

<b>Thesis Title</b>	Production of Kefir Liked Product from Mix Cultures of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Streptococcus cremoris</i> and <i>Streptococcus lactis</i>
<b>Author</b>	Mr. Pongpakorn Kaewprasert
<b>Degree</b>	Master of Science (Biotechnology)
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Naiyatat Poosaran

#### ABSTRACT

The study of optimal fermentation conditions of milk supplemented with 5% (w/v) sucrose by using pure culture were carried out. Yeast starter 1, 3 and 5% (v/v) of *Saccharomyces cerevisiae* were employed. Two lactic acid bacteria, *Streptococcus cremoris* and *Streptococcus lactis*, at 1 and 2% (v/v) each as the starter were also used. The incubation temperature, time interval for sampling and total fermentation time was 30 and 35 °C, 6 and 36 h, respectively. Optimal conditions to ferment milk supplemented with 5% (v/v) of sucrose with 3 microorganisms, 5% (v/v) of *Saccharomyces cerevisiae* and various ratios of *Streptococcus cremoris* to *Streptococcus lactis* 0 : 2, 0.5 : 1.5, 1 : 1, 1.5 : 0.5 and 2 : 0 % added into milk supplemented with 5 % (w/v) sucrose. Fermentation temperature was 30 °C. For the first 15 h of fermentation, it was fermented by yeast and followed up with lactic acid bacteria. The total fermentation time was 51 h. Then, chemical compositions and microbial counts were analyzed.

It was found that at 30°C, 36 h of fermentation and the highest starter concentration seemed to be the suitable conditions for all 3 microorganisms. For yeast starter at 30 °C and 5% (v/v), pH, total acidity (as lactic acid), total soluble solid and cell numbers were 4.42, 4.70 g/L, 12.0 °Brix,  $2.23 \times 10^7$  cfu/mL., respectively.

For *Streptococcus cremoris* at 30 °C and 2% (v/v) starter, pH, total acidity, total soluble solid and cell count were 4.58, 7.80 g/L, 12.6 °Brix, 2.62 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. For *Streptococcus lactis* at 30 °C and 2% (v/v) starter, pH, total acidity, total soluble solid and cell count were 4.31, 8.70 g/L, 10.8 °Brix, 2.77 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. In addition, it was found that 30 h of fermentation seemed to be the optimal fermentation time. At 30 h of fermentation time and bacterial ratio was 0 : 2 %, pH, the total acidity, the total soluble solid, glucose, fructose, combination of sucrose and lactose, lactic acid and ethanol, yeast cell and bacterial cell counts were 4.70, 5.10 g/L, 7.0 °Brix, 0.31, 0.00, 9.85, 2.77 and 0.75 g/L, 7.00 x 10<sup>7</sup> and 4.00 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. For bacterial ratio was 0.5 : 1.5 %, pH, the total acidity, the total soluble solid, glucose, fructose, combination of sucrose and lactose, lactic acid and ethanol, yeast cell and bacterial cell counts were 4.97, 5.70 g/L, 8.2 °Brix, 0.61, 0.45, 15.27, 3.03 and 1.18 g/L, 5.80 x 10<sup>7</sup> cfu/ml and 3.20 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. For bacterial ratio was 1 : 1 %, pH, the total acidity, the total soluble solid, glucose, fructose, combination of sucrose and lactose, lactic acid and ethanol, yeast cell and bacterial cell counts were 4.93, 5.70 g/L, 8.20 °Brix, 0.60, 0.23, 14.96, 2.54 and 1.30 g/L, 8.20 x 10<sup>7</sup> cfu/mL and 4.00 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. For bacterial ratio was 1.5 : 0.5 %, pH, the total acidity, the total soluble solid, glucose, fructose, combination of sucrose and lactose, lactic acid and ethanol, yeast cell and bacterial cell counts were 4.95, 5.10 g/L, 8.4 °Brix, 0.55, 0.84, 15.48, 2.95 and 1.05 g/L, 7.80 x 10<sup>7</sup> cfu/mL and 3.65 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. For bacterial ratio was 2 : 0 %, pH, the total acidity, the total soluble solid, glucose, fructose, combination of sucrose and lactose, lactic acid and ethanol, yeast cell and bacterial cell counts were 5.00, 5.30 g/L, 7.0 °Brix, 0.40, 0.00, 8.88, 2.45 and 0.59 g/L, 6.50 x 10<sup>7</sup> and 4.96 x 10<sup>9</sup> cfu/mL, respectively. The organoleptic test of kefir liked products by 20 panelists on overall acceptance, it was found that T<sub>3</sub> which was the bacterial ratio 1 : 1 % obtained the highest score was 7.20± 0.07 . It meant that the panelists moderately liked this kefir liked product.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตผลิตภัณฑ์คล้ายคีเฟอร์จากเชื้อผสมของ แซคคาโรมายซีส เซเรวิสียี, สเตร็ปโตคอคคัส ครีโมริส กับ สเตร็ปโตคอคคัส แลคติก
ผู้เขียน	นายพงษ์ภากร แก้วประเสริฐ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. นัยทัศน์ ภู่อรัมย์
	<b>บทคัดย่อ</b>

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักนมที่เติมซูโครส 5% (น/ป) โดยเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 3 ชนิด ได้แก่ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ความเข้มข้น 3 และ 5 % (ป/ป), แบคทีเรีย แลคติก 2 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus cremoris* และ *Streptococcus lactis* โดยเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นอย่างละ 1 และ 2 % (ป/ป) อุณหภูมิในการหมักนมคือ 30 และ 35 องศาเซลเซียส และเวลาในการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 6 ชั่วโมง ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง และศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักนมที่เติมซูโครส 5% (น/ป) โดยเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 3 ชนิด ได้แก่ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ความเข้มข้น 5 % (ป/ป), แบคทีเรีย แลคติก 2 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus cremoris* และ *Streptococcus lactis* ที่อัตราส่วนของแบคทีเรียทั้งสองชนิดต่าง ๆ กันคือ *Streptococcus cremoris* : *Streptococcus lactis* ที่อัตราส่วน 0 : 2, 0.5 : 1.5, 1 : 1, 1.5 : 0.5 และ 2 : 0 % อุณหภูมิในการหมักนมคือ 30 องศาเซลเซียส โดยที่เริ่มหมักยีสต์ก่อน 15 ชั่วโมง แล้วจึงเติมแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 15 ระยะเวลาการหมักทั้งหมด 51 ชั่วโมงและทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมีและจุลินทรีย์

พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียส , เวลา 36 ชั่วโมง ของการหมักและปริมาณหัวเชื้อเข้มข้นสูงสุดดูเหมือนจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อทั้ง 3 ชนิด สำหรับ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ปริมาณความเข้มข้น 5 % (น/ป) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.42, ปริมาณกรดรวม 4.70 ก/ล ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 12.0 ดิกรีบริกซ์, จำนวนจุลินทรีย์  $2.23 \times 10^7$  cfu/mL, ตามลำดับ. สำหรับ *Streptococcus cremoris* ที่ปริมาณความเข้มข้น 2 % (ป/ป)

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.58, ปริมาณกรดรวม 7.80 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 12.6 ดิกรีบริกซ์, จำนวนจุลินทรีย์  $2.62 \times 10^9$  cfu/mL, ตามลำดับ. ส่วน *Streptococcus lactis* ที่ปริมาณความเข้มข้น 2 % (ป/ป) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.31, ปริมาณกรดรวม 8.70 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 10.8 ดิกรีบริกซ์, จำนวนจุลินทรีย์  $2.77 \times 10^9$  cfu/mL, ตามลำดับ และพบว่าที่ช่วงโมเมนต์ 30 ของการหมักดูเหมือนเป็นเวลาที่ดีที่สุดของการหมักที่เวลาดังกล่าวและอัตราส่วนของแบคทีเรีย 0 : 2 % จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.70, ปริมาณกรดรวม 5.10 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 7.0 ดิกรีบริกซ์, น้ำตาลกลูโคส 0.31 ก/ล, ฟรักโทส 0.00 ก/ล, ซูโครสและแลคโทส 9.85 ก/ล, กรดแลคติก 2.77 ก/ล และเอธานอล 0.75 ก/ล., จำนวนเซลล์ยีสต์  $7.00 \times 10^7$  cfu/mL, จำนวนเซลล์แบคทีเรีย  $4.00 \times 10^9$  cfu/mL. สำหรับอัตราส่วนของแบคทีเรีย 0.5 : 1.5 % จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.97, ปริมาณกรดรวม 5.70 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 8.2 ดิกรีบริกซ์, น้ำตาลกลูโคส 0.61 ก/ล, ฟรักโทส 0.45 ก/ล, ซูโครสและแลคโทส 15.27 ก/ล, กรดแลคติก 3.03 ก/ล และเอธานอล 1.18 ก/ล., จำนวนเซลล์ยีสต์  $5.80 \times 10^7$  cfu/mL, จำนวนเซลล์แบคทีเรีย  $3.20 \times 10^9$  cfu/mL. สำหรับอัตราส่วนของแบคทีเรีย 1 : 1 % จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.93, ปริมาณกรดรวม 5.70 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 8.2 ดิกรีบริกซ์, น้ำตาลกลูโคส 0.60 ก/ล, ฟรักโทส 0.23 ก/ล, ซูโครสและแลคโทส 14.96 ก/ล, กรดแลคติก 2.54 ก/ล และเอธานอล 1.30 ก/ล., จำนวนเซลล์ยีสต์  $8.20 \times 10^7$  cfu/mL, จำนวนเซลล์แบคทีเรีย  $4.00 \times 10^9$  cfu/mL. สำหรับอัตราส่วนของแบคทีเรีย 1.5 : 0.5 % จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.95, ปริมาณกรดรวม 5.10 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 8.40 ดิกรีบริกซ์, น้ำตาลกลูโคส 0.55 ก/ล, ฟรักโทส 0.84 ก/ล, ซูโครสและแลคโทส 15.48 ก/ล, กรดแลคติก 2.95 ก/ล และเอธานอล 1.05 ก/ล., จำนวนเซลล์ยีสต์  $7.80 \times 10^7$  cfu/mL, จำนวนเซลล์แบคทีเรีย  $3.65 \times 10^9$  cfu/mL. สำหรับอัตราส่วนของแบคทีเรีย 2 : 0 % จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.00, ปริมาณกรดรวม 5.30 ก/ล, ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 7.0 ดิกรีบริกซ์, น้ำตาลกลูโคส 0.40 ก/ล, ฟรักโทส 0.00 ก/ล, ซูโครสและแลคโทส 8.88 ก/ล, กรดแลคติก 2.45 ก/ล และเอธานอล 0.59 ก/ล., จำนวนเซลล์ยีสต์  $6.50 \times 10^7$  cfu/mL, จำนวนเซลล์แบคทีเรีย  $4.96 \times 10^9$  cfu/mL. สำหรับผลการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์คล้ายคีเฟอร์ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คนให้คะแนนการยอมรับโดยรวมพบว่า T<sub>3</sub> คืออัตราส่วนของแบคทีเรีย 1 : 1 % ได้คะแนนสูงสุดที่  $7.20 \pm 0.07$ . ซึ่งอยู่ในระดับความชอบปานกลาง