

บุญกร ทองใบ : ผลของสารลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์และไนซินต่อไบโolumิเนสเซนส์
ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม (bioluminescent *Salmonella typhimurium*) ที่เกาะติดบน
ผิวหนังไก่ (EFFECT OF SANITIZING AGENTS AND NISIN ON
BIOLUMINESCENT *Salmonella typhimurium* ATTACHED ON POULTRY
SKIN) อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก, 159 หน้า.
ISBN 974-533-462-6

ไบโolumิเนสเซนส์ **ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม** เอส36 สร้างขึ้นโดยการทรานส์ฟอร์เมชัน
ด้วยพลาสมิดมินิ [ที]เอ็น 5 ที่ประกอบด้วยยีน *lux CDABE* และยีนที่ต้านทานกานาไมซิน
(kanamycin) โดยพบว่าเซลล์ของ**ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม** เอส36 ในช่วงสเตรซันนารี เฟส
นั้นจะมีความต้านทานต่อไตรโซเดียม ฟอสเฟต, เซทริลไพริดิเนียม คลอไรด์ (ซีพีซี), โซเดียม
แลคเตท และไนซินมากกว่าเซลล์ที่อยู่ในช่วงมิด [อี]ก โฟเนนเซียล เฟส ซึ่งการทดลองที่ใช้ซีพีซี
และไนซินนั้น ได้พิสูจน์ให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้ง**ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม**
เอส36 ยิ่งไปกว่านั้นค่าไบโolumิเนสเซนส์ที่วัดได้จากไบโolumิเนสเซนส์แบคทีเรียนี้ เป็น
วิธีการที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วที่สามารถใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย ณ
เวลานั้นของสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดต่างๆหรือตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการทำลายแบคทีเรียวิธี
อื่นๆ

เนื่องจากส่วนของเนื้อเยื่อด้านนอก (outer membrane) ของแบคทีเรียชนิดแกรม
ลบซึ่งรวมถึงเชื้อ**ซาลโมเนลลา**ด้วยนั้น มีคุณสมบัติเป็นตัวขัดขวางความสามารถในการผ่าน
เข้าออกของสารต่างๆเข้าสู่เนื้อเยื่อด้านในของเซลล์ รวมถึงการป้องกันไม่ให้ไนซินผ่านเข้า
ไปสู่ไซโตพลาสซึม เมมเบรนได้ อย่างไรก็ตามหากความสามารถในขัดขวางการยอมให้สารต่างๆ
ผ่านเนื้อเยื่อด้านนอกนี้ถูกทำให้มีประสิทธิภาพลดลง เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบจะสามารถถูก
ยับยั้งได้ด้วยไนซิน การเลี้ยงเซลล์ที่สภาวะอุณหภูมิและพีเอชที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ
ของ**ซาลโมเนลลา**ที่ระดับต่างๆกันและรวมถึงการใช้ซีพีซีและไนซินนั้น สามารถเปลี่ยน
แปลงความสามารถในการยอมให้สารผ่านเข้าออกของเนื้อเยื่อส่วนนอกของ**ซาลโมเนลลา ไทฟิมู**
เรียม เอส36ได้ ทำให้เกิดการสูญเสียการทำงานของตัวขัดขวางนี้และยังไปลดความต้านทานต่อ
ไนซินของเซลล์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ**ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม** เอส36 ซึ่ง
ติดตามการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและแบบส่องผ่าน
พบว่าเซลล์ที่ถูกเลี้ยงที่อุณหภูมิและพีเอชต่างๆกันทั้งที่ใช้และไม่ใช้ซีพีซีและไนซินนั้น จะมี
ผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ปรากฏให้เห็น รวมถึงการเกิดรอยบุ๋มและรูในส่วนผิว

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 μgml^{-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 Mongban*

Advisor's Signature *Jaywari Casali*