ปริยดา สิทธิศาสตร์ : สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีศักยภาพเพื่อใช้เป็นสารฆ่าเชื้อและมีผลต่อความเครียดของ *Listeria monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ผักผลไม้สด (fresh produce) ระหว่างการเก็บรักษา (POTENTIAL BIOSURFACTANT AS A SANITIZER AND THEIR EFFECTS ON *Listeria monocytogenes* STRESS IN FRESH PRODUCE DURING STORAGE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก, 126 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้คือ เพื่อประเมินศักยภาพของแบคทีเรียแลคติกในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ที่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนจากมะม่วงน้ำดอกไม้ (*Mangifera indica* Linn) สุกงอมได้ สารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้นี้ ต้องพิสูจน์อิทธิพลต่อการทำลายเซลล์เป้าหมายต่าง ๆ ของ *Listeria monocytogenes* รวมถึงสามารถทำลายยีน *sigB* ตลอดจนสามารถยืนยันถึงความปลอดภัยทางด้านจุลินทรีย์ตลอดการเก็บรักษาผักผลไม้สด

จากผลการคัดแยกแบคทีเรียแลคติก จากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกงอม พบว่าทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แสดงลักษณะเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ยับยั้ง *L. monocytogenes* โดย *Lactobacillus plantarum* MGL-8 มีศักยภาพที่ดีที่สุดในการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมเสริมสาร (1% (w/v) glycerol and 2% (w/v) sucrose) อัตราการเจริญสูงสุดพบชั่วโมงที่ 36 ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีค่าแรงตึงผิว 39.14 mN/m ดังนั้นเมื่อนำ *L. plantarum* MGL-8 ผลิตภายใต้สภาวะการหมักแบบ spontaneous ในถังหมัก พบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถปรับตัวใช้สารตั้งต้นใหม่ (น้ำมะม่วงสุกงอม) ร่วมกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นชนิดอื่น ซึ่งสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิว เท่ากับ 36.8 mN/m ในเวลาการหมักที่ 120 ชั่วโมง มีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (E24) สูงถึง 40.38% และสามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ในสภาวะที่มีการควบคุมปัจจัยในถังหมัก (ความเร็วใบพัด 100 rpm อัตราการให้อากาศ 1 vvm และอุณหภูมิ 35ºC) ร่วมกับการใช้ *L. plantarum* MGL-8 เป็นกล้าเชื้อในการหมักน้ำมะม่วงสุกงอม จะช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีปริมาณสารสกัดหยาบ 4.22 g/L หลังจากนั้นยืนยันประสิทธิภาพของการเป็นสารฆ่าเชื้อในการล้างผักผลไม้สด พบว่าที่ความเข้มข้น 350 400 และ 450 µg/mL ที่เวลารับสัมผัสนาน 20 20 และ 10 นาที ตามลำดับ ส่งผลต่อความเครียดของ *L. monocytogenes* (*sigB* gene; ทนต่อสารฆ่าเชื้อ) ซึ่งทำให้เกิดการตอบสนองต่อกลไกการยับยั้งผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์

ดังนั้นจึงนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้เพื่อล้างผักผลไม้สดที่ความเข้มข้น 400 และ 450 µg/mL ด้วยการแช่นาน 20 และ 10 นาที ตามลำดับ ส่งผลให้ยีน *sigB* ถูกทำลาย และเพียงพอที่จะควบคุมอัตราการอยู่รอดของ *L. monocytogenes* ที่จำลองการปนเปื้อนเกินมาตรฐานในผักคะน้าสด ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 12 และ 5ºC เป็นเวลา 14 วัน เช่นเดียวกับการล้างด้วยสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ($CaClO_2$) เข้มข้น 75 ppm กระบวนการล้างนี้สามารถเป็นต้นแบบสำหรับมาตรฐานขั้นตอนการปฏิบัติงานด้านสุขลักษณะ (SSOP) ได้ต่อไปในระดับอุตสาหกรรมอาหาร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา ชัชฎา ศิทธิสาสตร์

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

PRIYADA SITTISART : POTENTIAL BIOSURFACTANT AS A SANITIZER AND THEIR EFFECTS ON *Listeria monocytogenes* STRESS IN FRESH PRODUCE DURING STORAGE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PIYAWAN GASALUCK, Ph.D., 126 PP.

BIOSURFACTANT CHARACTERISTICS/INDIGENEOUS MICRO-FLORA FERMENTATION/BIOSURFACTANT PRODUCING PROFILE/*Listeria monocytogenes*/STRESS RESISTANT CELL TARGET/FRESH-PRODUCE SAFETY DURING STORAGE

The objective of this dissertation was to evaluate the potential native Lactic acid bacteria (LAB) isolates for biosurfactant (BSF) production, which is capable to use the overriped Nam Dok Mai mango (*Mangifera indica* Linn) juice as carbon and nitrogen source. It was proved that the efficiency of crude BSF as a sanitizer lethal to *sigB* gene damage with different cell targets of *Listeria monocytogenes*, during fresh-produce storage for ensuring the microbiological safety.

A total of 5 strains of LAB isolated from overriped Nam Dok Mai mango provided specific BSF characteristics and *L. monocytogenes* inhibition. The best was BSF producing strain *Lactobacillus plantarum* MGL-8, which utilized MRS medium with an extra supplement (1% (w/v) glycerol and 2% (w/v) sucrose), and a maximum growth rate at 36 h of which provided the highest BSF production at a surface tension value 39.14 mN/m. BSF produced by the potential strain resulted in spontaneous fermentation in the fermenter. It was found that *L. plantarum* MGL-8 co-culture adapted to the new substrate (overriped mango juice), and produced positive effects in reducing the surface tension to 36.8 mN/m, the percentage of E24 increased to the

highest level approximately 40.38% at 120 h, whereas antimicrobial properties against *L. monocytogenes* was the most effective. Suggesting that under optimum conditions (agitation speed 100 rpm, aeration rate 1 vvm and temperature 35ºC) combined with *L. plantarum* MGL-8 in mango juice fermented as a starter culture for producing dried crude BSF was enhanced to 4.22 g/L. Afterward, the appropriate dried crude BSF was verified as a sanitizing agent for washing fresh produce, resulting in a BSF stress concentration at 350, 400 and 450 µg/mL with an exposure time of 20, 20 and 10 min, respectively. Of which influence its antimicrobial action by the major function via cell membrane composition of *L. monocytogenes* (containing of *sigB* gene; sanitizer resistant gene).

Thus, BSF was subjected to fresh-produce, soaking 400 and 450 µg/mL BSF, for 20 and 10 min, respectively, resulting in damage to the *sigB* gene, and sufficient to control the survival rate of *L. monocytogenes* challenged Chinese kale produce during storage at 12 and 5ºC for 14 days as well as 75 ppm calcium hypochlorite solution ($CaClO_2$). So far, this washing procedure prototype would practically imply SSOP (sanitation standard operating procedure) in food safety management in the food industry.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Food Technology

Academic Year 2019

Student's Signature Priyada Sittisart

Advisor's Signature