

## 열충격 *Salmonella* Typhimurium의 산과 산화제에서 생존력 증가

문보연 · 박종현\*

경원대학교 식품생물공학과

### Increased Viability of Sub-lethal Heat Shocked *Salmonella* Typhimurium on Acids and Oxidants

Bo Youn Moon and Jong-Hyun Park\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University

**Abstract** In an effort to evaluate *Salmonella* food safety using combinations of preservation techniques, its viabilities when exposed to HCl, acetic acid, and the oxidative agents (hydrogen peroxide and butyl hydrogen peroxide), were analyzed using sub-lethal heat-shocked *Salmonella* Typhimurium at 56°C. 2D gel electrophoresis and MALDI-TOF MS analyses were also conducted to determine the expression and repression of proteins in heat-shocked cells. Heat-shocked *S. Typhimurium* evidenced a reduction of viable counts by 1-2 log CFU/mL. However, viality of non heat-shocked *S. Typhimurium* decreased markedly by 5-6 log CFU/mL at a pH 4 in response to acid and oxidative stresses. Sub-lethal heat treatment greatly increased the resistance of *S. Typhimurium* against acid and oxidant agents. As for 2D gel electrophoresis and protein identification via MALDI-TOF MS, 17 major proteins in non heat-shocked *S. Typhimurium* were detected, and only 13 proteins among these proteins were detected in heat-shocked *S. Typhimurium*. The heat shock proteins such as DnaK and small heat shock proteins were included, and may be associated with the resistance of *S. typhimurium* against exposure to acids and oxidants. Therefore, even though the promising hurdle technology using the combined mild treatments including heat was applied to *S. Typhimurium*, the proper heat treatment to reduce its cross-protection activity toward the following preservative agents might be considered.

**Key words:** *Salmonella* Typhimurium, heat, acid, oxidant, cross-protection, hurdle technology

## 서 론

전통적인 많은 식품보존은 식품을 가열, 냉장, 냉동, 건조, 염장, 산침가, 발효 등의 한두 가지 방법으로 처리하여 이루어져 왔다. 그런데 이러한 여러가지 인자를 서로 병용으로 처리할 경우 각각 개별의 극단적인 처리 조건보다는 보다 더 완화된 조건에서도 세균을 제어할 수가 있는 것으로 제안되고 있다(1,2). 이때 서로 다른 보존인자를 병용 처리하여 부가적으로 혹은 시너지 효과를 보여 주는 hurdle effect를 기대할 수 있다. 따라서 이러한 병용처리는 앞으로 효과적인 식품보존과 식품품질의 제고에 중요하게 활용될 것으로 보인다. 그러나 이와 같이 완화된 병용처리 방법으로 식품을 보존처리하는 경우에 완화된 조건에서 살아 있는 저항성 균이 생길 수 있어 그의 효과가 많이 줄어들 수 있을 것으로 보인다.

식품에 오염된 미생물에 의한 사고는 식품안전 선진국에서도 계속 증가하고 있고 그 중에서 세균이 주요한 식중독 유발인자

로 알려져 있다. 여러 세균중 *Salmonella*는 전 세계적으로 발생되는 주된 식중독 세균으로 많은 연구와 관리의 대상이 되고 있는 세균이다. 이 세균에 의하여 오염된 날고기, 가공육, 계란, 우유, 새우, 초콜릿 등으로부터 감염되는 것으로 알려져 있다. 최근에는 이러한 육류식품 뿐만 아니라 신선편의 식품과 즉석섭취 농산식품에 의해서도 빈번히 살모넬라 식중독(salmonellosis)이 일어나고 있다(3). 이러한 식품에의 오염은 가공 중에서 부적절한 조리, 교차오염 등으로 가장 빈번히 일어나는 것으로 알려져 있다(4).

일반적으로 세균은 변화하는 외부환경의 도전에 대응하게 하는 적응 network를 갖도록 진화해 왔고 그러한 이유로 외부의 스트레스에 살아남을 수 있다(5). 즉, 세균이 잠시 동안 그들이 살 수 있는 생육 온도보다 높은 온도에 노출되었을 때 노출온도에 적응할 수 있는 방어력이 생긴다고 한다. 이들 세균은 그러한 온도에서 열충격 단백질(heat shock protein)로 알려진 단백질이 발현되어 열저항성(thermotolerance)이 생기는데 이들 단백질들이 열스트레스에 적응하도록 한다고 알려져 있다(6,7) 그러한 유전자는 stimulon 유전자의 유도에 의하여 일어나며 외부의 다른 환경 스트레스에도 적응할 수 있게 된다고 보고되었다(8). 일반적으로 *Salmonella*는 산(9), 염(10), 열(11), 과산화수소와 활성산소(12)에 대한 적응 반응을 보여 주고 있다. 특히 *S. Typhimurium*은 액체 배지, 계란배지, 환원우유 등의 모델 식품에서 한계 열처리로는 살균이 충분하지 않다고 보고되었으며(13), 또한 치사량 이하의 과산화수소의 농도에서는 열충격 단백질을 생성하여 열저항성을 높인다고 하였다(14). 또한 삼투압보호제(osmoprotectant)로 균체

\*Corresponding author: Jong-Hyun Park, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University, Seongnam, Gyeonggi-do 461-701, Korea  
Tel: 82-31-750-5523  
Fax: 82-31-750-5501  
E-mail: p5062@kyungwon.ac.kr  
Received June 25, 2008; revised September 8, 2008; accepted September 22, 2008

내에 축적된 트리할로스(trehalose)는 열 저항성을 높이는 교차보호 활성(cross-protection activity)을 가지고 있다고 한다(15). 따라서 *Salmonella*가 살균될 때 불완전하게 열처리되어 살아남을 경우 이 세균들은 열 저항성을 가지게 되고 다른 스트레스에도 저항성을 보이는 것으로 보인다. 따라서 이러한 사실은 hurdle technology를 활용하여 식품의 안전성과 보존성을 높이고자 할 때 보다 면밀한 검토를 필요하게 한다.

그러므로 본 연구에서는 현재 식품보존법으로 가장 중요하게 활용되고 있는 열처리 후에 초산(acetic acid)류 등의 산성 보존료를 처리할 때 세균의 저항성을 분석하였다. 아울러 열처리 후 살균제인 과산화수소와 산화제 등에서의 저항성을 분석하여 hurdle effect를 활용하는 식품의 안전과 보존에 고려되어야 할 기초자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### *Salmonella*균과 배양조건

실험전에 냉동건조 상태의 *Salmonella Typhimurium* NCTC 12023를 tryptic soy broth(TSB; Difco, Detroit, MI, USA)배지에서 활성화한 후에 사용하였다. 여러가지 스트레스 처리를 하기 전에는 TSB 배지로 37°C에서 하루밤 배양한 후에 또 다시 새로운 TSB 배지로 2회 연속계대 배양한 균을 회수하여 실험에 사용하였다.

### 열충격 처리와 산/산화제에 대한 내성분석

열충격 세균 제조의 조건은 Wang과 Doyle의 방법(16)에 준하여 수행하였다. TSB 배지 10 mL에서 16시간 배양한 초기 정제 상태의 *S. Typhimurium*을 sub-lethal temperature인 56°C에서 한 시간 동안 천천히 진탕 열처리하였다. 처리된 10 mL 배양액에서 균을 원심분리(8,000×g, 10분)하여 회수하고 멸균 증류수 1 mL로 세척하였다. 다시 원심 분리한 후 TSB 1 mL로 환원시키고 37°C 항온수조에서 한 시간 동안 천천히 진탕하면서 회복시켰다. 그 후에 염산으로 pH가 조정된 TSB 9 mL 용액(pH 4.0)에 첨가한 후 0, 30, 60, 90분간 37°C 조건으로 산에 노출하였다. 산 스트레스의 정도는 매 30분마다 tryptic soy agar(TSA) 배지에서 생균수를 측정하여 비교하였다. 산화 스트레스는 산 스트레스와 같은 방법으로 실험하였는데 열처리된 세균 1 mL를 18 µL/mL의 buthyl hydrogen peroxide(BHP)와 과산화수소가 함유된 9 mL의 TSB 용액에 첨가한 후 37°C로 같은 시간 노출하면서 생균수를 측정하여 내성을 분석하였다. 대조군 초기균수(0분)는 산과 산화제 처리군과 달리 56°C에서 한 시간 동안 열처리하지 않고 TSB에서 배양 회수한 후 곧바로 산과 산화제 스트레스에 노출시켰으므로 균수가 더 높았다.

### 이차원 전기영동(2D-PAGE)

*Salmonella*의 세포 내 단백질을 2D-PAGE로 분석하여 열처리 전후의 단백질 발현 패턴 변화를 분석하였다. 이것은 Berkelman Stenstedt의 방법(17)에 따라 수행하였다. 10 mL TSB배지에서 37°C로 하루밤 배양된 세균을 56°C에서 1시간 열처리한 후 4°C에서 10,000×g로 원심분리하고 생리식염수(pH 7.0)로 2회 세척하였다. 세척 회수된 균을 1 mL 시료 완충액(Tris-HCl 100 mM(pH 7.0), 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF), 1 mM EDTA)에 첨가한 후에 얼음수조에서 초음파로 세포를 파쇄하였다(pulse on 1 sec and pulse off 1 sec, 7회). 파쇄액에 용해완충액(2 M thio-urea, 7 M urea, 1 mM PMSF, 1 mM EDTA, 4% {3-[3-cholami-

dopropyl]dimethylammonio] propanesulfonate}(CHAPS), 100 mM dithiothreitol(DTT), 0.5% immobilized pH gradient(IPG) buffer pH 3.0-10)을 첨가하여 상온에서 격렬하게 20분 동안 흔들고 다시 15,000×g, 4°C 조건에서 원심분리하였다. 상등액을 아세트산으로 침전시키고 원심분리 후 단백질을 환원완충액(8 M urea, 1 mM PMSF, 1 mM EDTA, 2% CHAPS, 0.5% IPG buffer, and 10 mM DTT)으로 회수하였다. 이 단백질을 Bradford 방법(18)으로 정량 분석하였다. 이 단백질 액을 Ettan IPGphor™(Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA)의 pH gradient(pH 4-7 Immobilin dry strip 13 cm IPG) strips에 적용한 후 전기영동하였다. 2 번째의 2D-PAGE는 stacking gel 없이 12.5% separating polyacrylamide gel로 수행하였다. IPG strip은 전기영동하기 전에 15분간 상온에서 SDS 완충용액(10 mL; 50 mM Tris-HCl, pH 8.8, 6 M urea, 30% v/v glycerol, 2% w/v SDS, and 0.0025% bromophenol blue)으로 평형화시킨 후에 실시하였다. IPG strip은 SDS-PAGE gel에서 agarose로 처리된 후 10°C 조건에서 SDS 전기영동을 하였다. 전기영동한 후에 은염색하여 Melanie 4 viewer(ExPASy Molecular Biology Server, Switzerland)로 이미지 분석하였다.

### MALDI-TOF 질량분석

2D SDS-PAGE gel에서의 spot을 분리하여 100 µL 탈염색 용액에서 5분간 처리하였다. 그 후 20 µg의 trypsin이 함유된 50 mM의 ammonium bicarbonate 20 µL에 넣은 후 4°C에서 30분간 반응시켰다. 이어서 30 µL의 50 mM ammonium bicarbonate에서 37°C로 하루 밤 정치시켰다. C<sub>18</sub> nanoscale 컬럼으로 탈염시키고 0.8 µL matrix 용액에서 peptide를 분리하였다. 이어서 MALDI-TOF mass spectrophotometer(Micromass, Milford, MA, USA)로 분석하였다(19).

## 결과 및 고찰

### 열충격 *S. Typhimurium*의 산과 산화제에 대한 저항성

*S. Typhimurium*을 sub-lethal temperature 56°C에서 한 시간 동안 열처리한 후 다시 산용액에 노출시키고 생균수를 계수하여 교차 보호성(cross-protection)을 분석하였다. 이때 열처리하지 않은 균과 열처리한 균을 염산과 초산으로 각각 pH 4.0로 조정된 TSB 배지에 0, 30, 60, 90분 동안 노출시키고 생균수를 측정하였다(Fig. 1). 열처리된 세포들은 비열처리 세포들보다 더 큰 산 저항성을 보여 주었다. 염산으로 pH가 조정된 용액에서 비열처리 세포들은 90분 후에 약 5 log CFU/mL가 사멸되었지만 열처리 세포들은 1.8 log CFU/mL의 균수가 줄어드는 정도로 산에 대한 생육 저항성이 증가하는 것을 알 수가 있었다. 초산으로 pH가 조정된 용액에서도 열처리 균들은 1.3 log CFU/mL의 생균수가 감소하고 있는 반면에 비열처리 균들은 5.1 log CFU/mL의 생균수가 줄어들고 있었다. 산 처리의 초반 30분안에 생균수는 현저히 감소하였고 그 이후에는 균수가 완만히 감소하고 있음을 알 수가 있었다. 그리고 열처리된 *S. Typhimurium*을 산화제에 처리시킨 후에 생균수를 측정하였다(Fig. 2). 이들 세포를 과산화수소와 BHP에 처리할 때 비열처리된 세포는 약 5.5 log CFU/mL 생균수가 감소하였으나 열처리 균들은 각각 1.7 log CFU/mL와 1.1 log CFU/mL 감소하는 정도로 약간 감소하고 있음을 알 수가 있었다.

이는 *S. Typhimurium*이 열충격에 의하여 저항성이 증가함으로써 나타나는 현상으로 다른 환경인자에 의한 스트레스 연구결과와

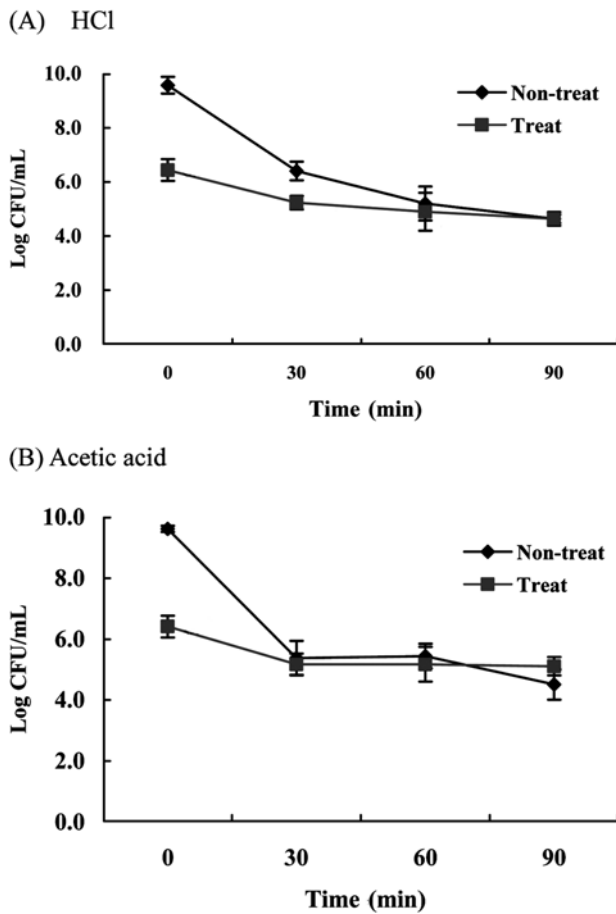


Fig. 1. Viable count of heat-shocked *S. Typhimurium* NCTC 12023 under the acid stress of HCl and acetic acid. (A) HCl, TSB solution was adjusted by HCl to pH 4; (B) Acetic acid, TSB solution was adjusted by acetic acid to pH 4.0. Treat: Heat shock of *S. Typhimurium* was done for one hour at 56°C.

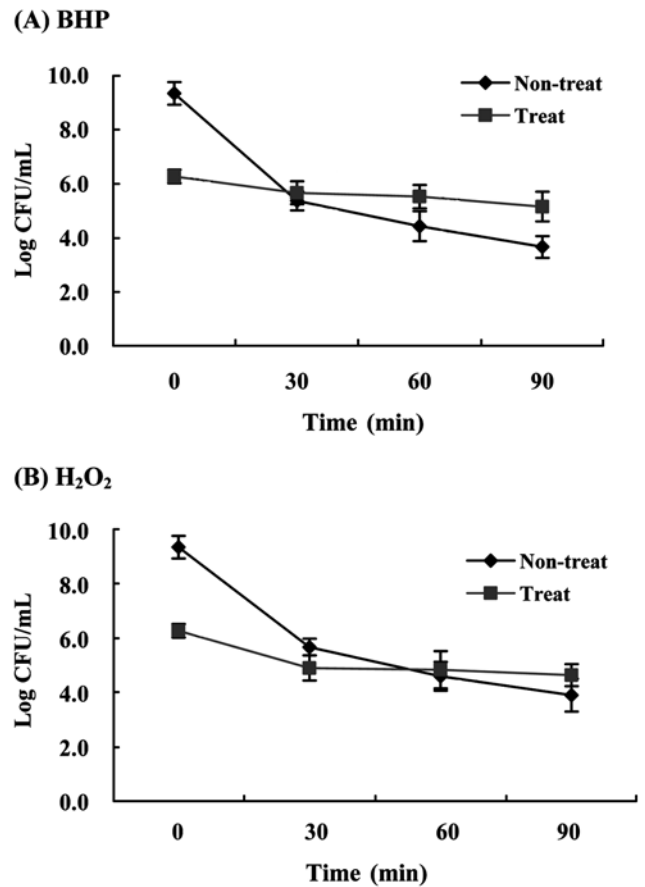


Fig. 2. Viable count of heat-shocked *S. Typhimurium* NCTC 12023 under the oxidative stress by buthyl hydroxy peroxide and hydrogen peroxide. (A) BHP, 1.6%(v/v) butyl hydrogen peroxide in TSB; (B) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1.6%(v/v) hydrogen peroxide in TSB. Treat: Heat shock of *S. typhimurium* was done for one hour at 56°C.

유사하게 나타나고 있다. 즉, Leyer와 Johnson(20)은 산처리 세포를 열, 염, lactoperoxidase, crystalviolet, polymyxin B 등에 노출하였을 때 저항성이 증가되었다고 보고하였다. Bacon 등(11)은 산에 적응된 세포가 열처리에 저항성을 보여주고 있으나 항균성과 열저항성은 관련이 없다고 보고하였다. Folster(20)는 이러한 현상은 세포 내부에서의 단백질의 발현과 관련이 있다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서도 열충격 후에 다른 스트레스에의 교차저항성 반응을 일으키는 단백질 발현에 대한 분석이 필요하였다.

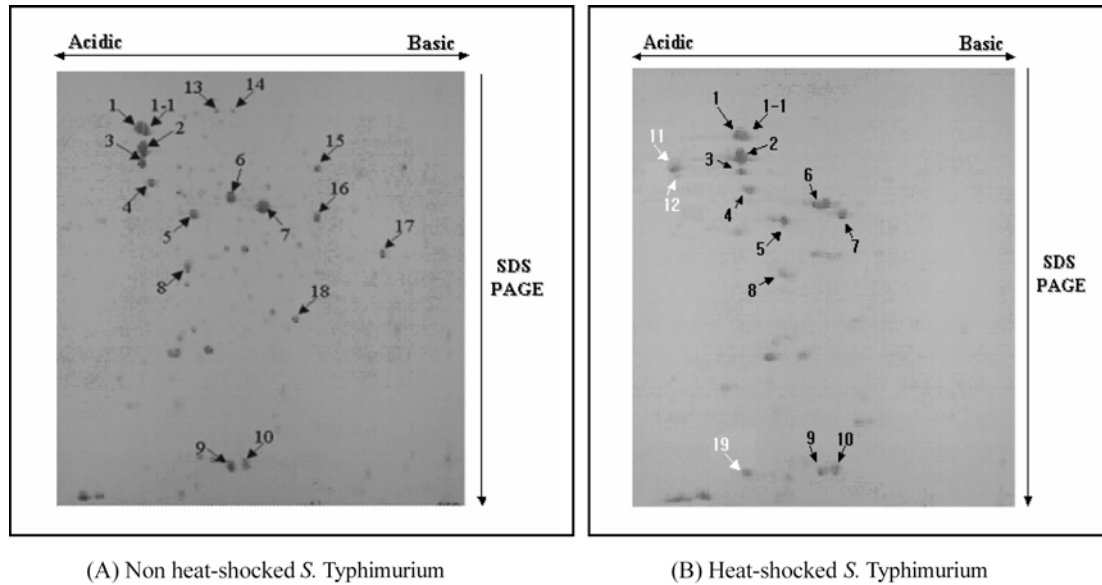
식품산업에서 가장 많이 활용하고 있는 식품보존법은 가열살균과 초산류, 안식향산(benzoic acid)류, 소르빈산(sorbic acid)류 등의 약산성 보존제를 병용처리하는 방법이다. 그러므로 이 과정에서 살균이 완전하게 되지 않으면 생존 *S. Typhimurium* 세균은 보존료에 대한 저항성이 높아져 위해성이 높아질 수 있으리라 사료된다.

#### *S. Typhimurium*의 열충격 발현 단백질의 분석

열충격을 받은 *S. Typhimurium*을 2D SDS-PAGE로 분석하여 발현 단백질을 알아 보고자 하였다. 대상 단백질은 가용성 단백질로 pH 4-7 IPG strip을 사용하여 분석하였고 12.5% 분리 PAGE를 사용하였다(Fig. 3). 열처리가 되지 않은 *S. Typhimurium*은 17개의 주요한 단백질이 검출되었으나 열충격 균은 주요한 단백질

이 13개였다. 특히 열충격 균은 산성의 단백질 3개(No. 11, 12, 19)가 더 많이 발현되는 것을 알 수가 있었고 열충격을 받지 않은 균은 염기성 단백질이 발현(No. 15, 16, 17, 18)되고 있었다.

발현이 많이 된 이들 단백질을 MALDI-TOF 질량분석기로 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 발현이 많이 된 10개의 단백질은 DnaK protein, chaperone protein dnaK, GroEL protein, trigger factors, ATP synthase  $\beta$  subunit, phosphoglycerate kinase, enolase, elongation factor Tu/Ts/G DNA-binding protein H-NS, 60 kDa chaperonin, small heat shock protein, ClpB protein, ATP synthase  $\alpha$  chain, fructose1,6-bisphosphateldose, malate dehydrogenase 등인 것을 알 수가 있었다(14,21-23). 특히 DnaK와 GroEL은 열충격 단백질로 잘 알려져 있는 단백질로 여러가지 스트레스에 의한 저항성을 높혀주고 세포사멸을 방지한다(21). 이러한 단백질 뿐만 아니라 열충격에서 새롭게 발현되는 단백질이 그러한 저항성을 준다고 한다. Mekalonis(22)는 여러가지 스트레스에의 교차 보호성은 스트레스 단백질의 발현과 molecular chaperone에 의하여 이루어진다고 했다. 또한 Burning 등(14)은 *S. Typhimurium*이 높은 온도에 노출되었을 때 전형적인 열충격 저항 특성을 보여 준다고 하였다. 이러한 단백질은 GroEL, GroES, DnaK, DnaJ 등의 chaperonin 단백질이 세포내의 완전성(integrity)를 유지시키는 역할을 하고 있다고 한다. 열충격 후에 elongation factor



**Fig. 3. Major proteins expressed in non heat-shocked and heat-shocked *S. Typhimurium* by 2D-SDS-PAGE.** Heat shock of *S. Typhimurium* was done for one hour at 56°C and two dimensional gel electrophoresis were done after the pretreatment.

**Table 1. Protein identification of *S. Typhimurium* by MALDI-TOF MS after harvesting the proteins from 2D-PAGE agarose gel**

Spot No.*	Accession No.	Protein name	MW/pI	No. of peptide matched	Coverage (%)
1	AE0503	DnaK protein	69189/4.83	25	55
1-1	Q8Z9R1	Chaperone protein dnaK	69057/4.83	16	31
2	AE1045	GroEL protein	57250/4.85	11	33
3	AB0558	Trigger factor	48037/4.84	17	39
4	O68397	ATP synthase $\alpha$ subunit	28638/5.10	6	20
5	Q8XG18	Phosphoglycerate kinase	40976/5.09	17	58
6	ENO_SALTY	Enolase	45439/5.25	9	32
7	P21694	Elongation factor Tu	43125/5.30	14	52
8	AC0529	Elongation factor Ts	30339/5.13	13	61
9	P7428	DNA-binding protein H-NS	15402/5.32	13	70
11	P48217	60 kDa chaperonin	57119/4.85	12	31
12	Q8ZL03	Small heat shock protein	16074/4.88	8	50
13	P26229	Elongation factor G	77419/5.17	24	50
14	AI0831	ClpB protein	95378/5.32	28	35
15	AD0954	ATP synthase $\alpha$ chain	55079/5.71	20	48
16	AD0587	Fructose 1,6-bisphosphate aldolase	39132/5.68	14	49
17	AD0910	Malate dehydrogenase	32485/6.01	12	45
19	AB0558	Trigger factor	48037/4.84	12	19

\*Please confer to the numbers in Fig. 3.

G ClpB protein, ATP synthase  $\alpha$  chain, fructose-1,6-bisphosphate aldolase, malate dehydrogenase 등의 단백질이 발현되지 않았고 산성 단백질인 60 kDa chaperonin, small heat shock protein, trigger factor가 발현되었다. 60 kDa chaperone은 chaperonin(23)으로 알려져 있다. 그러므로 이러한 56°C에서 한시간 열처리로 발현된 DnaK, GroEL, 60 kDa chaperonins 등이 열스트레스에 대한 저항성과 관련이 있을 것으로 보인다.

## 요 약

*Salmonella*로부터 식품 안전성을 높이기 위한 보존법의 병용처리에 의한 효과를 평가하고자 *S. Typhimurium*을 열과 산, 산화제

등으로 연속 처리한 후 생균수를 측정하여 효과를 분석하였다. 그리고 열충격에 의하여 *S. Typhimurium* 내에 발현되거나 억제되는 단백질을 이차원 전기영동과 MALDI-TOF 질량분석기로 분석하였다. 열처리된 *S. Typhimurium*은 초산과 염산의 pH 4에서의 생균수가 1.3-1.8 log CFU/mL가 줄었고 비열처리 *S. Typhimurium*은 생균수가 약 5 log CFU/mL가 감소하였다. 열처리 *S. Typhimurium*은 butyl hydrogen peroxide와 과산화수소에서 생균수가 1.1-1.7 log CFU/mL가 줄었으나 비열처리 *S. Typhimurium*은 5.4-5.6 log CFU/mL 감소하였다. 충분하지 않은 사멸 열처리는 *S. Typhimurium*의 생존력을 증가시키고 산과 산화제 등의 보존제에서 저항성이 커지는 것을 알 수가 있었다. 이차원 전기영동과 MALDI-TOF 질량분석에 의한 발현 단백질 분석 결과 비열처리

*S. Typhimurium*은 17개의 단백질이 검출되었고 열처리 *S. Typhimurium*에는 13개의 단백질만 검출되었다. 이들 중에 열충격 단백질로 알려진 DnaK, small heat shock protein 등이 검출되었고 이들이 산과 산화제에서의 생존 저항성 증가와 관련이 있을 것으로 보인다. 그러므로 열처리를 포함하는 hurdle technology를 적용하여 식품을 보존처리할 때 다른 보존제에 대한 교차보호성이 증가되는사실을 고려하여 적절한 열처리가 고려되어야 된다는 것을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년 경원대학교 학술연구비 지원에 의한 결과이며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Gould GW, Jones MV. Combination and synergistic effects. pp. 401-422 In: Mechanism of Action of Food Preservation Procedures. GW Gould (ed). Elsevier, London, UK (1989)
- Kim JC, Kim SC, Park KJ, Jeong JW, Jeong SW. Development of dipping solution to extend a shelf-life of fresh-cut apples. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 35-41 (2006)
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF). Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. Int. J. Food Microbiol. 52: 123-153 (1999)
- Kusumaningrum HD, van Asselt ED, Beumer RR, Zwietering MH. A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surfaces. J. Food Protect. 67: 1892-1903 (2004)
- Yousef AE, Courty PD. Basics of stress adaptation and implications in new-generation foods. pp. 2-25 In: Microbial Stress Adaptation and Food Safety. Yousef AE, Juneja VK. (eds). CRC Press, Washington D.C., USA (2003)
- Li Y, Brackett RE, Chen J, Beuchat LR. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated onto cut lettuce before or after heating in chlorinated water, followed by storage at 5 or 15°C. J. Food Protect. 64: 305-309 (2001)
- Li Y, Brackett RE, Chen J, Beuchat LR. Mild heat treatment of lettuce enhances growth of *Listeria monocytogenes* during subsequent storage at 5 or 15°C. J. Appl. Microbiol. 92: 269-275 (2002)
- Berry ED, Cutter CN. Effects of acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of acetic acid spray washes to decontaminate beef carcass tissue. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1493-1498 (2000)
- Humphrey TJ, Slater E, McAlpine K, Rowbury RJ, Gilbert RJ. *Salmonella enteritidis* phage type 4 isolates more tolerant of heat, acid, or hydrogen peroxide also survive longer on surfaces. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3161-3164 (1995)
- Leyer GJ, Johnson EA. Acid adaptation induces cross-protection against environmental stresses in *Salmonella typhimurium*. Appl. Environ. Microbiol. 59:1842-1847 (1993)
- Bacon RT, Ransom JR, Sofos JN, Kendall PA, Belk KE, Smith GC. Thermal inactivation of susceptible and multiantimicrobial-resistant *Salmonella* strains grown in the absence or presence of glucose. Appl. Environ. Microbiol. 69: 4123-4128 (2003)
- Jacobson FS, Morgan RW, Christman MF, Ames BN. An alkyl hydroperoxide reductase from *Salmonella typhimurium* involved in the defense of DNA against oxidative damage. J. Biol. Chem. 284: 1488-1496 (1988)
- Bellara SR, Fryer PJ, McFarlane CM, Thomas CR, Hocking PM, Mackey BM. Visualization and modelling of the thermal inactivation of bacteria in a model food. Appl. Environ. Microbiol. 65: 3095-3099 (1999)
- Buning VK, Crawford RG, Tierney JP, Peeler JT. Thermotolerance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* after sub-lethal heat shock. Appl. Environ. Microbiol. 56: 3216-3219 (1990)
- Canovas D, Fletcher SA, Hayashi M, Csonka LN. Role of trehalose in growth at high temperature of *Salmonella enterica serovar typhimurium*. Appl. Environ. Microbiol. 183: 3365-3371 (2001)
- Wang G, Doyle MP. Heat shock response enhances acid tolerance of *Escherichia coli* O157:H7. Lett. Appl. Microbiol. 26: 31-34 (1998)
- Berkelman T, Stenstedt T. 2D Electrophoresis using immobilized pH gradients-Principles and Methods. Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden (2002)
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976)
- Simpson RJ. Proteins and Proteomics (A laboratory manual). CSHL Press, Cold Spring Harbor, USA. pp 452-595 (2003)
- Folster JW. The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* involves transient synthesis of key acid shock proteins. J. Bacteriol. 175: 1981-1987 (1993)
- Foster JW, Specter MP. How Salmonella survive against the odds. Annu. Rev. Microbiol. 49: 145-174 (1995)
- Mekalonos JJ. Environmental signal controlling expression of virulence determinants in bacteria. J. Bacteriol. 174: 1-7 (1992)
- Langet, T, Echols LC, Flanagan HJ, Hayer MK, Harl FU. Successive action of DnaK, DnaJ, and GroEL along the pathway of chaperon-mediated protein folding. Nature 356: 683-689 (1992)