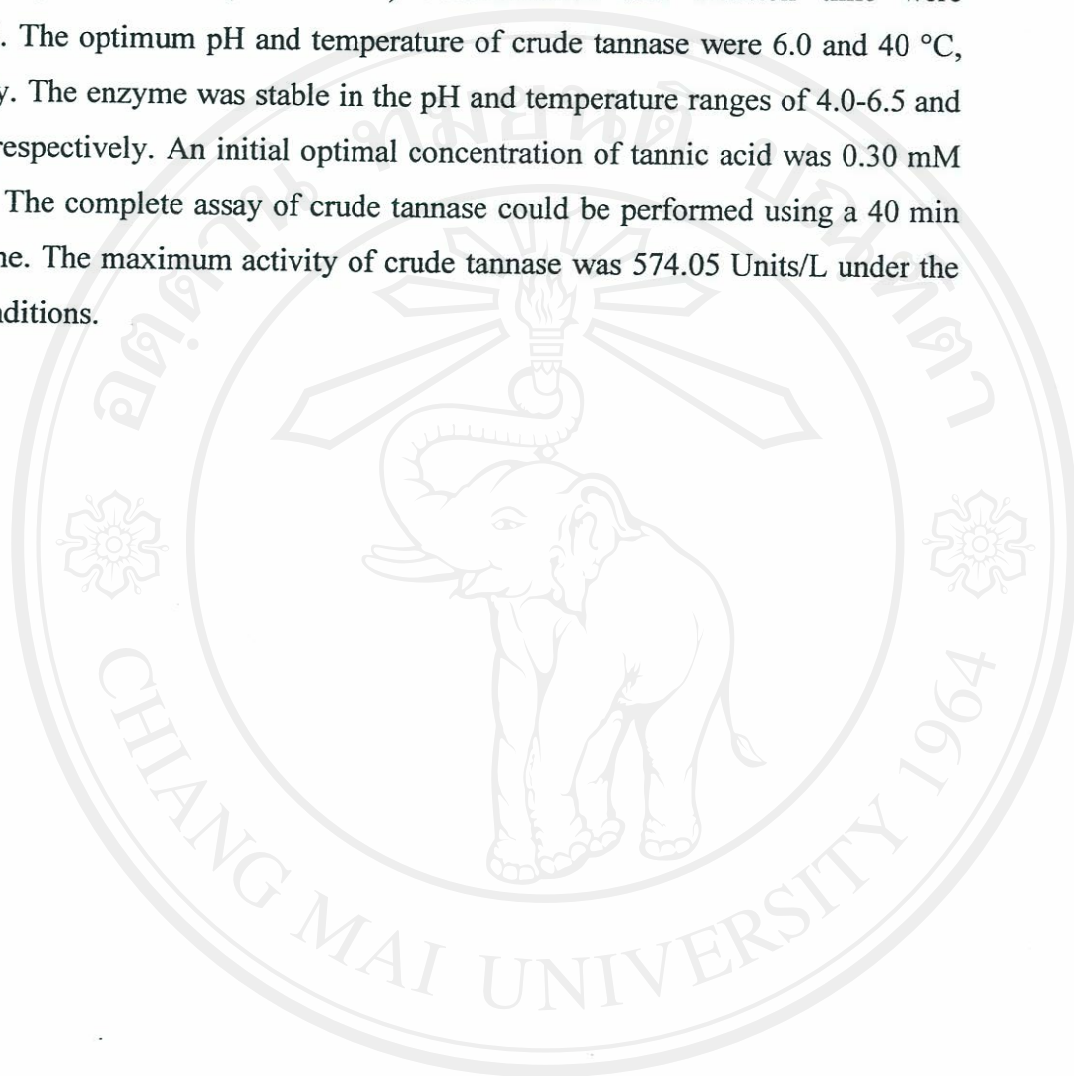


Thesis Title	Production and Characterization of Tannase from <i>Aspergillus niger</i> 56MS1
Author	Miss Malaiporn Duangban
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Prasert Hanmoungjai

ABSTRACT

Tannase produced by *Aspergillus niger* 56MS1 using solid state fermentation (SSF) system is an extracellular enzyme. Effect of solid media used for inoculum preparation, type of synthetic sponges used as a solid support, fermentation conditions and compositions of a production liquid medium on tannase production were investigated in this research. The suitable solid medium used for inoculum preparation was Czapek's Dox minimal agar containing 1% (w/v) tannic acid, the highest tannase yield of 17.24 Units/L was obtained. The different types of synthetic sponge used as a solid support for tannase production were examined. It was found that a baby bath sponge with 12.00 mL medium added was a suitable solid support. The desirable conditions for tannase production were initial pH 5.0, 30 °C, 96 h incubation time and 0.70 g baby bath sponge with 10.00 mL medium added (moisture content of 93.40% (w/w)). By using the optimum condition, the enzyme production was 20.33 Units/L. The suitable compositions of the production liquid medium were as followed (g/L): tannic acid 30.00; (NH₄)₂SO₄, 15.00; glucose 10.00; KH₂PO₄, 0.07; KCl, 0.13; MgSO₄.7H₂O, 0.07; MnCl₂.4H₂O, 0.50; CaCl₂.2H₂O, 1.39; K₂HPO₄, 0.02 and FeSO₄.7H₂O, 0.01. Under the optimal condition, the maximum tannase yield of 221.28 Units/L was obtained at 156 h which was 14.3 fold greater than that previously obtained. The addition of different surfactants (Tween 80, sodium lauryl sulfate, Triton X-100) to the liquid medium was investigated and it was shown that they had

no significant influence on tannase production. Furthermore, the characteristics of crude tannase, including optimum pH and temperature, pH stability and thermostability, substrate (tannic acid) concentration and reaction time were determined. The optimum pH and temperature of crude tannase were 6.0 and 40 °C, respectively. The enzyme was stable in the pH and temperature ranges of 4.0-6.5 and 30-50 °C, respectively. An initial optimal concentration of tannic acid was 0.30 mM (0.51 g/L). The complete assay of crude tannase could be performed using a 40 min reaction time. The maximum activity of crude tannase was 574.05 Units/L under the optimal conditions.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตและการหาลักษณะเฉพาะของเอนไซม์แทนเนส
	จากเชื้อ <i>Aspergillus niger</i> 56MS1
ผู้เขียน	นางสาวมาลัยพร ควงบาล
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ประเสริฐ หาญเมืองใจ

บทคัดย่อ

เอนไซม์แทนเนสที่ผลิตได้จากจากเชื้อรา *Aspergillus niger* 56MS1 โดยใช้กระบวนการหมักบนของแข็งเป็นเอนไซม์ชนิดที่ปล่อยออกสู่นอกเซลล์ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของชนิดของอาหารแข็งที่ใช้ผลิตหัวเชื้อเริ่มต้น ชนิดของฟองน้ำสังเคราะห์ที่ใช้เป็นวัสดุแข็งรองรับ สภาพะในการหมัก และ องค์ประกอบของอาหารเหลว ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์แทนเนส จากผลการทดลองพบว่า อาหารแข็งที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อเริ่มต้นคือ Czapek's Dox minimal agar ที่เติมกรดแทนนิกร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีการผลิตเอนไซม์แทนเนสสูงสุดเท่ากับ 17.24 ยูนิตต่อลิตร จากการศึกษาถึงผลของฟองน้ำสังเคราะห์ชนิดต่างๆ ที่ใช้เป็นวัสดุแข็งรองรับต่อการผลิตเอนไซม์แทนเนส พบว่า ฟองน้ำสังเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุแข็งรองรับ คือ ฟองน้ำสำหรับอาบน้ำเด็กที่เติมอาหารเหลว 12.00 มิลลิลิตร สภาพะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์แทนเนส ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง และปริมาณอาหารเหลวเท่ากับ 10.00 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักฟองน้ำ 0.70 กรัม หรือคิดเป็นความชื้นร้อยละ 93.40 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากการใช้สภาพะที่เหมาะสมดังกล่าวทำให้สามารถผลิตเอนไซม์แทนเนสได้ 20.33 ยูนิตต่อลิตร องค์ประกอบที่เหมาะสมของอาหารเหลว ได้แก่ กรดแทนนิก 30.00 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 15.00 กรัมต่อลิตร กลูโคส 10.00 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.07 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.13 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.07 กรัมต่อลิตร แมงกานีสคลอไรด์ 0.50 กรัมต่อลิตร

แคลเซียมคลอไรด์ 1.39 กรัมต่อลิตร ไคโทเพสซีเอ็มไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.02 กรัมต่อลิตร และ เฟอร์รัสซัลเฟต 0.01 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเกิดการผลิตเอนไซม์แทนเนสสูงสุด เท่ากับ 221.28 ยูนิต์ต่อลิตร ที่ 156 ชั่วโมง ซึ่งเพิ่มขึ้นจากก่อนหน้านี้ 14.3 เท่า จากการเติมสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ (Tween 80, sodium lauryl sulfate, Triton X-100) ลงในอาหารเหลว พบว่า สารทุกชนิดไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์แทนเนส นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึง คุณสมบัติของเอนไซม์แทนเนสหยาบซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน ความสามารถในการทนกรด-ด่างและอุณหภูมิ ความเข้มข้นสารตั้งต้น (กรดแทนนิก) และระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา ซึ่งพบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แทนเนสหยาบมีดังนี้ ค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 6.0 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยเอนไซม์สามารถทนความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิได้ในช่วง 4.0-6.5 และ 30-50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแทนนิกเริ่มต้นคือ 0.30 มิลลิโมลาร์ (0.51 กรัมต่อลิตร) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาคือ 40 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เอนไซม์แทนเนสหยาบมีค่ากิจกรรมการทำงานสูงสุดเท่ากับ 574.05 ยูนิต์ต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved