

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: **MRG5080082**

ชื่อโครงการ: การทำลายเชื้อโรค *Campylobacter jejuni* ในแผ่นชีวะโดยวิธีปลอดสารเคมี

ผู้วิจัย: 1. ณฐนนท์ ตราชู 2. ไมตรี สุทธิจิตต์ 3. ทิพรักษ์ วงชาติ

Email address: nathanon.t@msu.ac.th

ระยะเวลาของโครงการ: 1 ธันวาคม 2549-1 ธันวาคม 2551

Campylobacter jejuni เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในคน การทำลาย *C. jejuni* ส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี แต่ก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในอาหารและสิ่งแวดล้อม มีงานวิจัยที่ศึกษาศักยภาพของโอโซนและคลื่นวิทยุในการทำลายแบคทีเรียได้หลายชนิดและเป็นวิธีที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษและสารเคมีตกค้าง งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของโอโซนและคลื่นวิทยุต่อ *C. jejuni* ในการศึกษาการรอดชีวิตของ *C. jejuni* ในน้ำหลังจากได้รับโอโซนในช่วงเวลาต่างกัน พบว่าการรอดชีวิตของ *C. jejuni* ลดลงหลังจากได้รับโอโซนเป็นเวลามากขึ้น โดยหลังจากได้รับโอโซนเป็นเวลา 9 นาทีสามารถทำลาย *C. jejuni* ได้ทั้งหมดจากเชื้อเริ่มต้น 8 log CFU/ml ในการศึกษาการรอดชีวิตของ *C. jejuni* และ *C. jejuni* บนแผ่นชีวะของ *L. monocytogenes* ในน้ำและในน้ำนมหลังจากได้รับโอโซนในช่วงเวลาต่างกัน (เชื้อเริ่มต้น 4 log CFU/ml) พบว่าเมื่อ *C. jejuni* อยู่ใน medium ต่างกันจะทำให้รอดชีวิตต่างกัน คือ *C. jejuni* จะรอดชีวิตมากขึ้นเมื่ออยู่บนแผ่นชีวะของ *L. monocytogenes*, ในน้ำนมและน้ำ ตามลำดับจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของ *C. jejuni* และ *C. jejuni* บนแผ่นชีวะของ *L. monocytogenes* หลังได้รับโอโซนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าเมื่อ *C. jejuni* ได้รับโอโซนเป็นเวลา 5 นาที มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดในเซลล์และการเปลี่ยนแปลงของยีน พบว่าหลังจากที่ *C. jejuni* ได้รับโอโซน 9 นาที โปรตีนในช่วงมวลโมเลกุล 31-200 kDa มีการเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีน และสามารถทำลายยีนก่อโรค *cadF*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* และยีน *flaA* ของ *C. jejuni* ได้

การรอดชีวิตของ *C. jejuni* ที่ได้รับคลื่นวิทยุที่ความถี่ 100 kHz ในช่วงเวลาต่างกันพบว่าการรอดชีวิตของ *C. jejuni* ลดลงเมื่อได้รับคลื่นวิทยุเป็นเวลามากขึ้น ซึ่งเมื่อผ่านคลื่นวิทยุเป็นเวลา 30 นาทีสามารถลดจำนวน *C. jejuni* ได้เพียง 6% เท่านั้น มีการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนในช่วงมวลโมเลกุล 45.0-66.2 kDa เพียงเล็กน้อยและไม่ทำลายยีนก่อโรค *cadF*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* และยีน *flaA* ของ *C. jejuni*

โดยสรุปโอโซนสามารถทำลาย *C. jejuni* ในน้ำ, นำนม และแผ่นชีวะของเชื้อจุลินทรีย์อื่น (*L. monocytogenes*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อทำลาย *C. jejuni* ได้

ABSTRACT

Chemical sanitizers have been widely used to inactivate *C. jejuni*, consequentially leading to chemical contamination in foods and environment. The bacteriocidal effects of ozone have been studied on some bacteria but not *C. jejuni*. The objective of this research was to investigate the effects of ozone on survival of *C. jejuni*. The results showed that as ozone exposure time increased, *C. jejuni* survival decreased. *C. jejuni* at an initial load of 8 log CFU/ml was completely inactivated by ozone exposure for 9 min. Survival of *C. jejuni* and *C. jejuni* on biofilm of *Listeria monocytogenes* in water and milk were also studied. The survival of *C. jejuni* most improved by the presence of *L. monocytogenes* biofilm. The strain more survived in milk than in water. Transmission electron microscope revealed that 5 min ozone treatment caused cell membrane destruction in *C. jejuni* and *C. jejuni* on biofilm. The more severe ozone treatment for 9 min denatured soluble proteins with molecular weight ranging from 31-200 kDa and damaged virulence genes, *cadF*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* and *flaA*. In conclusion, ozone effectively inactivated *C. jejuni* suspended in water, milk and attached on biofilm of *L. monocytogenes*. Ozone showed a great potential to be used as sanitizing agent for *C. jejuni* inactivation in the food industry. *C. jejuni* cells were subjected to radio frequency at 100 kHz. The number of *C. jejuni* was reduced with increase exposure to the radio frequency. After 30 min of radio frequency exposure, the number of *C. jejuni* was reduced 6%. Gel electrophoresis of whole cell protein showed weak band of 45.0-66.2 kDa. Virulent genes (*cadF*, *cdtA*, *cdtB* and *cdtC*) and *flaA* were not affected by radio frequency treatment at 100 kHz.

In conclusion, ozone can potentially be used to inactivate *C. jejuni* in water, milk and on microbial biofilm (*L. monocytogenes*) and can apply to be used in food industry.