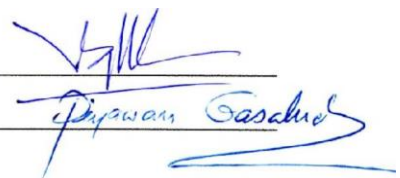


เหวียน ถิ หง็อก เอื่อง : การตอบสนองต่อความเครียดร่วมต่อสปอร์ของ *BACILLUS CEREUS* และ AFLATOXIN B1 ในกะหล่ำปลีดอง (CROSS-PREVENTIVE STRESS RESPONSES ON *BACILLUS CEREUS* SPORE AND AFLATOXIN B1 IN SAUERKRAUT) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก, 141 หน้า.

วัตถุประสงค์ของงานวิทยานิพนธ์นี้คือ เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเครียดร่วม โดยมีปัจจัยสำคัญ 3 ปัจจัย ได้แก่ เกลือ (1-5% (w/v)) กรดแลคติก (0.5-1.5% (w/v)) และอุณหภูมิระดับกลาง (65-85 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20 นาที ต่อการตอบสนองความเครียดเชื้อ *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ความเสี่ยงสูงสุดตัวแทนที่สร้างสปอร์ที่สามารถทนต่อความร้อนและค่าความเป็นกรดต่ำในผลิตภัณฑ์กะหล่ำปลีดอง ขอบเขตของการศึกษาคือ เตรียมสปอร์ของ *B. cereus* เพื่อทดสอบกับปัจจัยร่วมดังกล่าวในระดับสภาวะเครียดที่แตกต่างกันภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) เพื่อเขียนกราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติ (Response Surface Methodology) เมื่อผลการประเมินสภาวะเครียดร่วมทั้ง 3 ปัจจัย พบว่า สภาวะร่วมที่เหมาะสมคือปริมาณเกลือ 2% (w/v) กรดแลคติก 1.2% (w/v) และระดับพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สามารถทำลายโครงสร้างเป้าหมายของสปอร์ของ *B. cereus* โดยมีเกณฑ์การพิจารณาว่า ได้แก่ การรอดของสปอร์ การไหลของเยื่อหุ้มสปอร์ การเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มสปอร์ที่ยอมให้สารผ่านการปลดปล่อยกรดพิโคโลนิก การปลดปล่อยดีเอ็นเอ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการแสดงออกของยีนที่ทนต่อสภาวะกรด เกลือ และความร้อน (*DnaK hrcA AbrB* และ BC1006)

จากนั้นนำสภาวะเครียดที่เหมาะสมดังกล่าวมาทำการทวนสอบเพื่อเป็นขั้นตอนที่ต้องควบคุมกระบวนการสำคัญของการหมักกะหล่ำปลีดองและการฆ่าเชื้อด้วยระดับพาสเจอไรส์ โดยเติมเชื้อ *B. cereus* ในรูปสปอร์ และสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 ลงไปในสภาวะการหมักแบบ hetero-lactic fermentation ผลการทดลองพบว่าสภาวะเครียดร่วมของเกลือ 2% (w/v) กรดแลคติก 1.2% (w/v) และระดับพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ยังสามารถควบคุมปริมาณสปอร์ *B. cereus* และสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 ได้ 84.07% ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับระดับมาตรฐานความปลอดภัยอาหารด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กลุ่มผักดอง

ดังนั้นต้นแบบสภาวะเครียดร่วมดังกล่าวสามารถเป็นวิธีปฏิบัติที่ดีของมาตรการแผนควบคุมและ/หรือ แก้ไขปัญหาการปนเปื้อนปัจจัยเสี่ยงสูงสุดของสปอร์ *B. cereus* และอะฟลาทอกซิน บี 1 เพื่อกำหนดเป็นวิธีปฏิบัติมาตรฐานด้านสุขาภิบาล (Standard Sanitary Operating Procedure; SSOP) สำหรับอุตสาหกรรมอาหารกลุ่มผลิตภัณฑ์ผักดองที่สนใจต่อไป



NGUYEN THI NGOC HUONG : CROSS-PREVENTIVE STRESS
RESPONSES ON *BACILLUS CEREUS* SPORE AND AFLATOXIN B1 IN
SAUERKRAUT. THESIS ADVISOR :
ASST. PROF. PIYAWAN GASALUCK, Ph.D., 141 PP.

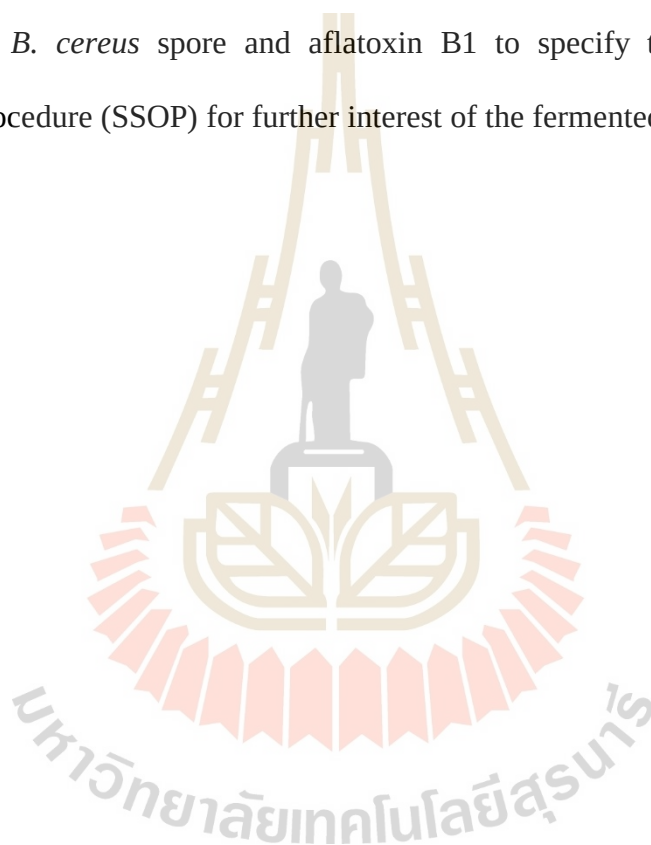
CROSS-PREVENTIVE FACTORS/STRESS ADAPTATION/*BACILLUS CEREUS*
RESISTANT STRAIN/AFLATOXIN B1/SAUERKRAUT

The purpose of this dissertation was to study the effect of multiple stress factors, such as NaCl 1-5% (w/v), lactic acid 0.5-1.5% (w/v), and mild temperatures (65-85°C) for 20 min on *Bacillus cereus* response, the highest risks are spore forming surrogate and tolerant under heat, and low pH in sauerkraut product. The scope of this study was to prepare the *B. cereus* spores for those combination factors assessed under nutrient broth to demonstrate the Response Surface Methodology (RSM). The accessible results of the three cross-preventive factors used with the appropriate combination factors of 2% (w/v) NaCl, 1.2% (w/v) lactic acid and pasteurization at 82°C for 20 min could damage the *B. cereus* spore target structure, based on combination criteria, which are spore survival, spore membrane fluidity, spore membrane permeability, dipicolonic acid release, DNA release, morphological characteristic, and the expression of acid, salt and heat resistant genes (*DnaK*, *hrcA*, *AbrB* and BC1006).

Afterwards, the appropriate suitable condition was verified as a process critical control measurement of sauerkraut fermentation and its pasteurization, the *B. cereus* spores and aflatoxin B1 were challenged to the hetero-lactic fermentation. The results

revealed that the hurdle combination of 2% (w/v) NaCl and 1.2% (w/v) lactic acid and pasteurization at 82°C for 20 min could still control the level of *B. cereus* spore outgrowth and decreased 84.07% of aflatoxin B1 ($p < 0.05$), which were relative to microbiological safety standard of fermented vegetable products.

Thus, the prototype of the hurdle stress condition could be a good practice as a plan of preventive and/or corrective action to solve the cross-contamination problem of high risk *B. cereus* spore and aflatoxin B1 to specify the Standard Sanitary Operating Procedure (SSOP) for further interest of the fermented vegetable industry.



School of Food Technology

Academic Year 2017

Student's Signature

Advisor's Signature