195875

ทิพย์ฤทัย ปอน้อย 2550: ผลของสภาวะเครียดต่อการสร้างโปรตีนชนิดเครียดและความสามารถในการต้านทานข้ามต่อสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของวิบริโอ พาราฮีโมไลติคัส ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์วราภา มหากาญจนกุล, Ph.D, 95 หน้า

Vibrio parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบจากการบริโภคอาหารทะเล ในกระบวนการผลิตอาหารมีขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ แต่พบว่าเซลล์บางส่วนสามารถรอดชีวิตและต้านทานต่อสภาวะเครียด ทำให้พบการปนเปื้อนในอาหารได้ ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของสภาวะเครียดต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนภายในเซลล์เครียดของ *V. parahaemolyticus* ที่คาดว่าเป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้เซลล์รอดชีวิตได้ ทั้งนี้ได้ศึกษาความสามารถของเซลล์เครียด *V. parahaemolyticus* ในการต้านทานข้ามต่อสารฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วย

เมื่อนำเซลล์ thermostable direct hemolysin (TDH) *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ vp-293 และ vp-330 และเซลล์ thermostable direct hemolysin-related hemolysin (TRH) *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ FS-004, FS-006 และ FS-015 ที่ผ่านสภาวะเครียด 4 สภาวะ ได้แก่ ความร้อนที่ 42 องศาเซลเซียส 30 นาที การขาดอาหาร (น้ำตาลกลูโคส) 12 ชั่วโมง สารเปอร์แอซิติกแอซิด 1.0 ppm 15 นาที และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.17 ppm 15 นาที พบว่ากระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีนชนิดเครียด (stressed protein) ในแบคทีเรียชนิดนี้ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดของโปรตีนในเซลล์เครียดด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสแบบหนึ่งมิติพบว่ามีการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้นหลายชนิด โปรตีนส่วนใหญ่ที่สร้างขึ้นมีขนาดใกล้เคียงกับโปรตีนในกลุ่ม heat shock proteins (HSPs) ได้แก่ DnaK, GroEL, DnaJ, HSP90 และ RpoH รวมถึงโปรตีนในกลุ่ม general stress proteins นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์เครียดดังกล่าวแสดงความสามารถในการต้านทานข้ามต่อสารฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30 ppm เป็นเวลา 30 นาทีได้ พบว่าเซลล์ที่ผ่านสภาวะเครียดทั้ง 4 สภาวะข้างต้นมีค่า-ดี (D-values) มากกว่าเซลล์ปกติ โดยเซลล์ที่ผ่านสภาวะเครียดจากการขาดอาหารมีค่า-ดีสูงที่สุด เซลล์เครียดจากการขาดอาหารของสายพันธุ์ vp-293 ที่เป็นตัวแทนของ TDH *V. parahaemolyticus* มีค่า-ดีเป็น 27.6 นาที และเซลล์เครียดสายพันธุ์ FS-015 ตัวแทนของ TRH *V. parahaemolyticus* มีค่า-ดีเป็น 17.2 นาที ซึ่งให้ค่า-ดีมากกว่าเซลล์ปกติถึง 3-4 เท่า การที่เซลล์ TDH และ TRH *V. parahaemolyticus* ที่ผ่านสภาวะเครียดทั้ง 4 สภาวะ สามารถแสดงความต้านทานและต้านทานข้ามต่อสารฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้คาดว่าเกิดจากโปรตีนชนิดเครียดต่าง ๆ ที่สร้างขึ้นช่วยให้เซลล์รอดชีวิตและสร้างการต้านทานต่อสภาวะเครียดอื่น ๆ ได้ ดังนั้นกรรมวิธีการผลิตอาหารทะเลจึงควรให้ความสำคัญต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในวัตถุดิบและระหว่างการผลิตเพื่อป้องกันไม่ให้มีเซลล์เครียดที่ต้านทานต่อปัจจัยการผลิตและการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งเซลล์เหล่านั้นมีโอกาสรอดชีวิตและก่อให้เกิดความเสี่ยงกับการบริโภคอาหารทะเลแปรรูปได้

195875

Tip-ruthai Pornoi 2007: Effects of Various Stresses on Stressed Proteins Production and Cross Protection Against Hydrogen Peroxide of *Vibrio parahaemolyticus*. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Mrs. Warapa Mahakarnchanakul, Ph.D. 95 pages

Vibrio parahaemolyticus is the foodborne bacteria known as the cause of gastroenteritis disease from seafood consumption. Although, the food processing has many steps for reduce this bacteria but some cells can survive and become to stress state. The stressed cells have been shown that cells can resist better to stress conditions, thus cells have found in food. The objectives of this study aim to study the protein profile of *V. parahaemolyticus* from various stress conditions which expect to be part of the mechanism of cells survive. In addition, the study of stressed *V. parahaemolyticus* cells to express cross protection against hydrogen peroxide are demonstrated.

The 2 strains of thermostable direct hemolysin (TDH) *V. parahaemolyticus* (vp-293 and vp-330) and 3 strains of thermostable direct hemolysin-related hemolysin (TRH) *V. parahaemolyticus* (FS-004, FS-006 and FS-015) were subjected to 4 stress conditions as heat shock at 42 °C for 30 minutes, glucose starvation for 12 hours, exposed to peracetic acid 1.0 ppm for 15 minutes and hydrogen peroxide 0.17 ppm for 15 minutes. The profile of stressed protein production in cells were examined by 1-dimensional gel electrophoresis and found that many stressed proteins were increased. Those proteins molecular weight were similar to heat shock proteins (HSPs) including DnaK, GroEL, DnaJ, HSP90 and RpoH and also similar to general stress proteins. Moreover, TDH and TRH *V. parahaemolyticus* stressed cells were able to present cross-protection when exposed to 30 ppm of H_2O_2 for 30 minutes. D-value of all stressed cells were higher than normal cell. Among them starved cell showed that highest D-value. The starved cell of strain vp-293 (represented as TDH *V. parahaemolyticus*) had a D-value 27.6 minutes and starved cell of strain FS-015 (represented as TRH *V. parahaemolyticus*) had a D-value 17.2 minutes. These starved cells had a D-value 3 to 4-fold higher than normal cells. Results showed that TDH and TRH *V. parahaemolyticus* stressed cells could better resist and express cross-protection to H_2O_2 due to the increasing of stressed proteins. Therefore, seafood process should be emphasized in the reduction of *V. parahaemolyticus* contamination in raw materials and during process to prevent the stressed cells, which resist better in process and storage, and possible cause risk in seafood consumption.