

บุญกร ทองใบ : ผลงานสารลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์และไนซินต่อในโอลูมิเนสเซนต์ ชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม (bioluminescent *Salmonella typhimurium*) ที่เกาด์ติดบนผิวน้ำ ไก่ (EFFECT OF SANITIZING AGENTS AND NISIN ON BIOLUMINESCENT *Salmonella typhimurium* ATTACHED ON POULTRY SKIN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปียวารรณ กาลลักษณ์, 159 หน้า.
ISBN 974-533-462-6

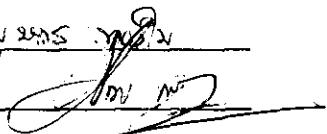
ในโอลูมิเนสเซนต์ ชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม เอส36 สร้างขึ้นโดยการกรานฟอร์เมชั่นด้วยพลาสมิคミニทีเอ็น ๕ ที่ประกอบด้วยยีน lux CDABE และยีนที่ด้านทานกานาไมซิน (kanamycin) โดยพบว่าเซลล์ของชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม เอส36 ในช่วงสเตรชั่นนารี เพส นั้นจะมีความด้านทานต่อไตรโซเดียม ฟอสเฟต, เชทซิลไพริดเนียม คลอไรด์ (ซีพีซี), โซเดียม แอลกอเตท และในชิ้นมากกว่าเซลล์ที่อยู่ในช่วงมิด เม็ก โพเนนเซียล เพส ซึ่งการทดลองที่ใช้ซีพีซี และในชิ้นนั้น ได้พิสูจน์ให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม เอส36 ยิ่งไปกว่านั้นค่าในโอลูมิเนสเซนต์ที่วัดได้จากในโอลูมิเนสเซนต์แบคทีเรียนนี้ เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วที่สามารถใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย ณ เวลานั้นของสารยับยั้งแบคทีเรียนชนิดต่างๆหรือตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการทำลายแบคทีเรียไว้ชั่วคราว

เนื้องจากส่วนของเนื้อเยื่อด้านนอก (outer membrane) ของแบคทีเรียนนิดแกรมลบซึ่งรวมถึงเชื้อชาลโอมานอล่าด้วยนั้น มีคุณสมบัติเป็นตัวบัดขวางความสามารถในการผ่านเข้าออกของสารต่างๆเข้าสู่เนื้อเยื่อด้านในของเซลล์ รวมถึงการป้องกันไม่ให้ในชิ้นผ่านเข้าไปสู่ไซโตพลาสมิค เมมเบรนได้ อย่างไรก็ตามหากความสามารถในการขัดขวางการยอมให้สารต่างๆผ่านเนื้อเยื่อด้านนอกนี้ถูกทำให้มีประสิทธิภาพลดลง เชื้อแบคทีเรียนนิดแกรมลบจะสามารถถูกยับยั้งได้ด้วยในชิ้น การเลี้ยงเซลล์ที่สภาวะอุณหภูมิและพิเชอชที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของชาลโอมานอล่าที่ระดับต่างๆกันและรวมถึงการใช้ซีพีซีและในชิ้นนั้น สามารถเปลี่ยนแปลงความสามารถในการยอมให้สารผ่านเข้าออกของเนื้อเยื่อส่วนนอกของชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม เอส36 ได้ ทำให้เกิดการสูญเสียการทำงานของตัวบัดขวางนี้และยังไปลดความสามารถด้านทานต่อในชิ้นของเซลล์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของชาลโอมานอล่า ไทฟิวเรียม เอส36 ซึ่งติดตามการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกระดาษและแบบส่องผ่านพบร่วมกับเซลล์ที่ถูกเลี้ยงที่อุณหภูมิและพิเชอชต่างๆกันทั้งที่ใช้และไม่ใช้ซีพีซีและในชิ้นนั้น จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ปรากฏให้เห็น รวมถึงการเกิดรอยบุ๋มและรูในส่วนผิว

เซลล์ จนถึงขั้นมีการยุบตัวจนเสียรูปร่างของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ เช่นมีการโปรงพองออกหรือมีที่ว่างในส่วนไขโตพลาสซีมเกิดขึ้น

ซีพีซีและ ไนซินยังมีผลต่อการบันยั่งชาล โนเนลดา ไทยพิมุเรียน เอส36 ที่ปั่นเวื่อนบนชาากໄກ โดยใช้น่องໄก่ที่ตัดให้มีขนาด 5×5 ซม. และทำการเติมเชื้อชาล โนเนลดา ไทยพิมุเรียน เอส36 ลงไปปั่นเวื่อน หลังจากนั้นก็ใช้ซีพีซีและ ไนซิน พบว่าซีพีซีที่ความเข้มข้น 0.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) นาน 120 วินาที และไนซินที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นาน 30 นาที สามารถลดจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตของชาล โนเนลดาลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และยังมีผลกระทบต่อลักษณะปรากฏของชาากໄก่เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าซีพีซีและ ไนซินนั้นมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนของชาล โนเนลดา ไทยพิมุเรียน เอส36 ที่ปั่นเวื่อนบนผิวนังน่องໄกในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C เป็นเวลา 6 วัน ได้ด้วย โดยมีการเปลี่ยนแปลงสีของหนังໄกเพียงเล็กน้อย ผลจากการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า ซีพีซีและ ไนซินมีความสามารถที่เสริมฤทธิ์กันในการยับยั่งชาล โนเนลดาที่ปั่นเวื่อนในชาากໄก ดังนั้นอาจคาดได้ว่าการใช้ซีพีซีและ ไนซินจะสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของชาล โนเนลดาในชาากໄก ซึ่งจะเพิ่มความปลอดภัยของชาากໄกและผลิตภัณฑ์จากໄก่ได้เพิ่มขึ้น

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนักศึกษา _____ น.๖๙๕ ๗๗๒
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____ 

BUSSAGON THONGBAI : EFFECT OF SANITIZING AGENTS AND
NISIN ON BIOLUMINESCENT *Salmonella typhimurium* ATTACHED ON
POULTRY SKIN. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYAWAN
GASALUCK, Ph.D. 159 PP. ISBN 974-533-462-6

BIOLUMINESCENT/*Salmonella*/NISIN/CETYLPIRIDINIUM CHLORIDE/
ELECTRON MICROSCOPY

Salmonella typhimurium S36 was constructed by transformation with the mini-Tn5 plasmid containing the *lux CDABE* cassette with kanamycin resistance gene. The stationary phase of *S. typhimurium* S36 cells are more resistant to trisodium phosphate (TSP), cetylpyridinium chloride (CPC), sodium lactate (SL) and nisin treatments than the mid-exponential phase cells. CPC-nisin proved the most effective treatment to inhibit *S. typhimurium* S36. Moreover, bacterial bioluminescence is an effective way of monitoring in real time the sensitivity of bacteria to antibacterial agents and other treatments.

Since the outer membrane (OM) of Gram-negative bacteria including *Salmonella*, act as a permeability barrier, preventing nisin from gaining access to the cytoplasmic membrane. However, if the OM permeability is reduced, Gram-negative bacteria can show nisin sensitivity. Temperature and pH stress and CPC-nisin treatment were able to alter the OM permeability of *S. typhimurium* S36, producing a loss of barrier function and reduced resistance to nisin. Appearing of morphological changes in *Salmonella* cells were examined using scanning and transmission electron microscopy. Temperature and pH stressed cells with and without treated with CPC-

nisin had perturbed cell morphology, including apparent indentations, craters in the cell surfaces and collapsed into irregular bodies. Nevertheless, blebs, cytoplasm-sparse of cells were observed.

CPC-nisin treatment has an affect on the inhibition of *S. typhimurium* S36 contaminated on chicken carcasses. The chicken drumstick sections (5 by 5 cm), inoculated with *S. typhimurium* S36, were then treated with CPC and further treated with nisin. It was found that the use of 0.5% (w/v) CPC for 120 sec and 100 μ gml⁻¹ nisin for 30 min decreased significantly ($p \leq 0.05$) cell viability with minimal effect on the chicken carcass appearance. Furthermore, the CPC-nisin treatment reduced the number of *S. typhimurium* S36 contaminated on chicken drumstick skin during stored at 4°C for 6 days with a slight difference in chicken skin color. These results demonstrated the synergistic activity of CPC and nisin treatment against *Salmonella* and could be expected to enhance the safety of chicken carcasses and other chicken products.

School of Food Technology
Academic Year 2005

Student's Signature Bumpon Thongboon
Advisor's Signature Jayawat Gaochit