

การผลิตยีสต์โปรตีนโดย Candida utilis จากน้ำสับปะรด



นางสาวสุมาลี ตั้งพัฒน์เจริญ

006012

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของ การศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกวิชาเคมีเทคนิค

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2520

118034767

PRODUCTION OF YEAST PROTEIN BY CANDIDA UTILIS FROM PINEAPPLE JUICE

Miss Sumalee Tuntpatchalern

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Chemical Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1977

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University  
in partial fulfilment of the requirements for the degree of  
Master of Science.

*Visid Prachuabmoh*

.....

(Professor Dr. Visid Prachuabmoh)

Dean

Thesis Committee

*K. Santiyanont* .....Chairman  
(Assistant Professor Dr. Kiartchai Santiyanont)

*Pong Vananuvat* .....Member  
(Assistant Professor Dr. Pong Vananuvat)

*Vicha Vanadurongwan* .....Member  
(Dr. Vicha Vanadurongwan)

*Bhichit Rattakul* .....Member  
(Dr. Bhichit Rattakul)

Thesis Advisor : Assistant Professor Dr. Pong Vananuvat

Thesis Coadvisor : Dr. Vicha Vanadurongwan

Copyright 1976

by

The Graduate School

Chulalongkorn University

---

Thesis Title : Production of Yeast Protein by Candida utilis  
from Pineapple Juice

By : Miss Sumalee Tuntpatchalern

Department : Chemical Technology

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การผลิตยีสต์โปรตีนโดย Candida utilis จากน้ำสับปะรด

ชื่อ                              นางสาวสุมาลี      กิ่งพจน์เจริญ

แผนกวิชา                      เคมีเทคนิค

ปีการศึกษา                    2519



บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาถึงการใช้น้ำสับปะรด เพื่อเป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงยีสต์ Candida utilis โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน ตอนที่ 1 จะศึกษาเพื่อหาส่วนประกอบของ medium ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์โดยพิจารณาจากผลผลิต (น.น. ของยีสต์เทียบกับปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป) และปริมาณโปรตีนในยีสต์ ทั้งนี้จะใช้น้ำสับปะรดเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน นอกจากนั้นมีการเติมสารอาหารบางอย่างลงไปด้วย คือ เปปโตน ยูเรีย และแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งของไนโตรเจน โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เพื่อให้ขาดโปแตสเซียมและฟอสฟอรัส และสารสกัดจากยีสต์ เพื่อให้วิตามินและสารบางอย่าง ซึ่งจำเป็นกับการเจริญเติบโตของยีสต์ ส่วนประกอบต่าง ๆ ดังกล่าวมาจะเติมลงไม่ทั้งหมด หรือเติมลงไปบางตัวตามความต้องการ การทดลองในตอนที่ 1 เลี้ยงยีสต์บนเครื่องสั่นที่มีอัตราเร็ว 240 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เวลาในการทดลองทั้งหมด 64 ชั่วโมง เมื่อเริ่มทำการทดลองปรับให้ปริมาณน้ำตาลในน้ำสับปะรดเป็น 2% น.น. โดยปริมาตร ปรับความเป็นกรด - ค่างให้เท่ากับ 4 การเจริญเติบโตวัดโดยหา น.น. ของยีสต์ และวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 500 ( $10^{-9}$  เมตร) จากผลการทดลองพบว่า น้ำสับปะรดเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5% (น.น. โดยปริมาตร) และโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5% (น.น. โดยปริมาตร) จะให้ส่วนประกอบของ medium ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยให้ผลผลิต 42.1% และ

ปริมาณโปรตีนในยีสต์ 55.2% การทดลองในตอนที่ 2 นั้น เลี้ยงยีสต์ในเครื่องหมักชนิด  
ไม่ต่อเนื่อง โดยใช้ medium ที่เลือกมาจากการทดลองในตอนแรก ปริมาตรในการ  
ทดลองทั้งหมด 6 ลิตร ความเร็วของเครื่องที่ 1400 รอบต่อนาที เมื่อผ่านอากาศ  
เข้าไปในเครื่องหมักด้วยอัตรา 0.5, 1 และ 1.5 ปริมาตรของอากาศต่อปริมาตรของ  
medium ต่อนาที (vvm) พบว่า ผลผลิตที่ได้เท่ากับ 45.76%, 49.41% และ 46.21%  
ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณของอากาศที่ผ่านเข้าไปในเครื่องหมักในอัตรา 1 vvm  
จะให้การเจริญเติบโตและผลผลิตดีกว่า แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณโปรตีนของยีสต์ที่ได้  
รับเมื่อเลี้ยงใน medium เดียวกัน ไม่ขึ้นกับอัตราการผ่านอากาศ ปริมาณโปรตีนใน  
ยีสต์โดยเฉลี่ยเท่ากับ 55.38% นอกจากนั้นได้มีการหาค่าความต้องการออกซิเจนของ  
medium (COD) ในขณะที่เลี้ยงยีสต์พบว่าอัตราการผ่านอากาศ 1 vvm ความต้องการ  
ออกซิเจนลดลงมากกว่าเมื่อผ่านอากาศเข้าไปในอัตรา 0.5 และ 1.5 vvm เมื่อสิ้นสุด  
ชั่วโมงที่ 8 พบว่า ความต้องการออกซิเจนใน medium ลดลงกว่าเมื่อเริ่มทำการทดลอง  
ประมาณ 70-80%

Thesis Title        Production of Yeast Protein by Candida utilis  
                                from Pineapple Juice

Name                        Miss Sumalee Tuntpatchalern

Department                Chemical Technology

Academic Year        1976

#### ABSTRACT

This study was undertaken to determine the possibility of cultivating Candida utilis on pineapple juice as substrate. The experiment was divided into two parts. Investigation of the desirable composition of medium for growth of the yeast was first studied with the emphasis on yeast yield and protein content. The growth of C. utilis on pineapple juice supplemented with various sources of nitrogen such as peptone, urea, and ammonium sulfate, and other nutrient materials, i.e., phosphorus and growth factors was examined in shake flask study. The concentration of sugar in pineapple juice was diluted to 2% (w/v). The pH was kept at 4.0. The cultivation time was 64 hours. Growth was measured by the yeast dry weight or measurement of the absorbance of cultures at 500 nm wavelength. It was found that pineapple juice supported good growth of C. utilis by the addition of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% (w/v), and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5% (w/v) as the extraneous sources of nitrogen and phosphorus. The yeast yield



of 42.1% was obtained with the protein content of 55.2%. In the second part, batch cultivation of C. utilis was studied in stirred-vessel fermenter using the medium selected from the first part. The total volume of the medium was 6 litres for each run. The agitation speed of the fermenter was kept at 1400 rpm. By varying the aeration rates at 0.5, 1, and 1.5 volume of air/volume of cultures medium/minute (VVM), the yeast yields were 45.76%, 49.41%, and 46.21% at aeration rates of 0.5, 1, and 1.5 VVM respectively. It appeared that at 1 VVM aeration rate, the better growth and higher yield were obtained. However, the protein content of the yeast cultivated in the same medium was independent of the aeration rates studied. The average protein content of C. utilis was 55.38%. The reduction of chemical oxygen demand (COD) was also determined during cultivation of the yeast. The result indicated that, the COD reduction at aeration rates of 1 VVM was better than the other two aeration rates. At the end of 8 hours cultivation the COD reduction was in the range of 70-80%.

## ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to express sincere thanks to her advisor Assistant Professor Dr. Pong Vananuvat, for his continuous guidance, valuable suggestion, and advice offered during the course of this research.

She is grateful to Dr. Vicha Vannadurongwan for his interest and helpful suggestion.

Particular thanks to Miss. Sermsri Gongsakdi for her kindness to provide Candida utilis culture for this study, and also to Miss. Vanna Tulayadhan for her helpful suggestions and ideas which enable to continue the thesis successfully.

Appreciations are accorded to the student and people in the Department of Chemical Technology for the help received.

Thanks are also due to her friend, and to all others who have helped toward the completing of the thesis.



CONTENTS

	Page
Abstract (Thai) . . . . .	iv
Abstract (English) . . . . .	vi
Acknowledgement . . . . .	viii
List of Tables . . . . .	xi
List of Figures . . . . .	xii
 Chapter	
I INTRODUCTION . . . . .	1
II LITERATURE REVIEW . . . . .	4
III MATERIAL AND METHODS . . . . .	25
3.1 Microorganism Used . . . . .	25
3.2 Pineapple Juices . . . . .	25
3.3 Preparation of Medium . . . . .	26
3.4 Preparation of Inoculum . . . . .	26
3.5 Size of Inoculum . . . . .	27
3.6 Cultivation Condition . . . . .	27
3.7 Measurement of Growth . . . . .	32
3.8 Yeast Yield . . . . .	33
3.9 Analyses . . . . .	33
IV RESULTS . . . . .	39



Chapter	Page
4.1 Part I Cultivation of <u>Candida utilis</u> in Shake Flask Apparatus ... ..	39
4.2 Part II Cultivation of <u>Candida utilis</u> in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	60
V DISCUSSION ... ..	74
5.1 Part I Cultivation of <u>Candida utilis</u> in Shake Flask Apparatus ... ..	74
5.2 Part II Cultivation of <u>Candida utilis</u> in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	84
VI CONCLUSION AND RECOMMENDATION... ..	91
บทสรุปย่อ ... ..	94
Bibliography ... ..	95
Appendix ... ..	108
Vita ... ..	110

LIST OF TABLES

Tables	Page
1 Proximate, Mineral, and Vitamin Composition of Frozen Pineapple Juices and Thai Pineapple Juices ... ..	22
2 Formulation of Nine Fermentation Media in the Shake-Flask Experiments ... ..	28
3 Comparison of Yield and Protein Content of <u>Candida utilis</u> Grown in Various Media During Shake-Flask Experiments ... ..	59
4 Comparison of Yield and Protein Content of <u>Candida utilis</u> Grown in Medium 1 During Batch Cultivation at Different Aeration Rates ... ..	64

## LIST OF FIGURES

Figures	Page
1 Typical Dimension of a Stirred Fermenter... ..	30
2 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 8 and 9	40
3 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1 and 8	42
4 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1 and 3	45
5 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1, 2, and 4... ..	47
6 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1, 2 and 6... ..	50
7 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1, 4 and 5... ..	52
8 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Media 1 and 7	55
9 The Consumption of Sugar in Media 1, 3, 4 and 7 During the Growth of <u>C. utilis</u> in the Shake Flasks ... ..	57
10 The Growth Curves of <u>C. utilis</u> in Medium 1 at aeration rates 0.5, 1 and 1.5 VVM in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	61
11 The Consumption of Sugar in Medium 1 During the Growth of <u>C. utilis</u> in Stirred-Vessel Fer- menter at Aeration Rates 0.5, 1 and 1.5 VVM	65
12 Comparison of the Dry Weight of <u>C. utilis</u> grown in Medium 1 at Various Aeration Rates in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	68

13	The Relationship Between the Reduction of Chemical Oxygen Demand (COD) and Culti- vation Time During the Growth of <u>C. utilis</u> in Medium 1 at Various Aeration Rates in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	70
14	The Relationship Between the Reduction of Chemical Oxygen Demand (COD) and sugar Con- sumption of <u>C. utilis</u> During the Growth in Medium 1 at Various Aeration Rates in Stirred-Vessel Fermenter ... ..	72