

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG NẤM MEN *SACCHAROMYCES BOULARDII* TRONG CHẾ BIẾN SẢN PHẨM PROBIOTIC NGUỒN GỐC TỪ TRÁI CÂY

A STUDY ON THE APPLICATION OF *SACCHAROMYCES BOULARDII* IN DEVELOPING FRUIT-BASED PROBIOTIC PRODUCTS

Đỗ Thị Hạnh^{1,*}, Bùi Phương Linh², Nguyễn Ngọc Linh²,
Trần Diệu Minh², Đoàn Thị Nụ², Lê Duy Khánh²

DOI: <http://doi.org/10.57001/huiv5804.2025.192>

TÓM TẮT

Sản phẩm probiotic là sản phẩm có chứa các vi sinh vật có lợi cho hệ tiêu hóa của con người. Lợi ích của probiotic ngày càng được quan tâm và nghiên cứu ứng dụng trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Nấm men *Saccharomyces boulardii* đã được chứng minh có nhiều lợi ích cho sức khỏe như cân bằng hệ vi sinh đường ruột, có tác dụng phòng ngừa và điều trị tiêu chảy, bao gồm cả tiêu chảy do kháng sinh. Chanh leo (*Passiflora edulis*) là một loại trái cây giàu vitamin, khoáng chất và chất chống oxy hóa. Mục tiêu của nghiên cứu này là ứng dụng nấm men *Saccharomyces boulardii* trong việc tạo sản phẩm probiotic từ dịch quả chanh leo. Kết quả cho thấy, chủng nấm men *S. boulardii* có khả năng thích nghi và sinh trưởng trong điều kiện pH thấp của dịch quả, điều kiện thích hợp cho quá trình lên men dịch quả chanh leo như sau: nồng độ chất khô hòa tan 16°Bx, pH 4, nhiệt độ 28°C, sau 18 giờ lên men mật độ tế bào nấm men đạt $2,51 \cdot 10^8$ CFU/mL. Sản phẩm nước chanh leo probiotic có nồng độ chất khô 13,30°Bx; độ cồn 2,37%v/v; chất lượng cảm quan đạt 18,40 điểm. Sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ 4°C, mật độ tế bào nấm men probiotic trong sản phẩm duy trì đạt $2,35 \cdot 10^8$ CFU/mL.

Từ khóa: Probiotic, đồ uống lên men bổ sung probiotic, *Saccharomyces boulardii*.

ABSTRACT

Probiotic products are those that contain microorganisms beneficial to the human digestive system. The health benefits of probiotics have gained increasing attention and are being widely researched for applications in functional foods. The yeast *Saccharomyces boulardii* has been proven to offer several health benefits, such as balancing gut microbiota and preventing or treating diarrhea, including antibiotic-associated diarrhea. Passion fruit (*Passiflora edulis*) is a fruit rich in vitamins, minerals, and antioxidants. The objective of this study was to apply *Saccharomyces boulardii* in the development of a probiotic product from passion fruit. The results showed that the *S. boulardii* strain was able to adapt and grow in the low pH conditions of the fruit juice. The optimal conditions for passion fruit juice fermentation were found to be: soluble solids concentration (Bx) = 16, pH = 4, and temperature = 28°C. After 18 hours of fermentation, the yeast cell density reached 2.51×10^8 CFU/mL. The resulting probiotic passion fruit beverage had a total soluble solids content of 13,30°Bx, an alcohol content of 2.37% v/v, sensory score of 18.4. After 4 weeks of storage at 4°C, the probiotic yeast cell density remained at 2.35×10^8 CFU/mL.

Keywords: Probiotic, fermented probiotic beverage, *Saccharomyces boulardii*.

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Sinh viên Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: hanhdt1@hauivn.edu.vn

Ngày nhận bài: 27/02/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 20/5/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/5/2025

1. GIỚI THIỆU

Probiotics là các vi sinh vật sống, khi được đưa vào cơ thể với lượng thích hợp sẽ mang lại một hoặc nhiều lợi ích sức khỏe cho vật chủ như hỗ trợ điều trị rối loạn tiêu hóa, tăng cường miễn dịch tự nhiên, phòng chống một số bệnh truyền nhiễm và ung thư [1]. 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 100g/ngày [2]. Năm 1923, nhà khoa học người Pháp Henri Boulard đã phân lập được chủng nấm men *Saccharomyces boulardii* từ quả vải có hoạt tính probiotic, đặc biệt nấm men *Saccharomyces boulardii* không bị ảnh hưởng hoặc ức chế bởi kháng sinh và được sử dụng để điều trị bệnh tiêu chảy kể từ năm 1950 [3, 4]. Hiện nay, nấm men *Saccharomyces boulardii* là loại nấm men probiotic thương mại duy nhất dùng cho con người và bắt đầu được các nhà nghiên cứu quan tâm vì đặc tính probiotic độc đáo của chúng. Các nghiên cứu về các chủng thương mại của *S. boulardii* đã cho thấy sự tương đồng về hình thái và sinh lý với các chủng *Saccharomyces cerevisiae* khác [5], có thể chịu được nồng độ cồn cao tạo ra trong quá trình lên men [6, 7].

Các probiotic phổ biến nhất hiện nay là *Lactobacillus* và *Bifidobacteria*. Tuy nhiên, chúng thường bị giảm khả năng sống khi qua dạ dày. Các sản phẩm từ sữa được sử dụng nhiều nhất để cung cấp các probiotic này cho con người. Những lo ngại về hiện tượng không dung nạp lactose, mức cholesterol cao, dị ứng với protein sữa và chế độ ăn thuần chay đã thúc đẩy xu hướng sử dụng các sản phẩm không phải từ sữa [8]. Nước ép trái cây là một môi trường mới thích hợp tạo sản phẩm probiotic nhờ hàm lượng các chất dinh dưỡng thiết yếu và chứa lượng đường cao [9]. Hiện có một số nghiên cứu ứng dụng nấm men *Saccharomyces boulardii* tạo sản phẩm probiotic từ nước trái cây và khẳng định việc sử dụng nước trái cây có tính khả thi về mặt thương mại và hấp dẫn về mặt cảm quan [9, 10]. Sản phẩm là một lựa chọn phù hợp cho những người dị ứng với protein và chế độ ăn thuần chay. Mục đích của nghiên cứu này là nghiên cứu ứng dụng nấm men *Saccharomyces boulardii* trong chế biến sản phẩm probiotic từ dịch quả chanh leo nhằm 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. 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. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Chanh leo: Quả chanh leo Mộc Châu được mua tại siêu thị Big C Thăng Long, Hà Nội. Chọn quả vừa chín tươi, có

vỏ màu tím, láng hoặc hơi nhăn, không bị hư hỏng. Quả chanh leo được bảo quản ở 4°C cho các nghiên cứu.

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, máy học và thiết bị

Enzyme Celluclast® 1.5 có hoạt độ 700 đơn vị endoglucanase/mL do Công ty Novozymes (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 ATAGO N-1α của Nhật Bản, thiết bị ly tâm, cân đĩa Nhơn Hòa loại 5kg, 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. Ngoài ra còn sử dụng một số dụng cụ như dây lọc inox, pipet, que trang, đĩa petri, ống đong, ống nghiệm và nhiệt kế.

2.3. Phương pháp thí nghiệm

2.3.1. Chuẩn bị dịch chanh leo và giống *S. boulardii*

Chuẩn bị mỗi mẫu 1000g quả chanh leo tươi, rửa sạch, cắt đôi theo chiều ngang, tách và thu hồi ruột quả. Bổ sung 0,2% chế phẩm enzyme Celluclast® 1.5 vào ruột quả. Tiến hành thủy phân ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 120 phút, chà, lọc thu hồi dịch quả [11].

Chuẩn bị giống cấy *S. boulardii*

Nấm men đông khô được hoạt hóa trong 100mL môi trường lỏng YPD (10g/L cao nấm men, 20g/L peptone, 20g/L D-glucose, pH $5,2 \pm 0,1$) và được lắc đều (120 vòng/phút) ở 28°C trong 24 giờ. Sau khi ủ, sinh khối nấm men được ly tâm ở $14.000 \times g$ 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 50mL NaCl 0,9% (w/v), tạo thành giống cấy *S. boulardii* đã hoạt hóa, mật độ vi khuẩn đạt $1,05.10^8$ CFU/mL.

2.3.2. Xác định một số thành phần hoá học của dịch quả chanh leo

Chuẩn bị dịch quả chanh leo như mục 2.3.1. Xác định độ pH, nồng độ chất khô hoàn tan, hàm lượng đường tổng, hàm lượng vitamin C.

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

Chuẩn bị 200ml dịch chanh leo theo tỷ lệ pha loãng dịch chanh leo: nước là 1:1, cho vào lọ thủy tinh 330ml đã

được khử trùng trước ở 121°C trong 20 phút, dùng đường saccharose điều chỉnh hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chanh leo bằng 10; 12; 14; 16; 18 °Bx, dịch sau đó được thanh trùng ở 85°C, thời gian 5 phút, làm nguội. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với mật độ tế bào đạt 1.10^6 tế bào/mL (tỷ lệ giống 0,95% v/v). Đậy kín lọ thủy tinh và lên men trong tủ ấm ở nhiệt độ $28 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 18 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 200mL dịch chanh leo có nồng độ chất khô hòa tan được xác định ở mục 2.3.3, điều chỉnh pH dịch quả trước khi lên men bằng axit citric hoặc Na_2CO_3 đến giá trị pH 3,5 4,0; 4,5. Tiến hành thanh trùng, quá trình lên men tương tự mục 2.3.3. 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 pH thích hợp cho quá trình lên men.

2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng sản phẩm

Chuẩn bị 200mL dịch chanh leo 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 mật độ tế bào đạt 1.10^6 tế bào/mL (tỷ lệ giống 0,95% v/v) và tiến hành lên men ở các nhiệt độ 20°C, 28°C, 35°C, thời gian lên men 18 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 nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men.

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

Chuẩn bị 200mL dịch chanh leo 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 mật độ tế bào đạt 1.10^6 tế bào/mL (tỷ lệ giống 0,95% v/v) và tiến hành lên men ở nhiệt độ thích hợp xác định ở mục 2.3.5, thời gian lên men là 10, 18, 24, 32 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 nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men.

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

Chuẩn bị dịch chanh leo 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.

2.4. Phương pháp phân tích

Xác định pH theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 12348:2018 [12].

Hàm lượng chất khô hòa tan của dịch quả chanh leo và các mẫu thí nghiệm được xác định bằng chiết quang kế ATAGO N-1α của Nhật Bản, đơn vị đo là °Bx ở 20 °C [13].

Hàm lượng Vitamin C được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với thuốc thử 2,6 diclofenol indofenol (DCIP) theo TCVN 4715:1989 [14].

Hàm lượng đường tổng trong nguyên liệu được xác định theo bectorang theo TCVN 4594:1988 [15].

Xác định hàm lượng cồn theo phương pháp chưng cất theo TCVN 8088:2009. 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 thu được giá trị a. Từ đó tính được độ cồn b theo tỉ lệ % theo công thức: $b = (a \times V_2) / V_1$

Mật độ tế bào sống được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc. Hút 1ml mẫu cho vào 9ml nước muối sinh lý đã vô trùng, pha loãng đến nồng độ thích hợp, hút 100μl 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 24h. Chọn các đĩa có khoảng 25 - 250 khuẩn lạc/đĩa để đếm khuẩn lạc

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

$$A(\text{CFU/ml}) = \frac{N}{N_1 V D_1 + \dots + N_i V D_i}$$

Trong đó:

A: số đơn vị hình thành khuẩn lạc vi khuẩn trong 1ml mẫu

N: tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa đã chọn

N_i : số lượng đĩa cấy được giữ lại ở độ pha loãng thứ i

V: thể tích dịch mẫu cấy vào trong mỗi đĩa

D_i : độ pha loãng tương ứng

Đánh giá cảm quan theo TCVN 3215-79 [16]. Hội đồng đánh giá gồm 7 người có khả năng phân biệt cảm giác tốt, có kiến thức chuyên môn tốt và kiến thức phân tích cảm quan. Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là: trạng thái, màu sắc (hệ số quan trọng 0,8), mùi (hệ số quan trọng 1,2), vị (hệ số quan trọng 2,0). Từng thành viên hội đồng tiến hành đánh giá theo 3 chỉ tiêu trên theo

bảng điểm tiêu chuẩn từ 0 đến 5. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, lấy chính xác đến 1 chữ số thập phân sau dấu phẩy. Sau đó đem nhân với hệ số quan trọng tương ứng. Địa điểm thực hiện thí nghiệm tại phòng thí nghiệm Đánh giá cảm quan thực phẩm thuộc Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 365. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD) từ ba lần lặp lại cho mỗi thí nghiệm (n = 3).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá một số thành phần hóa học của dịch quả chanh leo

Chất lượng nguyên liệu là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Để quá trình lên men đạt hiệu quả cao và thu được sản phẩm có chất lượng tốt, tiến hành xác định nồng độ chất khô hòa tan, pH, hàm lượng vitamin C, đường tổng trong dịch quả chanh leo. Kết quả thu được thể hiện trong bảng 1

Bảng 1. Một số thành phần hóa học của dịch chanh leo

Chỉ tiêu chất lượng	Giá trị
°Bx	15,70 ± 0,10
pH	2,60 ± 0,02
Vitamin C (mg/100mL)	36,35 ± 0,23
Đường tổng (g/mL)	14,30 ± 0,46

Kết quả trên bảng 1 cho thấy dịch quả chanh leo có hàm lượng chất khô hòa tan là 15,7°Bx; hàm lượng đường tổng 14,30g/mL, hàm lượng vitamin C 36,35mg/100mL, pH 2,6, dịch chanh dây có giá trị dinh dưỡng và cảm quan cao, phù hợp để ứng dụng trong phát triển các sản phẩm thực phẩm probiotic hoặc đồ uống lên men giàu giá trị sinh học. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Sang và cộng sự, dịch quả chanh leo *Passiflora edulis* có hàm lượng chất khô hòa tan 14,5°Bx, pH 2,77, hàm lượng vitamin C 34,2mg/100mL [17]. Sự khác nhau có thể do khác biệt về giống, độ chín của nguyên liệu, điều kiện trồng trọt, phương pháp xử lý thu hồi dịch quả.

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

Nấm men *S. boulardii* sử dụng đường khử và đường saccharose trong dịch để sinh trưởng, phát triển và chuyển hóa thành rượu ethanol, axit hữu cơ, este, CO₂.

Chính vì vậy, nồng độ chất khô hòa tan ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm. Nồng độ chất khô hòa tan nếu quá cao tạo áp suất thẩm thấu lớn ức chế sự sinh trưởng và phát triển của tế bào nấm men, làm giảm hoạt lực lên men. Nếu nồng độ chất khô quá thấp quá trình lên men kéo dài đồng thời lượng đường sót trong sản phẩm thấp, sản phẩm có độ chua gắt. 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

Bảng 2. Ảnh hưởng của hàm lượng chất khô hòa tan đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm lên men	Hàm lượng chất khô ban đầu của dịch quả chanh leo (°Bx)			
	12	14	16	18
pH	2,80±0,02	3,12±0,02	3,30±0,04	3,50±0,01
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Bx)	6,00±0,20	10,43±0,10	13,08±0,10	15,40±0,30
Nồng độ cồn (%v/v)	2,23±0,02	2,25±0,04	2,40±0,02	2,25±0,01
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (CFU/mL)	(2,31±0,01).10 ⁸	(2,31±0,01).10 ⁸	(2,3±0,01).10 ⁸	(1,5±0,02).10 ⁷
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	14,95±0,16	16,43±0,06	18,13±0,06	15,36±0,16
Chất lượng cảm quan	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị ít hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị hơi chua	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị hơi ngọt

Kết quả ở bảng 2 cho thấy trong khoảng hàm lượng chất khô hòa tan của dịch chanh leo từ 12 - 16°Bx, nấm men *S. boulardii* đều sinh trưởng và phát triển tốt, mật độ tế bào đạt 2,3.10⁸ (CFU/mL). Khi hàm lượng chất khô hòa tan của dịch chanh leo tăng lên 18°Bx, mật độ tế bào có xu hướng tăng chậm và đạt 1,5.10⁷ (CFU/mL), do hàm

lượng đường cao tạo áp suất thẩm thấu lớn, ức chế sự sinh trưởng và phát triển của tế bào nấm men. Sự phát triển chậm của tế bào nấm men dẫn đến hàm lượng chất khô hòa tan trong sản phẩm cao 15,40 °Bx, sản phẩm có vị ngọt, điểm cảm quan đạt 15,36. pH và hàm lượng chất khô trong sản phẩm giảm nhanh nhất ở mẫu có hàm lượng chất khô hòa tan 12 °Bx, dẫn đến sản phẩm có hương vị ít hài hòa, hơi chua, điểm cảm quan thấp chỉ đạt 14,95. Hàm lượng chất khô hòa tan của dịch chanh leo 16 °Bx thích hợp nhất cho nấm men phát triển, tạo nhiều cồn hơn 3 mẫu còn lại. Đồng thời ở °Bx này, chất lượng cảm quan sản phẩm cao nhất đạt 18,13 điểm. Sau 18 giờ lên men, tất cả các mẫu có nồng độ cồn trong khoảng 2,23 - 2,40 (%v/v). Điều này cho thấy nấm men *S. boulardii* có khả năng lên men mạnh tương tự như *S. cerevisiae*. Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Andrea Maria Patelski và cs, nấm men *S. boulardii* có thể tạo ra nồng độ cồn lên tới 6,558 (%w/v) trong nước cam ép. Nhóm tác giả cũng khẳng định việc lên men nước ép trái cây bằng nấm men probiotic là một phương pháp có tiềm năng thương mại và hấp dẫn về mặt cảm quan nhằm nâng cao giá trị sản phẩm thông qua việc bổ sung các đặc tính probiotic [9]. Nghiên cứu của Trần Văn Tuấn và cs cũng cho thấy nấm men men *S. boulardii* có khả năng lên men cồn khá cao, đạt trung bình 5 - 8% (w/v), thậm chí còn cao hơn chủng *S. cerevisiae* BY4743 sau 48 giờ lên men trong môi trường Hansen [4].

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến 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. Nếu lên men ở pH thấp, trong quá trình lên men, pH sản phẩm tiếp tục giảm, sản phẩm có độ chua gắt. Nếu lên men ở pH cao hơn 4,5, rất dễ bị nhiễm tạp. Trong nghiên cứu này, tiến hành điều chỉnh pH của dịch chanh leo bằng 3,5 4,0; 4,5. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

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

Chất lượng sản phẩm sau lên men	pH ban đầu của dịch chanh leo		
	3,5	4,0	4,5
pH	3,01±0,02	3,27±0,06	3,65±0,01
°Bx	14,27±0,03	13,14±0,07	12,14±0,04
Nồng độ cồn (%v/v)	2,25±0,01	2,42±0,01	3,67±0,06

Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (CFU/mL)	(7,0±0,01).10 ⁷	(2,5±0,01).10 ⁸	(3,42±0,02).10 ⁸
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	16,64±0,16	18,17±0,10	14,88±0,17
Chất lượng cảm quan	Màu vàng, mùi thơm, vị hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, có mùi cồn nhẹ, vị ít hài hòa

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, pH thấp có ảnh hưởng đến quá trình lên men, pH càng thấp, quá trình lên men càng chậm. pH 3,5, tốc độ sinh trưởng của nấm men chậm nhất, mật độ tế bào đạt 7.10⁷ (CFU/mL), sản phẩm có điểm cảm quan là 16,64. Khi pH tăng lên 4 và 4,5, tốc độ sinh trưởng của tế bào nấm tăng lên và mật độ tế bào nấm men đạt tương ứng là 2,5.10⁸ và 3,42.10⁸(CFU/mL). Tuy nhiên, ở pH 4,5, sản phẩm có nồng độ cồn cao nhất đạt 3,67 (%v/v), dẫn đến sản phẩm có mùi cồn nhẹ, vị ít hài hòa, điểm cảm quan đạt 14,88. Như vậy pH thích hợp nhất cho quá trình lên men là 4,0.

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng sản phẩm

Nhiệt độ ảnh hưởng trực tiếp tới hoạt động của vi sinh vật. Khi lên men ở nhiệt độ quá thấp, thời gian lên men có thể kéo dài. Thí nghiệm được tiến hành ở các nhiệt độ lên men 20°C, 28°C, 35°C, thời gian lên men là 18 giờ. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm sau lên men	Nhiệt độ lên men (°C)		
	20	28	35
pH	3,70±0,04	3,31±0,2	2,50±0,15
°Bx	15,12±0,03	13,23±0,05	10,14±0,01
Nồng độ cồn (%V/V)	1,15±0,01	2,37±0,01	4,07±0,03
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (CFU/mL)	(9,10±0,02).10 ⁶	(2,51±0,01).10 ⁸	(5,07±0,02).10 ⁸
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	15,04±0,12	18,4±0,12	13,48±0,20
Chất lượng cảm quan	Màu vàng, mùi thơm, vị hơi ngọt	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, có mùi cồn mạnh, vị chua gắt

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, nhiệt độ lên men càng cao, tốc độ lên men càng nhanh. Cụ thể ở nhiệt độ 20°C, quá trình lên men diễn ra chậm, sau 18 giờ lên men, giá trị pH thay đổi không nhiều (từ 4,0 xuống 3,7), hàm lượng chất khô của sản phẩm tương đối cao là 15,12°Bx, mật độ tế bào đạt $9,10.10^6$ (CFU/mL), sản phẩm thu được có màu vàng mùi thơm, vị hơi ngọt, điểm cảm quan đạt 15,04. Ở nhiệt độ 28°C, pH sản phẩm đạt 3,31, hàm lượng chất khô hòa tan 13,23°Bx, nồng độ cồn 2,37(%v/v), điểm cảm quan đạt 18,40. Ở nhiệt độ lên men 35°C, tốc độ lên men nhanh, pH sản phẩm giảm mạnh xuống còn 2,5, nồng độ cồn 4,07, mật độ tế bào đạt $5,07.10^8$ (CFU/mL), sản phẩm có màu vàng, có mùi cồn mạnh, vị chua gắt. Nhiệt độ lên men cao, quá trình lên men rất dễ nhiễm tạp các vi sinh vật như vi khuẩn lactic, acetic, ảnh hưởng lớn đến chất lượng cảm quan và an toàn thực phẩm, đặc biệt đối với sản phẩm không thanh trùng sau lên men. Chọn nhiệt độ lên men thích hợp là 28°C. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Andrea Maria Patelski và cs [9].

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

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

Chất lượng sản phẩm lên men	Thời gian lên men (giờ)			
	10	18	24	32
pH	3,6±0,04	3,30±0,02	2,8±0,01	2,5±0,02
°Bx	14,92±0,03	13,30±0,05	11,04±0,1	9,25±0,03
Nồng độ cồn (%v/v)	1,55±0,01	2,38±0,02	3,13±0,02	4,08±0,04
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (CFU/mL)	(2,65±0,01).10 ⁷	(2,51±0,02).10 ⁸	(3,03±0,01).10 ⁸	(3,07±0,01).10 ⁸
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	15,81±0,36	18,4±0,12	14,87±0,02	13,47±0,22
Chất lượng cảm quan	Màu vàng, mùi thơm, vị hơi ngọt	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, có mùi cồn, vị chua gắt	Màu vàng, có mùi cồn mạnh, vị chua gắt

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.

Qua bảng 5 cho thấy, thời gian lên men có ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Thời gian lên men 10 giờ, sản phẩm trao đổi chất của nấm men tích tụ ít, sản phẩm có hương vị chưa hài hòa. Thời gian lên men 18 giờ cho sản phẩm có pH 3,30, nồng độ chất khô hòa tan 13,30°Bx, nồng độ cồn 2,38 (%v/v), mật độ tế bào *S. boulardii* đạt $2,51.10^8$ (CFU/mL), điểm cảm quan cao nhất 18,4. Sau 18 giờ, nấm men tiếp tục sinh trưởng và phát triển, đạt trạng thái cân bằng sau 24 giờ với mật độ tế bào $3,03.10^8$ (CFU/mL). Tuy nhiên, thời gian lên men kéo dài 24 - 32 giờ, sản phẩm có pH thấp trong khoảng 2,5 - 2,8, hàm lượng chất khô hòa tan giảm nhiều xuống còn 9,25 - 11,04°Bx, nồng độ cồn cao đạt 3,13 - 4,08 (%v/v), kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm có mùi cồn, vị chua gắt, điểm cảm quan đạt 13,47 - 14,87. Chọn thời gian lên men thích hợp là 18 giờ. Trong một nghiên cứu khác, nhóm nghiên cứu sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* tạo nước uống lên men có nồng độ cồn thấp từ quả dứa, thời gian lên men thích hợp là 72 giờ, hàm lượng cồn trong sản phẩm 4,5%v/v. Trong nghiên cứu này, chọn thời gian lên men ngắn để lượng cồn trong sản phẩm thấp, ít ảnh hưởng đến tế bào nấm men *S. boulardii* và hương vị tự nhiên của quả chanh leo [18].

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

Chuẩn bị 200ml dịch chanh leo theo tỷ lệ pha loãng dịch chanh leo: nước là 1:1, cho vào lọ thủy tinh 330ml đã được khử trùng trước ở 121°C trong 20 phút, dùng đường saccharose, axit citric hoặc Na₂CO₃ điều chỉnh nồng độ chất khô hòa tan trong dịch chanh leo bằng 16°Bx, pH bằng 4. Dịch sau đó được thanh trùng ở 85°C, thời gian 5 phút, làm nguội. Bổ sung giống nấm men *S. boulardii* với mật độ tế bào đạt 1.10^6 tế bào/mL (tỷ lệ giống 0,95% v/v). Đậy kín lọ thủy tinh và lên men trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 ± 1°C trong 18 giờ. Mẫu sản phẩm sau lên men được bảo quản ở 4°C, theo dõi chất lượng sản phẩm trong thời gian 4 tuần, kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Kết quả trên cho thấy các giá trị pH, hàm lượng chất khô hòa tan, nồng độ cồn, chất lượng cảm quan của sản phẩm hầu như không thay đổi trong 4 tuần bảo quản ở điều kiện 4°C. Mật độ tế bào nấm men được giữ ổn định trong 2 tuần đầu bảo quản, sau tuần thứ 3 và 4, mật độ tế bào có xu hướng giảm nhẹ nhưng vẫn đạt $2,35.10^8$

Bảng 6. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản đến chất lượng sản phẩm

Chất lượng sản phẩm lên men	Thời gian bảo quản (tuần)				
	0	1	2	3	4
pH	3,30±0,02	3,29±0,03	3,28±0,01	3,28±0,01	3,27±0,03
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Bx)	13,30±0,05	13,27±0,03	13,25±0,06	13,22±0,07	13,20±0,07
Nồng độ cồn (%v/v)	2,37±0,02	2,37±0,02	2,38±0,01	2,38±0,04	2,39±0,04
Mật độ tế bào <i>S. boulardii</i> (CFU/mL)	(2,51±0,02).10 ⁸	(2,50±0,02).10 ⁸	(2,51±0,01).10 ⁸	(2,45±0,02).10 ⁸	(2,35±0,02).10 ⁸
Điểm cảm quan có hệ số trọng lượng	18,41±0,10	18,40±0,12	18,63±0,05	18,40±0,20	18,40±0,12
Chất lượng cảm quan	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa	Màu vàng, mùi thơm đặc trưng, vị chua ngọt hài hòa

(CFU/mL), đáp ứng yêu cầu của sản phẩm probiotic. Điểm đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm đạt 18,4 điểm, đối chiếu với TCVN 32-1579, sản phẩm đạt mức khá.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nấm men *S.boulardii* có khả năng thích nghi và sinh trưởng trong điều kiện pH thấp của dịch quả, nồng độ chất khô hòa tan, pH và nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men nước chanh leo là Bx = 16, pH = 4, nhiệt độ 28°C, sau 18 giờ lên men mật độ tế bào nấm men đạt 2,51.10⁸ CFU/ml. Sản phẩm nước chanh leo probiotic có nồng độ chất khô hòa tan 13,30°Bx; độ cồn 2,37%V/V; chất lượng cảm quan đạt 18,40 điểm. Sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt 4°C, mật độ tế bào nấm men probiotic trong sản phẩm duy trì đạt 2,35.10⁸ CFU/ml. Với lượng dùng từ 100ml sản phẩm đáp ứng liều dùng probiotic có lợi cho sức khỏe con người. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có thể sử dụng nấm men *S.boulardii* trong chế biến nước trái cây lên men có nồng độ cồn thấp (cider).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Fereshteh Ansaria, Shohre Alian Samakkhah, Ali Bahadori, Seyedeh Maedeh Jafari, Mojtaba Ziaee, Mohammad Taghi Khodayari, Hadi Pourjafari, "Health-promoting properties of Saccharomyces cerevisiae var. boulardii as a probiotic; characteristics, isolation, and applications in dairy products," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(4), 2021. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1949577>.

[2]. M. Moslemy, R. Mazaheri Nezhad Fard, S.M. Hosseini, A. Homayouni-Rad, A.M. Mortazavian, "Incorporation of Propionibacteria in Fermented Milks

as a Probiotic," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(8), 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.766584>.

[3]. Czerucka D., Rampal P, "Experimental effects of Saccharomyces boulardii on diarrheal pathogens," *Microbes and Infection*, 4 (7), 733-739, 2002.

[4]. Trần Văn Tuấn, Vũ Xuân Tạo, "Xác định một số đặc điểm sinh học của nấm men Saccharomyces boulardii," *Tạp chí khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 3 (112), 107-111, 2020.

[5]. Gałazka P., Baska A., Kazik J., Leis K., "Saccharomyces Cerevisiae var. Boulardii In Irritable Bowel Syndrome," *Postepy Mikrobiol. Adv. Microbiol.*, 59, 39-47, 2020.

[6]. Mulero-Cerezo J., Tuñón-Molina A., Cano-Vicent A., Pérez-Colomer L., Martí M., Serrano-Aroca Á., "Probiotic Rosé Wine Made with Saccharomyces cerevisiae var," *Boulardii. Preprints*, 2022090333, 2022.

[7]. McFarland L. V, "Systematic review and meta-analysis of Saccharomyces boulardii in adult patients," *World Journal of Gastroenterology*, 16:2202, 2010. doi: 10.3748/wjg.v16.i18.2202.

[8]. Walter Randazzo, et al., "Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms," *Food Microbiology*, 54, 40-51, 2016.

[9]. Andrea Maria Patelski, Urszula Dziekońska-Kubczak, Maciej Ditrych, "The Fermentation of Orange and Black Currant Juices by the Probiotic Yeast Saccharomyces cerevisiae var. boulardii," *Appl. Sci.*, 14, 3009, 2024. <https://doi.org/10.3390/app14073009>.

[10]. Marcela Moreira Terhaag, Otávio Akira Sakai, Fabiana Ruiz, Sandra Garcia, Fernando Rodrigo Bertusso, Sandra Helena Prudêncio, "The Probiotication of a Lychee Beverage with Saccharomyces boulardii: An Alternative to Dairy-Based Probiotic Products," *Foods*, 2025. <https://doi.org/10.3390/foods14020156>

- [11]. Đỗ Thị Hạnh, Dương Thị Thu Thảo, "Nghiên cứu ứng dụng enzyme cellulase để thu hồi dịch quả chanh leo Mộc Châu," *Kỷ yếu hội thảo quốc gia lần thứ III, Trường Đại học Công nghệ Đông Á*, 127-134, 2024.
- [12]. TCVN 12348, 2018. Thực phẩm đã axit hóa - Xác định pH, tr. 1-5
- [13]. Nguyễn Văn Lợi, Nguyễn Thị Thu Hiền, "Sự biến đổi các chỉ tiêu cơ lí, hóa sinh và cảm quan của quả thảo quả Hà Giang ở các thời điểm thu hoạch khác nhau," *Tạp chí Công nghiệp Hóa chất*, 5, 33-39, 2021.
- [14]. TCVN 4715:1989. Đồ hộp rau quả-Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C (axit ascorbic)
- [15]. TCVN 4594:1988. Đồ hộp-phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột
- [16]. TCVN 3217-97. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan phương pháp cho điểm
- [17]. Nguyễn Thị Thu Sang, Nguyễn Phạm Khải Tú, "Nghiên cứu các phương pháp thu nhận hiệu quả dịch quả trái chanh dây tím *Passiflora edulis*," *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học lần thứ 1, Trường Đại học Tôn Đức Thắng*, 194-199, 2012.
- [18]. Đỗ Thị Hạnh, Vũ Văn Lâm, Mạc Thế Vinh, Hà Thị Dung, "Nghiên cứu chế biến nước uống lên men nồng độ cồn thấp từ quả Dứa (*Ananas Comosus*)," *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội*, 60(3), 2024.

AUTHORS INFORMATION

**Do Thi Hanh¹, Bui Phupng Linh², Nguyen Ngoc Linh²,
Tran Dieu Minh², Doan Thi Nu², Le Duy Khanh²**

¹Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam

²Student, Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam