Thesis Title Optimization for Tannase Production from Dried Longan Seed Powder by *Aspergillus niger* 56MS1

Author Mr. Virun Visuthihada

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Charin Techapun

ABSTRACT

Tannase was produced by *Aspergillus niger* 56MS1 on finely ground dried longan seed. The Czepak Dox's basal medium supplemented with finely ground dried longan seed was fermented under solid state and submerged fermentation at 30 $^{\circ}$C and initial pH 5.0. The result showed that the highest tannase produced under submerged fermentation, was higher than solid state fermentation. Supplementation of external carbon and another nitrogen sources on tannase production were also studied. Five different additional carbon sources including glucose, sucrose, glycerol, soluble starch and tannic acid were tested for the effect on tannase fermentation. It was found that the highest tannase activity was obtained from dried longan seed supplemented with tannic acid. For seven different nitrogen sources including peptone, yeast

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

extract, malt extract, NH_4NO_3, NH_4Cl, KNO_3 and $NaNO_3$ along with finely ground dried longan seed were studied. The sodium nitrate showed the highest tannase activities. The medium components were optimized by using the Central Composite Design (CCD). The best medium composition for tannase production were composed of 3.92% dried longan seed powder, 8.72% tannic acid, 0.04% $NaNO_3$, 0.0002% $FeSO_4.7H_2O$ and 0.01% $MgSO_4.7H_2O$. Effects of fermentation condition including temperature, initial pH, shaking rate, initial inoculum size and incubation time on tannase production in SmF have been studied. *A. niger* 56MS1 produced the highest tannase level (16.47 U/gds) in SmF at 31 °C, initial pH of 5.5, shaking rate of 222 rpm and 1×10^7 spores/mL inoculum concentration during the first 7 days of culture.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์แทนเนสจากผงเมล็ดลำไยแห้งโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 56MS1
ผู้เขียน	นายวิรัน วิสุทธิธาดา
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชรินทร์ เตชะพันธุ์

บทคัดย่อ

จากการผลิตเอนไซม์แทนเนสโดยเชื้อรา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 56MS1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czepak Dox's basal medium ที่มีเมล็ดลำไยแห้งบด ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 พบว่าในอาหารเหลวเชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่าในอาหารแข็ง การศึกษาผลของการใช้แหล่งของคาร์บอนเสริมและไนโตรเจนเสริมที่มีต่อการผลิตเอนไซม์แทนเนส ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเสริมมี 5 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส กลีเซอรัล สตาร์ช และ กรดแทนนิค พบว่า ในอาหารที่มีเมล็ดลำไยแห้งที่มีการเติมกรดแทนนิคเป็นแหล่งคาร์บอนเสริม สามารถให้กิจกรรมของเอนไซม์แทนเนสสูงที่สุด สำหรับแหล่งไนโตรเจนเสริมมี 7 ชนิด คือ เพปโทน ยีสต์เอกซ์แทรก มอล์ทเอกซ์แทรก แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมคลอไรด์ โพแตสเซียมไนเตรท และโซเดียมไนเตรท ที่เติมลงในอาหารที่มีส่วนผสมของเมล็ดลำไยแห้งบด พบว่าโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนเสริมที่สามารถให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด เมื่อศึกษาส่วนประกอบของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์แทนเนสโดยใช้วิธี Central Composite Design (CCD) พบว่าส่วนประกอบของอาหารที่ดีที่สุดประกอบด้วย เมล็ดลำไยแห้งร้อยละ 3.92 น้ำหนักต่อปริมาตร กรดแทนนิคร้อยละ 8.72 น้ำหนัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่อปริมาตร โซเดียมไนเตรท ร้อยละ 0.04 น้ำหนักต่อปริมาตร เฟอร์รัสซัลเฟตแฮปตะไฮเดรต ร้อยละ 0.0002 น้ำหนักต่อปริมาตร และ แมกนีเซียมซัลเฟตแฮปตะไฮเดรต ร้อยละ 0.01 น้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อศึกษาผลของสภาวะในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวต่อการผลิตเอนไซม์แทนเนส ได้แก่ อุณหภูมิในการหมัก pH เริ่มต้น อัตราการเขย่า ปริมาณเชื้อตั้งต้น และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ผลปรากฏว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ทำให้เชื้อรา *A. niger* สายพันธุ์ 56MS1 สามารถผลิตเอนไซม์แทนเนสได้สูงที่สุด (16.47 หน่วยเอนไซม์ต่อกรัมสารตั้งต้น) คือ อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส pH เริ่มต้น เท่ากับ 5.5 อัตราการเขย่า 222 รอบต่อนาที และใช้ปริมาณเชื้อตั้งต้น 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved