

PRODUCTION OF LACTIC ACID BACTERIA
AS STARTER CULTURE

NOPPAWAN CHINACHOTI

ศาสตราจารย์ ดร. นพ. ชินาโชติ นพพาน

A THESIS SUBMITTED IN PARTIALLY FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOTECHNOLOGY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1994

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย
 ผู้วิจัย นพวรรณ ชินะโชติ
 ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

อภิญา อัครานิก Ph.D.

อรรณูฉิม อิมพัลทรัพย์ Ph.d.

ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์ D.Agr

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 17 ตุลาคม พ.ศ. 2537

บทคัดย่อ

โยเกิร์ตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่นิยมบริโภคกันในประเทศไทย ปัจจุบันหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตจะเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งทำให้ต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้น การผลิตหัวเชื้อได้เองในประเทศ จึงเป็นประโยชน์อย่างมากต่อผู้ผลิต ซึ่งนอกจากจะลดต้นทุนการผลิตแล้ว ยังทำให้เกิดความสะดวกรวดเร็วในขบวนการผลิตด้วย จึงได้มีการศึกษาเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียตัวหนึ่งที่น่ามาใช้ในการผลิตหัวเชื้อโยเกิร์ตในปัจจุบัน *S. thermophilus* เป็นเชื้อแบคทีเรียทรงกลม ย้อมติดสีแกรมบวก มักพบเป็นคู่หรือสายยาว ไม่สร้างเอนไซม์ catalase จัดอยู่ในกลุ่ม homofermentative และ facultative anaerobe มีความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบ tetrazoliums เชื้อจะไม่สร้างสปอร์ และไม่สามารถ เคลื่อนที่ได้ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกพบว่า เชื้อเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเรียงตามลำดับดังนี้ คือ นมสดปราศจากเชื้อ, 10%นมผงขาดมันเนย, 10%หางนม (pH 6.8), M17 และ MRS อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ ประมาณ 43 องศาเซลเซียส และ pH ที่เชื้อสามารถเจริญได้อยู่ในช่วง pH 6-8 ส่วนการศึกษาคผลของอากาศต่อการเจริญเติบโตพบว่า ทั้งในสภาวะที่มี และไม่มีอากาศให้ผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อใกล้เคียงกัน โดยพบว่าหลังจากที่ทำการเลี้ยงได้ประมาณ 4 ชั่วโมง จะได้ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 1 log cycle ขณะเจริญเติบโต

เชื้อจะสร้างกรดซึ่งจะทำให้ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง sucrose, lactose และ yeast extract เป็นสารอาหารที่ช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อได้

การเลี้ยงเชื้อในถังหมัก จะสามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ แต่พบว่าการควบคุม pH ไม่สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. thermophilus* ได้ เนื่องจาก การเจริญของเชื้อถูกยับยั้งด้วยการลดลงของ pH และปริมาณกรดที่เชื้อผลิตขึ้น การดึงอาหารเลี้ยงเชื้อออกเพื่อแยกกรดที่สร้างขึ้น และนำเชื้อกลับเข้าไปเลี้ยงใหม่พร้อมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ จะช่วยลดปริมาณของกรด และเป็นแนวทางที่จะช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์ได้

การเก็บรักษาเชื้อจากการทดลองนี้พบว่า ถ้าเก็บเชื้อในสภาพที่มี sucrose เข้มข้น 30 % ที่ -20 องศาเซลเซียส หรือเก็บเชื้อในสภาพที่มีนมผงขาดมันเนยอยู่ด้วยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บได้นานประมาณ 2 อาทิตย์ โดยมีจำนวนเชื้อเหลืออยู่ประมาณ 80 หรือ 70% ตามลำดับ

Thesis Title	Production of Lactic Acid Bacteria as Starter Culture
Name	Noppawan Chinachoti
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Thesis Supervisory Committee	Apinya Assavanig, Ph.D. Attawut Impoonsup, Ph.D. Pairojana Luangpituksa, D.Agr. Sirirat Rengpipat, Ph.D.
Date of Graduation	17 October B.E. 2537 (1994)

ABSTRACT

The production of yoghurt, the interesting health food product in Thailand, are mostly based on the oversea starter cultures. In the large scale manufacture, it will be more economic if the starter culture can be self-made in Thailand. So the study of *Streptococcus thermophilus*, one of the starter strains was carried out in order to produce high cell concentration for making the yoghurt starter culture. *S. thermophilus* is gram positive coccus. It is usually found in pairs or long chain when grown in liquid media. It has no spore and is non-motile. It produces no catalase and it reduces tetrazoliums. When *S. thermophilus* was grown in various media that stating as the enumerated media for lactic acid bacteria, then was incubated at various temperatures, pH, and without or with shaking conditions. The results showed that the good supporting media for growth derived in orderly, i.e. sterile whole milk, 10% skim milk, 10% whey (adjusted pH to 6.8), M17, and MRS. The proper

temperature was 43°C and the pH range was around 6 to 8. The non-shaking and shaking conditions provided similar results of bacterial growth. At least 1 log cycle of cells increased was observed after 4 hours of incubation. The cells produced acid and then lowered pH of the medium. Sucrose, and lactose appeared to be essential carbon sources and yeast extract appeared to be essential nitrogen source. Vitamins such as pantothenic acid, riboflavin, folic acid, and niacin did not promote the growth of *S. thermophilus* in the presence of yeast extract.

When the cell production was enlarged to the high scale of 1L medium in 2L stirred-tank bioreactor, without or with automatically pH control. The agitation was at 200 rpm, just enough to make the medium homogenously. The bacterial growth showed the same performance. The automatic control of constant pH in the bioreactor could not enhance its growth. Both pH and lactic acid produced seemed to have some effects on bacterial cells. The cell recycle system by half replacement of the new medium which could reduce the amount of lactic acid and increase the pH of the medium, suggested the trend to increase the growth of *S. thermophilus*.

The storage of the concentrated culture in this study was suggested that the concentrated culture should be kept in 30% sucrose at -20°C or milk product at 4°C for 2 weeks. The viability was 80% or 70% respectively.