

工學碩士 學位論文

감마선 및 가압가열 처리에 의한
돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성
저감화 효과



2009年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 瑞 眞

工學碩士 學位論文

감마선 및 가압가열 처리에 의한
돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성
저감화 효과

指導教授 安 東 賢

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함



2009年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 瑞 眞

金瑞眞의 工學碩士 學位論文으로 認准함

2009年 8月



주	심	공학박사	전 병 수	인
위	원	약학박사	김 영 목	인
위	원	농학박사	안 동 현	인

목 차

Abstract	1
서 론	4
재료 및 방법	
1. 재 료	
1-1. 원료	9
1-2. 표준 항원 및 항체	9
2. 방 법	
2-1. Competitive indirect enzyme linked immunosorbent assay(Ci-ELISA)의 실험조건	9
2-2. Ci-ELISA의 standard curve	10
2-3. 물리적 처리	
2-3-1. 가열 처리	11
2-3-2. 가압가열 처리	11
2-3-3. Microwave 처리	11
2-3-4. 초음파 처리	12
2-3-5. 감마선 처리	12
2-4. PSA의 획분 분리	13
2-5. SDS-PAGE	13

2-6. Immunoblotting	14
---------------------------	----

결과 및 고찰

1. Ci-ELISA의 standard curve	15
2. 물리적 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화	
2-1. 가열 처리에 의한 변화	19
2-2. 가압가열 처리에 의한 변화	24
2-3. Microwave 처리에 의한 변화	28
2-4. 초음파 처리에 의한 변화	34
2-5. 감마선 처리에 의한 변화	38
3. 감마선 및 가압가열 처리에 의한 돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성 변화	
3-1. 시판 돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성 조사	41
3-2. 돈육 햄과 베이컨에 대한 감마선 조사의 영향	44
3-3. 돈육 햄과 베이컨에 대한 가압가열 처리의 영향	50
요 약	60
참 고 문 헌	63

Reduction of Allergenicity of Pork Ham and Bacon by Gamma Irradiation and Autoclave Treatments

Seo-Jin Kim

*Department of Food Science and Technology,
Graduate School, Pukyong National University*

Abstract

Pork is an excellent source of high quality protein, although pork causes allergic reactions to people who is sensitive to pork. Pork allergy is usually caused by PSA(porcine serum albumin) well-known as a main pork allergen. Oligoantigenic diet or anti-histamine was used for treatment and prevention of food allergy, but these methods are caused with side effects. For that reason, the researchers have tried to modify the food proteins by using the physical treatments recently. In this study experiments were conducted to search the optimum physical condition to be applied to hypoallergenic pork. The allergenicity of pork, ham and bacon extracts by physical treatments was evaluated using competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Ci-ELISA), sodium dodecyl sulfated polyacrylamide gel

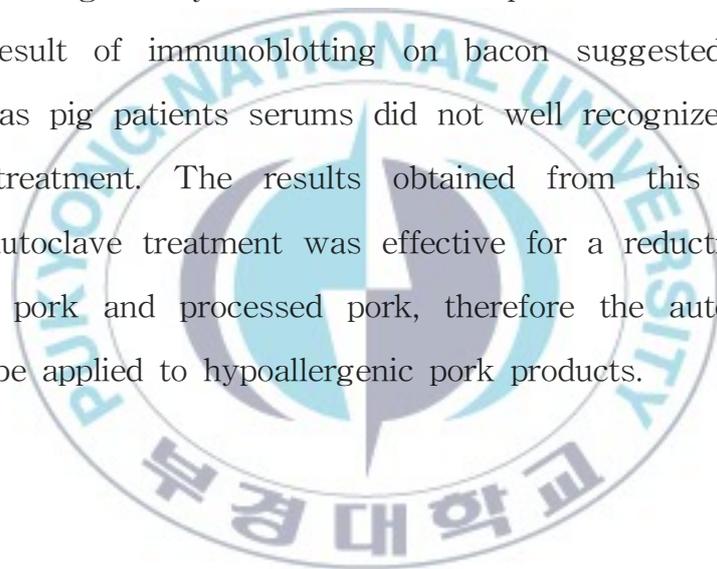
electrophoresis (SDS-PAGE) and immunoblotting.

The binding ability of p-IgG to pork extracts treated with heat (80°C and 100°C for 20 min) and microwave (5 and 10 min) significantly decreased to about 15%, while heat at 60°C and 75°C and microwave at 1 min treatments were not able to decrease the binding ability of PSA in pork extracts. The autoclave treatment on pork was able to markedly reduce the binding ability to p-IgG less than 10 %, and especially the autoclave treatment at 30 min was the most effective. Also, these ci-ELISA results corresponded well with the SDS-PAGE and immunoblotting results. On the other hand, sonication and gamma-irradiation treatments did not affect the allergenicity of pork extracts.

The autoclave treatment which was the most effective method on reduction of allergenicity of pork was applied to pork hams and bacons for development of hypoallergenic pork. Although the gamma irradiation could not reduce the allergenicity of pork, other study has observed the reduction of allergenicity of PSA by gamma irradiation treatment. Thus, The pork hams and bacons were treated with gamma irradiation and autoclave to investigate changes in allergenicity of processed pork.

The gamma irradiation treatment on pork hams slightly decreased the binding ability to p-IgG irrespective of irradiation dose and ham types. But in case of bacons, there was no significant difference

between the gamma irradiation samples and control. The results of ci-ELISA on pork hams treated with autoclave, the binding ability of p-IgG to PSA from samples by autoclave treatment at 10 and 30 min was decreased each 15% and 7%. The binding ability of pork hams used pig-allergic patient serum, too, was reduced less than 15%. These autoclave treatment was also effective on bacons. The binding ability to p-IgG of bacons treated with autoclave was declined to below 16%. The ELISA results were used to pig-allergenic patients serum on bacon, autoclave treatment decreased the binding ability of C and D samples to below 11% and 16%. A result of immunoblotting on bacon suggested that p-IgG as well as pig patients serums did not well recognize PSA by autoclave treatment. The results obtained from this work indicated that autoclave treatment was effective for a reduction of allergenicity of pork and processed pork, therefore the autoclave treatment may be applied to hypoallergenic pork products.



서 론

최근 산업 사회의 발달, 식생활과 환경의 변화 및 스트레스 증가 등의 이유로 인해 알레르기 질환이 증가하고 있으며 이는 세계적인 추세로 나타나고 있다. 알레르기라는 용어는 ‘다양하고 무해한 항원에 대한 면역계의 반응으로 발생하는 질병’으로 정의되며 과민반응이라 칭하는 면역계 반응의 분류 중 하나이다.

알레르기 중에서도 식품이 원인이 되어 발생하는 식품 알레르기는 성인에서 1~2%, 3세 미만의 소아에서 6~8%로 나이가 어릴수록 유병률이 높다(Sampson, 1999). 식품 알레르기는 식품항원에 특이한 IgE 분자가 위장 비만세포의 표면에서 반응하여 이 세포를 활성화시켜 histamine이나 leucotriene, cytokines 등 매개물을 분비한다. 분비된 매개물은 장 조직에 커다란 영향을 줌으로써 상피세포의 투과성을 증가시켜 거대분자가 장점막층을 투과하여 순환계로 퍼질 수 있는 조건을 만들고 이로 인해 국소적, 전신적인 증상을 유발하게 된다(Oh, 1998).

식품 알레르기를 유발하는 항원의 일반적인 특징은 10~70 kDa에 해당하는 glycoprotein이며 열 및 단백질 분해효소에 저항성을 가진다(Opara et al., 1998). 또한 식품의 항원성은 소화효소, 위장액, 세균 및 독소에 의해 계속적으로 변화하며 소화기를 통과하는 동안 지속적으로 접촉하고 접촉하는 면적도 넓다(Breneman, 1983). 따라서 식품 알레르기의 증상은 1차 접촉 기관인 소화기와 2차 접촉 기관인 피부, 코, 폐 및 혈관 등 모든 기관에서 급성 또는 만성으로 나타날 수 있으며 그 양상도 매우 다양한데, 두드러기와 혈관부종이 가장 흔하게 나타나고

그 외에 복통, 오심, 구토 및 설사 등의 증상도 나타나지만 드문 것으로 알려져 있다(Ingelfinger et al., 1949).

식품에 존재하는 다양한 단백질 중 일부 단백질이 알레르기를 유발하는 항원으로 알려져 있으며(Sicherer, 2002) 이러한 식품의 종류는 각각의 나라마다 식품 섭취문화 및 환경에 따라 차이를 보인다(Orhan et al., 2003). 예를 들어 미국에서는 땅콩이(Weiss et al., 2004), 프랑스에서는 조개 및 견과류 등이(Moneret-vautrin et al., 2004), 일본에서는 우유, 계란 및 밀이(Imamura et al., 2008) 알레르기를 일으키는 주요 식품으로 알려져 있다.

식품 알레르기의 진단은 원인식품을 찾아내어 제거 및 유발검사를 실시하여 확진하게 된다(Ferguson, 1995). 따라서 의심되는 식품을 찾아내는 것이 진단의 첫 걸음인데 이를 위해서 병력조사, 혈청 내 식품 특이항체 검사방법(radioallergosorbent test; RAST) 및 알레르기 피부 시험 등이 이용된다(Walker-smith, 1995). 하지만 이 외에도 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) (Jeoung et al., 1997)와 ELISA inhibition test (Levieux et al., 1996; Reese et al., 1997)도 이용되고 있으며, 특히 ELISA 중에서도 sandwich ELISA (Martin et al., 1991) 및 competitive ELISA (Ci-ELISA; Kim et al., 1992)가 자주 이용되고 있다.

식품 알레르기 치료 방법 역시 식이 요법, 약물 치료 및 면역조절치료 등 그 종류가 매우 다양하지만 현재까지 근본적인 치료법은 없으며 성장하면서 알레르기 증상이 사라지는 시점까지 알레르기를 일으키는 식품을 적극적으로 회피하는 항원 제거요법이 채택되고 있다(Mofidi,

2003). 하지만 이렇게 원인 식품을 제한하는 방법은 소아가 중요 식품군을 섭취할 수 없게 하므로 성장 발달 장애를 비롯한 영양실조 및 eating disorder 등의 부작용을 초래한다(Nam, 2004). 또한 식품 알레르기를 나타내는 연령의 폭은 넓어지는 추세이며 알레르기를 일으키는 식품은 그 종류가 매우 다양하므로 원인 식품의 제거를 치료 방법으로 하기에는 어려움이 있다(Son, 2000). 따라서 알레르기 환자가 안심하고 섭취할 수 있는 저 알레르기 식품을 개발하는 것이 절실히 요구된다.

알레르기를 저감화시키기 위해서는 원인 물질인 단백질의 제거가 효과적인데, 단백질 분자 중에서도 항체와 결합하거나 림프세포와 반응하는 등 실제로 알레르기 반응에 관여하는 부분인 epitope라고 불리는 부분을 파괴 또는 제거함으로써 식품의 알레르겐성을 저감화시키는 것이 가능하다(Kim et al., 2003). 최근에는 식품 알레르기를 억제하기 위하여 물리적, 화학적 및 효소적 처리방법을 이용하고 있으며(Kim et al., 2003; Penas et al., 2006; Peyron et al., 2006; Ryu et al., 2000) 실제로 단백분해효소를 이용한 저 알레르기 우유 및 분유가 출시되었다. 하지만 효소에 의한 단백질 분해는 소수성 아미노산을 포함한 펩타이드가 노출되어 쓴맛을 유발하므로 제품 품질이 저하되는 문제가 발생한다(Matoba et al., 1972). 또한 단백분해효소에 의한 식품 알레르기 억제는 우유를 제외한 다른 식품군에서 그 이용이 극히 제한적이다(Schmidl et al., 1994). 따라서 다양한 물리적 처리를 식품에 적용하는 것이 식품의 알레르겐성 저감화와 품질 개선 측면에서 가장 효과적일 것으로 사료된다.

식품가공기술에 가장 보편적으로 이용되는 열처리는 단백질 변성을

유발함으로써 식품의 알레르겐성을 변화시키며, 이러한 방법에 의한 알레르겐성 변화는 가열 시간과 온도에 따라 다양한 결과를 나타낸다고 알려져 있다(Matsuda et al., 1982; Matsuda et al., 1985; Urisu et al., 1997). 방사선 조사는 식량자원의 효율적인 관리와 식중독 원인균을 사멸시킬 목적으로 개발되어 그 이용이 확대되고 있으며, 적절한 흡수선량에서 조사된 식품은 영양학적, 독성학적으로 아무런 문제가 없다고 보고되고 있다(Kang, 2003). 또한 방사선에 의한 식품 내 단백질들의 구조 변화가 발표된 이래로(Al-kahtani et al., 1998; Filali-mouhim et al., 1997) 방사선 조사기술이 식품 알레르기를 억제하거나 제거할 수 있는 가능성에 대한 연구가 보고되고 있다(Kume et al., 1995).

한편, 돼지고기는 육질이 연할 뿐 아니라, 쇠고기보다 경제적인 식품으로 공급량이 많고(Kye et al., 1996) 섭취율 또한 가장 높다(Yoon et al., 1999; Han et al., 1999). 또한, 돼지고기는 중요한 단백질 공급원으로 쇠고기에 비하여 콜레스테롤 함량이 낮으며 vitamin B군 뿐만 아니라 필수지방산인 vitamin F도 다량 함유하고 있는 식품이다(Kim et al., 2007). 하지만 돼지고기의 혈청 알부민(porcine serum albumin, PSA; 66 kDa)은 주요 항원으로 작용하여 알레르기 증상을 유발하기도 한다(Hilger et al., 1997).

우리나라에서 돼지고기는 식품 등의 표시기준 제 9조, 별지 1의 규정에 따라 식육류 중 유일하게 알레르기 유발식품으로 지정되어 있으며, 이들 식품을 원료로 하여 제조한 식품첨가물도 그 원료 식품을 표시하도록 의무화하고 있다. 실제 문 등(2007)의 연구에서도 돼지고기, 난백,

우유 및 콩 등이 어린이 알레르기 질환을 유발하는 주요 식품이라고 보고하였다. 이와 같이 돼지고기는 국내에서 대표적인 알레르기 원인 식품임에도 불구하고 유발성분 동정(Chung et al., 2001) 및 교차반응(Choi et al., 2007)에 대해서만 연구가 진행되었으며 알레르겐성 저감화에 대한 연구는 극히 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 돼지고기에 여러 가지 물리적 처리를 실시한 후 PSA의 알레르겐성 변화를 살펴봄으로써 돼지고기의 알레르겐성 감소에 가장 효과적인 처리 방법과 조건을 찾고자 하였다. 또한 PSA의 알레르겐성 감소에 효과적이었던 물리적 처리 조건을 시판 중인 돈육 햄과 베이컨에 적용하여 PSA의 알레르겐성을 살펴봄으로써 알레르기 저감화 돼지고기 제품의 개발에 대한 기초정보를 제공하고자 하였다.



재료 및 방법

1. 재료

1-1. 원료

본 실험에서 사용한 돼지고기는 식육점에서 도살 후 익일 신선한 상태의 등심을 구입하였으며, 돈육 햄과 베이컨은 마트에서 시판 중인 것을 구입하였다.

1-2. 표준 항원 및 항체

PSA의 표준 항원은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, Mo, USA)에서 구입하였으며 goat polyclonal-IgG는 Bethyl사(Bethyl laboratories Inc., USA)에서 구입하여 사용하였다. 돼지고기 알레르기 환자 2명에 대한 혈청(No. 1 및 2)은 연세대학교 의과대학 소아과학교실의 김규언교수님으로부터 제공받았으며 anti-goat IgG peroxidase conjugate는 Sigma사, anti-human IgE peroxidase conjugate는 KPL (Kirkegaard & Perry Lad.)에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

2-1. Ci-ELISA의 실험 조건

PSA의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 Lee 등(1998)의 방법을

변형하여 실험을 실시하였다. 0.2 M bicarbonate coating buffer (pH 9.6)로 PSA를 일정 농도로 희석하고 costar 96-well flat bottom plate (469957; Nunc, Kamstrupvej, Denmark)의 well에 100 μ L씩 분주하였다. 4°C에서 하룻밤 동안 coating 시킨 후 1% gelatin 용액으로 blocking하여 비 특이적인 반응을 막았다. 0.01 M PBS (Phosphate buffered saline, pH 7.3)를 이용하여 p-IgG는 1 : 500, 환자혈청(No. 2)은 1 : 15의 비율로 항원과 항체를 희석한 후 각각 50 μ L씩 분주하여 반응시켰다. 그 다음 2차 항체와 OPD (o-phenylenediamine, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 용액으로 반응시켰다. 2 M H₂SO₄로 반응을 중지시켜 ELISA reader (Model 550, Bio-rad, USA)의 490 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 단계별 반응조건은 37°C에서 2 시간이고 각 단계가 끝날 때마다 0.01 M PBST [Phosphate buffered saline containing 0.1% tween 20(v/v)]용액으로 4회 수세하였다.

2-2. Ci-ELISA의 standard curve

2-1과 같은 방법으로 표준항원을 coating 시킨 well에 0.01 M PBS (pH 7.3)를 이용하여 항원을 200에서 0.195 μ g/mL까지 희석한 다음 각각의 희석액을 well에 50 μ L씩 분주한 후 titration curve에서 결정된 항체의 희석농도로 50 μ L씩 분주하였다. 이하 모든 과정은 ci-ELISA의 실험조건과 동일하며 표준 항원과 항체의 100% 결합을 위해 항체 50 μ L와 0.01 M PBS 50 μ L만을 well에 첨가하였으며 blank로서 0.01 M PBS 100 μ L를 첨가하였다.

2-3. 물리적 처리

2-3-1. 가열 처리

근막과 지방을 제거한 돼지고기 등심을 잘게 자른 후 시험관에 넣고 water bath에서 60℃에서 60분, 70℃에서 25분, 80℃와 100℃에서 각각 20분 동안 처리하였다. 가열처리 후 얼음에서 냉각시킨 다음 PSA 회분을 분리하여 실험에 사용하였다.

2-3-2. 가압가열 처리

지방을 제거한 돼지고기 등심, 햄과 베이컨을 잘게 자른 후 각각 시험관에 일정량 취하였다. 햄과 돼지고기가 들어있는 시험관을 가압 멸균기(DW-AC 920, D.W. Industries, Korea)에 넣고 게이지압 1 kg/cm², 온도 121℃에서 5, 10 및 30분간 가압가열 하였다. 가압가열 처리한 시료는 얼음에서 냉각 후 실험에 사용하였다.

2-3-3. Microwave 처리

잘게 세절한 돼지고기를 1, 5 및 10분간 microwave (MW-272LB, LG, Korea) 처리하였다. 열의 작용을 배제하고 microwave의 작용만을 실험하기위해 돼지고기가 들어있는 시험관을 얼음물에 넣고 1분 간격으로 얼음물과 교환하면서 온도를 6~9℃로 유지시켜 1, 5, 10 및 20분간 microwave로 처리하였다. 이 때 microwave 처리 시 사용한 주파수는 2,450 MHz이었다.

2-3-4. 초음파 처리

잘게 세절한 돼지고기를 일정량 취하고 2배량의 0.01 M PBS를 가한 후 homogenizer (AN-7, Acc Homogenizer, Nihonseiki, Japan)로 10,000 rpm에서 1분간 균질화 하였다. 초음파 분쇄기(VC 100, Sonics & Materials, Japan)의 지름 1인치 tip으로 균질액을 pulse 20%, 20±1 watts, pulse on/off 5 sec의 조건 하에서 5, 10, 30 및 60분간 초음파 처리하였다. 이 때 초음파로 인한 열 발생을 막기 위하여 시험관 주위에 얼음물을 채워 사용하였으며 초음파 처리한 균질액은 PSA 희분 분리방법의 원심분리과정부터 동일한 조건으로 추출하였다.

2-3-5. 감마선 처리

돼지고기 등심은 두께 2 cm로 잘라 함기 포장하였고 슬라이스 상태로 유통되는 베이컨은 그대로 함기 포장하였다. 돈육 햄은 가로, 세로 및 높이를 2×2×1.4 cm 크기가 되도록 절단한 후 함기 포장 하였다. 포장된 돼지고기 등심, 돈육 햄 및 베이컨은 정읍 방사선 연구소의 Co-60 감마선 조사시설(IR-79 gamma irradiator, MDS Nordion, Canada)을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량율로 1, 3, 10 및 20 kGy의 흡수선량을 받도록 조사하였다. 이 때 흡수선량의 확인은 방사선 선량계(ceric-cerous dosimeter, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하여 총 흡수선량의 오차를 계산하였다. 조사실의 온도는 20±1℃였으며 감마선을 조사한 시료는 2-4의 조건으로 추출하여 실험에 사용하였다.

2-4. PSA의 획분 분리

돼지고기의 주요 항원인 PSA 획분은 각 조건으로 처리한 돼지고기 등심, 돈육 햄 및 베이컨을 Wang 등(2002)의 방법으로 처리하여 분리하였다. 지방과 근막을 제거한 돼지고기와 지방을 제거한 햄과 베이컨을 각각 세절한 후 적당량 취하여 2배의 0.01 M PBS를 가하였다. 이 혼합물을 homogenizer로 10,000 rpm에서 1분간 균질화하고 원심분리기(Supra 30K, Hanil Sciecn Co., Korea)로 16,000×g, 30분간 원심분리하였다. 상층액을 5A filter paper (Advantec, Japan)로 여과한 후 실험에 사용하였다. 단백질 농도는 BCA protein assay kit (Pierce, USA)로 농도를 보정하여 실험에 사용하였다.

2-5. SDS-PAGE

Laemmli(1970)의 방법을 사용하여 15% separating gel과 4.5% stacking gel로 구성된 SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel)를 수행하였다.

시료, sample buffer (16 mM tris-HCl; pH 8.0, 6.2 mM EDTA, 31% glycerol, 3.1% SDS) 및 2-mercaptoethanol을 각각 50, 25 및 8 μ L의 양으로 혼합한 후 끓는 물에서 2분간 가열하였다. BPB 용액(0.1% bromophenol blue, 50% glycerol)을 16.6 μ L를 가한 후 냉동보관하며 전기영동에 사용하였다. 전기영동 후 gel은 CBB 용액(50% methanol, 10% acetic acid, 0.1% coomassie brilliant blue R-250)으로 1시간 동안 염색하고, 탈색액(5% methanol, 7% acetic acid)을 이용하여 단백질의 band가 확실히 보일 때까지 탈색하였다.

표준분자량 marker (Protein marker, BioLab, USA)의 분자량별 standard는 insulin B chain (2.3 kDa), insulin A chain (3.4 kDa), aprotinin (6.5 kDa), lysozyme (14 kDa), trypsin inhibitor (20 kDa), triosephosphate isomerase (26 kDa), lactate dehydrogenase (36 kDa), MBP₂ (42 kDa), glutamic dehydrogenase (55 kDa), serum albumin (66 kDa), phosphorylase b (97 kDa), β -galactosidase (116 kDa), MBP- β -galactosidase (158 kDa), myosin (212 kDa)을 이용하였다.

2-6. Immunoblotting

Towbin 등(1979)의 방법을 참고하였다. SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 methanol-activated polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane에 150 mA에서 5시간 동안 전사한 후 각 strip을 3% gelatin으로 1시간 동안 실온에서 blocking시켰다. 1차 항체는 1% gelatin을 사용하여 p-IgG는 1 : 500, 2명의 환자혈청(No. 1 및 2)은 1 : 30의 비율로 항원과 항체를 희석한 후 실온에서 3시간 30분 동안 반응시키고 TBST [Tris buffered saline(pH 7.5) containing 0.1% tween 20(v/v)]로 3회 세척하였다. TBST를 사용하여 1:1000으로 희석시킨 2차 항체를 넣고 실온에서 1시간 반응 시킨 후 TBST로 3회 세척하였으며, DAB (3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma Chemical Co.)용액을 기질로 사용하여 발색시킨 다음 반응정도를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. Ci-ELISA의 Standard curve

10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 항원과 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 희석농도의 goat p-IgG로 standard curve를 그렸을 때 p-IgG와 반응하는 PSA의 농도는 다음의 식으로 구할 수 있었다.

$$X = e^{\left(\frac{2.7025 - y}{0.5381}\right)}$$

x = p-IgG와 반응하는 PSA의 농도

y = absorbance value

그리고 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 항원과 1 : 15의 비율(항원 : 환자혈청)로 희석한 pig-allergenic patient serum으로 standard curve를 그린 결과, 환자혈청(No. 2)과 반응하는 PSA의 농도는 다음의 식으로 구할 수 있었다.

$$X = e^{\left(\frac{0.8423 - y}{0.2953}\right)}$$

x = pig-allergenic patient serum과 반응하는 PSA의 농도

y = absorbance value

이 때 p-IgG와 반응하는 PSA의 최적 검출 농도 범위는 1.563에서 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이였고(Fig. 1) 환자혈청과 반응하는 PSA의 최적 검출 농도 범위는 0.049에서 3.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었으며(Fig. 2), 오차 범위는 $p \leq 1$ 이었다.



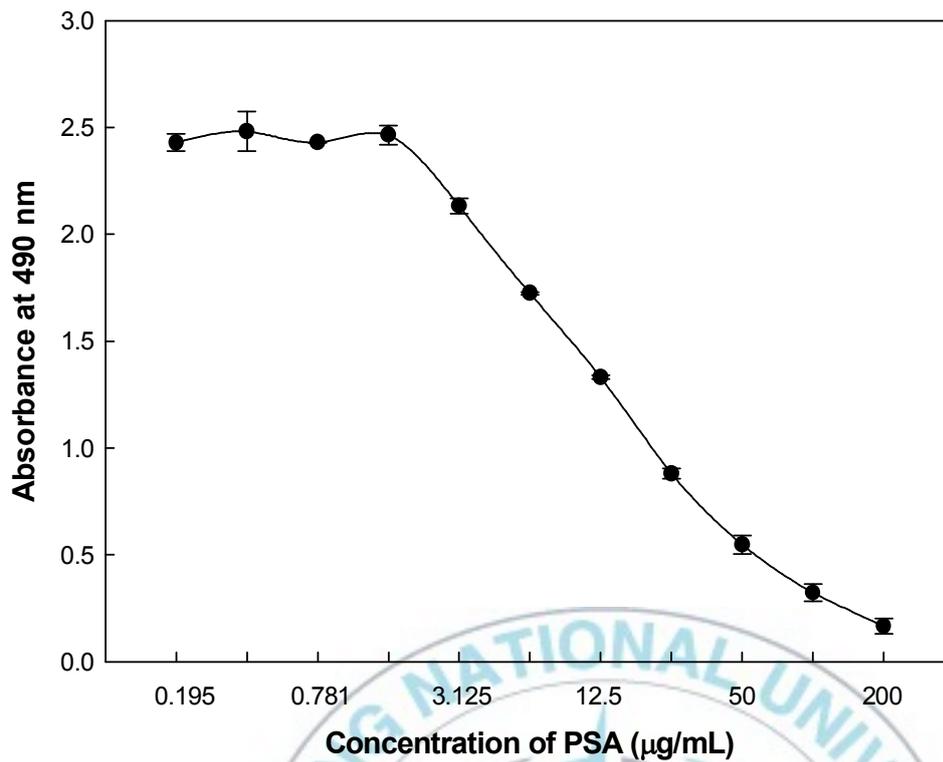


Fig. 1. Standard curve of goat p-IgG to PSA by ci-ELISA. PSA was used as a coating antigen. Goat p-IgG was used for capturing PSA was serially diluted from 200 to 0.195 µg/mL.

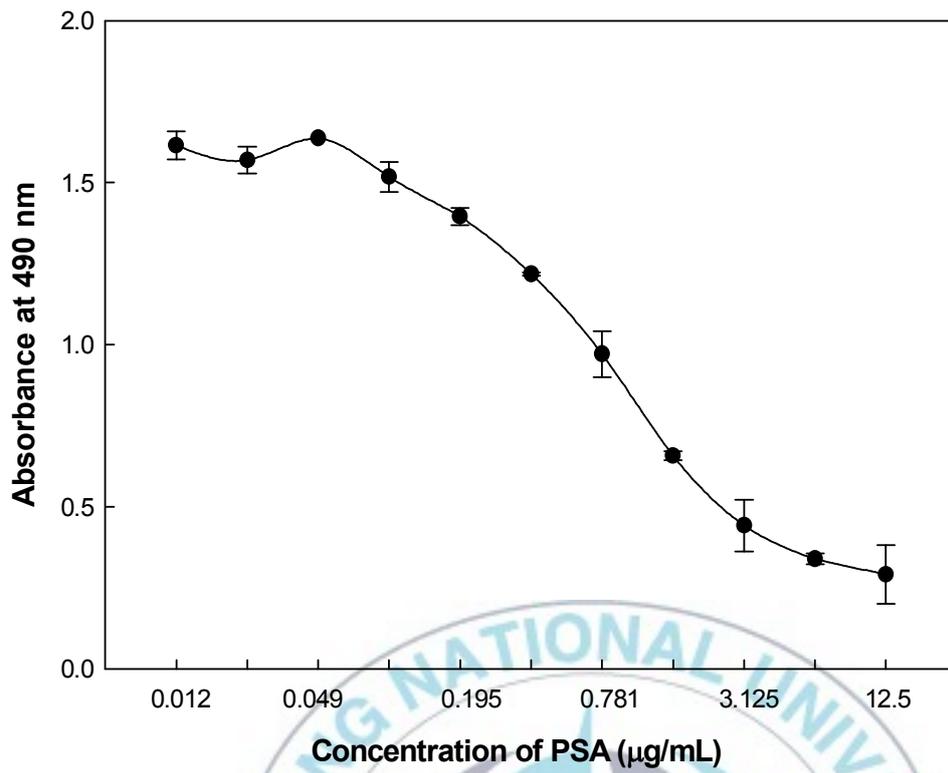


Fig. 2. Standard curve of pig-allergic patient serum to PSA by ci-ELISA. PSA was used as a coating antigen. Pig allergic patient serum was used for capturing PSA was serially diluted from 12.5 to 0.012 µg/mL.

2. 물리적 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화

2-1. 가열 처리에 의한 변화

가열처리에 의한 돼지고기 serum albumin의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 돼지고기를 60°C에서 60분, 70°C에서 25분, 80 및 100°C에서 각각 20분간 처리하고 2-4의 방법으로 조추출물(1 mg/mL)을 제조한 후 ci-ELISA를 실시하였다. 그 결과, 80°C와 100°C 처리구의 경우 돼지고기 조추출물과 p-IgG와의 결합력이 약 12% 및 9% 정도로 크게 감소하였으나 60°C와 70°C 처리구는 약 110% 정도의 아주 높은 결합력을 유지하였다(Fig. 3).

돼지고기를 가열처리 한 후 조추출물(1 mg/mL)을 제조하여 가열처리에 의한 돼지고기의 PSA 변화를 살펴보기 위해 SDS-PAGE를 실시하였다. PSA의 분자량은 66 kDa이며(Fig. 4, a, lane 1), 돼지고기를 60°C와 70°C로 가열처리한 경우 무처리구와 비교 시 PSA band의 강도가 더욱 증가하였다. 반면에 80°C와 100°C 처리구의 경우 PSA가 분해되어 PSA band가 많이 약화되었다. P-IgG를 이용하여 Immunoblotting을 실시한 결과에서도 60°C와 70°C 처리구의 PSA band는 항체와 반응하였지만 80°C와 100°C 처리 시에는 항체와 반응하지 않았다(Fig. 4, b). 이상의 결과를 종합해 볼 때 돼지고기에 대한 60°C와 70°C의 가열처리는 PSA의 알레르겐성을 오히려 증가시켰으나 80°C와 100°C에서 열처리한 경우에는 PSA의 알레르겐성이 크게 감소하였음을 확인하였다. 식육제품을 제조할 때의 가열공정은 미생물을 사멸하고 효소를 불활성시켜 제품의 저장성을 높여주며 육단백질을 열 변성시켜 향미를

생성한다(Foegding, 1988). 또한 식품에 대한 가열처리는 알레르겐성을 변화시키기도 하는데 이는 식품 항원의 종류 및 처리 조건에 따라 그 양상이 매우 다양하게 나타난다(Anderson, 1994; Werfel et al., 1997). 일반적으로 가열처리에 의한 단백질의 변화는 55~70°C에서는 unfolding에 의해 단백질의 4차구조가 가역적으로 변화하며, 70~80°C의 범위에서는 disulfide bond가 파괴되고 90~100°C에서는 단백질의 중합이 나타난다(Davis et al., 1998). PSA와 구조적으로 유사한 bovine serum albumin(BSA)는 수용액 상태에서 가열처리를 하였을 때 65°C 이상에서는 aggregation이 일어나지만 40~60°C의 범위에서는 BSA의 분자량이 크게 변화하지 않는다. 또한 aggregation이 일어나는 동시에 2차 구조의 unfolding 현상이 나타나는데 이러한 2차 구조의 변화는 주로 α -helical의 감소와 β -sheet, β -turn 및 random coil 구조의 증가에 의해 나타난다(Su et al., 2008).

본 연구에서도 60°C 이상의 가열 처리에 의해 158 kDa 이상의 고분자량의 band가 나타난 것을 알 수 있었다. 또한 ci-ELISA 결과에서는 60°C와 70°C의 가열처리구의 경우 항체와의 결합력이 다소 증가하였는데 이는 PSA의 unfolding에 의해 내부에 있던 epitope가 드러나 항체와 더욱 잘 결합한 것으로 사료된다. 80°C 이상의 가열 처리에 의해 결합력이 크게 감소하는 것은 disulfide bond가 관여하는 3차 구조가 변화하여 결과적으로 epitope의 파괴 및 구조적인 변화가 일어난 것으로 생각된다. Fiocchi 등(1998)의 연구에서도 우육의 주요 항원인 BSA를 84.5°C에서 20분 동안 열처리한 후 IgE-immunoblot을 실시한 결과 BSA의 band가 항체와 반응하지 않았다고 하였으며 높은 온도에서 열

처리 시간을 길게 할 경우 BSA의 protein matrix가 파괴되어 알레르겐성이 감소한다고 보고하였다.



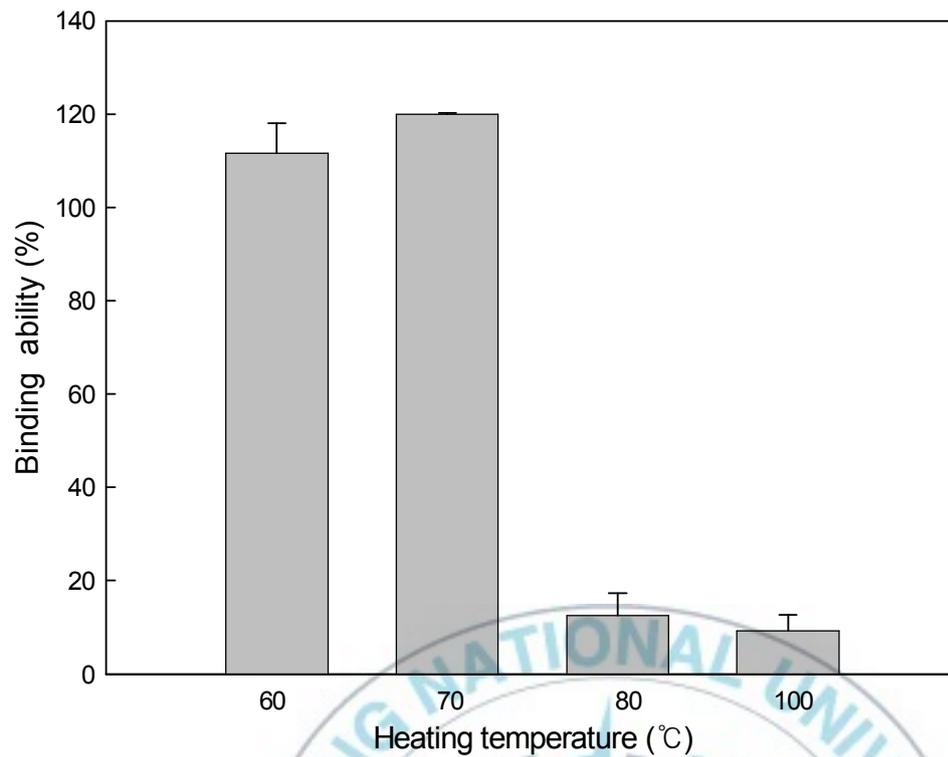


Fig. 3. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with heat. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with heat, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.



Fig. 4. SDS-PAGE(a) and immunoblotting(b) of pork extracts treated with heat. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) raw pork extracts, (3) 60 min at 60°C, (4) 25 min at 70°C, (5) 20 min at 80°C, (6) 20 min at 100°C. (b) 1-6 : immunoblotting of PSA to p-IgG. All samples are 1 mg/mL.

2-2. 가압가열 처리에 의한 변화

돼지고기를 게이저압 1 kg/cm^2 , 121°C 에서 5, 10 및 30분 동안 가압가열 처리한 다음 2-4의 방법으로 조추출물을 제조하고 1 mg/mL 농도로 보정한 후 ci-ELISA를 실시하여 돼지고기 조추출물의 PSA 알레르겐성 변화를 살펴보았다(Fig. 5). 그 결과 5, 10 및 30분 처리구 모두 돼지고기 추출액 중의 PSA와 p-IgG 항체와의 결합력이 각각 9%, 8% 및 3%로 크게 감소하였으며 처리 시간이 증가함에 따라 PSA의 알레르겐성이 감소하는 경향을 보였다. $80\sim 100^\circ\text{C}$ 범위의 가열처리에 의해서도 돼지고기의 PSA와 p-IgG의 결합력은 약 10% 정도로 크게 감소하였지만(Fig. 3), 돼지고기의 항원성은 가압가열 처리에 의해 더욱 효과적으로 감소함을 확인하였다.

가압가열 처리에 의한 돼지고기의 PSA 변화를 알아보기 위하여 돼지고기를 가압가열 처리한 후 1 mg/mL 의 농도로 조추출물을 제조하여 SDS-PAGE를 실시하였다(Fig. 6, a). 그 결과 5, 10 및 30분 처리구의 경우 무처리구와 비교 시 PSA band가 거의 소실되었으며 immunoblotting 결과에서도 가압가열 처리구 모두 p-IgG 항체와 반응하지 않아 ci-ELISA결과와 일치함을 확인하였다(Fig. 6, b). 따라서 돼지고기에 대한 5, 10 및 30분간의 가압가열 처리는 돼지고기의 알레르겐성을 크게 감소시켰으며 특히 30분의 가압가열 처리가 PSA의 알레르겐성 감소에 가장 효과적임을 알 수 있었다.

압력처리는 단백질 분자의 소수성 결합이나 이온결합을 분해시키는데 단백질의 구조가 풀어지면서 단백질의 부피도 감소하며 기능적 특징도 달라진다. 반면, 열처리는 주로 단백질의 공유결합의 형성과 분해에 기

인한다(Farr, 1990; Rastogi et al., 2007). 따라서 가압가열 처리 시 발생한 열과 압력에 의해 PSA의 epitope가 변화하여 알레르겐성이 크게 감소한 것으로 사료되며 특히, 121℃의 고온에 노출된 PSA는 물리적인 변화 뿐만 아니라 화학적인 변화도 함께 일어난 것으로 생각된다(Wal, 2003). 한 등(2006)의 연구에서도 1.3 atm, 120℃에서 10분간 가압가열 처리한 우유 추출물의 경우 주요 항원인 BSA와 BGG의 알레르겐성이 크게 감소하였다고 보고하였다.



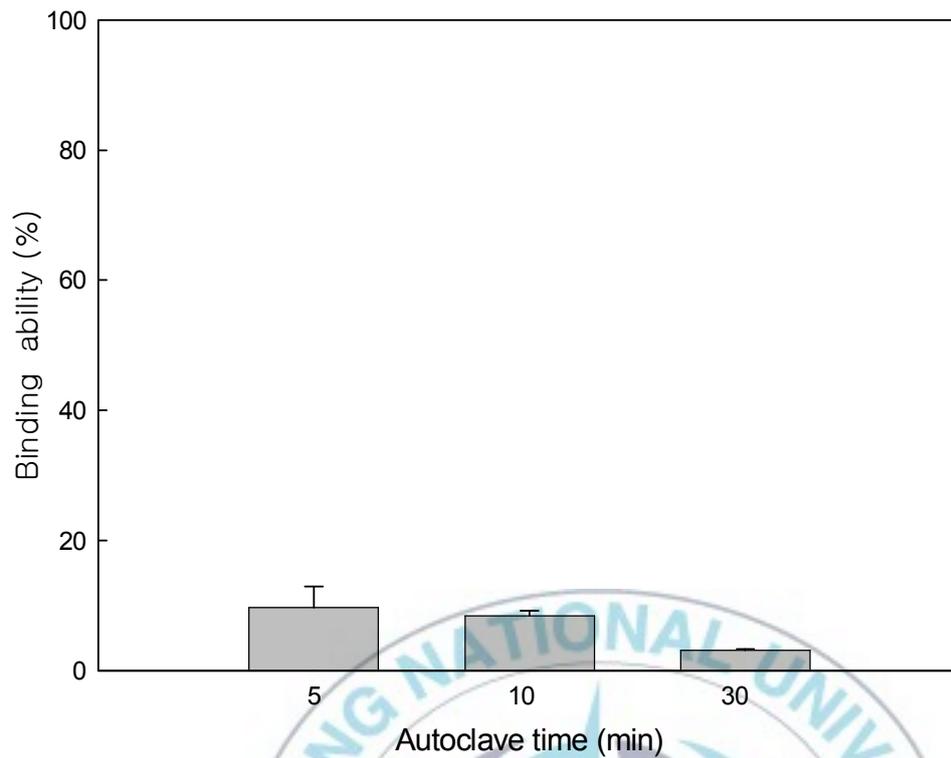


Fig. 5. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with autoclave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with autoclave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

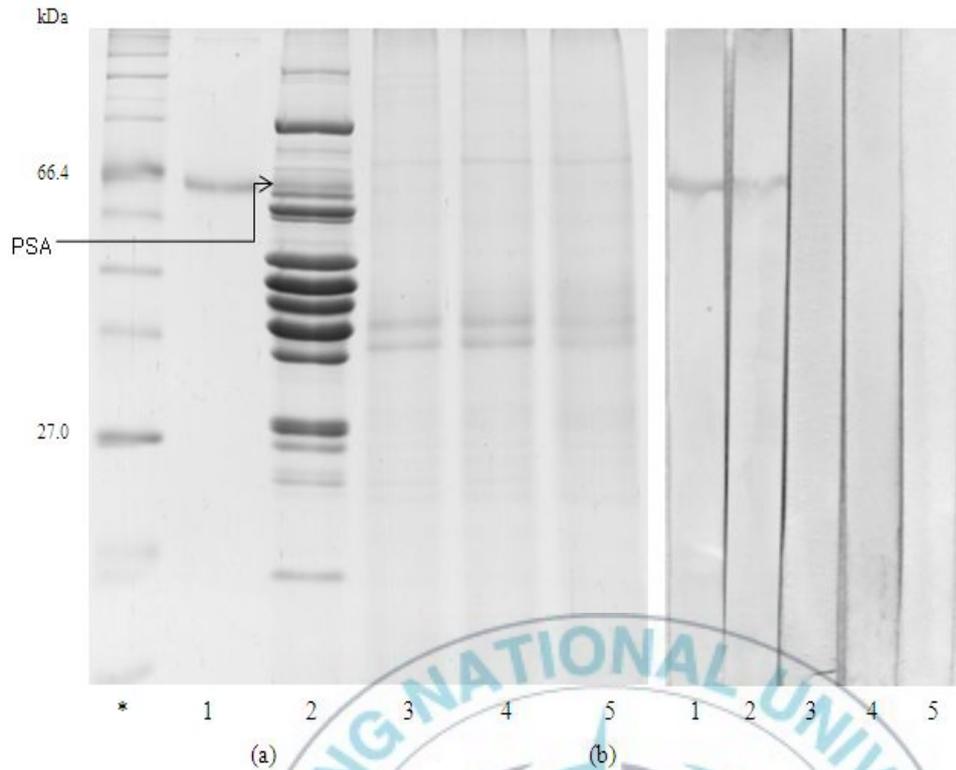


Fig. 6. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of pork extract treated with autoclave. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) raw pork extracts, (3) 5 min at 121°C, (4) 10 min at 121°C, (5) 30 min at 121°C. (b) 1-5 : immunoblotting of PSA to p-IgG. All samples are 1 mg/mL.

2-3. Microwave 처리에 의한 변화

돼지고기를 1, 5 및 10분간 microwave 처리하고 2-4의 방법으로 PSA를 추출(1 mg/mL)한 후 ci-ELISA를 실시함으로써 microwave 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화를 살펴보았다(Fig. 7). 1분 동안 microwave한 경우에는 결합력이 약 80% 정도로 높게 유지되었지만 5분과 10분 처리 시에는 12% 및 10% 정도로 결합력이 크게 감소하였다. Microwave처리에 의한 돼지고기 추출물 중의 PSA 변화를 SDS-PAGE로 알아보았다(Fig. 8, a). Microwave 1분 처리 시에는 무처리구와 비교했을 때 PSA의 band가 약간 약화되었으나, 5분과 10분 처리 시에는 PSA band의 강도가 크게 감소하였다. Immunoblotting 결과(Fig. 8, b)에서도 microwave 1분 처리구는 p-IgG 항체와 반응하였지만 5분과 10분 처리구의 PSA band는 항체와 반응하지 않았다.

한편, microwave처리에 의해 발생하는 열의 작용을 배제하기 위하여 돼지고기가 든 시험관 주위에 얼음물을 채워 microwave 처리한 후 ci-ELISA를 이용하여 돼지고기의 알레르겐성 변화를 알아보았다. 1분과 5분 처리구는 약 95%, 10분과 20분 처리구는 각각 83% 및 78%로 p-IgG항체와 높은 결합력을 유지하였으며(Fig. 9), SDS-PAGE 결과(Fig. 10)에서도 낮은 온도에서 microwave 처리한 경우는 처리구와 무처리구 간의 큰 차이가 나타나지 않았다.

모든 물체는 저마다의 고유진동수를 가지고 있는데, 이 고유진동수에 해당되는 전파나 파동에너지를 흡수하는 성질이 있다. Microwave oven에서 나오는 전파의 진동수는 물의 진동수와 같기 때문에 물 분자가 이 전파의 에너지를 흡수하여 공진 현상이 일어나게 된다. 이 때

문에 물 분자가 진동을 하게 되고 물 분자끼리 서로 충돌하여 생긴 마찰열이 식품 전체를 따뜻하게 한다(Sung, 2002). 김 등(2008)의 연구에서도 낮은 온도에서 microwave 처리한 경우에는 PSA가 항체와 높은 결합력을 유지하였지만 열의 작용이 존재한 microwave 처리는 PSA의 알레르겐성을 감소시켜 본 연구와 일치함을 확인하였다. 또한 이 등(2000)은 11종의 수산식품 중 PCA test를 실시하여 낙지, 조기, 홍어 및 새우를 allergy가 있다고 판정하였으며 microwave 처리가 낙지, 조기, 홍어 및 새우의 알레르겐성을 현저히 감소시킨다고 보고하였다.

따라서 microwave 5분과 10분 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 감소는 물분자의 진동에 의하여 발생한 열로 인해 단백질이 변성되어 나타난 것으로 사료되며, 얼음물을 사용하여 microwave 처리를 한 경우는 돼지고기의 내·외부가 얼음물로 인해 가열되지 못하였기 때문에 가열에 의한 알레르겐의 변성에 영향을 끼치지 못한 것으로 사료된다.



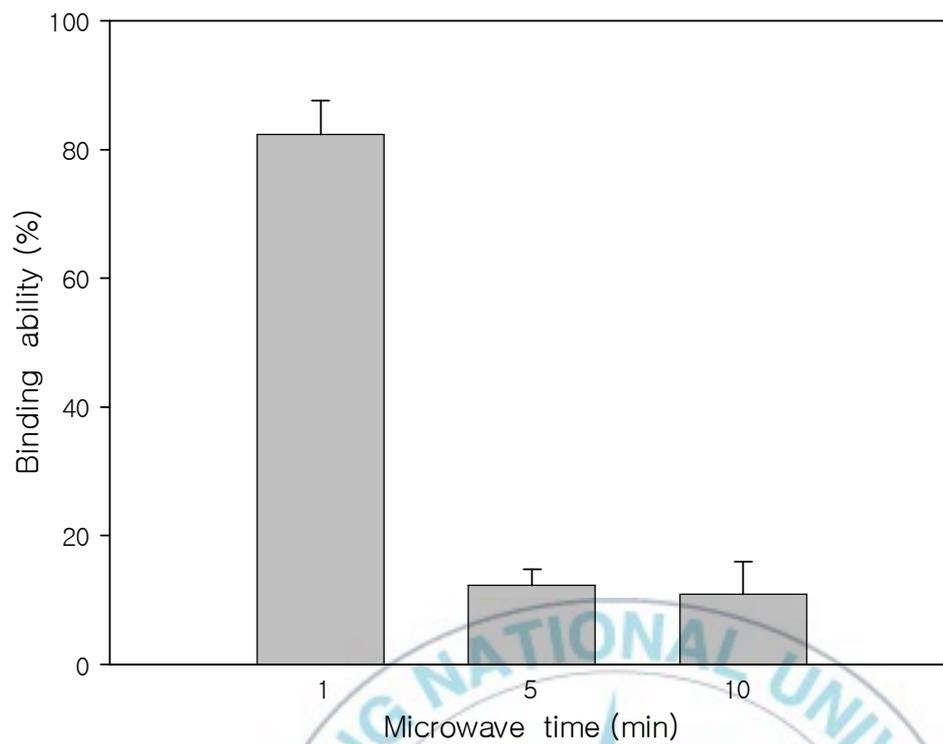


Fig. 7. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with microwave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with microwave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

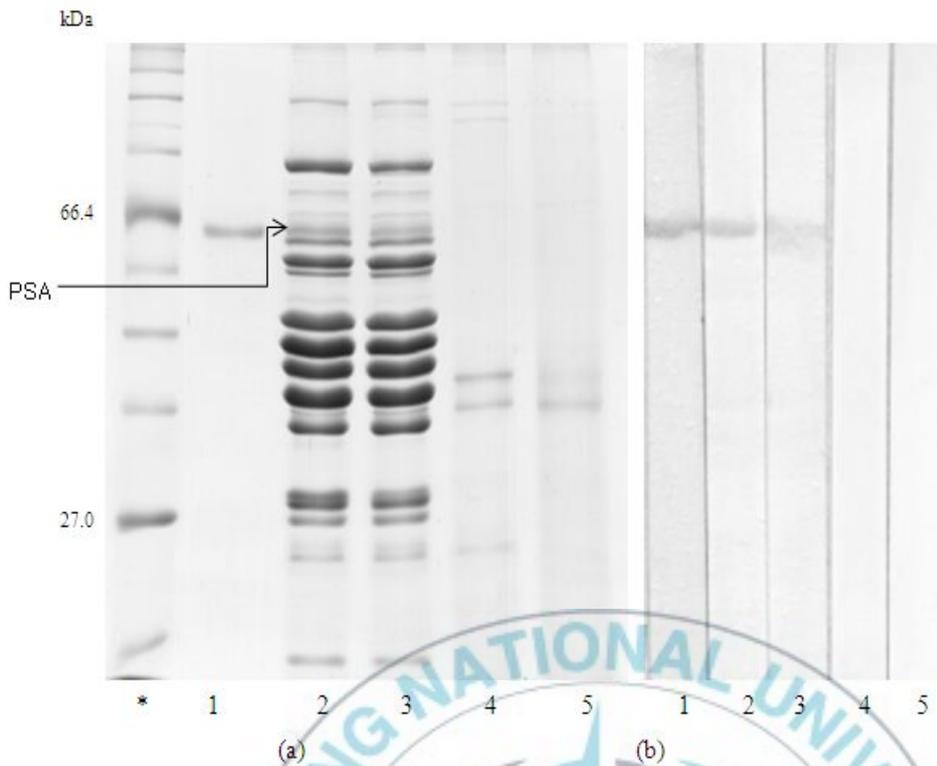


Fig. 8. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of pork extracts treated with microwave. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) raw pork extracts, (3) 1 min, (4) 5 min, (5) 10 min. (b) 1~5 : immunoblotting of PSA to p-IgG. All samples are 1 mg/mL.

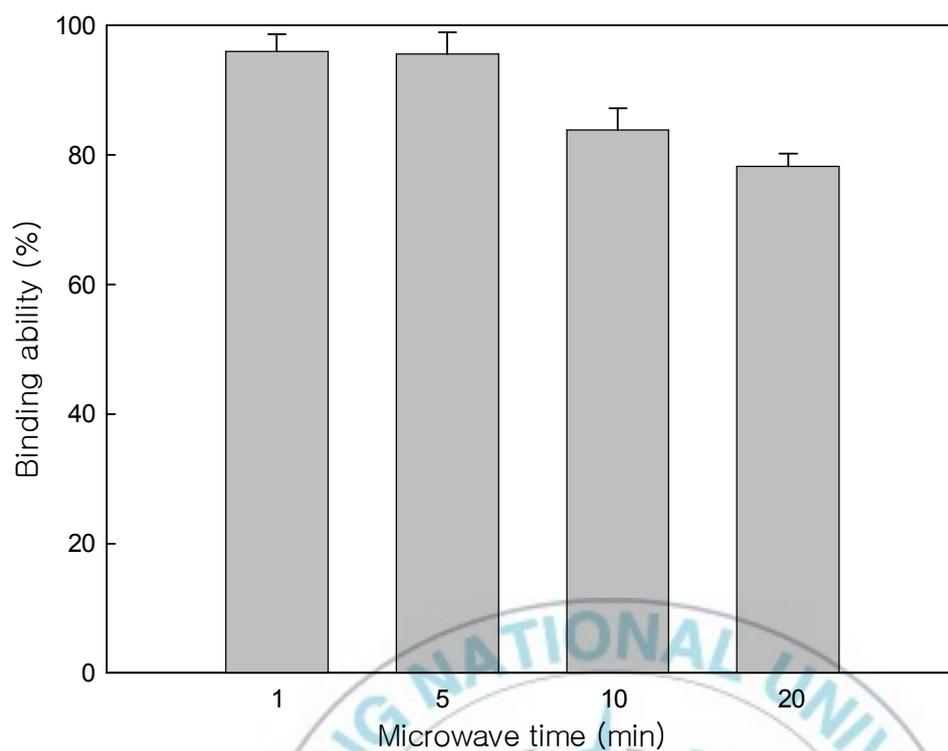


Fig. 9. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with microwave at low temperature. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with microwave at low temperature, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

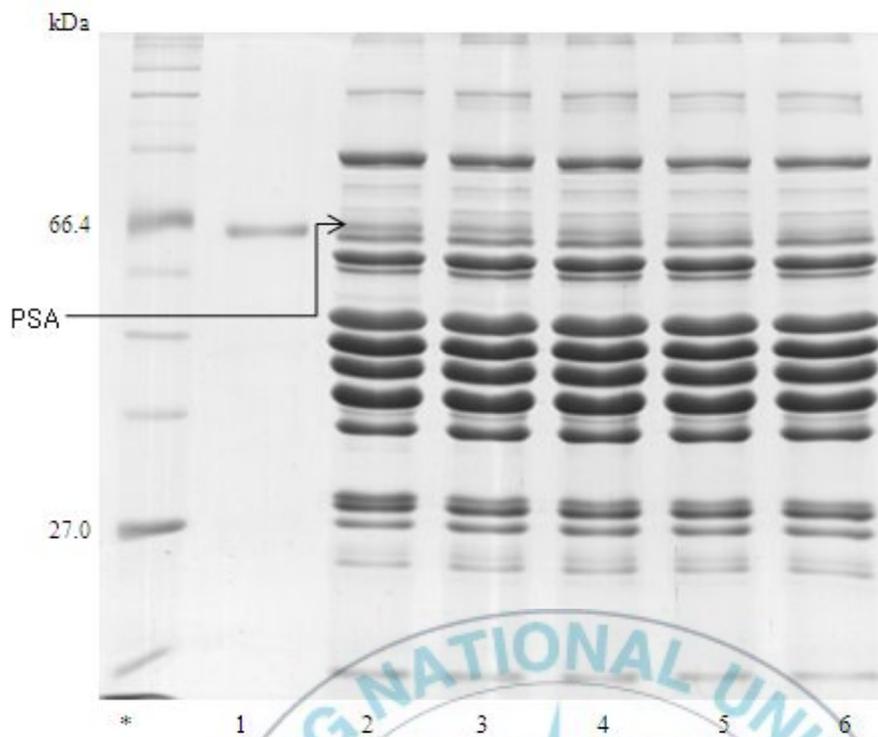


Fig. 10. SDS-PAGE of pork extracts treated with microwave at low temperature. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) raw pork extracts, (3) 1 min, (4) 5 min, (5) 10 min (6) 20 min. All samples are 1 mg/mL.

2-4. 초음파 처리에 의한 변화

돼지고기 추출물에 5, 10, 30 및 60분 동안 초음파 처리한 후 초음파 처리된 돼지고기 추출물(1 mg/mL) 중 PSA의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 ci-ELISA를 실시하였다(Fig. 11). 초음파를 5분과 10분 동안 처리한 경우에는 약 80%, 30분과 60분 처리 시에는 약 60%로 30분과 60분 처리에서는 항체와의 결합력이 다소 감소하였지만 초음파 처리구 모두 여전히 높은 결합력을 유지하였다.

초음파 처리된 돼지고기 추출물(1 mg/mL)의 SDS-PAGE 결과(Fig. 12)에서는 5분과 10분의 PSA band가 무처리구와 비교 시 큰 차이를 나타내지 않았으나 30분과 60분 처리구는 PSA인 66 kDa band가 조금 약화되었다. 특히 60분 처리구는 PSA band 이외에도 42 kDa과 97 kDa에 해당하는 단백질의 강도가 다소 감소되었다.

초음파를 발생시키면 매질은 국부적으로 가열되고, 큰 장력으로 인해 물속에 작은 기포가 발생한다. 발생된 기포가 터질 때의 압력과 기포 안의 방전 때문에 초음파를 받은 물질은 기계적인 작용을 받거나 화학 변화를 일으킨다(Lee et al., 2008). 본 실험의 경우 초음파에 의해 발생한 열은 얼음물에 의해 배제되었기 때문에 PSA에 크게 작용하지 못한 것으로 사료되며, 초음파를 비교적 장시간 발생시킨 30분과 60분 처리구는 초음파 에너지에 의해 PSA의 구조가 다소 변화하여 알레르겐성이 감소된 것으로 생각된다. Zhenxing 등(2006)의 연구에서도 50°C에서 초음파 처리하였을 때는 새우의 알레르겐성이 감소하였지만 0°C에서 초음파 처리한 경우에는 새우의 알레르겐성이 크게 변화하지 않았다고 보고하여 열을 병용하지 않은 초음파 처리는 식품의 알레르

겐성을 감소시키는데 효과적이지 않음을 알 수 있었다.



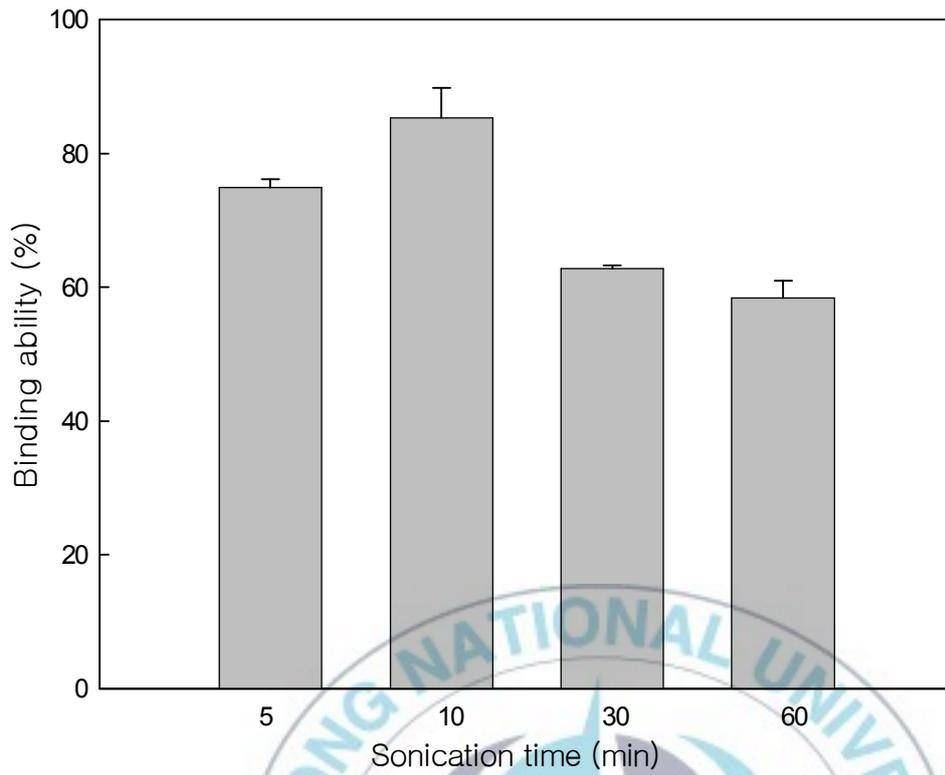


Fig. 11. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with sonication. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with sonication, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

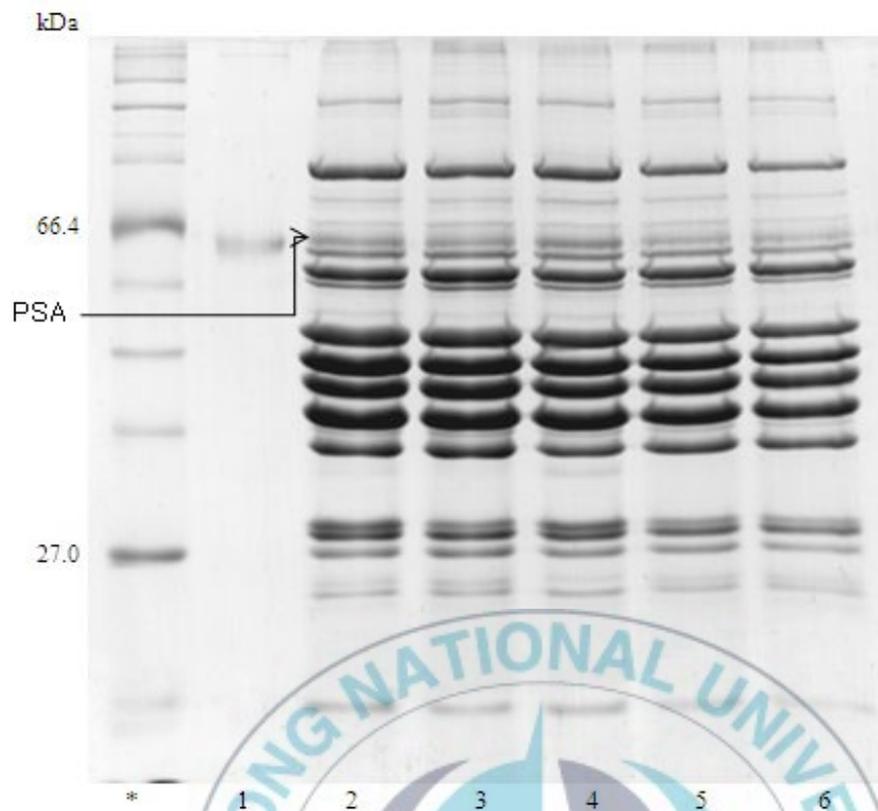


Fig. 12. SDS-PAGE of pork extracts treated with sonication. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) raw pork extracts, (3) 5 min, (4) 10 min, (5) 30 min (6) 60 min. All samples are 1 mg/mL.

2-5. 감마선 처리에 의한 변화

감마선 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 돼지고기에 1, 3, 10 및 20 kGy의 감마선을 처리한 후 2-4의 방법을 이용하여 PSA 획분을 분리하고 ci-ELISA를 실시하였다(Fig. 13). 감마선을 1, 3, 10 및 20 kGy의 선량으로 조사한 경우 돼지고기의 PSA와 p-IgG 항체간의 결합력이 무처리구보다 증가하는 경향을 나타내었으며, 감마선 1 kGy 처리구보다는 3, 10 및 20 kGy 처리구의 결합력이 조금 더 높게 나타났다.

식품에 대한 방사선 조사는 주로 감마선이 이용되는데, 감마선은 대부분 처리식품을 똑바로 통과하나 극히 일부분이 분자에 의하여 산란되거나 흡수되는데, 감마선의 흡수로 인해 보통은 전자를 방출하고 라디칼 이온을 생성한다. 생성된 라디칼들은 반응성이 매우 크기 때문에 다른 성분과 빠르게 반응하며, 식품조사의 경우 자유수나 결합수에 의한 물의 이온화 반응이 주로 일어난다(양재승, 1997). 최근에 보고된 연구(Lee et al., 2001; Moon et al., 2001)에 의하면 물의 이온화 경향은 조사 시 생성된 활성화된 라디칼이 단백질을 공격하여 3, 4차 구조를 변화시키고 궁극적으로 알레르겐의 표면 IgE binding epitope 구조를 변화시켜 알레르기를 억제한다고 하였다. 실제 계란의 ovomucoid (Kang et al., 2002)나 우유의 casein 및 β -lactoglobulin (Cho et al., 2001) 등과 같은 식품 알레르겐을 일정 농도로 buffer에 희석한 후 감마선을 조사한 결과 10 kGy 이하의 선량에서 알레르겐성이 감소되었다는 보고가 있었다. 하지만 3~5 kGy의 감마선 조사 시에는 오히려 항원과 항체의 반응성이 증가했다는 결과도 있으며 이러한 알레르겐성

의 증가는 감마선 조사에 의해 감춰져 있던 epitope가 표면으로 노출되었기 때문이라고 하였다(Lee et al., 2003).

본 연구에서도 돼지고기에 대한 감마선 조사는 오히려 항원과 항체의 결합력을 증가시켰는데, 감마선 처리에 의해 돼지고기의 PSA가 항체와 더욱 잘 결합할 수 있는 구조로 변화한 것으로 사료된다. 또한 정제된 항원을 수용액 상태로 용해하여 감마선을 처리한 경우와 합기 포장한 돼지고기에 직접 감마선을 처리한 경우는 시료 상태가 다르므로 동일한 효과가 나타나지 않은 것으로 생각된다. 이 등(1999)의 연구에서도 지방과 근막을 제거한 돈육 등심을 진공 및 합기 포장한 후 1, 3, 5 및 10 kGy 선량으로 감마선 조사한 결과, 감마선 조사에 의한 근섬유 단백질과 근혈장 단백질의 전기영동적 분리 형태의 차이점은 크게 나타나지 않았다고 보고하였다.



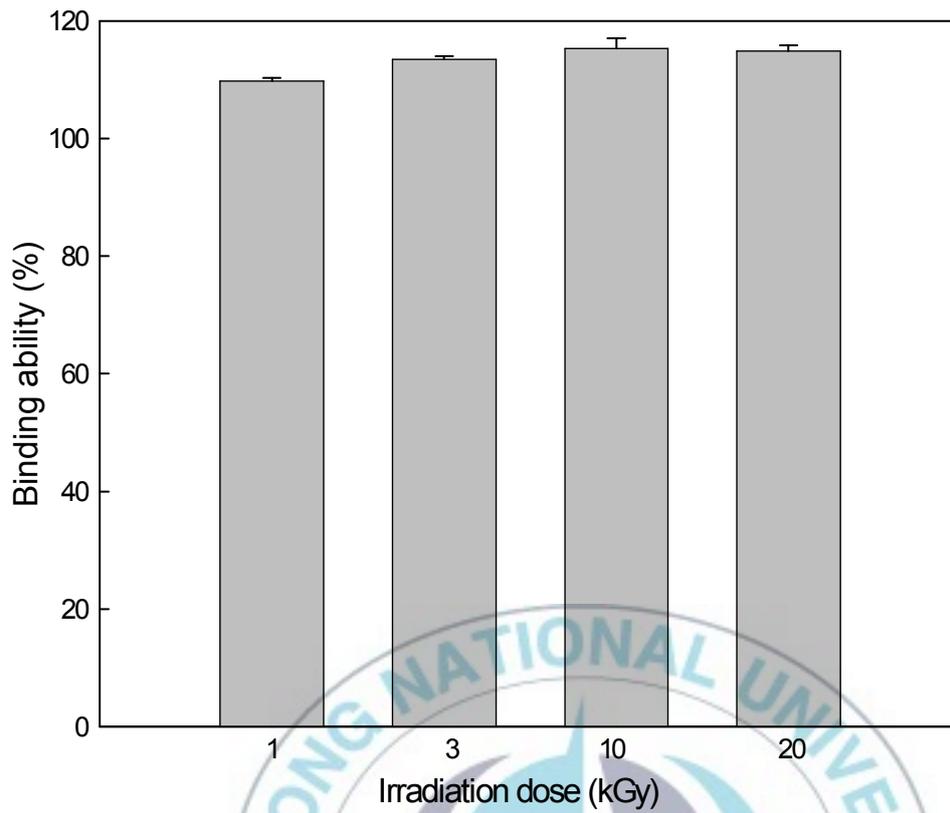


Fig. 13. Binding ability of goat p-IgG to pork extracts treated with gamma irradiation. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork extracts treated with gamma irradiation, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

3. 감마선 및 가압가열 처리에 의한 돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성 변화

3-1. 돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성 조사

돈육 햄과 베이컨을 구입한 후 2-5에 제시된 방법을 이용하여 PSA의 획분을 분리하였다. Ci-ELISA를 실시하여 p-IgG와의 결합력을 살펴본 후 각각 결합력이 높은 2개의 제품을 실험에 사용하였다(Fig. 14-15).



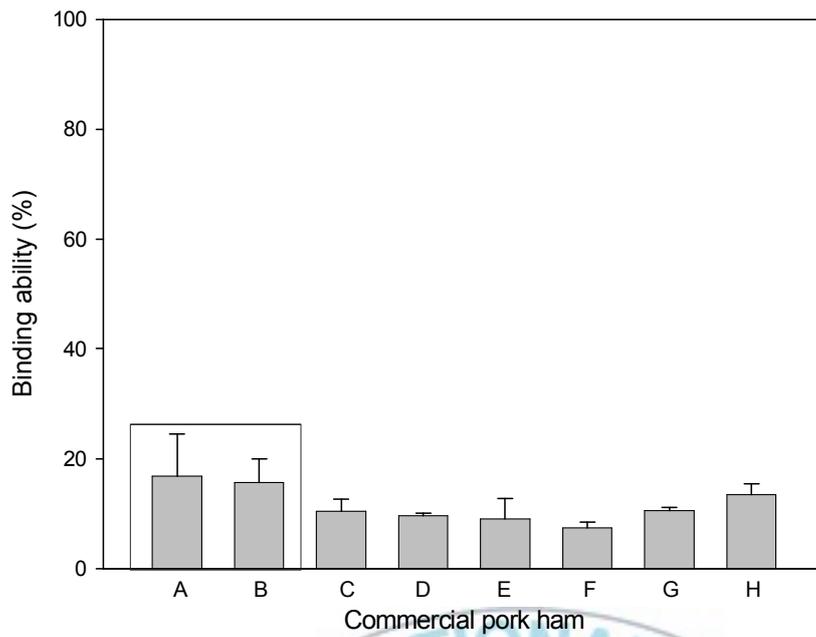
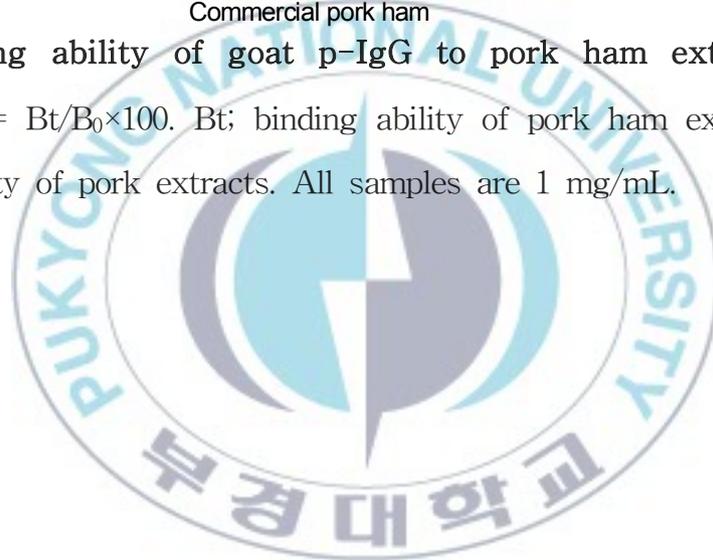


Fig. 14. Binding ability of goat p-IgG to pork ham extracts. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork ham extracts, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.



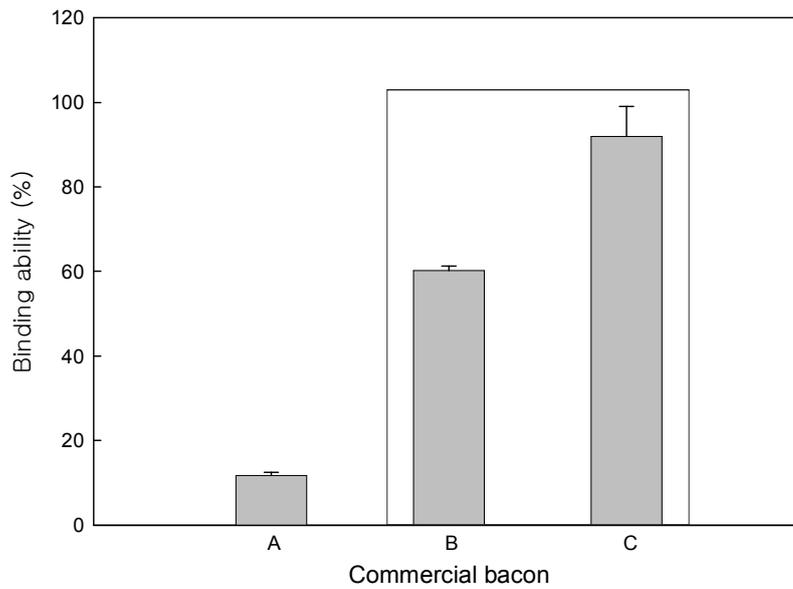
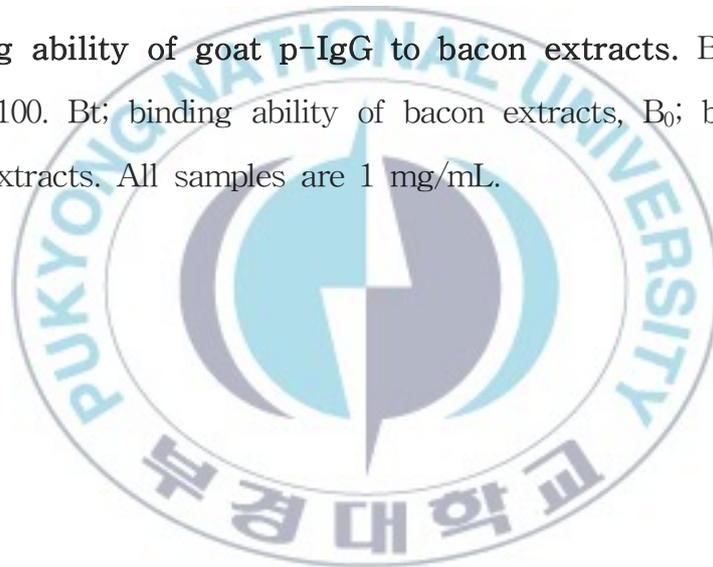


Fig. 15. Binding ability of goat p-IgG to bacon extracts. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of bacon extracts, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.



3-2. 돈육 햄과 베이컨에 대한 감마선 조사의 영향

돼지고기 알레르기 환자들을 위한 저 알레르기 제품 개발을 위해 돼지고기 알레르겐성 저감화에 효과적일 것으로 사료된 감마선과 가압 가열 처리법을 실제 판매중인 돈육 햄과 베이컨에 적용하여 PSA의 알레르겐성 변화를 살펴보았다.

먼저 감마선 처리에 의한 돈육 햄의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 돈육 햄에 대해 1, 3, 10 및 20 kGy 선량의 감마선을 조사한 후 2-4의 방법으로 PSA를 추출하여 농도를 1 mg/mL로 보정하고 ci-ELISA를 실시하였다(Fig. 16). 두 종류의 돈육 햄 모두 무처리구가 p-IgG 항체와 약 20%의 결합력을 유지하였지만 감마선 처리에 의해 p-IgG와의 결합력이 10% 정도 감소하였다. 하지만 햄 종류 및 감마선 선량에 따른 결합력의 차이는 나타나지 않았다. 돈육 햄 추출물(3 mg/mL)에 대해 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 17)에서는 무처리구와 감마선 처리구간의 큰 차이는 나타나지 않았다.

감마선 처리에 의한 베이컨의 알레르겐성 변화를 알아보기 위하여 베이컨 추출물(1 mg/mL)에 대해 ci-ELISA를 실시한 결과(Fig. 18), sample C의 경우 무처리구와 유사한 경향을 나타내었으며 sample D는 p-IgG와의 결합력이 다소 증가하였다. 따라서 감마선 조사 결과, 돈육 햄의 알레르겐성은 다소 감소시켰지만 베이컨의 알레르겐성 감소에는 큰 영향을 주지 못하였으며, 돈육 햄과 베이컨 모두 감마선 선량에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

단백질에 감마선 조사를 할 경우, 생성된 라디칼이 연쇄 반응하여 단백질 분자가 고분자화 또는 단편화되고, 수분을 높게 함유한 경우에는

물분자로부터 생성된 hydroxyl radical에 의해 단백질을 구성하는 아미노산과 각종 결합이 생성된다(Filali-Mouhim et al., 1997; Le Maire, et al., 1990). 감마선 조사에 의한 단백질의 변화들은 온도, 수분함량, 공존기체 조성, 조사선량 및 동결여부 등과 밀접한 관련이 있다(Kempner, 1993; Taub et al., 1979). 단백질의 경우, 주로 감마선 조사에 의해 생성된 물의 분해산물인 라디칼이 단백질 자체 뿐 아니라 구조까지 변화시키므로 감마선 조사 시 해당식품의 수분함량은 단백질 변화에 중요한 영향을 미친다. 건조 상태의 단백질은 감마선 조사에 의한 손상이 적는데, 이는 단백질 분자 주변에 존재하는 물 분자의 감마선 분해산물이 보다 적게 생산되어 감마선의 간접적인 효과가 감소하기 때문이다(Kempner, 1993).

본 실험에 사용된 돈육 햄과 베이컨은 각각 50~80°C, 50~70°C의 온도에서 dry, smoking 및 cooking의 제조 과정을 거쳤으므로 수용액 상태의 시료 보다는 수분 함량이 적은 편에 속한다. 따라서 돈육 햄과 베이컨에 대한 감마선의 간접효과가 적게 일어나 PSA 및 다른 단백질들이 감마선에 의해 크게 변하지 않은 것으로 사료된다. 또한 각각의 시료마다 수분함량 및 돼지고기 함량이 다르므로 감마선 처리에 의한 단백질 변화 형태가 다르게 나타난 것으로 생각된다. 김(2007)의 연구에서는 수용액 상태의 PSA를 1~20 kGy의 선량으로 감마선 조사한 경우 p-IgG와의 결합력이 크게 감소하여 PSA의 구조 및 epitope가 감마선 처리에 의해 파괴되었다고 보고하였다. 하지만 육 등(1998)은 돈육 추출물에 감마선 조사한 경우와 돈육에 감마선을 조사하고 육단백질을 추출한 경우 모두 10 kGy 선량까지는 전기영동상의 단백질이 크

게 변화하지 않았다고 하였다. 또한 40 kGy의 선량으로 돈육과 돈육 추출물에 각각 감마선 조사한 경우, 돈육 자체에 조사했을 때는 단백질 변화가 미미하였지만 돈육 추출물에서는 peptide 결합이 절단되어 단백질의 저분자화가 나타났다고 보고하였다. 이러한 결과는 PSA 및 돈육에 대한 감마선 처리 효과가 시료 상태 및 수분함량에 따라 다르게 나타난다는 것을 시사한다.



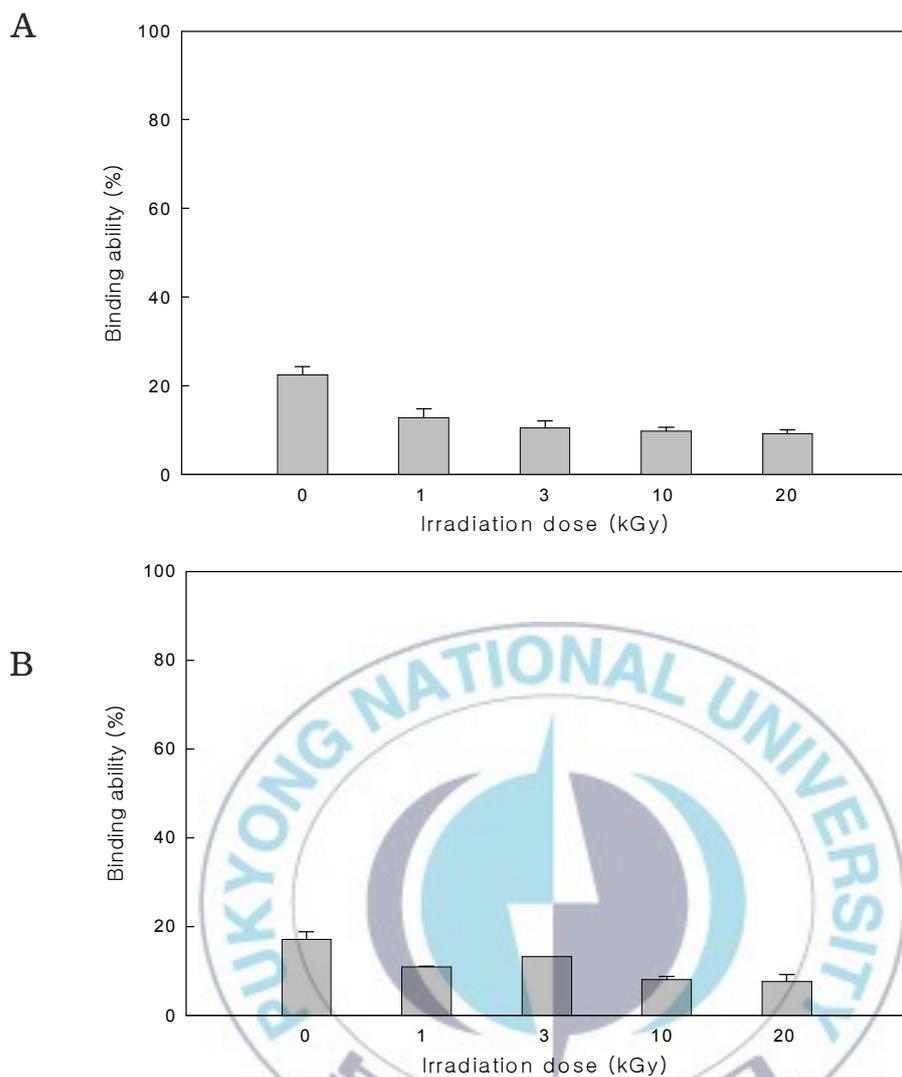


Fig. 16. Binding ability of goat p-IgG to pork ham extracts (sample A, B; different hams) treated with gamma irradiation. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork ham extracts (sample A, B) treated with gamma irradiation, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

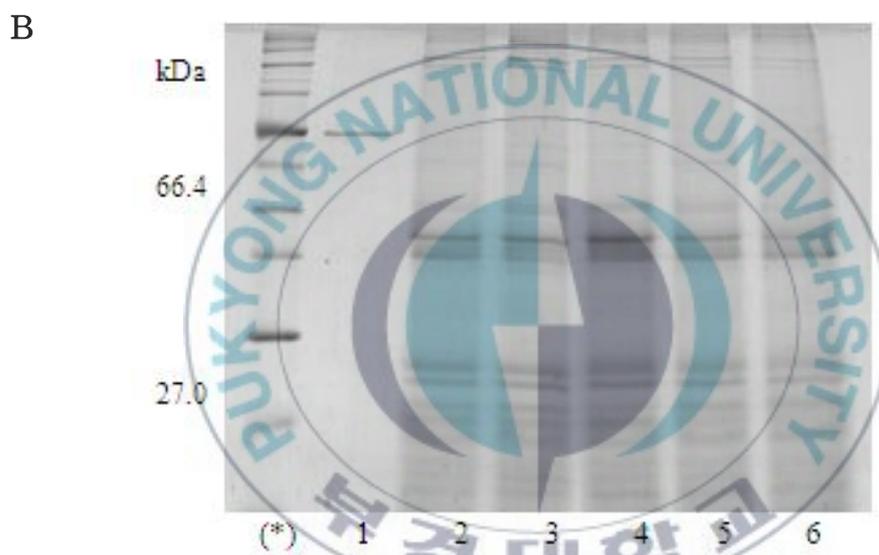
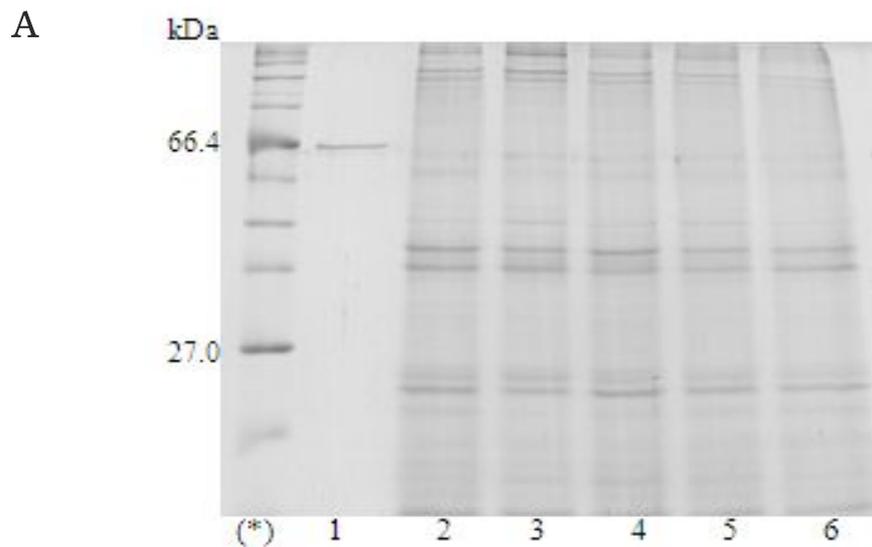


Fig. 17. SDS-PAGE of pork ham (sample A, B; different hams) extracts treated with gamma irradiation. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) untreated pork ham extracts, (3) 1 kGy, (4) 3 kGy, (5) 10 kGy, (6) 20 kGy. All samples are 3 mg/mL.

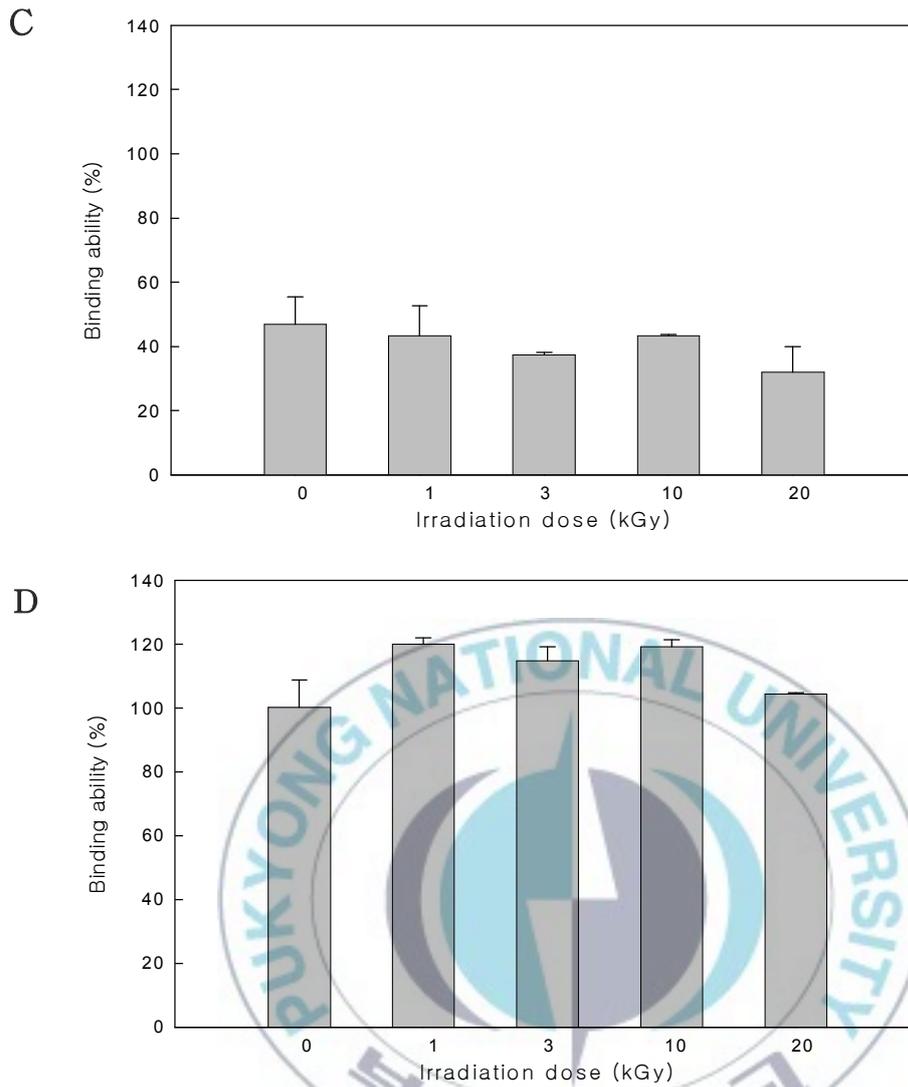


Fig. 18. Binding ability of goat p-IgG to bacon extracts (sample C, D; different bacons) treated with gamma irradiation. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of bacon extracts (sample C, D) treated with gamma irradiation, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

3-3. 돈육 햄과 베이컨에 대한 가압가열 처리의 영향

가압가열 처리에 의한 돈육 햄의 알레르겐성 변화를 알아보기 위해 10 및 30분간 가압가열 처리한 햄 추출물(1 mg/mL)에 대해 ci-ELISA를 실시하였다(Fig. 19). 그 결과, 가압가열 10분 처리구는 약 18%의 결합력으로 무처리구와 큰 차이를 나타내지 않았지만 30분 처리구의 경우 10% 이하로 p-IgG 항체와의 결합력이 다소 감소하였다.

면역분석법에 사용되는 항체는 다클론 동물항체, 단클론 동물항체 및 환자혈청이 있으며, 각각의 항체들은 항원 표면을 인식하는 epitope들이 다르기 때문에 면역 반응성이 다르게 나타날 수도 있다. 일반적으로 식품분석분야에서는 다클론 항체가 많이 사용되고 있으나, 저 알레르기 식품 개발을 목적으로 하는 연구는 최종적으로 알레르기 환자가 섭취했을 때 효과가 나타나야 하므로 임상에서 나타나는 결과를 알아보기 위해 환자혈청을 사용하는 것이 바람직하다(Lee et al., 2001). 이에 돈육 햄 중 sample A에 대해 가압가열 처리를 하고 추출한 후 환자혈청과의 반응성을 살펴보았다(Fig. 20). 무처리구의 경우 환자혈청과 20% 정도의 결합력을 보인 반면, 가압가열 10분과 30분 처리구는 9% 및 14% 정도의 결합력을 나타내어 항원성이 다소 감소되었음을 알 수 있었다.

가압가열 처리한 돈육 햄을 추출(3 mg/mL)한 후 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 21)에서는 무처리구의 PSA band가 가압가열 처리에 의해 크게 변화하지 않았다. 하지만 PSA band 이외의 단백질에서 중합이 나타났는데 2개의 돈육 햄 모두 121°C의 고온에 영향을 받아 무처리구에서 존재하지 않았던 고분자량의 band들이 가압가열 처리구에서

나타난 것을 알 수 있었다.

베이컨의 알레르겐성에 대한 가압가열 처리의 저감화 효과를 살펴보기 위하여 베이컨 추출물(1 mg/mL)에 대해 ci-ELISA를 실시하였다. 먼저 p-IgG에 대한 PSA의 반응 정도를 살펴보면, sample C는 무처리구에서 60% 정도의 결합력을 나타내었으나, 5, 10 및 30분 가압가열 처리에 의해 16% 이하로 결합력이 크게 감소하였다. Sample D에서는 무처리구가 91%, 가압가열 5, 10 및 30분 처리구는 각각 11, 9 및 10%로 가압가열 처리에 의해 결합력이 크게 감소하였음을 알 수 있었다 (Fig. 22). 가압가열 처리한 베이컨 sample C와 D에 대해 환자혈청 (No. 2)을 사용하여 ci-ELISA를 실시한 경우에는, sample C가 5, 10 및 30분 가압가열 처리에 의해 17, 14 및 22% 정도의 낮은 결합력을 나타내었으며 처리시간에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Sample D는 126% 정도의 높은 결합력을 유지하였던 무처리구가 5, 10 및 30분 가압가열 처리에 의해 26, 34 및 28% 정도로 결합력이 크게 감소하였다(Fig. 23).

가압가열 처리한 베이컨 추출물의 농도를 보정(sample C : 3 mg/mL, sample D : 2 mg/mL)한 후 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 24-25, a)에서는 두 제품 모두 무처리구에서 나타났던 66 kDa의 PSA band가 가압가열 5, 10 및 30분 처리에 의해 거의 소실된 것을 알 수 있었다. 또한 immunoblotting 결과(Fig. 24-25, b : lane 3-5)에서도 sample C와 D의 가압가열 처리구가 p-IgG와 반응하지 않았다. 베이컨 제품 중 하나인 sample D에 대해 2명의 환자혈청을 사용하여 immunoblotting을 실시한 경우(Fig. 25, b : lane 2-3)에도 무처리구는 2명의 돼지고기

환자혈청과 약하게 반응하였지만, 가압가열 5분 처리구는 2명의 환자혈청과 반응하지 않았다.

위의 결과를 종합해 보았을 때 돈육 햄과 베이컨은 가압가열 처리에 의해 p-IgG 및 환자혈청과의 결합력이 감소하였으며, 가압가열 5분 처리한 sample D는 immunoblotting에서도 2 명의 환자혈청과 반응하지 않았다. 이러한 결과는 알레르겐성이 저감화 된 돼지고기 제품 개발에 대한 가압가열 처리법의 적용 가능성을 시사하고 있다.

돼지고기를 원료로 한 햄의 경우 순수한 돼지고기 시료와 전기영동상 상당한 차이가 나타나는데, 육류가공에 사용되는 가열처리가 단백질간에 매우 복잡한 변화를 유발하며, heat-induced binding을 일으킨다 (Fukazawa et al., 1961; Lee et al., 1988). 실험에 사용된 돈육 햄과 베이컨도 여러 단계의 가열처리를 거쳤기 때문에 실험상의 가열처리 없이도 알레르겐성이 감소했음을 알 수 있었다. 하지만 알레르겐성의 감소 정도는 돈육 햄과 베이컨에서 각각 다르게 나타났으며, 같은 베이컨 제품이라도 가열온도 및 시간에서 차이가 있기 때문에 sample D와 같이 다소 높은 결합력을 유지하는 제품도 있었다.

식육 뿐만 아니라 식육제품의 알레르겐성은 다른 동물성 식품들에 비해 비교적 열에 약하다고 알려져 있다(Besler et al., 2001). 본 연구에서도 돈육 햄과 베이컨에 대해 가압가열 처리한 경우 다른 물리적 처리보다 PSA의 epitope를 더 쉽게 변형 또는 파괴하여 알레르겐성을 감소시킨 것으로 사료된다. Ayuso 등(1999)도 식육류에 대해 알레르기가 있는 57명의 환자혈청 중 75%가 무처리구보다 가열처리구(140℃, 20분)의 tropomyosin과 결합력이 더 낮았다고 보고하였다.

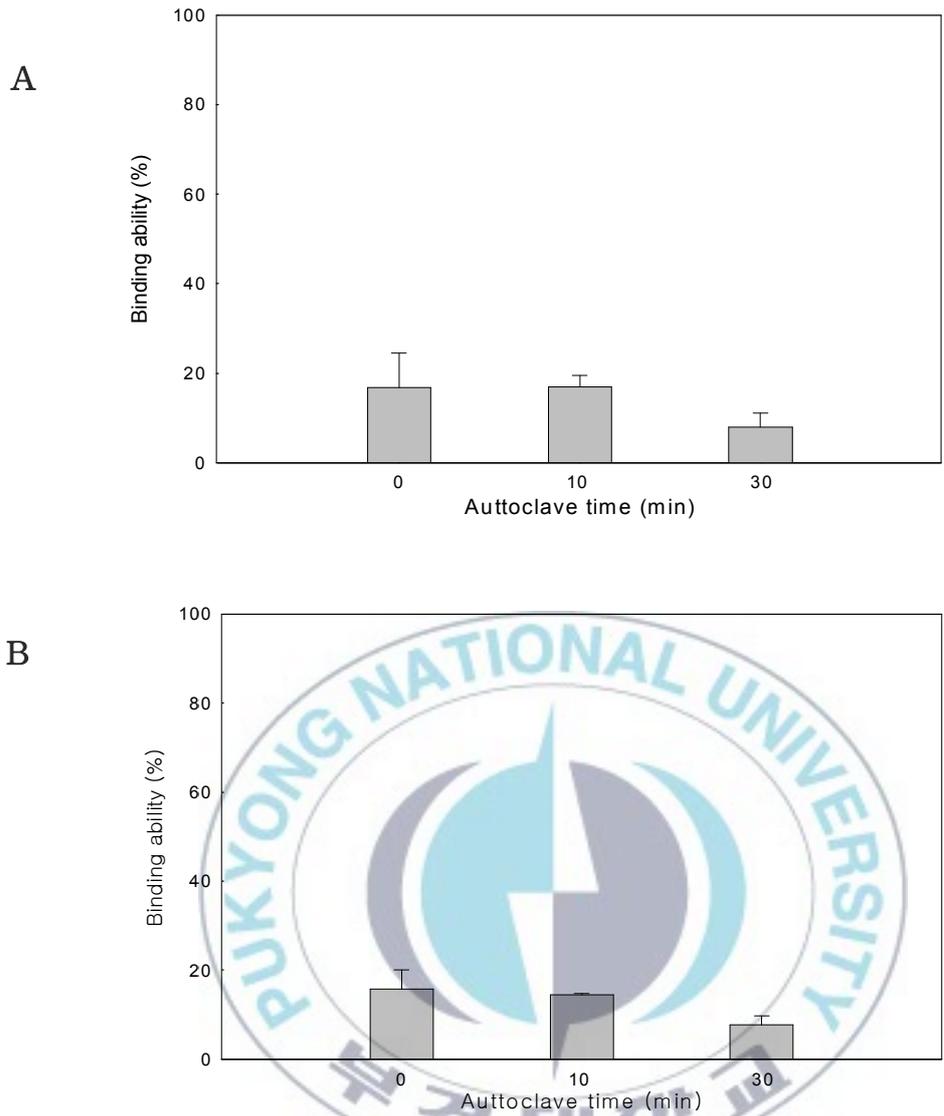


Fig. 19. Binding ability of goat p-IgG to pork ham extracts (sample A, B; different hams) treated with autoclave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork ham extracts (sample A, B) treated with autoclave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

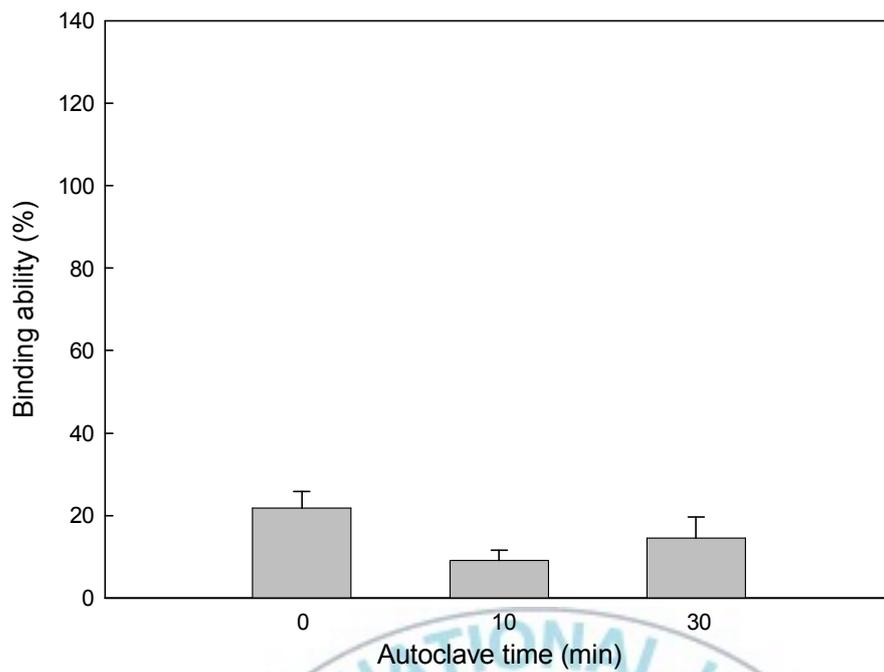


Fig. 20. Binding ability of pork-allergic patient serum to pork ham extracts(sample A) treated with autoclave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of pork ham extracts(sample A) treated with autoclave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

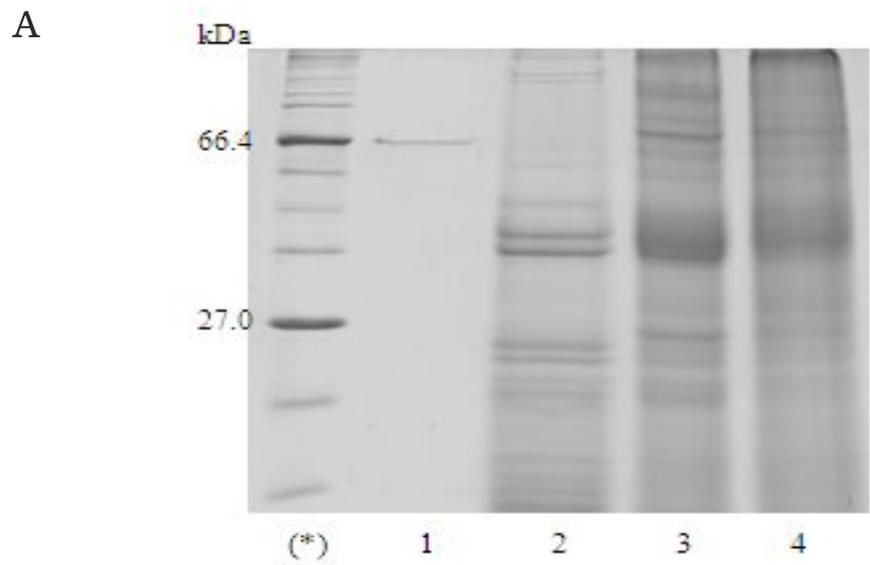


Fig. 21. SDS-PAGE of pork ham extracts (sample A, B; different hams) treated with autoclave. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) untreated pork ham extracts, (3) 10 min at 121°C, (4) 30 min at 121°C. All samples are 3 mg/mL.

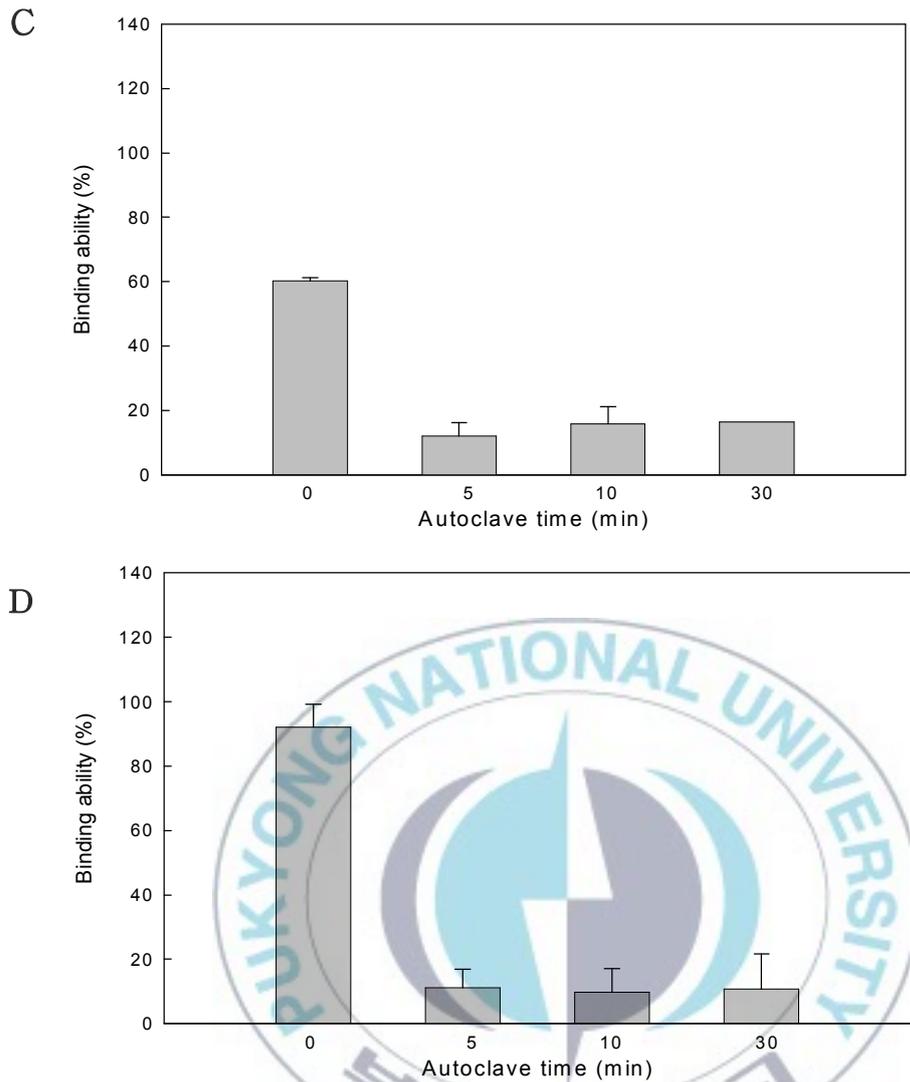


Fig. 22. Binding ability of goat p-IgG to bacon extracts(sample C, D; different bacons) treated with autoclave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of bacon extracts(sample C, D) treated with autoclave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

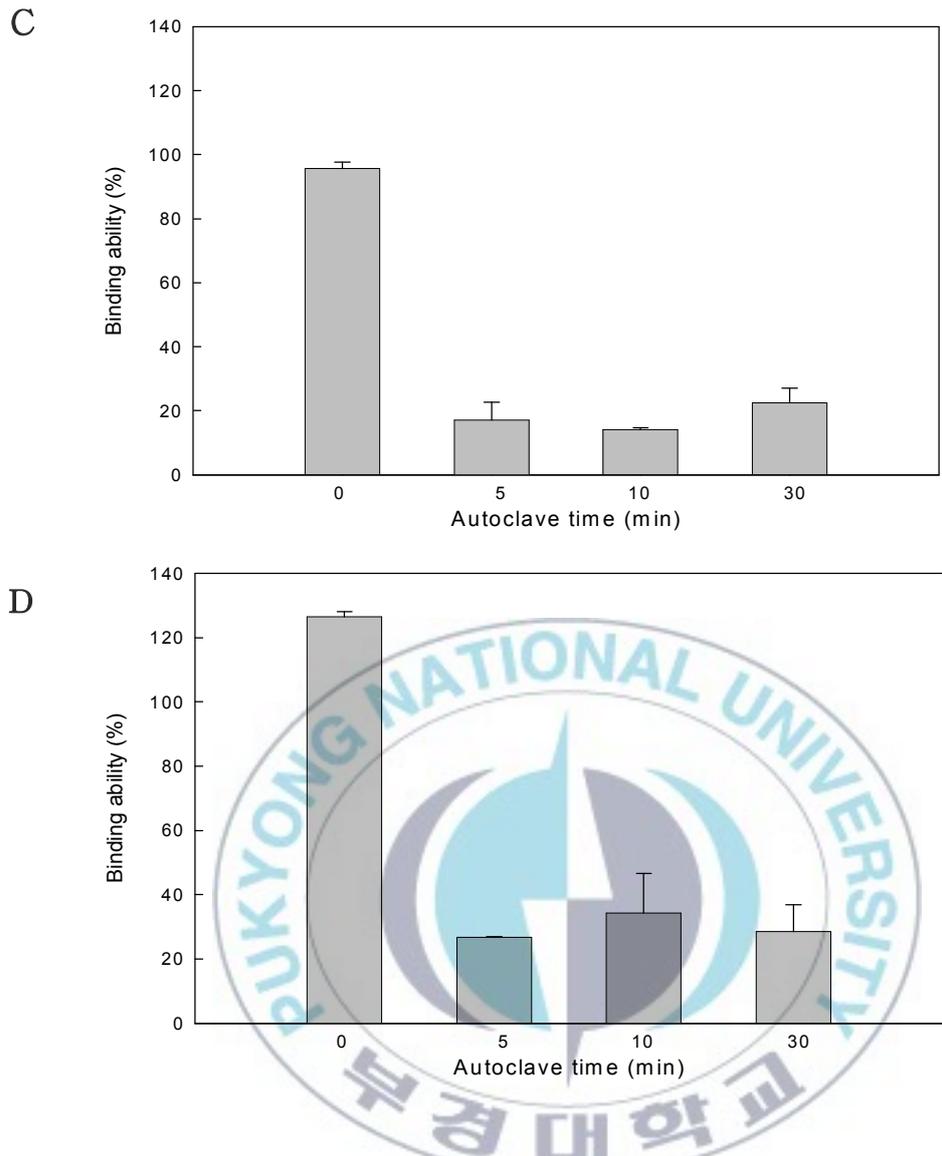


Fig. 23. Binding ability of pig-allergic patient serum to bacon extracts(sample C, D; different bacons) treated with autoclave. Binding ability = $B_t/B_0 \times 100$. B_t ; binding ability of bacon extracts (sample C, D) treated with autoclave, B_0 ; binding ability of pork extracts. All samples are 1 mg/mL.

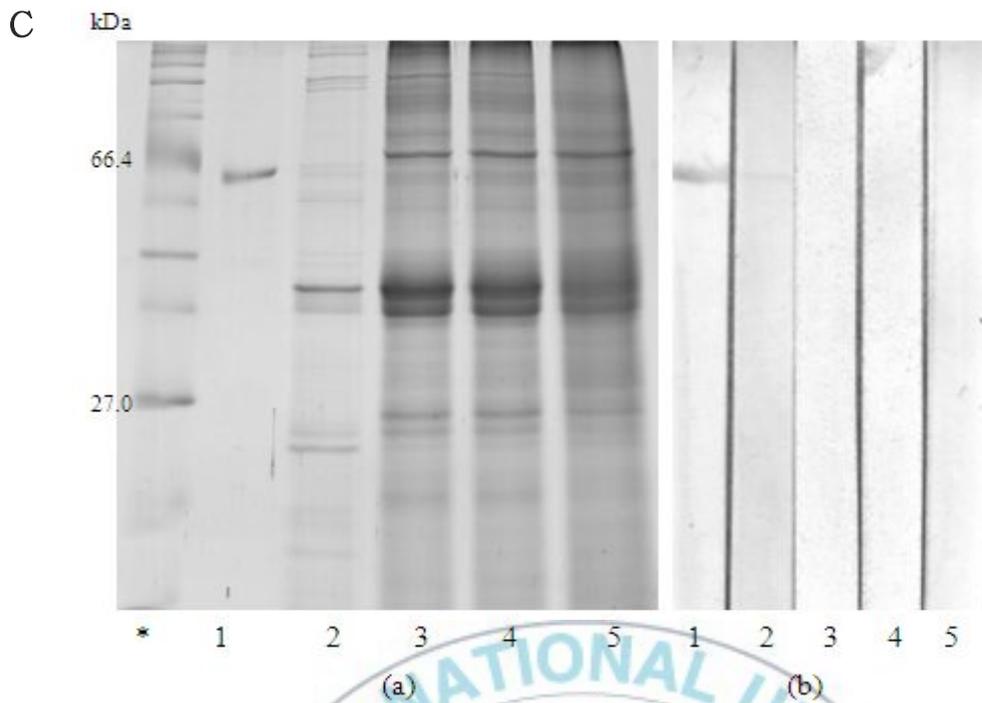


Fig. 24. SDS-PAGE(a) and immunoblotting(b) of bacon extracts (sample C) treated with autoclave. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) untreated bacon extracts, (3) 5 min at 121°C, (4) 10 min at 121°C, (5) 30 min at 121°C. All samples are 3 mg/mL.

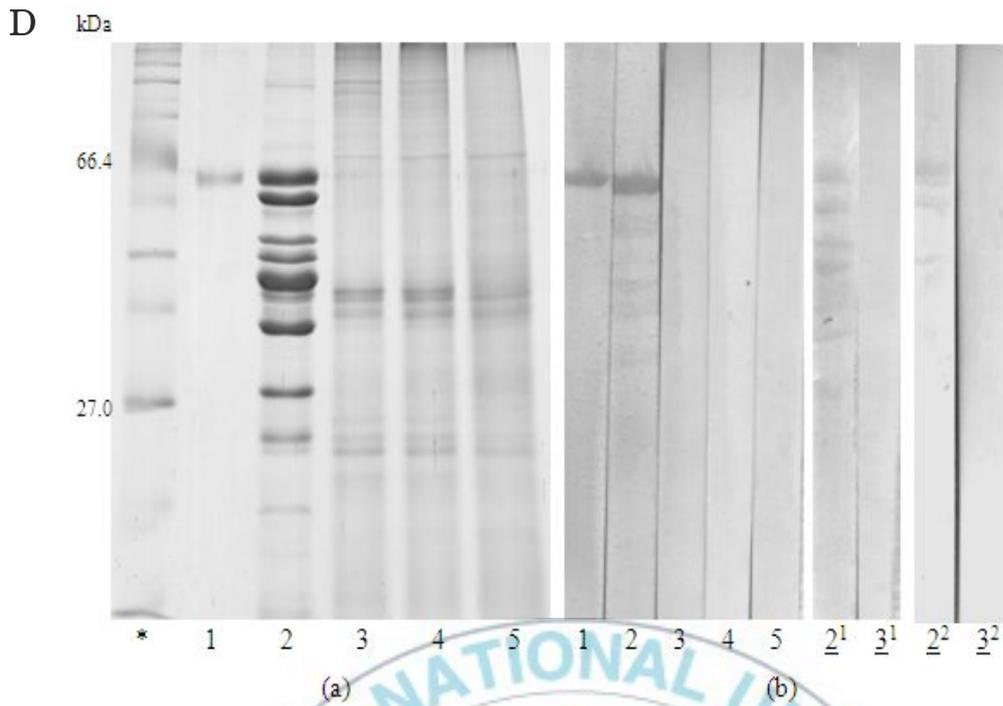


Fig. 25. SDS-PAGE(a) and immunoblotting(b) of bacon extracts (sample D) treated with autoclave. Samples are (*) marker (1) PSA, (2) untreated bacon extracts, (3) 5 min at 121°C, (4) 10 min at 121°C, (5) 30 min at 121°C. (b) 2¹-3¹ : immunoblotting of PSA to pig-allergic patient serum (No. 1), 2²-3² : immunoblotting of PSA to pig-allergic patient serum (No. 2). All samples are 2 mg/mL.

요 약

돈육 햄과 베이컨의 알레르겐성을 감소시킬 수 있는 최적의 물리적 조건을 찾기 위하여 먼저 돼지고기에 다양한 물리적 처리를 한 후 돼지고기의 PSA에 대한 알레르겐성 변화를 살펴보았다. 또한, 감마선과 가압가열을 실제 판매중인 돈육 햄과 베이컨에 처리한 후 PSA의 알레르겐성 변화를 살펴보았다.

1. 물리적 처리에 의한 돼지고기의 알레르겐성 저감화 효과

1-1. 돼지고기를 60°C에서 60분, 75°C에서 25분, 80 및 100°C에서 각각 20분 동안 가열처리한 후 돼지고기의 알레르겐성 변화를 살펴보았다. 그 결과, 60°C와 75°C에서 가열한 처리구는 p-IgG와 약 110% 이상의 높은 결합력을 유지하였지만, 80 및 100°C 처리 시에는 돼지고기의 PSA와 p-IgG의 결합력이 각각 12% 및 9% 정도로 크게 감소되었다. 또한 immunoblotting 결과에서도 60°C와 75°C 처리구의 PSA band는 항체와 반응하였지만 80°C와 100°C 처리구는 항체와 반응하지 않았다.

1-2. 가압가열 처리(121°C, 5, 10 및 30분)에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화를 알아본 결과, 가압가열 처리구 모두 p-IgG와의 결합력이 각각 9, 8 및 3% 정도로 크게 감소하였다. Immunoblotting 결과에서도 모든 가압가열 처리구의 PSA band가 p-IgG와 반응하지 않았다.

1-3. 돼지고기를 1, 5 및 10분간 microwave 처리한 후 알레르겐성 변

화를 살펴본 결과, 1분 처리 시에는 약 80%의 높은 결합력을 유지하였지만 5분과 10분 처리 시에는 결합력이 각각 12% 및 10% 정도로 크게 감소되었다. Microwave 처리에 의해 발생한 열을 배제하기 위해 낮은 온도에서 1, 5, 10 및 20분간 microwave 처리한 결과, 처리구 모두 80% 이상의 높은 결합력을 유지하였다.

1-4. 초음파(5, 10, 30 및 60분) 및 감마선 처리(1, 3, 10 및 20 kGy)에 의한 돼지고기의 알레르겐성 변화를 알아본 결과, 초음파 처리의 경우 30분과 60분 처리 시 약 60%로 결합력이 다소 감소하였지만 비교적 높은 결합력을 유지하였다. 감마선 조사한 돼지고기의 경우 PSA와 p-IgG와의 결합력이 무처리구보다 증가하였다.

2. 감마선 및 가압가열 처리에 의한 돈육 햄 및 베이컨의 알레르겐성 저감화 효과

2-1. 돈육 햄 및 베이컨에 감마선을 조사한 결과, 돈육 햄은 무처리구보다 감마선 처리구가 10% 정도 낮은 결합력을 나타내었지만 감마선 조사한 베이컨은 무처리구와 유사하거나 다소 높은 결합력을 나타내었다.

2-2. 가압가열 처리에 의한 돈육 햄 및 베이컨의 알레르겐성 변화를 살펴본 결과, 돈육 햄은 30분 가압가열 처리구의 경우 p-IgG와의 결합력이 조금 감소하였으며 환자혈청을 사용하였을 때는 10분과 30분 처리구 모두 결합력이 조금 감소하였다. 베이컨은 두 제품 모두 가압가열 처리에 의해 p-IgG와의 결합력이 16% 이하로 크게 감소하였으며, 환자혈청을 사용한 경우에도 sample C와 D의

결합력은 가압가열 처리에 의하여 각각 22% 및 34% 이하로 크게 감소하였다. Immunoblotting 결과에서도 sample D의 PSA band는 가압가열 5분 처리에 의해 p-IgG 뿐만 아니라 환자혈청과도 반응하지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 돼지고기, 돈육 햄 및 베이컨의 알레르겐성은 감마선 처리에 의해 크게 변화되지 않았지만 가압가열 처리에 의해서는 알레르겐성이 효과적으로 감소하였다. 따라서 이러한 가압가열 처리 조건을 돼지고기 민감성 환자들을 위한 저 알레르기 식품 개발에 적용할 경우 긍정적인 결과를 얻을 것으로 기대된다.



참고 문헌

Al-kahtani, H. A., Abu-Tarboush, H. M., Atia, M., Bajaber, A. S., Ahmed, M. A., El-Mojaddidi, M. A. 1998. Amino acid and protein changes in tilapia and Spanish mackerel after irradiation and storage. *Radiat. Phys. Chem.*, 51(1), 107-114.

Anderson, J. A. 1994. Milestones marking the knowledge of adverse reactions to food in the decade of the 1980s. *Ann. Allergy*, 72(2), 143-154.

Ayuso, R., Lehrer, S. B., Tanaka, L., Ibanez, M. D., Pascual, C., Burks, A. W., Sussman, G. L., Goldberg, B., Lopez, M., Reese, G. 1999. IgE antibody response to vertebrate meat proteins including tropomyosin. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 83(5), 399-405.

Besler, M., Steinhart, H., Paschke, A. 2001. Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. *Journal of chromatography B*, 756(1/2), 207-228.

Breneman, J. C. 1983. Overview of food allergy: Historical perspective. *Ann. Allergy*, 51(2), 220-221.

Cho, K. H., Yook, H. S., Lee, J. W., Lee, S. Y., Byun, M. W. 2001. Changes of binding ability of milk-hypersensitive patient's IgE to gamma-irradiated milk proteins. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(3), 505-509.

Choi, S. J., Hur, G. Y., Shin, S. Y., Park, H. S. 2007. A case of adult onset cow's milk allergy presenting beef and pork meat allergy. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, 27(3), 200-203.

Chung, H. J., Park, J. H., Kim, J. H., Kim, Y. O., Chung, S. T., Kim, J. H., Cho, E. D., Cho, D. H., Noh, G. W., Kim, D. S. 2001. Identification of allergens in pork meat. *J. Pharm. Korea* 45(1), 39-45.

Davis, P. J., Williams, S. C. 1998. Protein modification by thermal processing. *Allergy*, 53(46), 102-105.

Farr, D. 1990. High pressure technology in food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 1, 14-16.

Ferguson, A. 1995. Scope and diagnostic criteria of food sensitivity. *Clin. Exp. Allergy*, 25(2), 111-113.

Filali-mouhim, A., Audette, M. St-louis, M., Thauvette, L., Denoroy, L., Penin, F., Chen, X., Rouleau, N., Le Caer., J. P., Rossier, J., Protier, M., Le Maire, M. 1997. Lysozyme fragmentation induced by gamma-radiolysis. *Int. J. Radiat. Biol.*, 72(1), 63-70.

Fiocchi, A., Restani, P., Riva, E., Mirri, G. P., Santini, I., Bernardo, L., Galli, C. L. 1998. Heat treatment modifies the allergenicity of beef and bovine serum albumin. *Allergy*, 53(8), 798-802.

Foegding, E. A. 1988. Thermally induced changes in muscle protein. *Food Technol.*, 42, 58-64.

Fukazawa, T., Hasimoto, Y., Yassi, T. 1961. Effect of some proteins on the binding quality of an experimental sausage. *J. Food Sci.* 26(5), 541-549.

Han, G. D., Fan, J. P., Suzuki, A. 2006. Changes of SDS-PAGE pattern and allergenicity of BSA and BGG in beef extract treated with heat and high pressure. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(5), 594-599.

Han, J. S., Han, G. P., Kim, T. S. 1999. A survey of recognition and use for native pork. *J. East Asian Soc. Dietary Life*, 9(4),

489-500.

Hilger, C., Kohnen, M., Grigioni, F., Lehnert, C., Hentges, F. 1997. Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin: Study at the protein and DNA levels. *Allergy*, 52(2), 179-187.

Imamura, T., Kanagawa, Y., Ebisawa, M. 2008. A survey of patients with self-reported severe food allergens in Japan. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 19(3), 270-274.

Ingelfinger, F. J., Lowell, F. C., Franklin, W. 1949. Gastrointestinal allergy. *N. Engl. J. Med.*, 241, 303-308.

Jeoung, B. J., Reese, G., Hauck, P., Oliver, J. B., Daul, C. B., Lehrer, S. B. 1997. Quantification of the major brown shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) by a monoclonal antibody-based sandwich ELISA. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 100(2), 229-234.

Kang, I. J. 2003. Safety evaluations of irradiated foods. *Korean J. Food Preserv.*, 10(2), 252-260.

Kang, K. O., Lee, J. W., Jo, C., Yook, H. S., Byun, M. W. 2002. Changes of allergenicity and conformational structure of egg ovomucoid by gamma irradiation in the basic condition. *J. Food Sci. Nutr.*, 7(1), 52-56.

Kempner, E. S. 1993. Damage to proteins due to the direct action of ionizing radiation. *Quarterly Reviews of Biophysics.*, 26(1), 27-48.

Kim, C. J., Kim, J. B., Kim, B. C., Lee, S. B., Jung, S. W., Shin, H. K., Ko, W. S. 1992. Development of immunoassay systems for the assay of soy protein in meat products; Antibody production and properties for the assay of soy protein. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 24(3), 204-208.

Kim, D. W., Choe, H. S., Ahn, C. N., Jeong, S. G., Ham, J. S., In, Y. M. 2003. Reduction of antigenicity of bovine casein by microbial enzymes. *J. Korean Dairy Technol. Sci.*, 21(2), 97-104.

Kim, K. B. W. R. 2007. Changes in allergenicity of porcine serum albumin by physical treatment. Pukyong national university MS thesis.

Kim, K. B. W. R., Kim, S. J., Lee, S. Y., Song, Y. J., Ahn, D. H. 2008. Changes in allergenicity of porcine serum albumin by microwave, sonication and high hydrostatic pressure. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 28(4), 499-504.

Kim, S. Y., Jung, E. Y., Yuk, J. S., Kim, Y. S., Kim, J. M., Suh, H. J. 2007. Meat quality of belly and shoulder loin according to various producing district. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 27(2), 216-221.

Kume, T., Matsuda, T. 1995. Changes in structural and antigenic properties of proteins by radiation. *Radiat. Phys. Chem.*, 46(2), 225-231.

Kye, S. H., Lee, H. S., Park, M. A., Moon, H. K. 1996. The study on frequently consumed food items from 1993 korean national nutrition survey(I) -Amounts and frequency of foods- *Korean J. Dietary Culture*, 11(5), 569-579.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, 227(15), 680-685.

Le Maire, M., Thauvette, L., De Foresta, B., Biel, A., Beauregard, G., Totier, M. 1990. Effects of ionizing radiation on proteins. Evidence of non-random fragmentations and a caution in the use of the method for determination of molecular mass. *Biochem. J.*, 267(2), 431-439.

Lee, B. O., Chang, O. K., Oh, D. K. 2000. Evaluation of allergenicity for fish and method for reduction of allergenicity by food technological treatment. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 20(2), 114-124.

Lee, J. H., Lee, S. R. 1988. Electrophoretic pattern of specific proteins in meat products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(1), 1988.

Lee, J. W., Byun, M. W. 2003. Food irradiation technology and the structural changes of food allergen by irradiation. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, 23(1), 16-23.

Lee, J. W., Park, J. H., Kim, C. J., Shin, H. K. 1998. Application of competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay(Ci-ELISA) for monitoring the degree of frozen denaturation of bovine myosin. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 33(4), 401-410.

Lee, J. W., Yook, H. S., Cho, K. H., Lee, S. Y., Byun, M. W. 2001. The changes of allergenic and antigenic properties of egg white albumin (*Gal d 1*) by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Soc. Nutr.*, 30(3), 500-504.

Lee, J. W., Yook, H. S., Kim, S. A., Sohn, C. B., Byun, M. W. 1999. Effect of gamma irradiation on the physicochemical properties of pork loin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31(3), 705-711.

Lee, K. J., Um, B. H. 2008. Extraction of useful component from natural plants using ultrasound system. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 23(2), 101-108.

Levieux, D., Levieux, A. 1996. Antigenic specificity of monoclonal antibodies to beef myoglobin determined by cross-reactivity studies against myoglobins from domestic species. *Meat Science*, 42(3), 239-249.

Martin, R., Wardule, R. J., Jones, S. J., Hernandez, P. E., Patterson, R. L.

S. 1991. Monoclonal antibody sandwich ELISA for the potential detection of chicken meat in mixtures of raw beef and pork. *Meat Sci.*, 30(1), 23-31.

Matoba, T., Hata, T. 1972. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structure. *Agri. Bio. Chem.*, 36(8), 1423.

Matsuda, T., Tsuruta, K., Nakabe, Y., Nakamura, R. 1985. Reduction of ovomucoid immunogenic activity on peptic fragmentation and heat denaturation. *Agric. Biol. Chem.*, 49(7), 2237-2241.

Matsuda, T., Watanabe, K., Nakamura, R. 1982. Immunochemical studies on thermal denaturation of ovomucoid. *Biochim. Biophys. Acta.*, 707(1), 121-128.

Mofidi, S. 2003. Nutritional management of pediatric food hypersensitivity. *Pediatrics*, 111(6), 1645-1653.

Moneret-Vautrin, D. A., Kanny, G., Morisset, M., Rancé, F., Fardeau, M. F., Beaudouin, E. 2004. Severe food anaphylaxis: 107 cases registered in 2002 by the Allergy Vigilance Network. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 36(2), 46-51.

Moon, E. K., Bae, H. C., Nam, M. S. 2007. The relationship between food allergen sensitization and allergic disease in childhood. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 27(3), 337-344.

Moon, S., Song, K. B. 2001. Effect of γ -irradiation on the molecular properties of ovalbumin and ovomucoid and protection by ascorbic acid. *Food Chem.*, 74(4), 479-483.

Nam, S. Y. 2004. Food Allergy; Diagnosis and treatment. *Pediatric allergy and respiratory disease.*, 14(2), 119-126.

Oh, J. W. 1998. Food intolerance and cellulan immunity. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, 18(3), 393-404.

Opara, E. I., Oehlschlager, S. L., and Hanley, A. B. 1998 Immunoglobulin E mediated food allergy. Modelling and application of diagnostic and predictive tests for existing and novel foods. *Biomarkers*, 3(1), 1-19.

Orhan, F., Sekerel, B. E. 2003. Beef allergy: A review of 12 cases. *Allergy*, 58(2), 127-131.

Penas, E., Prestamo, G., Polo, F., Gomez, R. 2006. Enzymatic proteolysis, under high pressure of soybean whey: Analysis of peptides and the allergen Gly m 1 in the hydrolysates. *Food Chem.*, 99(3), 569-573.

Peyron, S., Mouecoucou, J., Fremont, S., Sanchez, C., Gontard, N. 2006. Effects of heat treatment and pectin addition on β -lactoglobulin allergenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 54(15), 5643-5650.

Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Balasubramaniam, V. M.,

Niranjan, K., Knorr, D. 2007. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1), 69-112.

Reese, G., Jeoung, B. J., Daul, C. B., Lehrer, S. B. 1997. Characterization of recombinant shrimp allergen Pen a 1(tropomyosin). *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 113(1/3), 240-242.

Ryu, J. H., Lee, J. M., Shon, D. H. 2000. Changes in the antigenicity of chicken egg white by the treatments of protease, trifluoromethanesulfonic acid, heat and NaOH. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32(3), 720-725.

Urisu, A., Ando, H., Morita, Y., Wada, E., Yasaki, T., Yamada, K., Komada, K., Torii, S., Goto, M., Wakamatsu, T. 1997. Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 100(2), 171-176.

Sampson, H. A. 1999. Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 103(5), 717-728.

Schmidl, M. K., Taylor, S. L., Nordlee, J. A. 1994. Use of hydrolysate-based products in special medical diets. *Food Technol.*, 48(10), 77-85.

Sicherer, S. H. 2002. Food allergy. *The Lancet*, 360(9334), 701-710.

Son, D. H. 2000. The food and allergy. *Food Sci. Ind.*, 33(4), 2-9.

Su, R., Qi, W., He, Z., Zhang, Y., Jin, F. 2008. Multilevel structural nature and interactions of bovine serum albumin during heat-induced aggregation process. *Food hydrocolloids*, 22(6), 995-1005.

Sung, S. H. 2002. Study on the drying method of velvet antler using microwave oven. *J. Lives. Hous. & Env.*, 8(3), 177-182.

Taub, I. A., Kaprielian, R. A., Halliday, J. W., Walker, J. E., Angelini, P., Merritt, C. 1979. Factors affecting radiolytic effects in food. *Radiat. Phys. Chem.*, 14(3/6), 639-653.

Towbin, H. T., Staehelin, T., Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfers of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76(9), 4350-4354.

Wal, J. M. 2003. Thermal processing and allergenicity of foods. *Allergy*, 58(8), 727-729.

Walker-Smith, J. A. 1995. Diagnostic criteria for gastrointestinal food allergy in childhood. *Clin. Exp. Allergy*, 25(1), 20-22.

Wang, C. H., Kou, S. K., Chen, H. L. 2002. Porcine serum albumins sandwich ELISA for determining the cooking temperature of cured

ground pork. *Taiwanese J. Agriculture chemistry and Food Science*, 40(3), 197-204.

Werfel, S. J., Cooke, S. K., Sampson, H. A. 1997. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 99(3), 293-300.

Weiss, C., Munoz-Furlong, A., Furlong, T. J., Arbit, J. 2004. Impact of food allergies on school nursing practice. *The Journal of school nursing*, 20(5), 268-278.

Yook, H. S., Kim, M. R., Kim, J. O., Lim, S. I., Byun, M. W. 1998. Effects of γ -Irradiation on meat proteins. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(2), 407-412.

Yoon, G. S., Woo, J. W. 1999. The perception and the consumption behavior for the meats in koreans. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28(1), 246-256.

양재승. 1997. 일반식품중 조사식품의 검출법. *식품과학과 산업*, 30(2), 121-130.

Zhenxing, L., Caolimin, L., Jamil, K. 2006. Reduction of allergenic properties of shrimp (*Penaeus Vannamei*) allergens by high

intensity ultrasound. *Eur. Food Res. Technol.* 223(5), 639–644.



감사의 글

어떠한 일도 갑자기 이루어지지 않습니다. 한 송이의 꽃이 피기까지도 오랜 시간과 정성이 있어야 하는 것처럼, 노력과 인내가 함께했던 2년간의 석사과정을 통해 학위논문이라는 값진 결실을 맺게 되었습니다.

먼저 연구하는 자세와 공부하는 방법부터 가르쳐주신 안동현 교수님께 깊은 감사의 말씀을 드립니다. 실험과 연구에 관련된 부분은 따끔한 충고로, 개인적으로 힘들었던 부분은 따뜻한 격려로 해주셨기에 힘든 시간을 잘 견딜 수 있었습니다. 논문지도위원으로서 관심과 조언을 아끼지 않으셨던 전병수 교수님과 김영목 교수님께 감사의 말을 전하며, 식품공학과에 들어와서 학사와 석사과정동안 식품에 대한 앎을 일깨워주신 김선봉 교수님, 이양봉 교수님, 조영제 교수님, 양지영 교수님, 이근태 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

실험이 진행되는 동안 많은 도움을 주셨던 이주운 박사님, 변명우 박사님, 김규언 교수님, 진규 선배에게도 감사의 말을 전하며, 사회에 나가있지만 언제나 큰 힘이 되는 진희언니, 아람이언니, 미정이언니, 원석선배, 경목선배에게도 고마운 마음을 전합니다.

4년이라는 긴 시간을 식품자원개발실에서 보내면서 어려움과 기쁨을 함께했던 가족 같은 실험실원들이 있었기에 석사논문을 잘 마무리 할 수 있었습니다. 실험의 기초부터 결과에 대한 discussion까지 식품 알레르기에 대한 지식을 아낌없이 가르쳐줬던 꽃봉언니, 바쁜 일정에서도 후배의 일에는 항상 발벗고 나섰던 소영언니와 유진언니, 실험실

생활에서 큰 의지가 되었던 소영이, 오랜 친구처럼 마음이 잘 맞았던 소정이언니에게 많은 도움을 받았고 감사의 마음을 전합니다. 항상 큰 웃음을 준 착한 후배 청조, 지연, 나비, 지희, 찬, 예지, 문경, 슬아, 다현, 동섭, 준영, 준호, 태규에게 고마움을 전합니다. 대학교 동기이자 평생친구가 될 선희, 수경, 은혜, 동현, 형훈, 영진이, 그리고 엔돌핀이 되어주는 혜진, 수민, 인주, 선애, 정은이에게 항상 힘이 되어줘서 고맙다는 말을 전하며, 항상 웃는 얼굴로 힘들었던 마음을 위로해준 상영이오빠에게도 고마움을 전합니다. 또한 논문이 완성될 수 있도록 많은 지원을 해준 한국지도자육성장학재단과 재단 친구들에게도 감사의 말을 전합니다.

건강이 가장 중요한 것이라며 진심어린 애정을 주셨던 사랑하는 부모님께 이 논문을 바치며, 가족들에게도 이 자리를 빌어 정말 사랑한다는 말을 전하고 싶습니다.

저 혼자만의 노력이 아닌 모든 분들의 격려로 큰 결실을 맺을 수 있었기에 다시 한 번 모든 분들께 감사의 마음을 전합니다. 2년간의 배움이 앞으로 더 큰 열매를 맺을 수 있도록 항상 발전하는 사람이 되겠습니다.