ปริยดา สิทธิศาสตร์ : ประสิทธิภาพการล้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการหมักผลเชอร์รี่เปรี้ยว (*Prunus cerasus* L.) เพื่อลด ไดเมโธเอท ตะกั่ว *Sclerotium rolfsii* ปนเปื้อนในข่า (*Alpinia galanga* (L.) Wild.) (WASHING EFFECTIVENESS OF BIOSURFACTANT FROM SOUR CHERRY (*Prunus cerasus* L.) FOR REDUCING DIMETHOATE, LEAD, *Sclerotium rolfsii* CONTAMINATED IN GALANGAL (*Alpinia galanga* (L.) Wild.)) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก, 98 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ และทดสอบประสิทธิภาพ (biosurfactant) หาความเป็นไปได้ของการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้เป็นสารฆ่าเชื้อ (sanitizer) สำหรับกระบวนการล้างเพื่อลดการปนเปื้อนทางด้านเคมี และชีวภาพในผลิตภัณฑ์ผัก ผลไม้สดตัดแต่ง (Fresh-Cut produce) และทดสอบความปลอดภัยของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังปกติ เพื่อเป็นต้นแบบในการนำไปใช้ล้างสำหรับลดการปนเปื้อนในวัตถุดิบทางการเกษตร

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็นสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ (nonionic surfactant) ที่เกิดจากกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ในการทดสอบกระบวนการล้างจึงใช้ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 ส่วนในล้านส่วน (มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าสารละลายคลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide solution) คือ 8 ส่วนในล้านส่วน เพื่อลดดัชนีความเสี่ยงสูงสุดที่ปนเปื้อนในข่า (*Alpinia galanga* (L.) Wild) คือ เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ไดเมโธเอท และตะกั่ว โดยกระบวนการล้างที่ประกอบด้วยการล้างแบบน้ำไหลผ่านนาน 2 นาที จากนั้นแช่ในน้ำที่มีส่วนผสมของสารฆ่าเชื้อ นาน 5 นาที โดยวัตถุดิบที่นำมาล้างเป็นข่าที่ผ่านการเติมในปริมาณที่มากเกินพอ (challenge) ด้วยเส้นใยของ *S. rolfsii* 10 กรัมของน้ำหนักเปียก ต่อข่า 1 กิโลกรัม พบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้นอย่างต่ำ 150 ส่วนในล้านส่วนขึ้นไป สามารถควบคุมปริมาณเชื้อราที่หลงเหลือสุดท้ายในข่าตั้งแต่หลังกระบวนการล้างไปจนถึงการบ่มที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส ให้อยู่ในระดับ 4.00 log CFU/g (มาตรฐานกำหนด น้อยกว่า 4.00 log CFU/g ของอาหารสด) และที่ระดับความเข้มข้นนี้ได้นำไปทดสอบกลไกการยับยั้งเชื้อรา พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพส่งผลต่อผนังเซลล์ของเส้นใย (hypha wall) ทำให้เกิดการเสียสมดุลบริเวณชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ที่มีองค์ประกอบของไขมันและโปรตีนในชั้นนี้ และส่งผลต่อเม็ดสเคลอโรเทีย (sclerotia) โดยชะลอการงอกของเส้นใย (germ tube) นอกจากนี้มีสารพฤกษเคมี (phytochemical) ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเป็นส่วนประกอบในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการเกิดฟอง ยับยั้งเชื้อรา แบคทีเรีย และมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในสารชำระล้าง (detergent) ทางการค้า คือ

ซาโปนินอยู่ในระดับ 194.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดสารตกค้างในข่าที่ผ่านการเติมไดเมโธเอทปริมาณมากเกินพอ 0.2 มิลลิกรัมต่อข่า 1 กิโลกรัม และข่าที่ผ่านการเติมตะกั่วปริมาณมากเกินพอ 1 มิลลิกรัมต่อข่า 1 กิโลกรัม พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 50 ถึง 200 ส่วนในล้านส่วน สามารถลดปริมาณการตกค้างของไดเมโธเอท ให้อยู่ในระดับที่น้อยกว่า 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสามารถลดปริมาณตะกั่วเมื่อเทียบกับข่าที่ไม่ผ่านการล้าง (No wash) เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการนำไปใช้งาน การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังปกติ (Normal Dermal Fibroblast) และเซลล์มะเร็งตับ (SK-HEP-1) มีค่าความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ลดจำนวนลงร้อยละ 50 (IC_{50}) มากกว่า 3,000.00 ส่วนในล้านส่วน และที่ความเข้มข้นดังกล่าวยังคงมีเซลล์ผิวหนังปกติ และเซลล์มะเร็งตับที่รอดชีวิต (cell viability) สูงถึงร้อยละ 70.96 และ 75.55 ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการติดตามการเจริญของเซลล์ผิวหนังปกติ และเซลล์มะเร็งตับ (cell growth) แสดงถึงอัตราการเจริญของเซลล์มะเร็งตับมีความเป็นปกติ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 600 ส่วนในล้านส่วน ไม่ส่งผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ สรุปได้ว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถนำไปใช้ในกระบวนการล้างข่าเพื่อเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพและไม่เป็นพิษต่อผิวหนังปกติ โดยระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนจาก *S. rolfsii* ไดเมโธเอท และตะกั่ว คือ 150 ส่วนในล้านส่วน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

PRIYADA SITTISART : WASHING EFFECTIVENESS OF BIOSURFACTANT FROM SOUR CHERRY (*Prunus cerasus* L.) FOR REDUCING DIMETHOATE, LEAD, *Sclerotium rolfsii* CONTAMINATED IN GALANGAL (*Alpinia galanga* (L.) Wild.). THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYAWAN GASALUCK, Ph.D., 98 PP.

FRESH-CUT PRODUCE/BIOSURFACTANT/DECONTAMINATION OF SIGNIFICANT HAZARDS/FOOD SAFETY CONTROL

The aims of this research were to apply and evaluate the biosurfactant (BSF) effectiveness as a sanitizer to possibly be used for minimizing the chemical and biological hazards in fresh-cut products and to confirm the safety of biosurfactant affecting toxicity on cell cultures, which are the prototype of contamination level decreasing in agricultural materials by washing process.

The biosurfactant used in this research was non-ionic surfactant that was produced from the spontaneous microbial fermentation. The biosurfactant concentrations used were at 50, 100, 150 and 200 ppm (mg/L), which was higher than that of chlorine dioxide solution which was 8 ppm. In order to minimize the highest risk levels of *Sclerotium rolfsii*, dimethaoate and lead (Pb) in galangals (*Alpinia galanga* (L.) Wild.), the process steps were challenged by the wet mycelium of *S. rolfsii* 10 g in 1 kg to the galangal samples, and washed by the rinsing sample with water for 2 minutes, followed by the each sanitizer soaking for 5 minutes. The results showed that the biosurfactant concentration of at least 150 ppm could control the final level of mold (based on standard level, less than 4.00 log CFU/g of fresh food) at 4 ^{o}C,

while those concentrations were demonstrated by the mode of action, such as the hypha wall inhibitory, the leakage of cell membrane, of which composing lipid and protein retardation of sclerotia germination at germ tube. In addition, the bioactive phytochemical compound possessed the foam formation, fungal inhibition and antimicrobial, of which is contained in commercial detergent, function as biosurfactant called saponin is 194.31 µg/ml. According to the study of biosurfactant efficacy for reducing the pesticide and heavy metal by means of a challenge test, the dimethoate and lead were added to the galangal at an adequate amounts of 0.20 mg/kg and 1.00 mg/kg, respectively. The results showed that the biosurfactant concentration of 50-200 ppm (mg/L) could reduce the dimethoate < 0.02 mg/kg and lead (Pb) residue which was greater than that of the No-wash treatment. The normal dermal fibroblast and liver cancer cells (SK-HEP-1 cell) tests were performed to ensure the biosurfactant implementation toxicity. Results showed that the 50 percent inhibitory concentration (IC_{50}) was over 3,000.00 ppm (mg/L). These biosurfactant concentrations showed normal dermal fibroblast and liver cancer cells survival (cell viability) at 70.96 and 75.55 percent, respectively. Moreover, the cell growth of the normal dermal fibroblast and liver cancer cells revealed a normal growth rate of liver cancer cells. The biosurfactant concentration effectively of 600 ppm had no effect on the cell growth stimulation. In conclusion, the biosurfactant can be applied as a sanitizer for the galangal washing processes and is non-toxic to skin cells. The lowest effective concentration for reducing the *S. rolfsii*, dimethoate and lead contamination is 150 ppm.

School of Food Technology Student's Signature ปรียดา ศิลาธิสาสตร์

Academic Year 2015 Advisor's Signature