

NGHIÊN CỨU TẠO SẢN PHẨM PROBIOTIC TỪ GẠO LỨT BẰNG NẤM MEN *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745

Đỗ Thị Hạnh^{1,*}, Vũ Ngọc Ánh¹

¹Khoa Công nghệ hoá, trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

* Email: hanhdt1@hau.edu.vn

TÓM TẮT

Phát triển đồ uống probiotic không phải từ sữa là một giải pháp tiềm năng cho người ăn theo chế độ thuần chay, dị ứng protein sữa và không dung nạp lactose. Hiện nay, *Saccharomyces boulardii* là loại nấm men probiotic thương mại duy nhất dùng cho con người. Bên cạnh đặc tính của một probiotic, chúng còn có tác dụng phòng ngừa và điều trị tiêu chảy, bao gồm cả tiêu chảy do kháng sinh. Gạo lứt có rất nhiều lợi ích cho sức khỏe, có tác dụng giảm nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường, béo phì, ung thư... Nghiên cứu này nhằm mục đích tạo sản phẩm probiotic từ gạo lứt bằng nấm men *Saccharomyces boulardii*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, điều kiện thích hợp cho quá trình lên men dịch gạo lứt như sau: Nồng độ chất khô hoà tan ban đầu 12°Bx, pH dịch lên men ban đầu 6,0, tỉ lệ giống bổ sung 0,5%, sau 24 giờ lên men ở nhiệt độ 28°C mật độ tế bào nấm men đạt $9,54.10^7$ CFU/mL. Sản phẩm dịch gạo lứt probiotic có nồng độ chất khô hoà tan 10,6°Bx, pH 3,94, nồng độ cồn 0,63% v/v, chất lượng cảm quan đạt 18,6 điểm. Sau 28 ngày bảo quản ở nhiệt độ $4 \pm 1^\circ\text{C}$, mật độ tế bào nấm men probiotic trong sản phẩm duy trì đạt $9,45.10^7$ CFU/mL.

Từ khoá: Gạo lứt, probiotic, *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Probiotic là những vi sinh vật sống khi được sử dụng với lượng thích hợp sẽ mang lại lợi ích sức khỏe (về mặt sinh lý và/hoặc dinh dưỡng) cho con người [1]. Probiotic có thể được tiêu thụ thông qua việc bổ sung vào thực phẩm hoặc đồ uống dưới dạng các sản phẩm từ sữa hoặc không từ sữa, hoặc dưới dạng thực phẩm bổ sung. Để đạt được các hiệu quả sức khỏe từ probiotic, thực phẩm chứa vi sinh vật probiotic cần có ít nhất 10^7 CFU/g và được tiêu thụ với lượng lớn hơn 100 g/ngày [2].

Phần lớn các loại probiotic được sử dụng hiện nay bao gồm các loài vi khuẩn lactic (LAB), *Bifidobacteria* và *Bacillus*. Gần đây các nhà khoa học bắt đầu chú ý nhiều hơn đến việc nghiên cứu và ứng dụng nấm men có tiềm năng sinh học. *Saccharomyces boulardii* còn được gọi là *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* là loại nấm men probiotic thương mại duy nhất dùng cho con người, được phân lập từ vỏ quả vải và măng cụt ở Đông Dương vào năm 1920 bởi nhà khoa học

người Pháp. Chúng là loại nấm men probiotic ưa ấm, không gây bệnh, có khả năng chịu pH dạ dày, khả năng chịu muối mật và không bị ảnh hưởng hoặc ức chế bởi kháng sinh, không làm thay đổi và ảnh hưởng xấu đến hệ vi sinh vật đường ruột bình thường [3]. Loại nấm men probiotic này có tác dụng bảo vệ chống lại *Clotridium difficile*, *Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Escherichia coli* và *Samonella enterica* serovar Typhimurium [4, 5]

Cho đến nay, các sản phẩm từ sữa là chất nền được sử dụng nhiều nhất để cung cấp probiotic cho con người. Tuy nhiên, những lo ngại về vấn đề không dung nạp lactose, mức cholesterol cao, dị ứng với protein sữa, nhu cầu về hương vị hoặc mùi vị mới và chế độ ăn thuần chay đã thúc đẩy xu hướng sử dụng các chất nền không phải từ sữa. Về góc độ môi trường, phát triển đồ uống nền thực vật góp phần giảm áp lực lên tài nguyên (đất, nước) và giảm phát thải khí nhà kính so với ngành chăn nuôi bò sữa. Trong số các nguồn nguyên liệu tiềm năng, gạo lứt (hay gạo lật) là một lựa chọn đáng

chú ý nhờ hàm lượng chất xơ cao và giàu các khoáng chất thiết yếu như: Phospho, magie, mangan, selen cùng vitamin nhóm B (thiamin, niacin, vitamin B6) [6, 7]. Gạo lứt đã được chứng minh mang lại lợi ích đáng kể cho sức khỏe, bao gồm giảm nguy cơ mắc đái tháo đường, béo phì và ung thư [8].

Mục đích của nghiên cứu này là tạo sản phẩm probiotic thuần chay từ gạo lứt bằng nấm men *S. boulardii* đáp ứng kỳ vọng của người tiêu dùng về những sản phẩm tự nhiên có đặc tính cảm quan tốt, không chứa chất bảo quản và giàu probiotic tốt cho sức khỏe. Hiện nay, ở Việt Nam có rất ít các nghiên cứu về nấm men *S. boulardii* cũng như ứng dụng của loại nấm men này trong chế biến thực phẩm probiotic.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Gạo lứt được mua tại hệ thống siêu thị Winmart địa bàn Thành phố Hà Nội, có xuất xứ từ tỉnh Điện Biên, Việt Nam.

S. boulardii CNCM I-745 được thu nhận từ một sản phẩm đông khô thương mại (Bioflora (Biocodex, Pháp)).

2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

Termamyl SC DS có hoạt độ 120 KNU-T/g do Công ty Novonesis (Đan Mạch) sản xuất.

Cao nấm men, peptone, glucose, agar được sản xuất bởi hãng Himedia, Ấn Độ.

Dụng cụ, máy móc và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu gồm có: Chiết quang kế Brix 54, Bellingham & Stanley của Anh, thiết bị ly tâm, cân đĩa Nhon Hòa loại 5 kg, cân phân tích 4 số lẻ (ABT 220-5DNM) của hãng Kern - Đức, máy đo pH Mettler Toledo, tủ nuôi vi sinh vật Daihan - Hàn Quốc, máy đo tỷ trọng kỹ thuật số A.Kruss optronic GmbH Density Meter DS 7800 - Đức. Ngoài ra còn sử dụng một số dụng cụ như: Pipet, que trang, đĩa petri, ống đông, ống nghiệm và nhiệt kế.

2.3. Phương pháp thí nghiệm

2.3.1. Chuẩn bị dịch gạo lứt và giống *S. boulardii*

Rang gạo lứt ở 125°C trong 10 phút. Xay nghiền mịn gạo trước khi hồ hóa. Tỷ lệ gạo: Nước đem dịch hóa là 1: 5, bổ sung enzyme Termamyl

nồng độ 0,15% và tiến hành dịch hóa trong thời gian 45 phút/90°C. Sau quá trình dịch hóa, dịch gạo được lọc bằng vải lọc vô trùng. Chuẩn bị giống cấy *S. boulardii*

Nấm men đông khô được hoạt hóa trong 100 mL môi trường lỏng YPD (10 g/L cao nấm men, 20 g/L peptone, 20 g/L D-glucose, pH 5,2 ± 0,1) và được lắc đều (120 vòng/phút) ở 32°C trong 24 giờ. Sau khi ủ, sinh khối nấm men được ly tâm ở 14.000 × g trong 15 phút và được rửa hai lần bằng dung dịch NaCl 0,9% (w/v) để loại bỏ phần môi trường YPD còn sót lại. Sinh khối sau đó được hòa lại trong 3,0 mL NaCl 0,9% (w/v), tạo thành giống *S. boulardii* đã hoạt hóa, mật độ tế bào nấm men đạt 1,75.10⁹ CFU/mL

2.3.2. Xác định một số thành phần hoá học của dịch gạo lứt

Chuẩn bị dịch gạo lứt như mục 2.3.1. Xác định độ pH, nồng độ chất khô hòa tan, hàm lượng đường khử, hàm lượng protein

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200 mL dịch gạo lứt, cho vào lọ thủy tinh 330 mL đã được khử trùng trước ở 121°C trong 20 phút, dùng nước/đường saccharose điều chỉnh hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch sữa gạo lứt bằng 10; 12; 14; 16%Bx. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với tỷ lệ giống 0,5% (v/v). Đậy kín lọ thủy tinh và lên men trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 ± 1°C trong 24 giờ. Sản phẩm được lấy mẫu để phân tích các chỉ tiêu pH, nồng độ chất khô hòa tan, mật độ tế bào nấm men, nồng độ cồn, đánh giá chất lượng cảm quan và xác định nồng độ chất khô hòa tan thích hợp cho quá trình lên men.

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200 mL dịch gạo lứt có nồng độ chất khô hòa tan được xác định ở mục 2.3.3, điều chỉnh pH dịch gạo trước khi lên men bằng axit citric hoặc Na₂CO₃ đến giá trị pH 4,0; 5,0; 6,0; 7,0. Tiến hành quá trình lên men và phân tích mẫu tương tự mục 2.3.3.

2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200 mL dịch gạo lứt có nồng độ chất khô hòa tan và pH được xác định ở mục 2.3.3,

2.3.4. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với tỷ lệ lần lượt là 0,1%; 0,5%; 1,0%; 1,5% và tiến hành lên men ở các nhiệt độ 28°C, thời gian lên men 24 giờ. Tiến hành phân tích mẫu tương tự mục 2.3.3.

2.3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200 mL dịch gạo lứt có nồng độ chất khô hòa tan và pH được xác định ở mục 2.3.3, 2.3.4. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với tỷ lệ thích hợp xác định ở mục 2.3.5 và tiến hành lên men với thời gian lên men là 10, 18, 24, 32, 40 giờ ở nhiệt độ $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.3.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện bảo quản đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị dịch gạo lứt và tiến hành lên men theo các thông số đã xác định được ở các thí nghiệm trên. Mẫu sản phẩm sau lên men được bảo quản ở 4°C, theo dõi các chỉ số pH, nồng độ chất khô hòa tan, mật độ tế bào nấm men, nồng độ cồn, đánh giá chất lượng cảm quan sau 7, 14, 21, 28 ngày.

2.4. Phương pháp phân tích

Xác định độ pH bằng máy đo pH Mettler Toledo S220, Thụy Sĩ theo TCVN 7806:2007 [9]

Xác định độ nồng độ chất khô hoà tan bằng chiết quang kế cầm tay Brix 54, Bellingham & Stanley, Anh theo TCVN 7771: 2007 [10].

Xác định độ cồn (ethanol): Chưng cất một lượng dịch lên men nhất định V_1 mL thu được V_2 mL rượu. Đo độ cồn tạo ra trong V_2 bằng máy đo tỷ trọng kỹ thuật số A.Kruss optronic GmbH Density Meter DS 7800 thu được giá trị a. Từ đó tính được độ cồn b theo tỉ lệ % theo công thức: $b = (a \times V_2) / V_1$.

Xác định hàm lượng protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 8099-1:2009 [11].

Xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp DNS.

Hút 2 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm, thêm 1,5 mL dung dịch DNS. Sau đó đun sôi cách thủy trong 10 phút và làm nguội nhanh trong 10 phút. Thêm 6,5 mL nước cất và lắc đều. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự với 2 mL nước cất thay vì 2 mL mẫu. Dung dịch thu được được đo OD ở bước

sóng 540 nm bằng máy đo quang phổ UV-VIS, ghi lại giá trị hiển thị trên màn hình. Tham chiếu đường chuẩn đã lập $y = 11,864x + 0,043$ ($R^2 = 0,9950$), tính toán được hàm lượng đường khử của mẫu.

Mật độ tế bào sống được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc.

Hút 1 mL mẫu cho vào 9 mL nước muối sinh lý đã vô trùng, pha loãng đến nồng độ thích hợp, hút 100 μL dung dịch mẫu đã pha loãng thích hợp vào đĩa petri đã chứa môi trường YPD vô trùng. Cấy 3 độ pha loãng liên tiếp, mỗi độ pha loãng cấy 3 đĩa. Trang đều cho mẫu khuếch tán vào môi trường. Đậy nắp kín và nuôi nấm men ở 28°C trong 24 giờ. Chọn các đĩa có khoảng 25 - 250 khuẩn lạc/đĩa để đếm khuẩn lạc.

Tính số lượng nấm men trong 1 mL mẫu bằng công thức:

$$A \text{ (CFU/mL)} = \frac{N}{n_1 V_{f1} + \dots + n_i V_{fi}}$$

Trong đó: A là số đơn vị hình thành khuẩn lạc nấm men trong 1 mL mẫu; N là tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa đã chọn; n_i là số lượng đĩa cấy được giữ lại ở độ pha loãng thứ i; V là thể tích dịch mẫu cấy vào trong mỗi đĩa; f_i là độ pha loãng tương ứng.

Đánh giá cảm quan theo TCVN 3215-79 [12].

Hội đồng đánh giá gồm 11 thành viên có khả năng phân biệt cảm giác tốt, có kiến thức chuyên môn và kiến thức phân tích cảm quan. Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là: Màu sắc (1,0), mùi (1,0), vị (1,2), trạng thái (0,8). Từng thành viên hội đồng tiến hành đánh giá theo 4 chỉ tiêu trên theo bảng điểm tiêu chuẩn từ 0 - 5. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, lấy chính xác đến một chữ số thập phân sau dấu phẩy. Sau đó đem nhân với hệ số quan trọng tương ứng.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2021 và Minitab 22. Sự khác biệt về số liệu thực nghiệm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai ANOVA ($\alpha = 0,05$) bằng phần mềm Minitab 22. Số liệu thực nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn, mỗi phép đo được lặp lại 3 lần ($n = 3$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá một số thành phần hóa học của dịch gạo lứt

Thành phần dinh dưỡng có ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm, tiến hành xác định một số thành phần hóa học của dịch gạo lứt. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Một số thành phần hóa học của dịch gạo lứt

Chỉ tiêu chất lượng	Giá trị
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Bx)	14,45 ± 0,10
Hàm lượng đường khử (g/100 mL)	4,25 ± 0,46
Hàm lượng protein (g/100 mL)	1,13 ± 0,21
pH	6,16 ± 0,21

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, dịch gạo lứt có hàm lượng chất khô hòa tan là 14,45°Bx; hàm lượng đường khử 4,25 g/100 mL, hàm lượng protein 1,13 g/100 mL, pH 6,16. Dịch gạo lứt có giá trị dinh dưỡng phù hợp để phát triển các sản phẩm thực phẩm probiotic hoặc đồ uống lên men. Các chất dinh dưỡng này được tế bào nấm men *Saccharomyces boulardii* sử dụng để tạo sinh khối, ethanol, axit hữu cơ và CO₂.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô hoà tan đến chất lượng sản phẩm

Trong nghiên cứu cứ này, tiến hành điều chỉnh nồng độ chất khô hòa tan trong dịch hồ hóa trước lên men đạt 10 - 16°Bx bằng nước/saccharose. Chất lượng sản phẩm được đánh giá thông qua giá trị pH, hàm lượng chất khô hòa tan, nồng độ cồn, mật độ tế

bào nấm men và đánh giá cảm quan. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng chất khô hòa tan của dịch gạo lứt trong khoảng từ 10 - 16°Bx nấm men *S. boulardii* đều sinh trưởng và phát triển tốt, mật độ tế bào đạt 8,49.10⁷ - 9,41.10⁷ (CFU/mL). Ở các mẫu có nồng độ chất khô hòa tan 14 - 16°Bx, nồng độ cồn trong sản phẩm tăng nhanh, sau 24 giờ lên men nồng độ cồn đạt 2,00 - 2,14% v/v. Đối với sản phẩm probiotic, hàm lượng cồn thấp hơn 1,2% được xem là có lợi ích về mặt dinh dưỡng và sức khỏe [13]. Nồng độ cồn dưới 1% cũng tạo giá trị cảm quan tốt cho sản phẩm [14]. Việc sử dụng enzyme Termamyl trong quá trình dịch hóa nhằm mục đích làm giảm độ nhớt của dịch gạo trong quá trình hồ hóa đồng thời tạo ra một lượng nhỏ đường khử. Theo một số nghiên cứu, khi nồng độ đường cao, nấm men *Saccharomyces* có xu hướng tạo nồng độ cồn cao và giảm sinh khối. Việc ứng dụng *Saccharomyces boulardii* vào các sản phẩm lên men với vai trò là chủng khởi động cũng như probiotic bổ sung thì cần chú ý tạo sinh khối cho sản phẩm, nhưng độ cồn vừa phải (hoặc thấp) để tăng lợi ích của sản phẩm [14]. Trong nghiên cứu này, với mẫu có nồng độ chất khô hòa tan 12°Bx, nồng độ cồn trong sản phẩm 0,64% v/v, mật độ tế bào nấm men đạt 9,40.10⁷ (CFU/mL), sản phẩm có chất lượng cảm quan cao nhất đạt 18,6 điểm, sản phẩm có màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa. Lựa chọn nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 12°Bx cho quá trình lên men.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô hoà tan ban đầu đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm lên men	Nồng độ chất khô hòa tan ban đầu của dịch lên men (°Bx)			
	10	12	14	16
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Bx)	8,17 ^d ± 0,06	10,57 ^b ± 0,02	10,10 ^c ± 0,05	11,22 ^a ± 0,07
pH	4,07 ^a ± 0,03	3,92 ^b ± 0,03	3,73 ^c ± 0,03	3,56 ^d ± 0,01
Nồng độ cồn (% v/v)	0,49 ^c ± 0,05	0,64 ^b ± 0,07	2,00 ^a ± 0,11	2,14 ^a ± 0,09
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (10 ⁷ CFU/mL)	8,49 ^b ± 0,10	9,40 ^a ± 0,07	9,41 ^a ± 0,03	9,40 ^a ± 0,02
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	17,81 ^b ± 0,36	18,6 ^a ± 0,12	15,37 ^c ± 0,02	14,47 ^d ± 0,22
Đánh giá cảm quan	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam xỉn, mùi cồn	Màu nâu cam xỉn, vị hơi chua, mùi cồn

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa α = 0,05.

3.3. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm

pH là một trong những thông số môi trường quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men vì nó liên quan chặt chẽ đến sự phát triển của vi sinh vật và tích tụ các sản phẩm trao đổi chất. Nấm men *S.*

boulardii có thể sống được trong môi trường có độ pH từ 2 - 7. Tuy nhiên, pH cũng ảnh hưởng lớn đến chất lượng cảm quan của sản phẩm. Trong nghiên cứu này, tiến hành điều chỉnh pH của dịch gạo lứt bằng 4,0; 5,0; 6,0 và 7,0. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của độ pH ban đầu đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm sau lên men	pH ban đầu của dịch gạo lứt			
	4,0	5,0	6,0	7,0
pH	3,07 ^d ± 0,01	3,21 ^c ± 0,01	3,94 ^b ± 0,02	5,69 ^a ± 0,01
Hàm lượng chất khô hoà tan (°Bx)	11,23 ^a ± 0,06	10,67 ^c ± 0,03	10,64 ^c ± 0,02	10,90 ^b ± 0,03
Nồng độ cồn (% v/v)	0,43 ^c ± 0,01	0,63 ^a ± 0,03	0,63 ^a ± 0,04	0,55 ^b ± 0,03
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (10 ⁷ CFU/mL)	6,42 ^d ± 0,03	7,50 ^b ± 0,07	9,40 ^a ± 0,07	6,62 ^c ± 0,03
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	15,0 ^d ± 0,32	16,21 ^c ± 0,23	18,70 ^a ± 0,10	17,69 ^b ± 0,19
Chất lượng cảm quan	Màu nâu cam xỉn, vị chua	Màu nâu cam xỉn, mùi thơm đặc trưng, vị chua	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, tốc độ sinh trưởng và phát triển của nấm men thấp nhất ở pH 4, sau đó tăng dần và đạt cực đại ở pH bằng 6, mật độ tế bào đạt 9,40.10⁷ (CFU/mL). Về chất lượng cảm quan, mẫu có pH 4 và 5 đều có vị chua, điểm cảm quan tương ứng chỉ đạt 15,0 và 16,21 điểm. Mẫu có pH ban đầu bằng 6 có điểm cảm quan cao nhất đạt

18,7 điểm, nồng độ cồn đạt 0,63% v/v. Như vậy, pH thích hợp cho quá trình lên men là 6,0.

3.4. Ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men đến chất lượng sản phẩm

Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men đến chất lượng sản phẩm được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men bổ sung ban đầu đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm sau lên men	Tỉ lệ tế bào nấm men giống bổ sung (%)			
	0,1	0,5	1,0	1,5
Hàm lượng chất khô hoà tan (°Bx)	11,05 ^a ± 0,06	10,6 ^b ± 0,02	9,82 ^c ± 0,06	8,64 ^d ± 0,06
pH	4,36 ^a ± 0,02	3,92 ^b ± 0,03	3,58 ^c ± 0,01	3,09 ^d ± 0,01
Nồng độ cồn (% v/v)	0,21 ^d ± 0,02	0,66 ^c ± 0,05	0,80 ^b ± 0,07	1,37 ^a ± 0,05
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (10 ⁷ CFU/mL)	2,90 ^d ± 0,07	9,37 ^c ± 0,03	14,60 ^b ± 0,07	20,75 ^a ± 0,03
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	17,85 ^b ± 0,14	18,6 ^a ± 0,25	16,78 ^c ± 0,32	15,37 ^d ± 0,12
Chất lượng cảm quan	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam xỉn, vị hơi chua	Màu nâu cam xỉn, vị chua, có mùi cồn nhẹ

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Sau quá trình lên men có sự gia tăng đáng kể về số lượng nấm men ở tất cả các mẫu. Trong đó, số tế bào nấm men *S. boulardii* trong sản phẩm thấp nhất ở mẫu bổ sung giống 0,1% (mật độ tế bào

đạt 2,90.10⁷ CFU/mL) và cao dần ở các mẫu có tỉ lệ bổ sung giống cao hơn. Kết quả nghiên cứu của Rui Wang và cs (2022) [15] và Laosee W. (2022) [16] đều cho thấy có sự gia tăng đáng kể về khả

năng sống của tế bào của nấm men *S. boulardii* trong quá trình lên men nước trái cây và dịch trà xanh. Với mẫu bổ sung tỷ lệ giống 1,0 và 1,5% cho sản phẩm có pH tương đối thấp là 3,58 và 3,09, sản phẩm có vị chua, màu nâu cam xỉn. Lựa chọn tỷ lệ giống bổ sung là 0,5% cho quá trình lên men. Sản phẩm có màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa, mật độ tế bào nấm men *S. boulardii* đạt 9,37 CFU/mL, pH 3,97.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm

Thời gian lên men phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nồng độ chất khô hòa tan, nhiệt độ, tỷ lệ giống... Vì vậy việc lựa chọn thời gian lên men hợp lý để đảm bảo sản phẩm cuối cùng có chất lượng tốt và tránh được các vấn đề về an toàn thực phẩm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng thời gian lên men đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm sau lên men	Thời gian lên men (giờ)				
	0	18	24	32	40
Hàm lượng chất khô hoà tan (°Bx)	12,00 ^a ± 0,01	11,00 ^b ± 0,02	10,6 ^c ± 0,06	9,65 ^d ± 0,00	8,64 ^e ± 0,06
pH	6,01 ^a ± 0,02	4,35 ^b ± 0,02	3,94 ^c ± 0,01	3,42 ^d ± 0,01	3,05 ^e ± 0,03
Nồng độ cồn (% v/v)	0,00 ^c ± 0,01	0,41 ^d ± 0,06	0,63 ^c ± 0,03	1,10 ^b ± 0,04	1,81 ^a ± 0,04
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (10 ⁷ CFU/mL)	0,87 ^d ± 0,03	3,78 ^c ± 0,03	9,55 ^a ± 0,05	9,54 ^a ± 0,03	8,58 ^b ± 0,02
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng		17,8 ^b ± 0,36	18,6 ^a ± 0,12	16,0 ^c ± 0,02	15,27 ^d ± 0,22
Chất lượng cảm quan		Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam xỉn, vị chua	Màu nâu cam xỉn, vị chua, có mùi cồn nhẹ

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả phân tích ở bảng 5 cho thấy, sau 18 giờ lên men, mật độ tế bào nấm men đạt 3,78.10⁷ (CFU/mL) sau đó nấm men tiếp tục sinh trưởng và phát triển, đạt cực đại sau 24 giờ với mật độ tế bào là 9,55.10⁷ (CFU/mL). Mật độ tế bào này được duy trì ổn định đến 32 giờ. Theo kết quả nghiên cứu của Maria Angelica Gutierrez-Nava và cs (2024) [17] về quá trình lên men đại mạch cho thấy, mật độ tế bào nấm men *S. boulardii* tăng nhanh sau 18 giờ và duy trì ổn định đến 48 giờ.

Tiếp tục tăng thời gian lên men đến 40 giờ, mật độ tế bào nấm men probiotic giảm đáng kể còn 8,58.10⁷ CFU/mL, đồng thời chất lượng cảm quan của sản phẩm giảm, đạt 15,27 điểm, sản phẩm có

màu nâu cam xỉn, vị chua, có mùi cồn nhẹ. Vì vậy, chọn thời gian lên men thích hợp là 24 giờ.

3.6. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200 mL dịch gạo lứt cho vào lọ thủy tinh 330 mL đã được khử trùng trước ở 121°C trong 20 phút, điều chỉnh nồng độ chất khô hòa tan trong dịch sữa gạo lứt bằng 12°Bx, pH bằng 6. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với tỷ lệ giống 0,5%. Đậy kín lọ thủy tinh và lên men trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 ± 1°C trong 24 giờ. Mẫu sản phẩm sau lên men được bảo quản ở 4°C, theo dõi chất lượng sản phẩm trong thời gian 28 ngày, kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Một số chỉ tiêu vi sinh, hoá lý và cảm quan của sản phẩm trong thời gian bảo quản

Chất lượng sản phẩm lên men	Thời gian bảo quản (ngày)				
	0	7	14	21	28
pH	3,94 ^a ± 0,01	3,94 ^a ± 0,02	3,93 ^a ± 0,01	3,91 ^a ± 0,01	3,87 ^b ± 0,02
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Bx)	10,6 ^a ± 0,06	10,6 ^a ± 0,01	10,54 ^a ± 0,06	10,23 ^b ± 0,01	10,09 ^c ± 0,02
Nồng độ cồn	0,63 ^a ± 0,02	0,63 ^a ± 0,01	0,64 ^a ± 0,01	0,64 ^a ± 0,01	0,65 ^a ± 0,01

(% v/v)					
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (10^7 CFU/mL)	9,54 ^a ± 0,03	9,55 ^a ± 0,03	9,54 ^a ± 0,01	9,50 ^{ab} ± 0,02	9,45 ^b ± 0,01
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	18,6 ^a ± 0,10	18,8 ^a ± 0,12	18,6 ^a ± 0,05	18,60 ^a ± 0,20	18,60 ^a ± 0,12
Chất lượng cảm quan	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa	Màu nâu cam, mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, sản phẩm lên men duy trì được tính ổn định về mặt vi sinh, hoá lý và cảm quan trong suốt 28 ngày bảo quản. Mật độ tế bào *S. boulardii* giảm nhẹ từ $9,54.10^7$ xuống $9,45.10^7$ (CFU/mL) cho thấy khả năng sống sót tốt của tế bào nấm men *S. boulardii* trong môi trường sản phẩm. Theo kết quả nghiên cứu của Marcela Moreira Terhaag và cs (2025), mật độ tế bào *S. boulardii* giảm từ 7,3 log CFU/mL xuống 5,7 log CFU/mL sau 28 ngày bảo quản lạnh sản phẩm nước vải probiotic [18]. Trong một nghiên cứu lên men dịch trà xanh với *S. boulardii* và *Lactiplantibacillus plantarum* của Rui Wang và cs (2022) [15], mật độ *S. boulardii* duy trì ổn định trong 24 ngày. Sự khác biệt này có thể là do môi trường lên men khác nhau ảnh hưởng đến khả năng sống sót của nấm men trong quá trình bảo quản.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, điều kiện thích hợp cho quá trình lên men dịch gạo lứt như sau: Nồng độ chất khô hoà tan ban đầu 12°Bx, pH dịch lên men ban đầu 6,0, tỉ lệ men giống bổ sung 0,5%, sau 24 giờ lên men ở nhiệt độ 28°C mật độ tế bào nấm men đạt $9,54.10^7$ CFU/mL. Sản phẩm dịch gạo lứt probiotic có nồng độ chất khô hoà tan 10,6°Bx, pH 3,94, nồng độ cồn 0,63% v/v, chất lượng cảm quan đạt 18,6 điểm. Sau 28 ngày bảo quản ở 4 ± 1°C, mật độ tế bào nấm men probiotic trong sản phẩm duy trì đạt $9,45.10^7$ CFU/mL. Nghiên cứu tạo sản phẩm probiotic từ dịch gạo lứt là một giải pháp có thể thay thế cho các loại đồ uống probiotic có nguồn gốc từ sữa động vật, phù hợp với các đối tượng ăn chay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 13368:2021. Sản phẩm đồ uống chứa probiotic lactobacilli.

2. Plaza-Diaz J., Ruiz-Ojeda F. J., Gil-Campos M., Gil A. (2020). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition*, 11(4), S49 - S66. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>.

3. Handray Fernandes de Souza, Mariana Fronja Carosia, Carolina Pinheiro, Marina Vieira de Carvalho, Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, Eliana Setsuko Kamimura (2021). On probiotic yeasts in food development: *Saccharomyces boulardii*, a trend. *Food Science and Technology*, Campinas, Ahead of Print, 1 - 7. <https://doi.org/10.1590/fst.92321>.

4. Angela Capece, Rossana Romaniello, Angela Pietrafesa, Gabriella Siesto, Rocchina Pietrafesa, Marianna Zambuto, Patrizia Romano (2018). Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value added, *International Journal of Food Microbiology*, 284, 22 - 30.

5. Datta S., Timson D.J., Annapure U.S (2017). Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), 3039 - 3049.

6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5643:1999. Gạo - Thuật ngữ và định nghĩa.

7. Naseem Zahra; Shajia Jabeen (2020). Brown rice as useful nutritional source. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 33(3), 445 - 453.

8. Atul Upadhyay; Sanjeev Kumar Karn (2018). Brown rice: Nutritional composition and health benefits. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 10, 48 - 54.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7806:2007. Sản phẩm rau, quả - Xác định độ pH.

10. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7771:2007. Sản phẩm rau, quả - Xác định chất rắn hoà tan - Phương pháp khúc xạ.
11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8099-1 : 2009. (ISO 8968-1 : 2001). Sữa - Xác định hàm lượng nitơ - Phần 1: Phương pháp Kjeldahl.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan phương pháp cho điểm.
13. Bara Senkarcinova; Ines Alexandra Graca Dias; Jakub Nespor; Tomas Branyik (2019). Probiotic alcohol-free beer made with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *LWT - Food Science and Technology*, 100, 362 - 367.
14. Khuất Bích Phượng, Hồ Phú Hà, Từ Việt Phú, Chu Kỳ Sơn, Nguyễn Tiến Thành (2022). Ảnh hưởng của quá trình lên men cấp dưỡng tới sự tạo sinh khối và cồn của *Saccharomyces boulardii* sử dụng dịch chiết malt đại mạch. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 01(134), 90 - 94.
15. Rui Wang, Jinghan Sun, Benjamin Lassabliere và cộng sự (2022). Green tea fermentation with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. *LWT - Food Science and Technology*, 157, 11308.
16. Laosee W., Kantachote D., Chansuwan W., Sirinupong N. (2022). Effects of probiotic fermented fruit juice based biotransformation by lactic acid bacteria and *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 on anti-salmonella and antioxidative properties. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(10), 1315 - 1324.
17. Maria Angelica Gutierrez-Nava, Emmelin Jaen-Echeverria, Otilio-Arturo Acevedo-Sandoval, Alma-Delia Román-Gutiérrez (2024). Fermentation of barley wort with *Saccharomyces boulardii* to generate a beverage with probiotic potential. *Future Foods*, 9, 100373.
18. Marcela Moreira Terhaag, Otavio Akira Sakai, Fabiana Ruiz và cộng sự (2025). The probiotication of a lychee beverage with *Saccharomyces boulardii*. An alternative to dairy-based probiotic products, *Foods*, 14, 156, 2 - 16. <https://doi.org/10.3390/foods14020156>.

RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF A PROBIOTIC PRODUCT FROM BROWN RICE USING *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745

Do Thi Hanh¹, Vu Ngoc Anh¹

¹Faculty of Chemical Technology, Ha Noi Univesty of Industry

Abstract

The development of non-dairy probiotic beverages represents a promising alternative for individuals adhering to a vegan diet, those with milk protein allergies and individuals with lactose intolerance. *Saccharomyces boulardii* is currently the only commercially available probiotic yeast approved for human consumption. In addition to its probiotic characteristics, *S. boulardii* has been shown to be effective in the prevention and treatment of various forms of diarrhea, including antibiotic-associated diarrhea. Brown rice is known for its numerous health benefits, including reducing the risk of diabetes, obesity and cancer. This study aimed to develop a probiotic beverage derived from brown rice using *S. boulardii* as the fermenting agent. The optimal fermentation conditions determined were as follows: an initial soluble solids concentration of 12°Bx, an initial pH of 6.0 and an inoculum ratio of 0.5%. After 24 hours of fermentation at 28°C, the yeast cell density reached 9.54×10^7 CFU/mL. The resulting probiotic brown rice beverage exhibited a soluble solids concentration of 10.6°Bx, a final pH of 3.94 and an ethanol concentration of 0.63% v/v. The sensory evaluation yielded a score of 18.6 points. After 28 days of storage at $4 \pm 1^\circ\text{C}$, the viable cell count of *S. boulardii* remained at 9.45×10^7 CFU/mL, indicating good stability of the probiotic population over time.

Keywords: Brown rice, probiotic, *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745.

Ngày nhận bài: 9/9/2025

Ngày chuyển phản biện: 02/10/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/10/2025

Ngày duyệt đăng: 20/01/2026