

<b>Thesis Title</b>	Inhibition of <i>Bacillus licheniformis</i> by Nisin in Pasteurized Milks	
<b>Author</b>	Ms. Boondarika Sumana	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Food Science and Technology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Dr. Tri Indrarini Wirjantoro	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Aphirak Phianmongkhon	Member
	Dr. Thararat Chitov	Member

### ABSTRACT

The objectives of this study “Inhibition of *Bacillus licheniformis* by nisin in pasteurized milk” included 1) to determine the optimum level of nisin to control the microbial growth in pasteurized milk produced from local milk and to extend the keeping quality of the milk; 2) to understand the effect of milk components, which were milk fat, lactose, casein and whey protein isolate (WPI), and sucrose on the effectiveness of nisin to control the growth of *B. licheniformis* in Imitated Milk System (IMS) and 3) to investigate the effects of nisin addition time into IMS solution and pasteurization condition on the activity of nisin to inhibit *B. licheniformis* in the IMS solution. The aim of this study was to have a better understanding about different milk components and processing conditions that affected the activity of nisin against Gram positive bacteria, in particular *B. licheniformis*, in pasteurized milk.

The presence of nisin in pasteurized milk significantly affected the growth of the survival microorganisms in the milk during its storage period. Applying 25 to 100 IU/ml nisin significantly produced lower microbial population in the milk compared to that of the pasteurized milk without the addition of nisin. The presence of 250 to 1,000 IU/ml nisin could maintain a microbial population of lower than 10 cfu/ml during 21 days of storage at 4 and 10°C. However, an optimum nisin level of 100 IU/ml was considered to be more appropriate to extend the keeping quality of pasteurized milk within the shelf

life of the product. *B. licheniformis* was one of the isolated bacteria in the spoilage pasteurized milk without nisin addition and was identified for 42.22% from the total isolated bacteria.

The activity of nisin to control the growth of *B. licheniformis* in IMS solution reduced in the presence of milk components, such as milk fat, lactose and casein. However, the presence of WPI in IMS solution enhanced the effectiveness of nisin against the target microorganism. When nisin was supplemented before pasteurization, a lag time of at least 30 min before the heating process should be given for the antimicrobial compound to produce a better effect during the shelf life of the IMS solution. Higher holding temperature of pasteurization worked synergistically with nisin to inhibit the growth of *B. licheniformis* in the IMS solution. Residual nisin activity in the pasteurized milk or IMS solution was influenced by initial supplementation level of nisin, the presence of different milk components, the addition time of nisin before pasteurization, the pasteurization condition, storage temperature and storage period.



ระดับ 25 ถึง 100 IU ต่อมิลลิลิตรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมตัวอย่างควบคุม และเมื่อเติมไนซินในปริมาณที่สูงขึ้นเป็น 250 ถึง 1,000 IU ต่อมิลลิลิตร พบว่า จุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษานาน 21 วันที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณไนซินที่ 100 IU ต่อมิลลิลิตร เป็นปริมาณที่นำมาศึกษาถึงในการทดลองต่อไป และจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์ที่ไม่มีการเติมไนซินนั้น พบว่า เชื้อ *B. licheniformis* เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดจากการตรวจนับและคัดแยกจากน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์ที่ไม่มีการเติมไนซิน โดยพบเป็นจำนวน 42.22% จากจำนวนจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ จึงเลือกที่จะนำมาศึกษาถึงผลการทำงานของไนซินในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว

องค์ประกอบในน้ำนมสังเคราะห์ เช่น ไขมัน แลคโตส และ เคซีน มีผลทำให้ประสิทธิภาพของไนซินในการควบคุมการเจริญของ *B. licheniformis* ลดลง ส่วนเวย์โปรตีนจะช่วยเสริมประสิทธิภาพของไนซินในการยับยั้ง *B. licheniformis* การเติมไนซินในน้ำนมก่อนการพาสเจอร์ไรส์ 30 นาที เสมือนการเติมสารต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์ มีผลช่วยยืดอายุของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และการใช้อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้นจะ

ช่วยเสริมประสิทธิภาพของไนซินในการยับยั้งการเจริญของ *B. licheniformis* ประสิทธิภาพของไนซินที่คงเหลือในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์หรือน้ำนมสังเคราะห์ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้นของไนซินที่เติมลงไป องค์ประกอบของน้ำนมที่มีความแตกต่างกัน ระยะเวลาที่เติมไนซินก่อนการพาสเจอร์ไรส์ ภาวะในการพาสเจอร์ไรส์ อุณหภูมิในการเก็บรักษา และระยะเวลาการเก็บรักษา เป็นต้น