

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



E47217

การเขียนโปรแกรมพีซีกับฮาร์ดแวร์เพื่อผลิตกรรมผลคิดในลักษณะแบบไม่ต่อเนื่อง

นายชนกนัย ชนัฏกะหัต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

600259129

E47217

การใช้บริเวณรีซิสต์อโตไลเซทเพื่อผลิตกรดแลคติกในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



นายยศดนัย อนัตคะทัต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



**BREWER'S YEAST AUTOLYSATE UTILIZATION FOR LACTIC ACID
PRODUCTION IN BATCH FERMENTOR**

Mr. Yoddanai Anatkatat

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering**

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

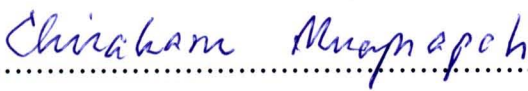
Thesis Title	Brewer's Yeast Autolysate Utilization for Lactic acid Production in Batch Fermentor
By	Yoddanai Anatkatat
Department	Chemical Engineering
Thesis Advisor	Associate Professor Chirakarn Muangnapoh, Dr. Ing.

Accepted by the Faculty of Engineering, Chulalongkorn University in Partial Fufillment of the Requirements for the Master's Degree

.......... Dean of the Faculty of Engineering
(Associate Professor Boonsom Lerdhirunwong, Dr. Ing.)

Thesis Committee

.......... Chairman
(Associate Professor Tawatchai Charinpanitkul, D. Eng.)

.......... Thesis Advisor
(Associate Professor Chirakarn Muangnapoh, Dr. Ing.)

.......... Member
(Associate Professor Seeroong Prichanont, Ph.D.)

.......... Member
(Assistant Professor Phimchanok Nakkharat, Ph. D.)

ยศดนัย อนันตะทัต : การใช้บรียเวอร์ยีสต์ ออโตไลเซทเพื่อผลิตกรดแลคติก ในถังหมักแบบไม่
ต่อเนื่อง (BREWER'S YEAST AUTOLYSATE UTILIZATION FOR LACTIC
ACID PRODUCTION IN BATCH FERMENTOR) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.จิรภานต์
เมืองนาโพธิ์, 78 หน้า.

E47217

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองผลิตกรดแลคติกในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่องโดยใช้แบคทีเรีย
L.salivarius subsp. salivarius ATCC 11741 และมี น้ำตาลกลูโคสจาก cassava starch
hydrolysate (CSH) กับ บรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซทเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ตามลำดับ โดย
งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะของพีเอช, ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (commercial grade, CG),
ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจาก CSH, ความเข้มข้นของยีสต์สกัด (yeast extract, YE) และความ
เข้มข้นของบรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซทที่ใช้ในกระบวนการหมักต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและการ
ผลิตกรดแลคติก นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำตาลกลูโคส (CG) กับ น้ำตาลกลูโคสจาก
CSH และ ยีสต์สกัด กับ บรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซท ต่อการผลิตกรดแลคติก และศึกษาลักษณะของความขม
ที่มีอยู่ในบรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซทต่อการผลิตกรดแลคติก จากการศึกษาพบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส
(CG) และ YE จะให้ผลที่ดีต่อการผลิตกรดแลคติกมากกว่าน้ำตาลกลูโคสจาก CSH และ บรียเวอร์ยีสต์
ออโตไลเซท แต่เราพบว่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของการผลิตกรดแลคติกโดยการใช้น้ำตาลกลูโคสจาก CSH
และ บรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซท มีค่าที่เหมาะสม (0.72-0.91) ดังนั้นการนำน้ำตาลกลูโคสจาก CSH
และ บรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซท มาผสมใช้กับน้ำตาลกลูโคส (CG) และ YE เพื่อลดต้นทุนการผลิตจึง
เป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ จากงานวิจัยสรุปได้ว่าค่าพีเอช, ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (CG),
ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจาก CSH, และความเข้มข้นของบรียเวอร์ยีสต์ออโตไลเซทที่เหมาะสม
ต่อการผลิตกรดแลคติก คือ 5.5, 70 กรัม/ลิตร, 70 กรัม/ลิตร, และ 48 มล./ลิตร, ตามลำดับ นอกจากนี้
ยังพบว่า การกำจัดความขมที่มีอยู่ใน BYA ออกจะช่วยให้การเจริญเติบโตจุลินทรีย์ดีขึ้น แต่ไม่มีผลต่อ
การผลิตกรดแลคติก

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....
สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี.....
ปีการศึกษา 2550.....

ลายมือชื่อนิสิต.....อนันตะทัต อนันตะทัต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....จิรภานต์ เมืองนาโพธิ์.....

4770417321 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD: LACTIC ACID / FERMENTATION / BREWER'S YEAST
AUTOLYSATE / CASSAVA STARCH HYDROLYSATE / *L. SALIVARIUS SUBSP.*
SALIVARIUS

YODDANAI ANATKATAT: BREWER'S YEAST AUTOLYSATE
UTILIZATION FOR LACTIC ACID PRODUCTION IN BATCH
FERMENTOR. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.CHIRAKARN
MUANGNAPOH, Dr.Ing., 78 pp.

E47217

Lactic acid production in this study was carried out in a batch fermentor using lactic acid bacteria *Lactobacillus salivarius subsp. salivarius* ATCC 11741. Glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) and brewer's yeast autolysate (BYA) were used as carbon and nitrogen source for the producing lactic acid. The effect of pH, commercial grade glucose (CG) concentration, glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) concentration, yeast extract concentration (YE) and brewer's yeast autolysate (BYA) concentration on cell growth and lactic acid production were investigated. In addition, the comparison between CG and CSH, YE and BYA were studied. Moreover, we studied the effect of the bitterness of BYA on lactic acid production. We found that the CG and YE had more good effect for lactic acid production than CSH and BYA. Whereas, a higher lactic acid yields were investigated from using CSH and BYA as a carbon and nitrogen source, so it recommends that the blending of CG with CSH and YE with BYA for lactic acid production is the one choice for reduce the cost of carbon and nitrogen source. The optimum pH, commercial grade glucose (CG) concentration, cassava starch hydrolysate (CSH) concentration and brewer's yeast autolysate (BYA) concentration for lactic acid production were found to be 5.5, 70 g/l, 70 g/l and 48 ml/l, respectively. Moreover, the result shows that the bitterness of BYA didn't effect the lactic acid production but the debittering of the bitterness was good for cell growth.

Department.....Chemical Engineering

Student's signature.....*Y. Anatkatat*.....

Field of study.....Chemical Engineering

Advisor's signature.....*C. Muangnaphoh*.....

Academic year.....2007

NOMENCLATURE

BYA	=	brewer's yeast autolysate
cont.	=	continuous culture
CSH	=	cassava starch hydrolysate
CSL	=	corn steep liquor
F	=	Volumetric flow rate (l/h)
Hydr.	=	hydrolysate
K	=	Product destruction rate (h^{-1})
LA	=	lactic acid
M	=	Maintenance
m	=	Maintenance factor (h^{-1})
P	=	Product formation
perm.	=	permeate
recirc.	=	recirculation of cells
S	=	Substrate concentration (g-substrate/l)
V	=	Working volume (l)
X	=	Cell concentration (g-cell/l)
YE	=	yeast extract
$Y_{p/s}$	=	Product yield (g-product/g-substrate)
$Y_{x/s}$	=	cell yield (g-cell/g-substrate)
μ	=	Specific growth rate (h^{-1})
γ	=	Specific death rate (h^{-1})
q_p	=	Specific production rate (g-product/g-cell h)
q_s	=	Specific consumption rate (g-substrate/g-cell h)
r_s	=	Substrate consumption rate (g/l h)

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI)	iv
ABSTRACT (ENGLISH)	v
ACKNOWLEDGMENTS	vi
NOMENCLATURE	vii
CONTENTS	viii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
CHAPTER	
I. INTRODUCTION.....	1
II. THEORY AND LITERATURE REVIEW	
2.1 Theory	
2.1.1 Lactic acid.....	3
2.1.2 Lactic acid fermentation.....	4
2.1.3 Fermentation process and mathematical analysis ...	6
2.1.4 Spent brewer's yeast.....	11
2.1.5 Brewer's yeast autolysate and bitterness.....	13
2.1.6 Cassava starch hydrolysate.....	14
2.2 Literature review	
2.2.1 Production of lactic acid.....	16
2.2.2 Brewer's yeast autolysate and bitterness.....	24
III. MATERIALS AND METHODS	
3.1 Chemicals.....	27
3.2 Equipments.....	27
3.3 Methods	
3.3.1 Lactic acid fermentation.....	28
3.3.2 Brewer's yeast autolysis.....	31
V. RESULTS AND DISCUSSION	
4.1 The effect of pH on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	33

CHAPTER	PAGE
4.2 The effect of glucose concentration (Commercial grade, CG) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 1741.....	36
4.3 The effect of glucose concentration (from Cassava starch hydrolysate, CSH) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	39
4.4 The comparison of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) on lactic acid production of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	41
4.5 The effect of brewer’s yeast autolysate (BYA) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	44
4.6 The comparison of yeast extract (YE) and brewer’s yeast autolysate (BYA) on lactic acid production of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	47
4.7 The effect of the bitterness of brewer’s yeast autolysate (BYA) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	49
VI. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	
5.1 Conclusions.....	51
5.2 Recommendations.....	51
REFERENCES.....	52
APPENDICES	
APPENDIX A.....	57
APPENDIX B.....	60
APPENDIX C.....	63
APPENDIX D.....	66
APPENDIX E.....	76
VITA.....	78

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
Table 2-1	Physical properties of lactic acid.....	3
Table 2-2	Major lactic acid bacteria in fermented plant products.....	5
Table 2-3	Average composition of dried brewer's yeast.....	12
Table 2-4	Typical B vitamin contents of dried brewer's yeast.....	12
Table 2-5	Approximate an amino acid content in the protein fraction of brewer's dried yeast.....	13
Table 2-6	Nutrients in cassava roots.....	15
Table 2-7	The lactic acid production.....	21
Table B-1	Component of fermentation medium for lactic acid production using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	61
Table B-2	Experiment data of optical density at 600 nm in batch Fermentation.....	62
Table C-1	Experiment data of cell dry weight, glucose and lactic acid concentration in batch fermentation.....	64
Table D-1	The effect of pH on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	67
Table D-2	The effect of the initial glucose concentration (Commercial grade, CG) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	69
Table D-3	The effect of glucose concentration (from Cassava starch hydrolysate, CSH) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp.</i> <i>salivarius</i> ATCC 11741.....	70

TABLE		PAGE
Table D-4	The effect of brewer's yeast autolysate (BYA) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	71
Table D-5	The effect of the bitterness of brewer's yeast autolysate (BYA) on lactic acid production in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	72
Table D-6	The effect of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) in batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using YE = 5 g/l).....	73
Table D-7	The effect of yeast extract (YE) and brewer's yeast autolysate (BYA) in batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 using glucose from CSH (70 g/l).....	74
Table D-8	The effect of the bitterness of brewer's yeast autolysate (BYA) in batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using CSH 70 g/l and BYA 48 ml/l).....	75
Table E-1	The amount of total nitrogen (%) of yeast extract and brewer's yeast autolysate.....	77
Table E-2	The effect of the debittering of Brewer's yeast autolysate on the amount of total nitrogen.....	77

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
Figure 2-1	Optical isomeric forms of lactic acid	3
Figure 2-2	The pathway of lactic acid production.....	4
Figure 2-3	Phases of microbial growth in batch culture.....	9
Figure 2-4	Growth Associated Product Formation.....	10
Figure 2-5	Mixed Mode Product Formation.....	10
Figure 2-6	Non-Growth Associated Product Formation.....	11
Figure 2-7	Structures of humulones and lupulones.....	14
Figure 2-8	Various process alternatives for lactic acid production from starch.....	16
Figure 3-1	Inoculum flask of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i>	29
Figure 3-2	Fermentor CSTR, 4 in series	29
Figure 3-3	preparation of clean brewer's yeast cream.....	31
Figure 4-1	Effect of pH on cell growth of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	34
Figure 4-2	Effect of pH on glucose consumption of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	35
Figure 4-3	Effect of pH on Lactic acid production of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	35
Figure 4-4	Effect of pH on kinetic parameters of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	36
Figure 4-5	Effect of glucose concentration on cell growth of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	37
Figure 4-6	Effect of glucose concentration on glucose consumption of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	38
Figure 4-7	Effect of glucose concentration on lactic acid production of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	33

FIGURE	PAGE
Figure 4-8	Effect of the initial glucose concentration on kinetic parameters of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741..... 39
Figure 4-9	Effect of glucose concentration from CSH on cell growth of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741..... 40
Figure 4-10	Effect of glucose concentration from CSH on lactic acid Production of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741..... 40
Figure 4-11	Effect of the initial glucose concentration from CSH on kinetic parameters of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741..... 41
Figure.4-12	The effect of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) on cell growth of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using YE = 5 g/l)..... 42
Figure.4-13	The effect of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) on glucose consumption of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using YE = 5 g/l)..... 43
Figure.4-14	The effect of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) on lactic acid production of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using YE = 5 g/l)..... 43
Figure.4-15	The effect of the commercial grade glucose (CG) and glucose from cassava starch hydrolysate (CSH) on kinetic parameters of batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using YE = 5 g/l)..... 44
Figure 4-16	The effect of brewer's yeast autolysate (BYA) on cell growth of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using 70 g/l of glucose from CSH)..... 45

FIGURE		PAGE
Figure 4-17	The effect of brewer's yeast autolysate (BYA) on glucose consumption of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741(using 70 g/l of glucose from CSH)...	45
Figure 4-18	The effect of brewer's yeast autolysate (BYA) on lactic acid production of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741(using 70 g/l of glucose from CSH).....	46
Figure 4-19	The effect of brewer's yeast autolysate (BYA) on kinetic parameters of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 (using 70 g/l of glucose from CSH).....	46
Figure 4-20	Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 using glucose from CSH (70 g/l). (□) cell dry weight (g/l), (Δ) glucose concentration (g/l), (◇) lactic acid concentration (g/l) of yeast extract (YE); (■) cell dry weight (g/l), (▲) glucose concentration (g/l), (◆) lactic acid concentration (g/l) of Brewer's yeast autolysate (BYA).....	48
Figure 4-21	The effect of yeast extract (YE) and brewer's yeast autolysate (BYA) on kinetic parameter of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 using glucose from CSH (70 g/l).....	48
Figure 4-22	Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 using glucose from CSH (70 g/l) and BYA (48 ml/l). (□) cell dry weight (g/l), (Δ) glucose concentration (g/l), (◇) lactic acid concentration (g/l) of Brewer's yeast autolysate (BYA); (■) cell dry weight (g/l), (▲) glucose concentration (g/l), (◆) lactic acid concentration (g/l) of Brewer's yeast autolysate (de bitterness)...	50
Figure 4-23	The effect of the bitterness of brewer's yeast autolysate (BYA) on lactic acid yield of Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741 using glucose from CSH (70 g/l) and BYA (48 ml/l).....	50
Figure A-1	Calibration curve of cell dry weight.....	58
Figure A-2	Calibration curve of glucose concentration.....	58

FIGURE		PAGE
Figure A-3	Calibration curve of lactic acid concentration.....	59
Figure B-1	The effect of fermentation medium component on cell growth of Batch fermentation using <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741.....	62
Figure C-1	Batch fermentation of <i>L.salivarius subsp. salivarius</i> ATCC 11741. (▲) cell dry weight, (◆) glucose, (■) lactic acid conducted in 250 Erlenmeyer flask; (Δ) cell dry weight, (◇) glucose, (□) lactic acid conducted in 1l fermentor.....	65
Figure D-1	pH in batch fermentation of lactic acid using <i>L.salivarius subsp.</i> <i>salivarius</i> ATCC 11741 (YE = 5 g/l, glucose 20 g/l).....	68