



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.003

## PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN HỆ CỘNG SINH GIỮA NẤM MEN VÀ VI KHUẨN TRONG LÊN MEN TRÀ THỦY SÂM (KOMBUCHA) NHẪM NÂNG CAO HÀM LƯỢNG ACID GLUCURONIC

Nguyễn Thị Phương\* và Nguyễn Thúy Hương

Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thị Phương ([phuongnguyentsn@gmail.com](mailto:phuongnguyentsn@gmail.com))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 23/07/2017

Ngày nhận bài sửa: 15/09/2017

Ngày duyệt đăng: 27/02/2018

### Title:

Isolating and selecting the symbiotic of yeasts and bacteria in the Kombucha tea fermentation to improve the glucuronic acid content

### Từ khóa:

Acid glucuronic, Kombucha, *Komagataeibacter nataicola*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*

### Keywords:

Acid glucuronic, Kombucha, *Komagataeibacter nataicola*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*

### ABSTRACT

Kombucha tea is fermented by a symbiotic microorganism of yeasts and bacteria in the sweetened tea drinks (Chakravorty et al., 2016). This study is aimed to isolate, homogenize, identify and select the symbiotic microorganism of yeasts, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria in the Kombucha tea fermentation to improve the glucuronic acid content. The glucuronic acid plays an important role in the detoxification of liver in humans and animals. The results after completing this study were found 4 yeast species, 2 acetic acid bacteria species and 1 lactic acid bacteria species from the traditional Kombucha membranes. In addition, the arrangement of symbiotic microorganism with different species of yeast, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria will affect the growth and development of the symbiotic systems, change in Brix and pH levels, the glucuronic acid content of the Kombucha tea after fermentation. In particular, the symbiotic microorganisms of Kombucha tea fermentation which are achieved the highest glucuronic acid content at 178,11 mg/L, including *Saccharomyces cerevisiae*, *Komagataeibacter nataicola* and *Lactobacillus acidophilus*

### TÓM TẮT

Trà Kombucha là thức uống lên men bởi hệ vi sinh vật cộng sinh giữa nấm men và các loài vi khuẩn trên môi trường nước trà bổ sung thêm đường (Chakravorty et al., 2016). Nội dung nghiên cứu này bao gồm phân lập, thuần nhất, định danh và tuyển chọn hệ vi sinh vật cộng sinh giữa nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic trong lên men trà Kombucha nhằm nâng cao hàm lượng acid glucuronic, hợp chất đóng vai trò quan trọng trong cơ chế giải độc ở gan của người và động vật. Kết quả đã phân lập, thuần nhất và định danh được 4 loài nấm men, 2 loài vi khuẩn acetic và 1 loài vi khuẩn lactic có mặt chủ yếu trong các màng Kombucha truyền thống thu thập được. Bên cạnh đó, việc bố trí các hệ vi sinh vật cộng sinh khác nhau về nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic sẽ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển sinh khối, sự thay đổi độ Brix và pH, khả năng sinh tổng hợp acid glucuronic trong trà Kombucha sau lên men. Trong đó, hệ vi sinh vật cộng sinh trong lên men trà Kombucha thu được hàm lượng acid glucuronic cao nhất là 178,11 mg/L gồm loài *Saccharomyces cerevisiae*, *Komagataeibacter nataicola* và *Lactobacillus acidophilus*.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Phương và Nguyễn Thúy Hương, 2018. Phân lập và tuyển chọn hệ cộng sinh giữa nấm men và vi khuẩn trong lên men trà thủy sâm (Kombucha) nhằm nâng cao hàm lượng acid glucuronic. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(1B): 13-19.

## 1 GIỚI THIỆU

Trà Kombucha còn được gọi là trà thủy sâm, trà nấm, trà Kargasok hay trà Mãn Châu; được lên men từ nước trà đường bởi hệ vi sinh vật cộng sinh nấm men và các vi khuẩn (Chakravorty *et al.*, 2016). Với nguồn nguyên liệu trà có nhiều giá trị dược liệu (Nguyễn Thị Hiền và *ctv.*, 2010) kết hợp với các hoạt động có lợi của vi sinh vật trong quá trình lên men (Greenwalt *et al.*, 2000) trà Kombucha là một dòng sản phẩm chức năng có giá trị hơn hẳn so với nước trà thông thường. Nhiều nghiên cứu cho thấy trà Kombucha có tác dụng tích cực đối với sức khỏe con người như giàu chất chống oxy hóa (Fu *et al.*, 2016) phòng và điều trị viêm loét dạ dày (Bhattacharya *et al.*, 2013), bệnh tiểu đường (Banerjee *et al.*, 2010), phòng chống ung thư (Jayabalan *et al.*, 2011), chống lại bức xạ điện từ (Gharib *et al.*, 2014), hoạt tính kháng khuẩn (Velicanski *et al.*, 2014) và hoạt tính giải độc (Wang *et al.*, 2014).

Thành phần vi sinh vật trong trà Kombucha thay đổi tùy theo nguồn gốc, vị trí địa lý, điều kiện khí hậu; nhưng luôn có sự hiện diện của nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic. Quá trình lên men trà Kombucha xảy ra đồng thời lên men rượu của nấm men, lên men acetic của vi khuẩn acetic và lên men lactic của vi khuẩn lactic. Thành phần của trà Kombucha bao gồm: ethanol; các acid hữu cơ (acetic, gluconic, glucuronic, citric, lactic, malic...); các loại đường (sucrose, glucose và fructose); các vitamin nhóm B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>); acid amin; sắc tố màu; chất béo; protein; một số enzym thủy phân; CO<sub>2</sub>; polyphenol trà; khoáng chất; cũng như các sản phẩm lên men khác của nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic tạo hương vị đặc trưng cho trà Kombucha (Jayabalan *et al.*, 2014).

Tại Việt Nam, trà Kombucha chủ yếu được lên men thủ công theo quy mô hộ gia đình từ nhiều nguồn giống khác nhau, thường không kiểm soát được vi sinh vật gây bệnh, gây hại dẫn đến dễ bị tạp nhiễm; không chủ động được giống, cũng như tỷ lệ các chủng vi sinh vật trong giống; không khai thác được triệt để lợi ích của các chủng vi sinh vật có lợi dẫn đến chất lượng sản phẩm không ổn định. Mặt khác, các thành phần có giá trị dược liệu của trà Kombucha nói chung, cũng như acid glucuronic được báo cáo có vai trò quan trọng trong cơ chế giải độc ở gan của người và động vật (Wang *et al.*, 2014) vẫn chưa được khai thác triệt để nhằm nâng cao giá trị lợi ích và chức năng của sản phẩm.

Nội dung của nghiên cứu này bao gồm phân

lập, thuần nhất, định danh các chủng vi sinh vật có mặt chủ yếu trong các màng nấm Kombucha tự nhiên. Từ nguồn vi sinh vật thu được, tiến hành bố trí và tuyển chọn hệ vi sinh vật cộng sinh giữa nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic nhằm nâng cao hàm lượng acid glucuronic trong lên men trà Kombucha.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguồn nguyên liệu trà và vi sinh vật

Sử dụng nguồn trà xanh Thái Nguyên, cơ chất carbon là đường sucrose. Năm màng nấm Kombucha được thu thập từ các hộ nuôi thủy sâm tại các tỉnh thành gồm: Thành phố Hồ Chí Minh, Vũng Tàu, Đắk Lắk, Đồng Nai.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp vi sinh

a. Phương pháp phân lập, thuần nhất và giữ giống

Chuẩn bị môi trường YPGA (Cao nấm men 1%, glucose 2%, peptone 2%, Tetracycline 0.05%), YPGD (Cao nấm men 0,5%, glucose 0,5%, glycerol 0,5%, peptone 5%, ethanol 4%) pH = 4,5 và MRS (Cao nấm men 0,5%, cao thịt 1%, glucose 2%, peptone 1%, CH<sub>3</sub>COONa 0,5%, C<sub>6</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> 0,2%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2%, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,02%, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0,02%, Tween 80 0,1%) pH = 6,5 thạch đĩa chọn lọc lần lượt cho nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic. Pha loãng mẫu, cấy trang đều trên môi trường đã chuẩn bị, ủ ở 30°C trong 1-2 ngày. Dựa vào sự khác nhau về hình thái, tách riêng khuẩn lạc ra khỏi môi trường phân lập. Cấy truyền nhiều lần đến khi khuẩn lạc đạt độ thuần nhất. Giữ giống trên môi trường thạch nghiêng, bảo quản trong môi trường lạnh 4°C, định kỳ cấy truyền giống 1 tháng/lần (Trần Linh Thuộc, 2006).

b. Phương pháp tuyển chọn hệ vi sinh vật cộng sinh

Với nguồn vi sinh vật đã được phân lập, thuần nhất và định danh, tiến hành bố trí hệ vi sinh vật cộng sinh gồm: 1 nấm men, 1 vi khuẩn acetic và 1 vi khuẩn lactic với tỷ lệ mật độ tế bào là 1: 1: 1. Sau đó, tiến hành lên men trà Kombucha với dịch giống 4% (v/v) đã được bố trí tỷ lệ như trên; môi trường nước trà pha ở 80 - 100°C trong 30 phút, đã lọc bỏ bã; bổ sung đường sucrose 10% (w/v); pH tự nhiên tại 5,3; nhiệt độ phòng (25 - 30°C); điều kiện nuôi cấy tĩnh; thời gian lên men 6 ngày. Xác định mật độ tế bào, độ Brix, pH và hàm lượng acid glucuronic của trà Kombucha sau lên men. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần (Nguyen Khoi Nguyen *et al.*, 2015).

## 2.2.2 Phương pháp hóa sinh

### a. Phương pháp phát hiện khả năng phân giải $CaCO_3$

Trong môi trường YPGD, MRS bổ sung  $CaCO_3$  0,5%, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic sinh acid acetic và acid lactic có khả năng phân giải  $CaCO_3$  hình thành các vòng sáng xung quanh khuẩn lạc (Trần Linh Thuộc, 2006).

### b. Phương pháp xác định hoạt tính catalase

Vi khuẩn acetic có catalase dương tính, vi khuẩn lactic có catalase âm tính (Trần Linh Thuộc, 2006).

### c. Phương pháp quan sát hình thái trên tiêu bản nhuộm đơn, nhuộm Gram

Nhuộm đơn nhằm quan sát hình thái tế bào nấm men. Nhuộm Gram nhằm xác định vi khuẩn Gram (-), vi khuẩn Gram (+) và quan sát hình thái tế bào vi khuẩn. Trong đó, vi khuẩn acetic là Gram (-), vi khuẩn lactic là Gram (+) (Trần Linh Thuộc, 2006).

### d. Phương pháp định danh

Các chủng vi sinh vật đã được phân lập và thuần nhất sẽ được gửi định danh tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương Mại Nam Khoa, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

### e. Phương pháp xác định độ Brix

Sử dụng khúc xạ kế Alpha Atago. Dùng nước cất rửa sạch mặt kính bên trong khúc xạ kế, sau đó dùng giấy mềm lau khô thiết bị. Nhỏ một giọt trà Kombucha lên mặt kính của khúc xạ kế và đóng nắp lại. Đưa khúc xạ kế hướng ra ánh sáng và nhìn vào ống kính thấy 2 vùng xanh và trắng. Vạch ngăn giữa 2 vùng là nồng độ chất khô của dung dịch (Trần Linh Thuộc, 2006).

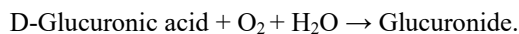
### f. Phương pháp xác định pH

Sử dụng pH kế để bàn Hanna. Đặt đầu đo vào cốc chứa dịch trà Kombucha, tránh không để nước ngập gần dây điện. Chờ khoảng 1-2 phút để số trên màn hình ổn định rồi đọc kết quả. Rửa đầu đo bằng

nước cất và thấm khô bằng giấy mềm trước khi đo mẫu tiếp theo (Trần Linh Thuộc, 2006).

### g. Phương pháp xác định hàm lượng acid glucuronic

Xác định hàm lượng acid glucuronic bằng phương pháp quang phổ UV với Kit Hex-uronic. Nguyên tắc phản ứng:



Ủ dịch trà Kombucha với 1 ml HCl 0,36M và 2 ml dung dịch Naphthoresorcinol 0,2% ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau đó, pha loãng và đo OD ở bước sóng 340 nm và so sánh với đường chuẩn acid glucuronic.

Đường chuẩn:  $y = 331,61x + 11,401$ ;  $R^2 = 0,979$  (Nguyen Khoi Nguyen *et al.*, 2015).

## 2.2.3 Phương pháp phân tích thống kê

Tất cả các số liệu thu thập là đại diện của ít nhất 3 thí nghiệm độc lập. Sự khác nhau của các hệ số phương trình hồi quy được kiểm định theo chuẩn t-Student với mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$  và bậc tự do là 2. Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và thống kê bằng chương trình Minitab 17.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Phân lập, thuần nhất và định danh nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic

Trên môi trường chọn lọc YPGA, YPGD, MRS phân lập, thuần nhất và định danh được 4 loài nấm men, 2 loài vi khuẩn acetic và 1 loài vi khuẩn lactic. Từ đó, khẳng định được sự chiếm ưu thế của các chủng vi sinh vật đóng vai trò chìa khóa trong các màng Kombucha truyền thống thu thập được. Mặt khác, các chủng nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic được định danh cũng được tìm thấy và báo cáo trong các nghiên cứu trước đây của Greenwalt *et al.* (2000), Jayabalan *et al.* (2014) và Chakravorty *et al.* (2016). Kết quả thu được như sau:

**Bảng 1: Kết quả phân lập và định danh các chủng vi sinh vật**

Kí hiệu	Mô tả khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào	Kết quả định danh
Y1	Khuẩn lạc tròn dẹt, nổi mô, màu sữa nhạt.	Tế bào hình bầu dục dài. Một số tế bào nảy chồi.	<i>Pichia manshurica</i>
Y2	Khuẩn lạc tròn dẹt, viền răng cưa, màu sữa đậm.	Tế bào hình thon dài như hạt gạo	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>
Y3	Khuẩn lạc tròn căng bóng, màu trắng đục.	Tế bào hình bầu dục tròn. Một số tế bào nảy chồi	<i>Saccharomyces cerevisia</i>
Y4	Khuẩn lạc tròn căng bóng, màu trắng trong.	Tế bào hình bầu dục, kích thước nhỏ.	<i>Candida stellimalicola</i>
A1	Khuẩn lạc tròn, căng bóng, màu vàng nhạt.	Trực khuẩn hình que. Hai hoặc ba tế bào xếp với nhau thành hình que dài.	<i>Acetobacter estunensis</i>
A2	Khuẩn lạc tròn căng bóng, màu trắng đục.	Trực khuẩn hình que mảnh, hơi cong. Hai hoặc ba tế bào xếp thành hình que dài.	<i>Komagataeibacter nataicola</i>
L	Khuẩn lạc tròn căng bóng, màu trắng đục.	Trực khuẩn hình que. Hai hoặc ba tế bào xếp thành hình que dài.	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

**3.2 Tuyển chọn hệ vi sinh vật cộng sinh trong quá trình lên men trà Kombucha cho hàm lượng acid glucuronic cao**

Từ nguồn vi sinh vật đã được phân lập, thuần nhất và định danh (Bảng 1) bố trí được 8 hệ vi sinh vật cộng sinh như sau:

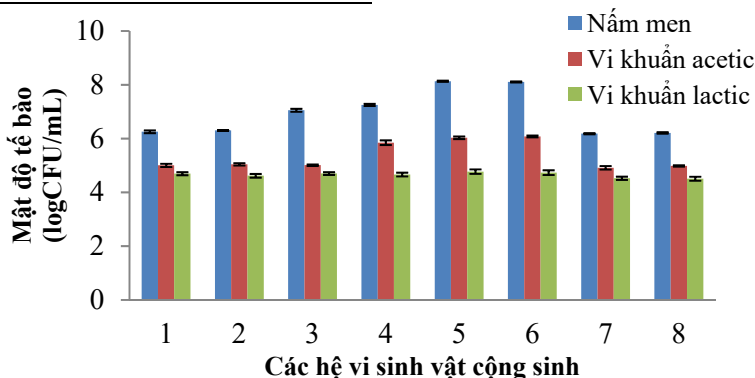
**Bảng 2: Bảng bố trí hệ vi sinh vật cộng sinh giữa nấm men, vi khuẩn acetic và lactic**

Hệ	Bố trí hệ vi sinh vật cộng sinh
1	<i>P. manshurica</i> : <i>A. estunensis</i> : <i>L. acidophilus</i>
2	<i>P. manshurica</i> : <i>K. nataicola</i> : <i>L. acidophilus</i>
3	<i>B. bruxellensis</i> : <i>A. estunensis</i> : <i>L. acidophilus</i>
4	<i>B. bruxellensis</i> : <i>K. nataicola</i> : <i>L. acidophilus</i>
5	<i>S. cerevisia</i> : <i>A. estunensis</i> : <i>L. acidophilus</i>
6	<i>S. cerevisia</i> : <i>K. nataicola</i> : <i>L. acidophilus</i>
7	<i>C. stellimalicola</i> : <i>A. estunensis</i> : <i>L. acidophilus</i>
8	<i>C. stellimalicola</i> : <i>K. nataicola</i> : <i>L. acidophilus</i>

**3.2.1 Đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển sinh khối**

Sau lên men, các hệ vi sinh vật cộng sinh có mật độ tế bào nấm men là cao nhất, nằm trong khoảng 6,18 - 8,13 logCFU/mL; tiếp theo là mật độ tế bào vi khuẩn acetic, nằm trong khoảng 5,00 - 6,08 logCFU/mL và thấp nhất là mật độ tế bào vi khuẩn lactic, nằm trong khoảng 4,51 - 4,70 logCFU/mL.

Trong đó, nấm men *S. cerevisia* trong hệ 5 và 6 có mật độ tế bào cao nhất lần lượt là  $8,13 \pm 0,02$  và  $8,11 \pm 0,02$  logCFU/mL, tiếp theo là *B. bruxellensis* trong hệ 3 và 4 đạt  $7,05 \pm 0,05$  và  $7,26 \pm 0,04$  logCFU/mL, *P. manshurica* trong hệ 1 và 2 là  $6,25 \pm 0,5$  và  $6,30 \pm 0,003$  logCFU/mL, *C. stellimalicol* trong hệ 7 và 8 là  $6,18 \pm 0,02$  và  $6,21 \pm 0,03$  logCFU/mL.



**Hình 1: Mật độ tế bào nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic trong các hệ vi sinh vật cộng sinh sau lên men trà Kombucha**

Khả năng sinh trưởng và phát triển giữa loài *A. estunensis* và *K. nataicola* không có sự khác biệt

lớn. Tuy nhiên, sự có mặt của các loài nấm men khác nhau ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và

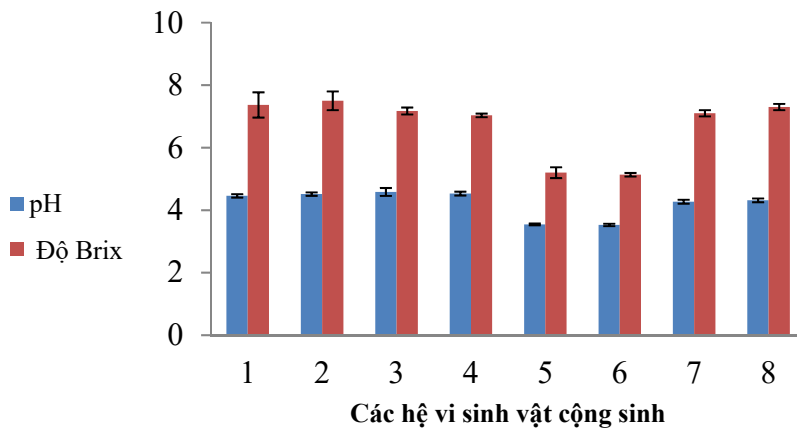
phát triển của vi khuẩn acetic. Tại hệ 5 và 6, với sự có mặt của nấm men *S. cerevisia*, mật độ tế bào vi khuẩn acetic cao hơn các hệ có mặt các loài nấm men khác, mật độ tế bào lần lượt là  $6,03 \pm 0,05$  và  $6,08 \pm 0,04$  logCFU/mL.

Mật độ tế bào *L. acidophilus* trong các hệ cộng sinh không có sự chênh lệch lớn. Tuy nhiên, hệ 5 và 6 mật độ tế bào *L. acidophilus* đạt cao nhất lần lượt là  $4,77 \pm 0,08$  và  $4,73 \pm 0,09$  logCFU/mL.

Như vậy, hệ 5 và 6 cho thấy khả năng sinh trưởng và phát triển sinh khối của từng chủng loại và của toàn bộ hệ vi sinh vật cộng sinh là cao nhất.

3.2.2 Đánh giá sự thay đổi độ Brix và pH

Với độ Brix của nước trà trước khi lên men là  $10,5^\circ\text{Bx}$ ; sau khi lên men, độ Brix của các hệ VSV cộng sinh giảm rõ rệt, giảm mạnh nhất là hệ thứ 5 và 6, lần lượt là  $5,2$  và  $5,13^\circ\text{Bx}$ . Mặt khác, pH của môi trường nước trà trước khi lên men là  $5,3$ ; sau lên men pH của các hệ vi sinh vật cộng sinh đều giảm, hệ thứ 5 và 6 giảm mạnh nhất, pH lần lượt là  $3,54$  và  $3,53$ . Như vậy, với sự sinh trưởng và phát triển sinh khối cao hơn các hệ vi sinh vật cộng sinh khác đã phân tích ở trên, hệ 5 và 6 cũng cho thấy sự thay đổi về độ Brix và sự thay đổi pH mạnh mẽ hơn các hệ còn lại.

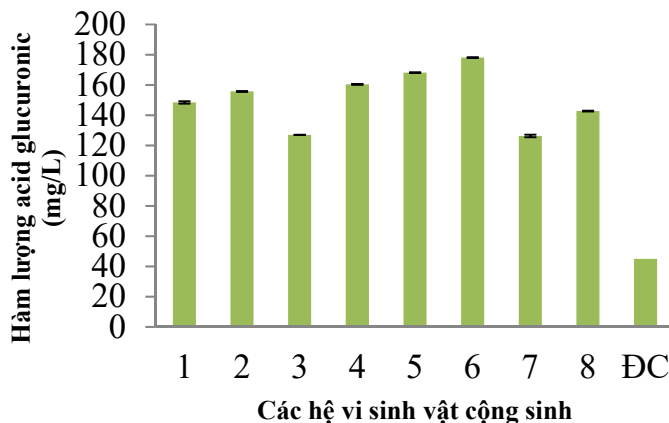


Hình 2: Độ Brix và pH của trà Kombucha lên men bởi các hệ vi sinh vật cộng sinh

3.2.3 Đánh giá khả năng sinh tổng hợp acid glucuronic

Hàm lượng acid glucuronic thu được bởi các hệ vi sinh vật cộng sinh bố trí từ các loài nấm men, vi khuẩn acetic và lactic khác nhau cao hơn hẳn màng Kombucha truyền thống ( $45\text{mg/L}$ ) và đạt cao nhất tại hệ 5 và 6, lần lượt là  $168,12 \pm 0$  mg/L và  $178,11$

$\pm 0$  mg/L. Điều này là phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển sinh khối, sự thay đổi độ Brix và pH của hệ đã phân tích ở trên. Tuy nhiên, khả năng sinh tổng hợp acid glucuronic của loài *K. nataicola* tốt hơn loài *A. estunensis* khi có sự cố định về nấm men *S. cerevisia* và vi khuẩn lactic *L. acidophilus*.



Hình 3: Hàm lượng acid glucuronic trong trà Kobumcha lên men bởi các hệ vi sinh vật cộng sinh (ĐC: Màng Kombucha)



Mặt khác, so với các nghiên cứu và báo cáo trước đây, hệ vi sinh vật cộng sinh của *S. cerevisia*: *K. nataicola*: *L. acidophilus* cho hàm lượng acid glucuronic là  $178,11 \pm 0$  mg/L cao hơn các công bố của Blanc *et al.* (1996), Lončar *et al.* (2000), Beigmohammadi *et al.* (2010), Nguyen Khoi Nguyen *et al.* (2014) với hàm lượng acid glucuronic lần lượt là 10 mg/L; 3,39 mg/L; 44,5 mg/L; 42,3 mg/L; hay ngay cả hệ cộng sinh đã được tối ưu giữa *Dekkera bruxellensis* KN89 và *Gluconacetobacter intermedius* KN89 với tỷ lệ 4:6 cho hàm lượng acid glucuronic là 175,8 mg/L công bố bởi Nguyen Khoi Nguyen *et al.* (2015). Do đó, trong hệ cộng sinh của *S. cerevisia*: *K. nataicola*: *L. acidophilus* có sự liên kết chặt chẽ, hỗ trợ nhau và là hệ lí tưởng để lên men trà Kombucha nhằm nâng cao hàm lượng acid glucuronic và làm tiền đề để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

#### 4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập, thuần nhất và định danh được 4 loài nấm men, 2 loài vi khuẩn acetic và 1 loài vi khuẩn lactic đóng vai trò then chốt trong các màng Kombucha truyền thống. Từ nguồn vi sinh vật đã được phân lập, thuần nhất và định danh, bố trí được 8 hệ vi sinh vật cộng sinh khác nhau về nấm men, vi khuẩn acetic và vi khuẩn lactic. Khả năng lên men của các loài vi sinh này trong hệ cộng sinh có sự tương hỗ. Trong đó, hệ vi sinh vật cộng sinh có khả năng lên men trà Kombucha có sự phát triển sinh khối, sự thay đổi độ Brix, pH và sinh tổng hợp acid glucuronic cao nhất ( $178,11 \pm 0$  mg/L) được xác định là *S. cerevisiae*, *K. nataicola* và *L. acidophilus*

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Banerjee, D., Hassarajani, S.A., Maity, B., Narayan, G., Bandyopadhyay, S.K. and Chattopadhyay, S., 2010. Comparative healing property of kombucha tea and black tea against indomethacin-induced gastric ulceration in mice: possible mechanism of action. *Food & Function*, 1(3): 284 - 293.

Beigmohammadi, F., Karbasi, A. and Beigmohammadi, Z., 2010. Production of high glucuronic acid level in Kombucha beverage under the influence environmental condition. *Journal Food Technology Nutrition*. 7(26): 30 - 38.

Bhattacharya, S., Gachhui, R. and Sil, P.C., 2013. Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 60: 328 - 340.

Blanc P.J., 1996. Characterization of the tea fungus metabolites. *Biotechnology Letters*. 18(2):139 - 142.

Chakravorty, S., Bhattacharya, S.E., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. and Gachhui, R., 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*. 220: 63 - 72.

Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F. and Lin, J., 2016. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*. 34(1): 123 - 126.

Gharib, O.A., 2014. Effect of kombucha on some trace element levels in different organs of electromagnetic field exposed rats. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 7(1): 18 - 22.

Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H. and Ledford, R.A., 2000. Review: Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. *Journal of Food Protection*. 63(7): 976 - 981.

Jayabalan, R., Chen, P.N., Hsieh, Y.S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., Thangaraj, P., Swaminathan, K. and Yun, S.E., 2011. Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells—Characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin. *Indian Journal of Biotechnology*. 10: 75 - 82.

Jayabalan, R., Malbaš, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J. S. and Sathishkumar, M., 2014. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(4): 538 - 550.

Lončar, E.S., Petrović, S., Malbaša, R. and Verac, R., 2000. Biosynthesis of glucuronic acid by means of tea fungus. *Journal nahar*. 44: 138 - 139.

Nguyen Khoi Nguyen, Ngan T.N. Dong, Phu H. Le and Huong T. Nguyen, 2014. Evaluation of the glucuronic acid production and other biological activities of fermented sweeten-black tea by Kombucha layer and the co-culture with different *Lactobacillus* Sp. Strains. *International journal of modern engineering research*. 4: 2249 - 6645.

Nguyen Khoi Nguyen, Phuong Bang Nguyen, Huong Thuy Nguyen and Phu Hong Le, 2015. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *Food Science and Technology*. 64: 1149 - 1155.

Nguyễn Thị Hiền và Nguyễn Văn Tạng, 2010. Công nghệ sản xuất chè, cà phê và ca cao. Lần 1. NXB Lao Động. Hà Nội. 269 trang.

Phạm Hồng Quang, Nguyễn Văn Sơn và Lê Thị Mỹ Xuyên, 2014. Phân lập và tuyển chọn nấm men và vi khuẩn acid acetic thử nghiệm lên men trà thùy sâm (Kombucha). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 34: 12 - 19.

- Trần Linh Thuộc, 2006. Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm. Lần 8. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam. Hà Nội. 230 trang.
- Velićanski, A.A.S., Cvetković, D.D., Markov, S.L., Šaponjac, V.T.T. and Vulić, J.J., 2014. Antioxidant and antibacterial activity of the beverage obtained by fermentation of sweetened lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea with symbiotic consortium of bacteria and yeasts. *Food Technology Biotechnology*. 52(4): 420 - 429.
- Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D. and Tian, W., 2014. Hepatoprotective effects of kombucha tea: identification of functional strains and quantification of functional components. *Journal of Food Science and Agricultural*. 94: 265 - 272.