

แบบสรุปผู้บริหาร
[Executive Summary]

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย / แผนงานวิจัย

แผนงานวิจัย

(ภาษาไทย) การพัฒนาเทคโนโลยีฟลูออเรสเซนต์เพื่อตรวจสอบเชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว

(ภาษาอังกฤษ) Development of Rapid Fluorogenic Methods for Foodborne Pathogens

โครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

โครงการย่อยที่ 1

(ภาษาไทย) การสังเคราะห์และศึกษาสมบัติฟลูออเรสเซนต์ในอนุภาคซิลิกาเพื่อพัฒนาเทคนิควิเคราะห์เชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว

(ภาษาอังกฤษ) Synthesis and characterization of dye-doped silica particles for the development of rapid detection technique for foodborne pathogens

โครงการย่อยที่ 2

(ภาษาไทย) การสังเคราะห์และศึกษาสมบัติอนุภาคอะมิโนเฟอร์โรแมกเนติกสำหรับวิเคราะห์เชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว

(ภาษาอังกฤษ) Synthesis of amino functionalized ferromagnetic particles for the rapid detection of foodborne pathogens

1.2. ชื่อคณะผู้วิจัย

1.2.1 หัวหน้าโครงการ:

รศ.ดร. ประเวทย์ ตัญเฒ่าวงศ์

ศูนย์ความปลอดภัยอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

โทรศัพท์ 0-2470-8885 โทรสาร 0-2427-8050, 0-2470-8885

E-mail: pravate.tui@kmutt.ac.th ลักษณะและสัดส่วนของงาน (60%)

1.2.2 ผู้ร่วมงานวิจัย

- ดร. กิตติศักดิ์ชัย นามจันทร์

ภาควิชาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

โทรศัพท์ 0-2470-8873 โทรสาร 0-2427-8785

E-mail: kittisakchai.nam@kmutt.ac.th ลักษณะและสัดส่วนของงาน (10%)

- ดร. อารี ทัตติยพงษ์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โทรศัพท์ 0-2951-0000 ext. 98331 โทรสาร 0-2951-5449

E-mail: aree.t@dmasc.mail.go.th ลักษณะและสัดส่วนของงาน (10%)

- ผศ.ดร.ภิญทิรา เกตุแก้ว

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

โทรศัพท์ 0-2470-8841 โทรสาร 0-2470-8843

E-mail: pintira.ket@kmutt.ac.th ลักษณะและสัดส่วนของงาน (10%)

- รศ.ดร.พรณี ต้อยเต็มวงศ์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2579-2400 โทรสาร 0-2579-2351

E-mail: fscikrt@ku.ac.th ลักษณะและสัดส่วนของงาน (40%)

- ดร. อรรรรณ ชุณหชาติ

สาขาจุลชีววิทยา สายชีววิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

จ. นครปฐม โทรศัพท์ 034-281-105-6 เบอร์ภายใน 7668 โทรสาร 034-281-057

e-mail: ffaswoc@ku.ac.th และ chor19@yahoo.com

- รศ.ชัยวัฒน์ กิติกุล

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

โทรศัพท์ 0-3435-1895, 0-3428-1105 โทรสาร 0-3428-1057

E-mail: fscicvk@ku.ac.th, chaivat@gmail.com

ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ศ.ดร. พิเชษฐ์ ลิ้มสุวรรณ

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

โทรศัพท์: 0-2470-8868 โทรสาร: 0-2470-8050 E-mail: ipicuwat@kmutt.ac.th

(ลงชื่อ).....หัวหน้าโครงการ
(รศ.ดร.ประเวทย์ ต้อยเต็มวงศ์)

...14. /...มิถุนายน... /...2556...

2. สรุปโครงการวิจัย

โครงการวิจัยภายใต้แผนงานการวิจัย การพัฒนาเทคโนโลยีฟลูออเรสเซนซ์เพื่อตรวจสอบเชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว เป็นการสนับสนุนประเภททุน การวิจัยที่มุ่งเป้าตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศ 11 กลุ่มเรื่องและ 9 กลุ่มเรื่องด่วน กลุ่มเรื่อง เทคโนโลยีใหม่และเทคโนโลยีที่สำคัญเพื่ออุตสาหกรรมของสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2555 โครงการนี้มีโจทย์วิจัยคือ วิธีการวิเคราะห์เชื้อทั่วไปสามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อโรคในอาหารได้ตั้งแต่ ประมาณ 10^3 - 10^5 cells/g ขึ้นไป จึงต้องเสียเวลาน้อยกว่า 18-24 ชั่วโมงหรือมากกว่าในการเพิ่มปริมาณเชื้อ (enrichment) ให้มีปริมาณอยู่ในระดับที่เครื่องมือหรือชุดทดสอบ สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) ปัจจุบันวิธีที่สามารถเพิ่มจำนวนเชื้อหรือสารพันธุกรรมของเชื้ออย่างรวดเร็วเพื่อให้ตรวจวัดได้ในเวลาเร็ว แต่ก็ยังใช้เวลานานไม่น้อยกว่า 18 ชั่วโมงในการเพิ่มจำนวนเชื้อ และ 4 ชั่วโมงในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ทั้งยังใช้เครื่องมือซับซ้อน ราคาแพง และใช้สารเคมีราคาสูงในปริมาณมาก การวิจัยนี้มีแนวความคิดกลับกับกระบวนการเดิม คือต้องการเพิ่มสัญญาณที่แสดงออกมาให้มีปริมาณสัญญาณมากพอที่จะทดแทนจุดอ่อนที่มีเชื้อในปริมาณน้อย แทนการเพิ่มปริมาณเชื้อเป้าหมายที่ใช้เวลานาน ทำให้ตรวจสอบได้เร็วกว่าเดิมมาก

การวิจัยนี้จึงได้มุ่งทำการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิลิกาที่มีเม็ดสีฟลูออเรสเซนซ์บรรจุอยู่ในปริมาณมาก ประมาณ 1000-10000 โมเลกุล/อนุภาค การที่อนุภาคมีขนาดเล็กกว่าแบคทีเรียเป้าหมายประมาณ 1000 เท่า หากนำมาใช้ร่วมกับระบบวิทยาภูมิคุ้มกัน (Immunology) ที่มีประสิทธิภาพสูงและจำเพาะต่อการวิเคราะห์เชื้อ สามารถเข้าเกาะจับกับเชื้อโรคเป้าหมายได้ในปริมาณมากกว่า 1000 อนุภาค/เซลล์ ทำให้ตรวจวิเคราะห์เชื้อเป้าหมายในปริมาณน้อยได้ เพราะขยายการแปลงสัญญาณได้ถึง 10^6 หรือ 1 ล้านเท่าเช่นกัน การตรวจวิเคราะห์มีความจำเพาะสูงและรวดเร็วขึ้นกว่าเดิมได้

การวิจัยประกอบด้วยสองส่วนคือ โครงการที่ 1 เป็นการพัฒนาอนุภาคซิลิกาฟลูออเรสเซนซ์เพื่อจับกับแบคทีเรียก่อโรค เพื่อการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ส่วนโครงการที่ 2 เป็นการพัฒนาอนุภาคแม่เหล็ก เพื่อใช้จับกับเชื้อโรคเป้าหมายโดยตรง หรือจับอนุภาคซิลิกาเพื่อแยก เชื้อหรืออนุภาคออกจากสารละลายหรืออาหารที่ทดสอบ สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อได้ในกรณีที่ต้องการ โดยมีรายละเอียดดังนี้

โครงการที่ 1 การสังเคราะห์และศึกษาสมบัติฟลูออเรสเซนซ์ในอนุภาคซิลิกาเพื่อพัฒนาเทคนิควิเคราะห์เชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว เป็นการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิลิกาฟลูออเรสเซนซ์ คุณสมบัติทางด้านกายภาพ และเคมีของอนุภาค เพื่อให้ได้อนุภาคลักษณะกลมที่มีขนาดเล็ก สม่ำเสมอ ไม่เกาะกันเป็นก้อน และมีคุณสมบัติทางด้านสีฟลูออเรสเซนซ์ที่คงตัว การสังเคราะห์อนุภาคใช้วิธีไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันร่วมกับเทคนิคโซลเจลเพื่อสังเคราะห์อนุภาคฟลูออเรสเซนซ์ซิลิกานาโนโดยอนุภาคที่ได้มีรูปร่างกลม และขนาดของอนุภาคขึ้นอยู่กับอัตราส่วนโดยโมลของน้ำกับสารลดแรงตึงผิว (Wo) อัตราส่วนโดยโมลของตัวช่วยของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิว (P) ปริมาณสารตั้งต้น (TEOS) และปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา (NH_4OH) ในการสังเคราะห์ซิลิกา ผลการทดลองภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อขนาดอนุภาค โดยเมื่อปริมาณแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง อนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นมีโมเลกุลสีฟลูออเรสเซนซ์เป็นพื้นโมเลกุลแทรกอยู่ในโครงร่างซิลิกา ซึ่งช่วยปกป้องโมเลกุลสีจากการถูกชะล้างโดยออกซิเจนจากสิ่งแวดล้อมทำให้สามารถคงการเรืองแสงได้นาน เมื่อตัดแปรพันธะเคมีที่ผิวอนุภาคทำให้เกิดหมู่เอมีน และแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิลโดยผ่านการทำปฏิกิริยากับ succinic anhydride หลังจากนั้นทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ควบคู่คือ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) และ N-hydroxysuccinimide (NHS) เพื่อเคลือบด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเป้าหมายบนพื้นผิวของอนุภาคเพื่อให้สามารถเข้าจับกับแบคทีเรีย

เป้าหมาย ในที่นี้ได้ทดสอบกับเชื้อ *Salmonella* *Campylobacter* และ เชื้อ *E. coli* O157 เพราะมีแอนติบอดีจากห้องปฏิบัติการอื่นในประเทศ หรือมีจำหน่ายในตลาด

โครงการที่ 2 การสังเคราะห์และศึกษาสมบัติอนุภาคอะมิโนเฟอร์โรแมกเนติกสำหรับวิเคราะห์เชื้อโรคในอาหารอย่างรวดเร็ว เป็นการพัฒนาการสังเคราะห์อนุภาคเฟอร์โรแมกเนติกที่มีหมู่อะมิโนเกาะติด ด้วยวิธี Polyol ทั้งนี้เพื่อให้สามารถนำแอนติบอดีเข้าเกาะได้ง่าย โดยใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไปในการสังเคราะห์ พบว่าวิธี polyol ในหม้อนิ่งความดัน 121°C รอบละ 2 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ สามารถสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก รูปลูกบาศก์ (face centered cubic) ที่มีสมบัติแม่เหล็ก สามารถยึดเกาะกับแอนติบอดีได้ จึงสามารถจับเชื้อก่อโรคเป้าหมายได้ตามแอนติบอดีที่นำมาเคลือบที่ผิว และสามารถเคลื่อนไปในสารละลายด้วยการแกว่งให้จับเชื้อเป้าหมายได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถแยกเชื้อออกมาได้ด้วยแรงแม่เหล็ก จึงเป็นการเพิ่มจำนวนเชื้อได้อย่างรวดเร็ว สามารถนำเชื้อมาล้างหรือวิเคราะห์ต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การวิจัยในปีแรก สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิลิกาฟลูออเรสเซนต์ และ อนุภาคเฟอร์โรแมกเนติก ได้สำเร็จ พร้อมศึกษาสมบัติของอนุภาคทั้งสอง รวมถึงเคลือบด้วยแอนติบอดีจำเพาะ ดังนั้น วิธีของทั้งสองโครงการนี้สามารถนำมาใช้แยกกัน หรือใช้ร่วมกันตามความเหมาะสม เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการวิเคราะห์เชื้อ ด้วยการเพิ่มปริมาณเชื้อเป้าหมายอย่างรวดเร็วด้วยการจับเกาะ ลดเวลาการวิเคราะห์ลงได้อย่างมาก เหลือเพียงประมาณไม่เกิน 1 ชั่วโมงเท่านั้น

ในการวิจัยต่อไป จะทำการศึกษาการเพิ่มการผลิตอนุภาคในปริมาณมากเพื่อนำไปใช้งานจริง เป้าหมายที่ต้องการภายในเวลา 1 ปี คือ

1. สังเคราะห์อนุภาคได้มากกว่าเดิมอย่างน้อยครั้งละ 20 เท่า เพื่อให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ในชุดทดสอบ
2. การพัฒนาแอนติบอดีชนิดโมโนโคลนอลกับเชื้อโรคสำคัญของประเทศ เช่น *Campylobacter*
3. พัฒนาชุดทดสอบแบบ dot blot หรือ dip stick หรือ immunochromatography (IC) (กรณี IC จะต้องใช้แอนติบอดีจำเพาะ 3 ตัวที่ต่างกัน) พร้อมทดสอบประสิทธิภาพ
4. พัฒนาชุดเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อโรคเป้าหมายด้วยอนุภาคแม่เหล็กเฟอร์โรแมกเนติก พร้อมทดสอบประสิทธิภาพ

5. บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (Abstract)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาใช้เทคนิคซิลิกาฟลูออเรสเซนต์ (เฟอร์โรแมกเนติก) เพื่อเพิ่มสัญญาณในการตรวจจับแบคทีเรียก่อโรคอย่างรวดเร็ว และอนุภาคแม่เหล็กเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อเป้าหมายอย่างรวดเร็วกว่าวิธีมาตรฐาน ทำให้การตรวจหาเชื้อก่อโรคทำได้อย่างรวดเร็วในเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง การใช้อนุภาคฟลูออเรสเซนต์ซิลิกานาโนมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีที่ใช้กันอยู่เดิมเนื่องจากสามารถขยายสัญญาณการเรืองแสงได้สูงและลดเวลาการวิเคราะห์ได้มาก โดยเพิ่มสัญญาณทดแทนการเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย โครงการวิจัยแรกเป็นการพัฒนาอนุภาคซิลิกาฟลูออเรสเซนต์ ส่วนโครงการที่สองเป็นการพัฒนาอนุภาคเฟอร์โรแมกเนติก

อนุภาคซิลิกาสังเคราะห์ด้วยวิธีไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันร่วมกับเทคนิคโซลเจลสังเคราะห์อนุภาคฟลูออเรสเซนต์ซิลิกานาโนโดยอนุภาคที่ได้มีรูปร่างกลม มีความคงตัวสูง เรืองแสงได้นาน และง่ายต่อการติด

ฉลากด้วยสารชีวโมเลกุล และขนาดของอนุภาคขึ้นอยู่กับอัตราส่วนโดยโมลของน้ำกับสารลดแรงตึงผิว (Wo) อัตราส่วนโดยโมลของตัวช่วยของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิว (P) ปริมาณสารตั้งต้น (TEOS) และปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา (NH_4OH) ในการสังเคราะห์ซิลิกา ผลการทดลองภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อขนาดอนุภาค โดยเมื่อปริมาณแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง อนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นมีโมเลกุลสีฟลูออเรสเซนต์เป็นพื้นโมเลกุลแทรกอยู่ในโครงร่างซิลิกา ซึ่งช่วยปกป้องโมเลกุลสีจากการถูกชะล้างโดยออกซิเจนจากสิ่งแวดล้อมทำให้สามารถคงการเรืองแสงได้นาน เมื่อตัดแปรพันธะเคมีที่ผิวอนุภาคทำให้เกิดหมู่เอมีน และแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิลโดยผ่านการทำปฏิกิริยากับ succinic anhydride หลังจากนั้นทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ควบคู่คือ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) และ N-hydroxysuccinimide (NHS) เพื่อติดฉลากแอนติบอดีที่ผิวอนุภาค แล้วนำไปทดสอบการตรวจวิเคราะห์เชื้อก่อโรคเช่น *Vibrio cholera* O139, *Campylobacter* และ *Salmonella* พบว่ามีการเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์และจากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีอนุภาค FDS-NPs จำนวนมากเกาะที่ผิวของเชื้อตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย

ส่วนกรณีการสังเคราะห์อนุภาคเฟอร์โรแมกเนติกใช้วิธี polyol technique พบว่า สามารถสังเคราะห์อนุภาค amino-MNPs ในหม้อนิ่งความดัน ที่อุณหภูมิต่ำ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2 ชม/รอบ จำนวนตั้งแต่ 1-4 รอบ ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของอนุภาคด้วยเทคนิคการกระจายแสงรังสีเอกซ์ (XRD/EDS) สามารถยืนยันได้ว่าอนุภาค amino-MNPs มีรูปร่างลูกบาศก์ (face centered cubic) เป็นแม่เหล็กบริสุทธิ์ที่มีสมบัติเข้าใกล้ superparamagnetic ผลวิเคราะห์ด้วย FT-IR แสดงว่ามีหมู่เอมีโนบนอนุภาคจริง ทำให้สามารถยึดเกาะกับแอนติบอดี หรืออิมมูโนโกลบูลิน IgGs ไว้บนผิวได้ประมาณ $7.20\text{ }\mu\text{g/mg}$ โดยมีกลูตารัลดีไฮด์เป็นตัวเชื่อมต่อและทำการบ่มที่อุณหภูมิ $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ นาน 24 h อนุภาคนี้อาจจับกับเชื้อเป้าหมายที่เฉพาะกับแอนติบอดีบนผิวอนุภาค เป็นการเพิ่มจำนวนเชื้อเป้าหมายได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ สามารถจับเชื้อ เป้าหมายได้ 1.6 cells/ml เมื่อบ่มนาน 1 ชั่วโมง เทคนิคนี้ทำให้เพิ่มความสะดวกในการตรวจพบเชื้อ ด้วยการทำให้เชื้อเข้มข้นในเวลาอันสั้น

สรุปได้ว่า การวิจัยในปีแรกนี้ สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิลิกาฟลูออเรสเซนต์ และอนุภาคเฟอร์โรแมกเนติกได้สำเร็จ พร้อมศึกษาสมบัติของอนุภาค ตลอดจนการปรับสภาพผิวอนุภาคเพื่อให้มีหมู่คาร์บอกซิลและหมู่เอมีโน เพื่อเป็นที่ยึดเกาะของแอนติบอดีได้ ทำให้สามารถจับเกาะแบคทีเรียเป้าหมายได้ อนุภาคทั้งสองสามารถแยกใช้งานในการจับยึดเชื้อโรค หรือสามารถใช้ร่วมกันในการจับยึดเชื้อโรคด้วยอนุภาคซิลิกา แล้วจับแยกออกมาจากสารละลายหรืออาหาร ด้วยอนุภาคเฟอร์โรแมกเนติกร่วมกับแรงแม่เหล็ก ทำให้มีศักยภาพในการนำไปใช้งานด้านการวิเคราะห์เชื้อได้อย่างกว้างขวาง

คำสำคัญ : อนุภาคฟลูออเรสเซนต์ซิลิกานาโน / ไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน / เทคนิคโซลเจล /

แอนติบอดี/ อะมิโนฟังก์ชันนัลไลซ์ เฟอร์โรแมกเนติก / ซาลโมเนลลา อี โคไล โอ 157 เอช 7

Abstract

The objectives of this work were to optimize the synthesis steps to produce small and uniform size of 2 particles; silica (FDSNPs) and amino functionalized ferromagnetic (FMNs) particles. The synthesis employed combining sol-gel with water in oil microemulsion techniques to produce monodisperse, spherical particles with a designed microstructure. The FDS-NPs were characterized by transmission electron microscopy (TEM), XRD, FTIR and FT Raman. Ammonium hydroxide played the major roles for the size of uniform particles. The FDS-NPs generated by doping the thousands of fluorescent dye (Rubpy) molecules were encapsulated in the silica matrix that also served to protect the Rubpy dye from photodamaging oxidation. The FDS-NPs were extremely bright and photostable. Further, the surface of the nanoparticles was modified by using amine-modification followed by carboxyl-modification through a succinic anhydride reaction. Carboxyl-modified FDS-NPs reacted with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) and N-hydroxysuccinimide (NHS) to immobilize with antibody on their surface. The antibody labeled FDS-NPs attaches themselves to the surface of the antigen. Under the fluorescence microscopy the emission of fluorescein was bright. Under the scanning electron microscopy (SEM) thousands of FDS-NPs on surface of *Salmonella* could be detected. It is envisaged that the so-developed method is promising for detection of pathogens such as *V.cholerae* O139, *Salmonella*, and *Campylobacter* as well as other foodborne pathogens.

For amino-functionalized ferromagnetic, the synthesis of antibody conjugated amino-functionalized magnetic nanoparticles (amino-MNPs) for enhancing sensitivity of the detection of *Escherichia coli* O157:H7 was attempted. The amino-MNPs were successfully synthesized using modified polyol technique at 121 °C, 2 hours/cycle for 1-4 cycles. The XRD and FTIR patterns indicated the particles as faced center cubic with amino functional groups on the surface. Amounts of NaOH affected to the rates of MNP formation. The addition of 2.50% (w/v) NaOH for 3 reaction cycles produced desirable structure of amino-MNPs of average 43 ± 9 nm in diameter with cubic shape. Results indicated that MNPs coated directly with purified IgGs against *E. coli* O157:H7 could separate a very low amount of *E. coli* O157:H7 in 1 hour (16 CFU in 10 ml or 20 cells in 25 g sample without enrichment). It was concluded that aminofunctionalized MNPs were successfully developed to facilitate the attachment of antibodies. The particles could capture and concentration the target cells to the detection level (10^3 cells/g). The particles were separated from liquid with magnetic force, hence increase the sensitivity of the detection of EHEC in foods without enrichment.

It is concluded that the synthesis of silica fluorescent and ferromagnetic particles was successful. They could be used to attract the target bacteria individually or in combination.

Keywords : Fluorescent doped-Silica Nanoparticles / Water in Oil Microemulsion / Sol-Gel / Antibody / Amino functionalized ferromagnetic particles / *Salmonella* / *E. coli* O157:H7