</sup>	5498,81±14,95 <sup>d</sup>	7160,50±36,28 <sup>c</sup>	7508,69±209,87 <sup>b</sup>	9908,75±119,29 <sup>a</sup>

a-f: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các ngày lên men khác nhau ( $p < 0,05$ ).

Năng lực khử là phương pháp đánh giá khả năng khử ion sắt (III) thành ion sắt (II), là một phương pháp đơn giản và thường được sử dụng để đánh giá khả năng chống oxy hóa do khả năng chuyển điện tử của hợp chất (Vitas *et al.*, 2020). Năng lực khử sắt FRAP có mối tương quan thuận với thời gian lên men và hàm lượng các hợp chất polyphenol (Aung & Eun, 2021). Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, năng lực khử sắt của dịch kombucha tăng theo thời gian lên men và đạt giá trị cao nhất vào ngày lên men thứ 12 ( $2,77 \pm 0,01$ ) và sau đó giảm vào ngày lên men thứ 15 ( $2,47 \pm 0,09$ ). Xu hướng thay đổi năng lực khử sắt FRAP tương đồng với nghiên cứu của Zhou và đồng tác giả (2022), năng lực khử sắt FRAP tăng dần theo thời gian lên men sau đó giảm xuống (Zhou *et al.*, 2022). Nghiên cứu của Jakubczyk và đồng tác giả (2020) cũng chỉ ra rằng năng lực khử sắt FRAP có mối tương quan thuận với thời gian lên men (trong một khoảng giới hạn) và hàm lượng các hợp chất polyphenol (Jakubczyk *et al.*, 2020).

Kết quả tương tự đối với hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase, tăng ở giai đoạn đầu của quá trình lên men kombucha và đạt hoạt tính ức chế cao nhất vào ngày lên men thứ 12 (55,68%); sau đó giảm xuống 44,41% vào ngày lên men thứ 15. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Euis Thinzar Aung và Jong-Bang Eun (2022), cho thấy hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase của kombucha tảo biển tăng lên cực đại vào ngày thứ 14 của quá trình lên men lần lượt là 92% và 83% ở nghiệm thức nhiệt độ lên men  $25^{\circ}\text{C}$  và  $30^{\circ}\text{C}$ ; sau đó giảm hoạt tính ức chế vào ngày thứ 22 lần lượt là 52 và 24% cho các nghiệm thức tương ứng (Aung & Eun, 2022). Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase tăng lên trong quá trình lên men, có thể do sự gia tăng tổng hàm lượng polyphenol và các hợp chất có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase trong quá trình thủy phân tinh bột, bất hoạt  $\alpha$ -amylase do pH thấp (Mann *et al.*, 2017). Hàm lượng đường khử của các nghiệm thức đều tăng theo thời gian lên men. Độ tăng nồng độ đường khử sau 15 ngày lên men cao nhất là  $9908,75 \pm 119,29$  ( $\mu\text{g/mL}$ ); Điều này có thể do các enzyme từ VSV thủy phân sucrose tạo thành glucose và fructose là nguyên nhân lượng đường khử tăng lên trong quá trình lên men kombucha (Tu *et al.*, 2019; Zubaidah *et al.*, 2018). Xu hướng tăng lượng đường khử theo thời gian lên men phù hợp với kết quả nghiên cứu trên kombucha tảo biển (Aung & Eun, 2021).

Chất lượng cảm quan của thực phẩm đóng vai trò quan trọng trong quá trình thương mại hoá sản phẩm. Vì vậy, sản phẩm kombucha sẽ được đánh giá chất lượng cảm quan thông qua mức độ ưa thích sản phẩm của người tiêu dùng theo thời gian lên men để xác định được thời gian lên men phù hợp. Kết quả cho thấy, về chỉ tiêu cảm quan màu sắc và ngày lên men thứ 0 là cao nhất (6,03 điểm) và thấp nhất vào ngày lên men thứ 15 (5,87 điểm). Điểm cảm quan về mùi, nghiệm thức vào ngày lên men thứ 12 là cao nhất (7,05 điểm), thấp nhất vào ngày thứ 15 (5,27 điểm). Vào ngày lên men thứ 15, sản phẩm có mùi chua nồng, mùi thơm nhẹ của lá ổi và vào ngày lên men thứ 12, sản phẩm có mùi lá ổi và mùi sản phẩm lên đặc trưng. Điểm cảm quan về vị, cao nhất đạt 6,82 điểm (ngày thứ 12), và thấp nhất là 5,6 điểm (ngày thứ 15). Nhìn chung, điểm cảm quan cao nhất về vị là vào ngày lên men thứ 12; ngày lên men thứ 9, sản phẩm có vị ngọt nhẹ, không quá chua; sản phẩm có độ ngọt cao và ít chua (ngày thứ 0, 3, 6); sản phẩm có độ chua cao, không còn độ ngọt gắt khó chịu (ngày thứ 15). Điểm cảm quan về trạng thái, ngày thứ 9 cho giá trị cao nhất (6,18 điểm) và thấp nhất vào ngày lên men thứ 15 (5,53 điểm). Nhìn chung, các nghiệm thức đều có trạng thái lỏng, không quá đục và không có cặn, riêng mẫu vào ngày 15 có độ đục nhiều hơn. Mức độ chấp nhận chung về cảm quan vào ngày thứ 12 có số điểm cao nhất (6,87 điểm), sau đó đạt 6,7 (ngày thứ 9), tiếp theo đạt 6,43 (ngày thứ 6) và cuối cùng là 5,88; 6,12; 5,98 (ngày 0, 3, 15 tương ứng).

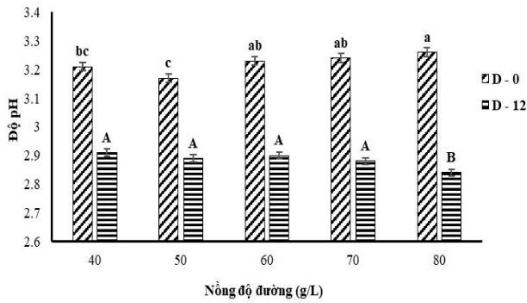


Hình 1. Chất lượng cảm quan của các nghiệm thức theo thời gian lên men

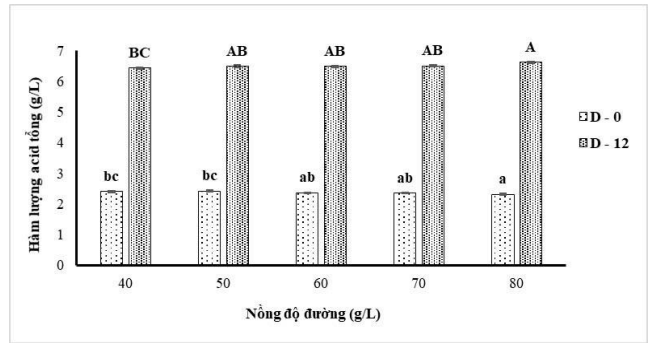
a-d: Các chữ cái khác nhau trong cùng một tiêu chí biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các ngày lên men khác nhau ( $p < 0,05$ ).

Từ các kết quả cho thấy, thời gian lên men phù hợp nhất là 12 ngày; nước uống kombucha lá ổi rừng có hàm lượng hàm lượng polyphenol tổng (TPC) và flavonoid tổng (TFC) cao nhất, tương ứng 23,29 mg GAE/100mL và 17,48 mg QE/100mL; với hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS (%), hoạt tính chống oxy hóa theo FRAP, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase và giá trị cảm quan cao nhất; tương ứng 53,24%; 2,77; 55,68% và 6,87 điểm.

**Ảnh hưởng của nồng độ dịch đường lên men đến pH, hàm lượng acid tổng, hàm lượng chất rắn hòa tan (TSS), hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học, chất lượng cảm quan sản phẩm kombucha lá ổi rừng**



**Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến độ pH của kombucha theo thời gian lên men**



**Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến hàm lượng acid tổng của kombucha theo thời gian lên men**

a-c: Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ở ngày lên men thứ 0 và các chữ in hoa A-C biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ở ngày lên men thứ 12 ( $p < 0,05$ ).

Kết quả Hình 2 cho thấy, pH của các nghiệm thức giảm sau 12 ngày lên men; nghiệm thức 80 g/L có giá trị pH thấp nhất (2,84) và nghiệm thức 40 g/L có giá trị pH cao nhất (2,91); tương ứng với độ giảm pH là 11,57 và 8,1%. Độ pH giảm là do các acid được sinh ra trong quá trình lên men bởi nấm men và vi khuẩn. Xu hướng giảm pH theo thời gian lên men phù hợp với kết quả của Chunhai Tu và đồng tác giả (2019) khi lên men kombucha whey đậu nành. Độ pH giảm là do các acid được sinh ra trong quá trình lên men (Aung & Eun, 2021). Nấm men sẽ chuyển hóa glucose và fructose thành ethanol; sau giai đoạn lên men ethanol, vi khuẩn acetic sẽ sử dụng glucose để sinh ra acid glucuronic và chuyển hóa ethanol thành acid acetic (Vanida Osiripun, 2021). Kết quả cho thấy việc sử dụng nồng độ đường cao là nguồn carbon chính cho các vi sinh vật trong quá trình lên men kombucha. Đối với độ giảm pH nhanh ở các nghiệm thức 60, 70, 80 g/L sẽ gây khó khăn cho việc kiểm soát hoạt động của nấm men và vi khuẩn acetic; nghiệm thức 40 g/L có độ giảm pH ổn định nhất. Kết quả Hình 3, hàm lượng acid tổng của các nghiệm thức của ngày lên men thứ 12 so với ngày thứ 0 đều tăng, nghiệm thức 80 g/L có hàm lượng acid tổng cao nhất (6,61 g/L) và nghiệm thức 40 g/L có hàm lượng acid tổng thấp nhất (6,43 g/L). Xu hướng thay đổi độ acid này là đặc trưng cho quá trình lên men kombucha và nó có xu hướng tương đồng với nghiên cứu kombucha táo biển (Aung & Eun, 2021). Tổng số acid tăng lên vì đường được chuyển hóa bởi vi khuẩn để tạo ra acid hữu cơ, vì vậy quá trình lên men càng dài, lượng acid hữu cơ được tạo thành càng cao (Tu *et al.*, 2019). Các loại nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) chuyển hóa glucose tạo thành ethanol và CO<sub>2</sub>. Ethanol sau đó được oxy hóa thành acetaldehyde bởi *Acetobacter*, sau đó được chuyển thành acid acetic.

Quá trình lên men kombucha nhờ vi khuẩn và nấm men sẽ chuyển hóa đường thành acid hữu cơ nên nồng độ đường (hàm lượng chất khô hòa tan (TSS)) sẽ giảm theo thời gian lên men. Kết quả Bảng 2 cho thấy trong quá trình lên men, TSS của các nghiệm thức đều giảm sau 12 ngày. TSS cao nhất là của nghiệm thức 80 g/L (6,13 °Bx) và TSS thấp nhất là nghiệm thức 40g/L (2,87 °Bx); tương ứng với độ giảm Brix lần lượt là 12,43% và 23,05% so với ngày đầu lên men. Xu hướng thay đổi TSS này phù hợp với nghiên cứu của Wang và đồng tác giả (2023) trên kombucha trà đen, TSS có xu hướng giảm theo thời gian lên men, TSS của kombucha giảm 4,87±0,06% xuống 3,13±0,21% trong suốt quá trình lên men trong 14 ngày.

Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số cao nhất tìm thấy ở nghiệm thức bổ sung 40 g/L lần lượt là 24,66±0,22 mg GAE/100mL và 20,33±0,3 mg QE/100mL và thấp nhất là của nghiệm thức 80 g/L lần lượt là 20,21±0,2 mg GAE/100mL và 14,83±0,11 mgQE/100mL (Bảng 2). So với ngày đầu lên men, TPC, TFC của tất cả các nghiệm thức đều tăng. Kết quả này tương đồng với báo cáo của Thinzar Aung và Jong-Bang Eun (2021) về độ tăng TPC và TFC của sản phẩm kombucha táo biển (Aung & Eun, 2021). Sự gia tăng TPC và TFC có thể do sự thủy phân các hợp chất polyphenol do trao đổi chất của VSV (Hsieh *et al.*, 2021).

Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH và theo ABTS đều tăng sau 12 ngày lên men; hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH của nghiệm thức 80 g/L là cao nhất (47,37±0,96%) và thấp nhất là nghiệm thức 40 g/L (44,09±0,85%); hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS của nghiệm thức 40 g/L là cao nhất (60,38±1,07%) và thấp nhất là nghiệm thức 80 g/L (57,35±0,33%) (Bảng 2). Tuy nhiên, hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS giữa các nghiệm thức 50, 60, 70 và 80 g/L không có sự khác biệt có ý nghĩa. Các nghiệm thức khác nhau có hoạt tính chống oxy hoá khác nhau, có thể liên quan đến chất nền và ảnh hưởng bởi hoạt động trao đổi chất của nấm men và vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy. Sự gia tăng hoạt tính chống oxy hóa có thể do TPC tăng, do hoạt động của enzyme và/hoặc độ pH thấp trong quá trình lên men làm tăng các hợp chất phenolic có trọng lượng phân tử nhỏ (Cardoso *et al.*, 2020).

Kết quả tương tự đối với năng lực khử sắt FRAP (Bảng 2), năng lực khử sắt FRAP của các nghiệm thức vào ngày lên men thứ 12 đều cao hơn so với ngày đầu lên men. Nghiệm thức 70 g/L có năng lực khử sắt FRAP cao

nhất (2,86), nghiệm thức 40 g/L có năng lực khử sắt FRAP là thấp nhất (2,79). Việc tăng năng lực khử sắt FRAP có liên quan đến việc giải phóng các hợp chất polyphenol và flavonoid trong quá trình lên men (Aung & Eun, 2021).

**Bảng 2. Ảnh hưởng nồng độ đường của dịch trà lên TSS, TPC, TFC, hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH, ABTS, FRAP, hoạt tính ức chế  $\alpha$  amylase, hàm lượng đường khử của kombucha lá ổi rừng**

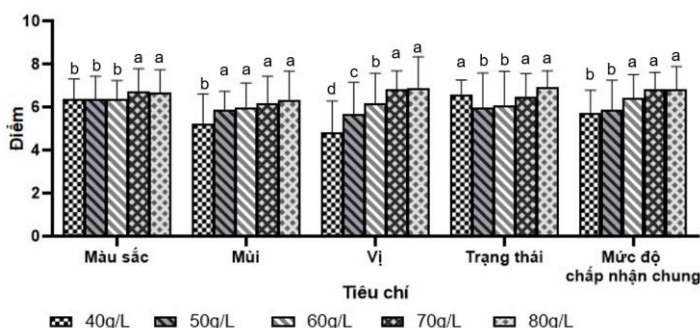
Nồng độ đường (g/L)	40		50		60		70		80	
Thời gian lên men (Ngày)	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12
Hàm lượng chất khô hòa tan (TSS) (độ Brix)	3,73± 0,12 <sup>e</sup>	2,87± 0,12 <sup>E</sup>	4,5± 0,1 <sup>d</sup>	3,6± 0 <sup>D</sup>	5,2± 0 <sup>c</sup>	4,53± 0,12 <sup>C</sup>	6,2± 0 <sup>b</sup>	5,4± 0 <sup>B</sup>	7± 0 <sup>a</sup>	6,13± 0,12 <sup>A</sup>
Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) (mg GAE/100 mL)	19,55± 0,32 <sup>a</sup>	24,66± 0,22 <sup>A</sup>	19,12± 0,36 <sup>a</sup>	20,97± 0,42 <sup>B</sup>	18,33± 0,23 <sup>b</sup>	20,03± 0,02 <sup>D</sup>	18,41± 0,09 <sup>b</sup>	20,63± 0,13 <sup>BC</sup>	17,69± 0,23 <sup>c</sup>	20,21± 0,2 <sup>CD</sup>
Hàm lượng flavonoid tổng (TFC) (mg QE/100 mL)	13,65± 0,62 <sup>a</sup>	20,33± 0,3 <sup>A</sup>	11,21± 0,28 <sup>b</sup>	14,72± 0,22 <sup>C</sup>	12,94± 0,33 <sup>a</sup>	14,99± 0,04 <sup>C</sup>	12,95± 0,27 <sup>a</sup>	15,85± 0,12 <sup>B</sup>	11,41± 0,38 <sup>b</sup>	14,83± 0,11 <sup>C</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH (%)	35,7± 1,7 <sup>c</sup>	44,09± 0,85 <sup>C</sup>	41,93± 0,21ab	46,91± 0,49 <sup>A</sup>	43,67± 0,91 <sup>a</sup>	45,35± 0,2 <sup>B</sup>	41,36± 0,21 <sup>b</sup>	45,16± 0,3 <sup>BC</sup>	42,87± 1,36 <sup>ab</sup>	47,37± 0,96 <sup>A</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo ABTS (%)	39,05± 0,9 <sup>c</sup>	60,38± 1,07 <sup>A</sup>	39,63± 0,66 <sup>c</sup>	57,84± 0,71 <sup>B</sup>	45,05± 1,28 <sup>a</sup>	57,92± 0,48 <sup>B</sup>	41,76± 0,81 <sup>b</sup>	58,82± 0,95 <sup>B</sup>	38,89± 0,74 <sup>c</sup>	57,35± 0,33 <sup>B</sup>
Hoạt tính chống oxy hóa theo FRAP	2,39± 0 <sup>d</sup>	2,79± 0 <sup>C</sup>	2,55± 0,02 <sup>c</sup>	2,82± 0,01 <sup>B</sup>	2,52± 0,02 <sup>c</sup>	2,84± 0,01 <sup>AB</sup>	2,66± 0,01 <sup>a</sup>	2,86± 0 <sup>A</sup>	2,6± 0,02 <sup>b</sup>	2,83± 0,01 <sup>B</sup>
Hoạt tính ức chế $\alpha$ amylase (%)	21,1± 1,49	51,44± 0,42 <sup>E</sup>	21,02± 3,37	58,94± 1,53 <sup>D</sup>	20,34± 3,03	72,18± 0,35 <sup>C</sup>	18,48± 0,9	77,47± 0,23 <sup>B</sup>	22,54± 0,69	83,5± 5,59 <sup>A</sup>
Đường khử ( $\mu$ g/mL)	1931,96 ± 17,96 <sup>c</sup>	5122,61 ± 107,06 <sup>E</sup>	2082,39 ± 10,04 <sup>a</sup>	6248,7 ± 60,41 <sup>D</sup>	1845,87 ± 11,49 <sup>d</sup>	7446,96 ± 162,5 <sup>C</sup>	2088,04 ± 26,22 <sup>a</sup>	9576,52 ± 64,06 <sup>B</sup>	2032,61 ± 34,32 <sup>b</sup>	11563,48 ± 53,29 <sup>A</sup>

a-e: Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ở ngày lên men thứ 0 và các chữ in hoa A-E biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ở ngày lên men thứ 12 ( $p < 0,05$ ).

Bên cạnh đó, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase của các nghiệm thức vào ngày lên men thứ 12 đều tăng so với ban đầu (ngày thứ 0); trong đó nghiệm thức 80 g/L cho thấy hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase là cao nhất (83,5%), thấp nhất đối với nghiệm thức 40 g/L với hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase là 51,44%. Hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase tăng trong quá trình lên men là do sự gia tăng tổng hàm lượng phenolic, sự thay đổi thành phần của các hợp chất polyphenol trong điều kiện pH thấp và sự gia tăng của các hợp chất có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase do quá trình lên men (Mann *et al.*, 2017).

Lượng đường khử của các nghiệm thức đều tăng vào ngày lên men thứ 12 so với ngày lên men thứ 0, cao nhất là nghiệm thức 80 g/L, hàm lượng đường khử 11563,48  $\mu$ g/mL; thấp nhất là nghiệm thức nghiệm thức 40 g/L, hàm lượng đường khử 5122,618  $\mu$ g/mL. Lượng đường khử tăng là do sucrose được thủy phân thành glucose và fructose bởi bởi nấm men trong môi trường acid (Tu *et al.*, 2019). Xu hướng tăng lượng đường khử theo thời gian lên men phù hợp với kết quả nghiên cứu trên kombucha táo biển (Aung & Eun, 2021).

Theo Hình 4, kết quả mô tả cảm quan của các nghiệm thức dựa trên thang điểm 9. Về màu sắc, nghiệm thức 70 g/L cho điểm cảm quan cao nhất (6,75), và thấp nhất là các nghiệm thức 40, 50 và 60 g/L, cùng đạt 6,38 điểm. Tuy nhiên, điểm cảm quan về màu sắc không có ý nghĩa thống kê. Điểm cảm quan về mùi, nghiệm thức 80 g/L là cao nhất (6,31 điểm) và thấp nhất là nghiệm thức 40 g/L (5,25 điểm). Nhìn chung, các nghiệm thức đều có mùi đặc trưng của lá ổi, mùi sản phẩm lên men; tuy nhiên, mùi của các nghiệm thức đều không quá gắt.



**Hình 4. Kết quả mức độ yêu thích sản phẩm kombucha theo nồng độ đường**

a-c: Các chữ cái khác nhau trong cùng một tiêu chí biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức nồng độ đường khác nhau ( $p < 0,05$ )

Điểm cảm quan về vị, nghiệm thức 80 g/L cao nhất đạt 6,88 điểm và thấp nhất là nghiệm thức 40g/L (4,81 điểm). Nhìn chung, các nghiệm thức đều có vị chua nhẹ, không gắt, có vị ngọt dịu; tuy nhiên, nghiệm thức 40 g/L và 50 g/L, cảm quan viên đánh giá có độ chua cao hơn; điều này là do độ ngọt thấp nên tỷ lệ hàm lượng đường/hàm lượng acid thấp; do đó, 2 nghiệm thức này có mức độ ưa thích về vị thấp hơn so với các nghiệm thức 70 g/L và 80 g/L. Điểm cảm quan về trạng thái, nghiệm thức 80 g/L là cao nhất (6,94 điểm) và nghiệm thức 50 g/L là thấp nhất (6 điểm). Các mẫu có trạng thái lỏng, trong, không đục, màu trà đặc trưng. Cuối cùng là mức độ chấp nhận chung của các mẫu với số điểm cao nhất là nghiệm thức 80 g/L và 70 g/L đạt 6,81 điểm, thấp nhất là nghiệm thức 40 g/L (5,75 điểm). Kết quả này cho thấy, điều kiện lên men kombucha lá ôi rừng là bổ sung đường sucrose 80 mg/L, sản phẩm tạo thành có hương vị hài hòa và hàm lượng chất có hoạt tính sinh học, hoạt tính chống oxy hóa hầu hết đều hơn trong các mẫu nghiên cứu.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy, lên men kombucha đã làm thay đổi tổng hàm lượng polyphenol và flavonoid của dịch lá ôi rừng theo thời gian và dẫn đến sự gia tăng hoạt tính chống oxy hóa và ức chế  $\alpha$ -amylase của sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cũng đã xác định được thời gian lên men kombucha lá ôi rừng phù hợp là 12 ngày với nồng độ đường 80 g/L. Sản phẩm nước uống kombucha lá ôi rừng có chứa hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng tương ứng 20,21 mg GAE/100mL; TFC là 14,83 mg QE/100mL với hoạt tính chống oxy hóa theo DPPH cao nhất, theo ABTS, theo FRAP và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase cao nhất lần lượt là 47,37%; 57,35%; 2,83 và 83,5%. Sản phẩm có tổng chất chất hòa tan, đường khử, pH và hàm lượng acid tổng lần lượt là 6,13%; 11563,48  $\mu$ g/mL; 2,84; 6,61 g/L với mức độ ưa thích chung của người tiêu dùng là cao nhất với 6,81 điểm.

**Lời cảm ơn:** Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh và Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên về việc hỗ trợ kinh phí, cơ sở vật chất để hoàn thành nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aung T, & Eun JB (2021). Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. *Food Chem*, 350: 129274.
- Aung T, & Eun JB (2022). Impact of time and temperature on the physicochemical, microbiological, and nutraceutical properties of laver kombucha (*Porphyra dentata*) during fermentation. *LWT*, 154: 112643.
- Cardoso RR, Neto RO, dos Santos D'Almeida CT, do Nascimento TP, Pressete CG, Azevedo L, Martino HSD, Cameron LC, Ferreira M SL, & de Barros FAR (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Res Int*, 128: 108782.
- Hsieh Y, Chiu MC, & Chou JY (2021). Efficacy of the kombucha beverage derived from green, black, and Pu'er teas on chemical profile and antioxidant activity. *J Food Quality*, 2021(1): 1725959.
- Jakubczyk K, Kalduńska J, Kochman J & Janda K (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5): 447.
- Kim H, Hur S, Li, J, Jin K, Yang T, Keehm I, Kim SW, Kim T & Kim D (2023). Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. *Food Bioscience*, 56: 103431.
- Mann FM, Dickmann M, Schneider R, Armando S, Seehusen K, Hager P & Strauss MJ (2017). Analysis of the role of acidity and tea substrate on the inhibition of  $\alpha$ -amylase by Kombucha. *Journal of Nutrition, Food Research and Technology*, 0(0): 1–5.
- Massoud R, Jafari-Dastjerdeh R, Naghavi N & Khosravi-Darani K (2022). All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. *Biointerface Res Appl Chem*, 12(3): 4018–4027.
- Nguyen, QV, Doan MD, Bui Thi BH, Nguyen MT, Tran Minh D, Nguyen AD, Le TM, Nguyen TH, Nguyen TD Tran, VC Hoang (2023). The effect of drying methods on chlorophyll, polyphenol, flavonoids, phenolic compounds contents, color and sensory properties, and *in vitro* antioxidant and anti-diabetic activities of dried wild guava leaves. *Drying Technol*, 41(8): 1291-1302.
- Nguyen QV, Huyen BThiB, Tran MĐ, Nguyen MT, Doan MD, Nguyen AD, Minh Le T, Tran VC, & Pham TN (2022). Impact of Different Drying Temperatures on *In Vitro* Antioxidant and Antidiabetic Activities and Phenolic Compounds of Wild Guava Leaves Collected in the Central Highland of Vietnam. *Nat Prod Commun*, 17(4): 1-10.
- Plamada D, & Vodnar DC (2021). Polyphenols-Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics. *Nutrients*, 14(1): 137.
- Quang Vinh Nguyen, & Eun JongBang EJ (2011). Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *J Med Plants Res*, 5 (13): 2798-2811.
- Tu C, Tang S, Azi F, Hu W & Dong M (2019). Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *J Funct Foods*, 52: 81–89.
- Vanida Osiripun (2021). Polyphenol and antioxidant activities of Kombucha fermented from different teas and fruit juices. *Journal of Current Science and Technology*, 11: 188-196.
- Vitas J, Popović L, Čakarević J, Malbaša R & Vukmanović S (2020). In vitro assessment of bioaccessibility of the antioxidant activity of kombucha beverages after gastric and intestinal digestion. *Food and Feed Research*, 47(1): 33-42.
- Wang B, Rutherford-Markwick K, Naren N, Zhang X-X & Mutukumira AN (2023). Microbiological and Physico-Chemical Characteristics of Black Tea Kombucha Fermented with a New Zealand Starter Culture. *Foods*, 12(12): 2314.
- Zhou DD, Saimaiti A, Luo M, Huang SY, Xiong RG, Shang A, Gan RY & Li HB (2022). Fermentation with tea residues enhances antioxidant activities and polyphenol contents in kombucha beverages. *Antioxidants*, 11(1): 155.

## EFFECTS OF FERMENTATION TIME AND SUCROSE CONCENTRATION ON THE QUALITY AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF WILD GUAVA LEAF KOMBUCHA

Dang Thi Ngoc Dung<sup>1</sup>, Nguyen Minh Trung<sup>2</sup>, Nguyen Quang Vinh<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>*Ho Chi Minh City University of Technology and Education, Ho Chi Minh City, Vietnam*

<sup>2</sup>*Tay Nguyen University, Dak Lak Province, Vietnam*

<sup>3</sup>*Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University, Dak Lak Province, Vietnam*

### SUMMARY

Recent publications show that fermenting kombucha from herbs can enhance the biological activity of the herbs for health benefits. The current study describes the effects of fermentation time and sucrose concentration on the sensory quality and biological activity of kombucha supplemented with wild guava leaf extract. The study found that wild guava leaf kombucha fermentation increased the total polyphenol content, flavonoid content, antioxidant activity, and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity compared to unfermented wild guava leaf extract. Moreover, the results indicated that the suitable fermentation time for wild guava leaf kombucha was 12 days with an added sugar concentration of 80 g/L. The wild guava leaf kombucha product was rich in total polyphenol content (20.21 mgGAE/100mL) and total flavonoid content (14.83 mgQE/100 mL) with antioxidant activity measured by DPPH radical scavenging (47.37%), ABTS (57.35%), and FRAP reducing power (2.83) and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity (83.5%). The kombucha beverage had a soluble solid content of 6.13%, the reducing sugar content is 11563.48  $\mu$ g/mL, the pH is 2.84, and the acidity is 6.61 g/L, with a general consumer preference score of 6.81 points.

*Keywords:* Wild guava leaf kombucha, polyphenol, flavonoids,  $\alpha$ -amylase inhibitory activity.

---

\* Author for correspondence: Tel: 0948337164; Email: nqvinh@ttn.edu.vn; vinh12b@gmail.com