



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學碩士 學位論文

물리적 처리에 의한 *porcine serum albumin*의 *allergenicity* 변화



2007 年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 꽃 봉 우 리

工學碩士 學位論文

물리적 처리에 의한 *porcine serum*
*albumin*의 *allergenicity* 변화

指導教授 安 東 賢

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함



2007 年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 꽃 봉 우 리

金꽃봉우리의 工學碩士 學位論文으로 認准함

2007年 2月



주	심	농학박사	김 선 봉	인
위	원	공학박사	전 병 수	인
위	원	농학박사	안 동 현	인

목 차

Abstract 1

서 론 3

재료 및 방법

1. 재 료

1-1. 원료 8

1-2. 표준 항원 및 항체 8

2. 방 법

2-1. Competitive indirect enzyme linked immunosorbent assay
(Ci-ELISA)의 실험조건 9

2-2. Titration curve 9

2-3. Standard curve 10

2-4. 물리적 처리

2-4-1. 돼지고기의 주요 allergen 분리 10

2-4-2. 가열 처리 11

2-4-3. 가압가열 처리 11

2-4-4. 초고압 처리 11

2-4-5. 초음파 처리 12

2-4-6. Microwave 처리	12
2-4-7. 방사선 처리	12
2-5. SDS-PAGE	14
2-6. Immunoblotting	14

결과 및 고찰

1. Ci-ELISA

1-1. Titration curve	15
1-2. Standard curve	15
2. 물리적 처리에 의한 allergenicity 변화	
2-1. 가열 처리에 의한 변화	20
2-2. 초고압 처리에 의한 변화	22
2-3. 초음파 처리에 의한 변화	30
2-4. Microwave 처리에 의한 변화	33
2-5. 방사선 처리에 의한 변화	41
요 약	46

참 고 문 헌	48
---------------	----

*Changes in Allergenicity of Porcine Serum
Albumin by Physical Treatment*

Koth-bong-woo-ri Kim

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

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of physical treatment(heating, autoclaving, high hydrostatic pressure, sonication, microwave and gamma irradiation) on the allergenicity of porcine serum albumin(PSA) and pork meat(PM). This study was performed using a competitive indirect immunosorbent assay(Ci-ELISA), sodium dodesyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) and immunoblotting to investigate the change in the binding ability of PSA and PM altered by phsical treatment to p-IgG and the serum of patients who were allergic to pigs. The following changes were observed in the allergenicity of PSA and PM to p-IgG. The heat treatment at 100°C for 20 min on PSA and PM was able to significantly decrease the binding ability

of PSA to p-IgG at 52% and 23%, respectively. However heat treatment at 60°C and 80°C was not able to decrease the binding ability of PSA to p-IgG. An autoclave treatment on PSA for 30 min and PM for 15 min decreased the binding ability to p-IgG at 29% and 6%, respectively. The binding ability of 3 kGy gamma-irradiated PSA was markedly decreased to 30%. SDS-PAGE and immunoblotting of heat-treated PSA and PM over 100°C and gamma-irradiated PSA revealed that the intensity of the 66 kD band decreased and that p-IgG barely recognized their presence. The microwave treatment of PSA was able to decrease the binding ability depending on the duration of the treatment. Notably, the binding ability of PSA treated for 10 min was 29%. Immunoblotting of the microwave-treated PSA revealed that the p-IgG was hardly recognized in 5 and 10 min treatments. Exposure to high hydrostatic pressure, sonication, and microwave without heat did not affect the allergen and allergenicity of PSA. The following changes were observed in the allergenicity of the serum of patients' with pig allergies. The binding ability of the autoclave-treated and gamma-irradiated PSA decreased more in the serum of the patients with pig allergies than in p-IgG. Immunoblotting revealed that the serum of the patients with pig allergies hardly even recognized the PSA.

서 론

최근 산업화에 따른 알레르기 발병증가는 세계적인 추세로서, 알레르기 질환은 전 인구의 약 10~20%가 경험하고 있는 흔한 질환중의 하나이다(Tanabe et al., 2002). 알레르기는 인체가 흡입, 또는 접촉하거나 섭취하는 외부물질에 대한 인체의 면역반응으로 야기되는 질환으로서 인간의 생활환경에 포함되어 있는 모든 물질이 그 원인이 될 수 있다(Sloan et al., 1986; Bock, 1982). 알레르기 환자의 대다수가 식품에도 알레르기 반응을 일으키는 것으로 보고되고 있으며 섭취하는 식품의 다양화와 새로운 가공식품의 이용이 증대됨에 따라 식품에 의한 알레르기 증상이 급격히 증가하고 있는 추세이다.

식품알레르기는 생체 내 면역체계가 관여하여 일어나는 특정식품에 대한 일종의 과민반응으로(Sicherer, 1999; Metcalfe, 1991) 섭취한 식품항원, 항원에 특이적인 항체, 소화관 조직의 mast cell, 순환하는 basophils(호염기구) 사이의 상호작용의 결과로서 식품이나 식품첨가물에 의해 일어나는 비정상적인 면역반응으로 정의된다(Metcalfe, 1984).

이는 식품에 의한 독성 반응(예: 식중독)이나 비면역학적 반응(예:유당 불내성증)과 구별되며 크게 IgE-매개성(IgE-mediated)과 IgE-비매개성(non-IgE mediated)반응으로 분류된다(Nam, 2004). 알레르기의 발생기전은 즉시형 과민증, 즉 알레르기 특이적 IgE에 의한 I형, IgG 및 IgM이 관여하는 세포장해성 과민증과 면역복합체 과민증인 II형과 III형, 세포성 면역이 관여하는 지연형 과민증인 IV형으로 크게 나눌 수 있다(Sampson, 1991). 그리고 식품알레르기의 증상은 즉시형과 비

즉시형이 있는데 특히, 즉시형으로 나타나는 증상의 발현은 I형 알레르기가 주로 관여하고 있다(Untersmayr et al., 2006). I형 알레르기 기전은 allergen이 생체내에 침입하면 그것에 대한 항체, 주로 IgE가 생산되고 그 항체는 혈액 중의 호염기구, 혈소판 혹은 조직 중에 있는 비만세포 표면상의 수용체에 결합한다. 반복해서 같은 항원의 침입으로 인해 비만세포 표면의 수용체에 결합되어 있는 항체와 반응함으로써 histamin, leukotriene, serotonin 등의 화학매개물질이 비만세포로부터 유리된다(Ju, 1998). 그 결과 알레르기 증상이 발현되며 대표적인 증상은 표피 및 진피에 두드러기나 혈관부종과 같은 피부병변으로 나타날 수 있고 소화기계에 영향을 미쳐 설사, 복통, 구토 등의 증상을 일으킬 수 있으며 천식, 비염, 아나필락시스처럼 호흡기, 순환기의 장애를 초래할 수도 있다(Kim et al., 2003).

식품알레르기는 성인에서는 2% 정도로 추정되며 3세미만의 소아에서는 6~8% 이상의 유병률을 보이는 비교적 흔한 알레르기 질환으로 알려져 있다(Sampson, 1999). 또한 산업 사회의 발달, 모유를 대신한 우유 수유의 증가, 유전자 변형 식품과 같은 신종 식품의 출현, 방부제나 색소와 같은 식품 첨가제의 사용 증가 등으로 기타 알레르기 질환과 더불어 그 빈도가 늘어나고 있고 중요성도 증가되고 있다(Sicherer, 2002).

식품알레르기 질환의 원인 식품은 나라마다 문화의 차이로 인해 섭취되는 식품의 종류 뿐만 아니라 섭취량에도 커다란 차이가 있으며, 따라서 알레르기를 주로 일으키는 식품 종류도 나라마다 큰 차이를 보인다. 주요 원인 식품으로는 소아에서는 우유(Shin et al., 2004), 계란

(Philippe., 2004; Lee et al., 2001; Lee et al., 2001), 밀(Battais et al., 2005) 및 콩(Hourihane et al., 1996; Burks et al., 1997; Bock et al., 1989; Sachs et al., 1981) 등이 있고, 성인에서는 갑각류(Shimakura et al., 2005), 닭고기, 돼지고기(Cho et al., 2001; Hilger et al., 1997; Llatser et al., 1998; Chung et al., 2001), 옥수수(Pasini et al., 2002), 키위(Lucas et al., 2003), 오렌지(Crespo et al., 2006) 및 과인애플(Reindl et al., 2002) 등이 비교적 알레르기성이 강한 식품으로 알려져 있으며 우리나라에서는 식품 위생법 제 7조(별지1)에 의해 가금류의 알, 메밀, 땅콩, 우유, 대두, 밀, 고등어, 게, 돼지고기, 복숭아, 토마토가 알레르기 유발 식품 항목으로 원재료명 표시 대상으로 지정되어 있다.

이러한 알레르기 유발 식품에는 다양한 단백질이 함유되어 있으며 그 중 일부 단백질은 알레르기를 유발시키는 allergen으로 알려져 있다. 식품 allergen의 공통적인 특징은 대부분 수용성 당단백질(glycoprotein)로 분자량은 10~67 kDa이고 다른 식품단백질에 비해 비교적 열처리에 안정하고 위산과 소화효소의 영향을 덜 받는다. 지금까지 밝혀진 allergen으로는 우유의 경우 β -lactoglobulin, α -casein이(Lee et al., 2001; Wal, 2001)있으며 달걀의 경우는 ovalbumin, ovomucoid(Lee et al., 2001), 콩은 glycinin과 7S, 2S-globulins(Kim et al., 2004; Keum et al., 2006), peanut은 63.5 kDa 과 65 kDa, 17 kDa의 단백질(Pham et al., 2000; Clarke et al., 1998), castor bean의 경우는 2S albumin storage 단백질(Bashir et al., 1998), 쌀은 16 kDa의 단백질(Nakase et al., 1996), 소고기와 돼지고기는 66 kDa의 serum albumin이 주요 allergen(Fiocchi et al., 1998; Chung et al., 2001; Wang et al.,

2002)으로 보고되고 있다.

일반적으로 식육류 알레르기는 우유, 달걀, 땅콩 등과 같은 식품들에 비해서는 알레르기 발병율이 낮은 편이다. 그러나 육류는 영양적 가치가 높을 뿐만 아니라 단백질의 주 공급원이며 최근 소비자들의 소득 증대와 식생활 패턴의 변화로 육류 소비량이 매년 꾸준히 증가하고 있는 추세이다. 그 중 돼지고기는 1인당 소비량이 2002년 17 kg, 2003년 17.4 kg, 2004년 17.9 kg으로 매년 꾸준히 증가하고 있다(FKI, 2004; FKI, 2005). 돼지고기 알레르기의 주 증상은 atopic dermatitis와 oral allergy syndrome 외에도 다른 증상들을 나타낸다고 보고(Johansson et al., 2001)되고 있다. 돼지고기 알레르기의 발생빈도는 미국의 경우 57명의 의심되는 환자들을 대상으로 실험한 결과 58% 유병율을 보인 반면(Ayuso et al., 1999) 일본에서는 3% 유병율을 보였다고 보고(Iikura et al., 1999)되었으며 우리나라에서는 Kim(Kim et al., 2003)등이 최근 조사한 결과 0.1%로 보고되었다. 돼지고기 알레르기에 대한 국외 연구 보고는 pork-cat syndrome이라 불리는 cat epithelia와의 교차반응성에 대한 연구가 보고(Drouet et al., 1996)된바 있으며 국내에서는 돼지고기 알레르기에 대한 연구가 거의 없는 실정이나 Chung(Chung et al., 2001)등이 돼지고기 중 알레르기 유발성분을 동정한 연구가 보고된바 있다.

현재까지 발표된 식품알레르기를 예방하는 최선의 방법은 원인식품이나 원인식품을 원료로 함유한 가공식품을 가급적 섭취하지 않는 것이 유일한 방법으로 알려져 있다. 하지만 이러한 방법은 영, 유아에서는 정상적인 발육이 어려우며, 식생활 균형 조절에 부적절하므로 적용하기가

어렵다. 지금까지 보고된 알레르기 억제 방법은 allergen을 소거하거나 변형하는 것으로 효소적 가수 분해법을 이용한 hypoallergenic rice(Watanabe et al., 1990), hypoallergenic formula(Cordle et al., 1991), hypoallergenic flour(Watanabe et al., 1994)등이 개발되었으며 유전자 공학기법을 이용한 유전자 변형 방법이 소개 되었다(Metcalf et al., 1996). 이러한 방법은 식품 적용이 국한 되어있기 때문에 다양한 식품에 적용하기가 어려우며 최근에는 물리적 처리를 하여 식품알레르기를 억제하는 연구가 시도 되고 있는데 방사선 조사(Kume et al., 1995; Lee et al., 2000; Kim et al., 2000; Lee et al., 2001; Byun et al., 2002), 가압가열 처리 결과(Han et al., 2006)에서 항원성이 감소하였다는 결과가 보고되고 있다.

그리하여 본 연구에서는 저 알레르기 돼지고기 제품을 제조하기 위한 조건을 조사하기 위해 돼지고기의 주 allergen으로 밝혀진 porcine serum albumin에 여러 가지 물리적 처리를 한 다음 Ci-ELISA, SDS-PAGE, Immunoblotting을 실시하여 allergen 및 allergenicity 변화에 대한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1-1. 원료

지방과 근막을 제거한 신선한 돼지고기 등심을 실험에 이용하였다.

1-2. 표준 항원 및 항체

표준 항원으로 사용된 porcine serum albumin은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Goat polyclonal-IgG는 Bethyl사(Bethyl laboratories Inc., USA)에서 구입하였으며 pig-allergic patients' serum은 연세대학교 의과대학 소아과학교실 김규언 교수님으로부터 제공받아 사용하였다. Anti-goat IgG peroxidase conjugate는 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

2-1. *Competitive indirect enzyme linked immunosorbent assay(Ci-ELISA)*의 실험 조건

Lee 등의 방법(Lee et al., 1998)을 변형하여 항원-항체 반응을 알아본 것으로, Costar 96-well flat bottom plate(224-0096, Bio-rad, NY, USA)에 basic coating buffer(0.2 M Bicarbonate coating buffer-pH 9.6)를 이용하여 일정 농도로 희석한 후 4°C에서 하룻밤 coating 시켰다. 1% gelatin 용액으로 blocking시키고, 0.01 M PBS(pH 7.3)로 일정한 농도로 희석된 항원, 항체를 각각 50 μ l씩 분주하여 결합 반응시킨 뒤 2차 항체를 넣은 다음 OPD(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)용액으로 발색시켰다. 그 후 2 M H₂SO₄으로 반응을 중지시켜 ELISA reader(Model 550, Bio-rad, USA)를 사용하여 490 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 단계별 반응조건은 37°C에서 2 hr이고 각 단계가 끝날 때마다 0.01 M PBST(Phosphate buffered saline containing 0.05%(v/v) tween 20)용액으로 3회 수세하였다.

2-2. *Ci-ELISA*의 *titration curve*

표준 항원과 1차 항체와의 최적 결합 적정 농도를 찾기 위해 Lee 등의 방법(Lee et al., 1998)을 약간 변형하여 titration curve를 작성하였다. 즉 coating buffer(pH 9.6)에 5, 10, 20 μ g/ml로 희석된 표준항원을 well에 넣은 다음 4°C에서 하룻밤 coating 시키고 0.01 M PBS(pH 7.3)를 이용하여 희석된 1차 항체를 100 μ l씩 넣었다. 이하 모든 과정

은 Ci-ELISA의 실험 조건에서 언급한 과정과 동일하다.

2-3. Ci-ELISA의 *standard curve*

2-1과 같은 방법으로 basic coating buffer를 이용하여 적절한 농도로 희석된 표준 항원을 well에 coating시켰다. 그런 다음 well에 0.01 M PBS(pH 7.3)를 이용하여 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 0.195 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 희석된 항원을 각각의 well에 50 μl 씩 분주한 후 titration curve에서 결정된 항체의 희석 농도로 50 μl 씩 분주하였다. 이하 모든 과정과 조건은 Ci-ELISA 실험 조건과 동일하며 표준 항원과 항체의 100% 결합을 위해 항체 50 μl 와 0.01 M PBS(pH 7.3) 50 μl 만을 well에 첨가하였으며 blank로서 0.01 M PBS(pH 7.3) 100 μl 를 첨가하였다.

2-4. 물리적 처리

2-4-1. 돼지고기의 주요 *allergen* 분리

Wang(Wang et al., 2002)등의 방법을 인용하여 신선한 돼지고기 등심 부위를 구입한 뒤 돼지고기의 PSA 획분을 분리하기 위해 지방과 근막을 제거한 후 세절하여 3 g을 취한 후 2배의 0.01 M PBS(Phosphate buffered saline, pH 7.3)를 가한 뒤 homogenizer (AN-7, Ace Homogenizer, Nihonseiki, Japan)로 10,000 rpm으로 1분간 균질화 시키고 원심분리기로(Supra 22K, Hanil Sciecn Co., Korea) 16000 \times g, 30 min간 원심분리한 후 상층액을 취하여 여과지로 여과하여 실험에 사용하였다. 단백질 농도는 BSA protein assay kit으

로 농도 1.0 mg/ml로 보정하여 사용하였다.

2-4-2. 가열 처리

PSA를 시험관에 넣고 60℃에서 10, 30, 60 min, 80℃에서 10, 20 min, 100℃에서 10, 20 min 처리하여 실험에 이용하였으며, 근막과 지방을 제거한 등심은 잘게 자른 후 60℃에서 60 min, 80℃에서 20 min, 100℃에서 20 min 처리하여 2-4-1의 조건으로 추출하여 실험에 사용하였다.

2-4-3. 가압 가열 처리

PSA를 시험관에 넣고 가압 멸균기(DW-AC 920, D.W. Industries, Korea)로 게이지압 1 kg/cm², 온도 121℃에서 5, 10, 30 min간 가압 가열 처리한 후 실험에 사용하였으며, 근막과 지방을 제거한 등심을 잘게 자른 후 1 kg/cm², 온도 121℃에서 15 min간 처리하여 2-4-1의 조건으로 추출하여 실험에 사용하였다.

2-4-4. 초고압 처리

PSA를 polyethylene bag에 담아 진공 포장한 다음 초고압기(ABB Autoclave Systems Inc., OHIO, USA)의 processing chamber에 넣어 25~40℃에서 200, 300, 400 MPa의 압력으로 각각 10 min간 처리하였다. 이때 감압 시간은 5 sec 정도로 소요되었으며 가압 시간은 30~80 sec가 소요되었다(Fig. 1).

2-4-5. 초음파 처리

PSA를 시험관에 담아 지름 1인치 tip을 사용한 초음파 분쇄기(VC 100, Sonics&Materials, Japan)로 pulse 20%, 20±1 Watts, pulse on/off 5 sec의 조건 하에서 5, 10, 30, 60 min간 초음파 처리하였다. 이때 초음파로 인한 열 발생을 막기 위하여 시험관 주위에 얼음물을 채워 사용하였다.

2-4-6. Microwave 처리

PSA가 들어 있는 시험관을 증류수로 채운 beaker에 담아 중탕으로 1, 5, 10 min간 microwave 처리하여 측정했다. 열의 작용을 배제하기 위해 PSA가 들어있는 시험관을 얼음물을 채운 용기에 넣고 1 min 간격으로 얼음물과 교환하면서 온도를 6~9°C로 유지시켜 1, 5, 10, 20 min간 microwave(KOR-102KS, Daewoo, Korea)로 처리하여 측정했다. 이때 microwave 처리 시 사용한 주파수는 2,450 MHz이었다.

2-4-7. 방사선 처리

PSA를 CO-60 감마선 조사시설(IR-79, Nordion International Ltd., Ontario, Canada)을 이용하여 10±0.5°C에서 시간당 10 kGy의 선량률로 3, 5, 7, 10, 15 및 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 흡수선량의 확인은 Ferick dosimetry(ceric/cerous dosimeter)를 사용하였고 선량의 오차는 ±0.1 kGy이었다.

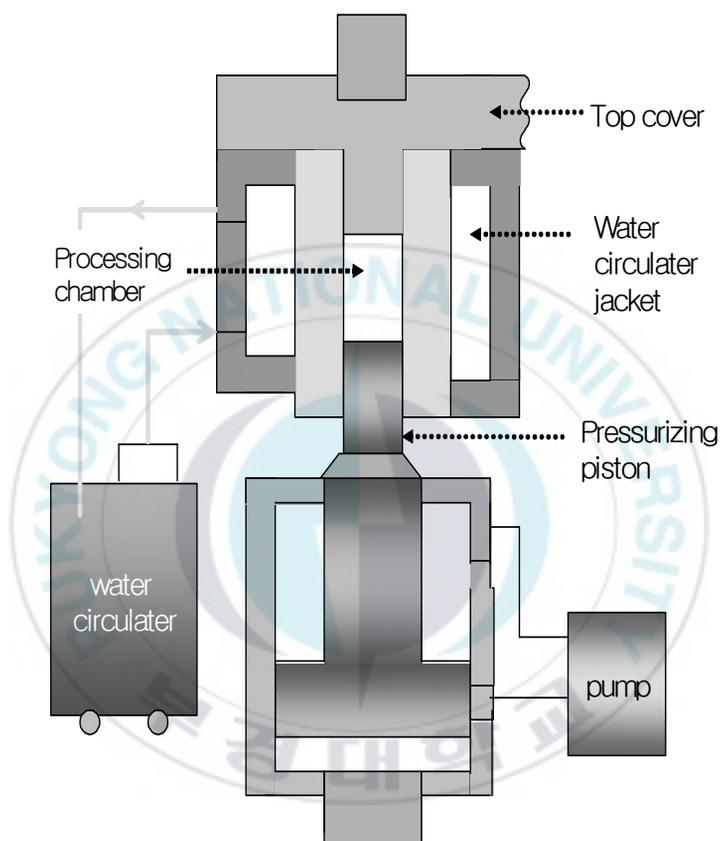


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental apparatus for high hydrostatic pressure.

2-5. SDS-PAGE

물리적 처리에 의한 PSA의 변화를 살펴보기 위하여 Laemmli의 방법 (Laemmli, 1970)으로 전기영동을 행하였으며 12% polyacrylamide gel (Acrylamide : Bis = 30 : 0.8)을 사용하였다. Molecular weight marker는 BioLabs사의 것을 이용했으며 분자량별 standard는 insulin A, B chain(2.3 kDa ~ 3.4 kDa), aprotinin(6.5 kDa), lysozyme(14 kDa), trypsin inhibitor(20 kDa ~ 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 사용하였다.

2-6. Immunoblotting

SDS-PAGE로 분리된 단백질은 Towbin(15) 등이 사용한 방법을 참고하여 transblot apparatus를 이용하여 methanol-activated polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane로 transfer시킨 후 각 strip을 3% gelatin으로 1시간 동안 blocking 시키고 1% gelatin을 사용하여 1차 항체를 적당한 농도로 희석하여 1 ml 가한 후 실온에서 3시간 반 동안 반응시켰다. 그 후에 TBST(Tris buffered saline containing 0.1%(v/v) tween 20)로 희석된 2차 항체를 1 ml가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. Blocking을 제외한 각 단계별로 TBST를 이용하여 매 3회 세척하였으며, 기질로서 DAB(3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)용액을 가하여 발색시킨 후 반응정도를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. Ci-ELISA

1-1. Titration curve

항체와 결합하는 표준 항원과 goat polyclonal-IgG와의 최적 결합 희석 농도를 찾기 위하여 항원과 항체를 각각 여러 농도로 희석하여 titration curve를 그린 결과 항원의 경우 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 희석하였을 때 각각의 희석 항체와 가장 강하게 반응하였으며 항체의 경우는 희석 농도가 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 각각의 희석 항원과 가장 강하게 반응하였다. 따라서 본 실험에서 사용한 coating 항원의 희석 농도는 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 항체는 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 희석하였다(Fig. 2).

1-2. Standard curve

10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 항원과 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 희석 농도의 goat p-IgG로 standard curve를 그렸을 때 goat p-IgG와 반응하는 PSA의 농도는 다음과 같은 식에 의해서 구할 수 있었다. 그리고 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 항원과 0.031 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 희석 농도의 pig-allergic patients' serum으로 standard curve를 그렸을 때 환자혈청과 반응하는 PSA의 농도는 다음과 같은 식에 의해서 구할 수 있었다.

즉

$$x = e^{\left(\frac{2.0628 - y}{0.3045}\right)}$$

$x =$ p-IgG와 반응하는 PSA의 농도

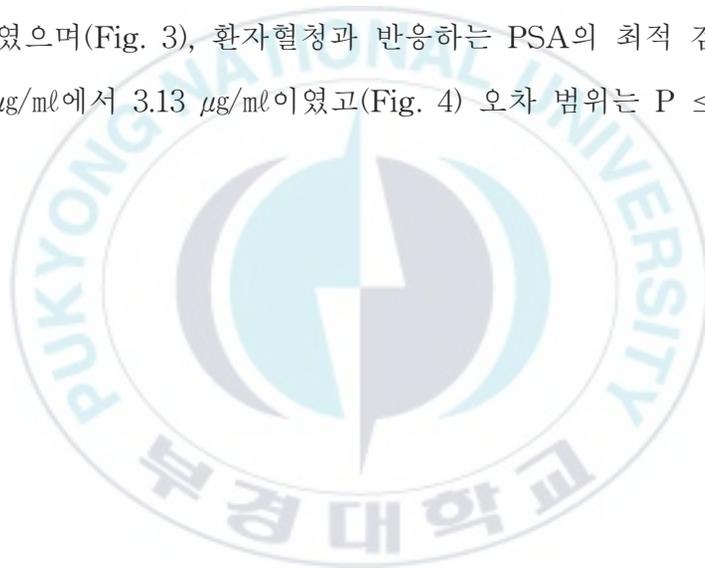
$y =$ absorbance value

$$x = e^{\left(\frac{0.9976 - y}{0.2626}\right)}$$

$x =$ pig-allergic patients' serum과 반응하는 PSA의 농도

$y =$ absorbance value

이때 p-IgG와 반응하는 PSA의 최적 검출 농도 범위는 $0.78 \mu\text{g/ml}$ 에서 $200 \mu\text{g/ml}$ 이었으며(Fig. 3), 환자혈청과 반응하는 PSA의 최적 검출 농도 범위는 $0.012 \mu\text{g/ml}$ 에서 $3.13 \mu\text{g/ml}$ 이었고(Fig. 4) 오차 범위는 $P \leq 1$ 이었다.



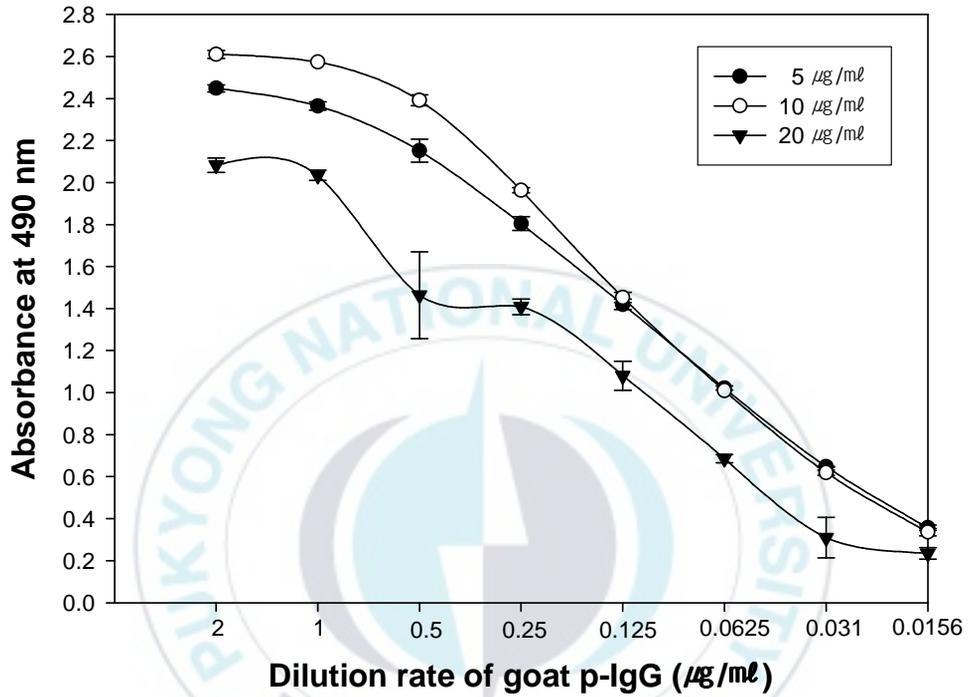


Fig. 2. Titration curves of goat p-IgG different coated porcine serum albumin to format analytical condition of Ci-ELISA. Secondary IgG solution was diluted to 1:40000 with 0.01 M PBS.

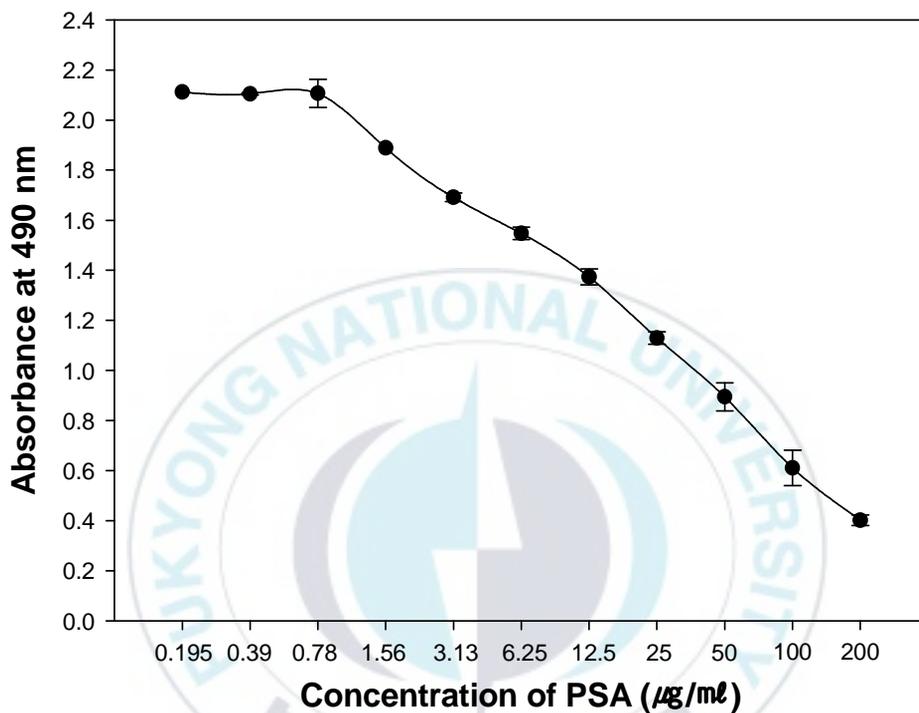


Fig. 3. Standard curve of goat p-IgG to porcine serum albumin(PSA) by Ci-ELISA. PSA was used as a coating Ag. Goat p-IgG was used for capturing PSA. PSA was serially diluted from 200 to 0.195 $\mu\text{g/ml}$.

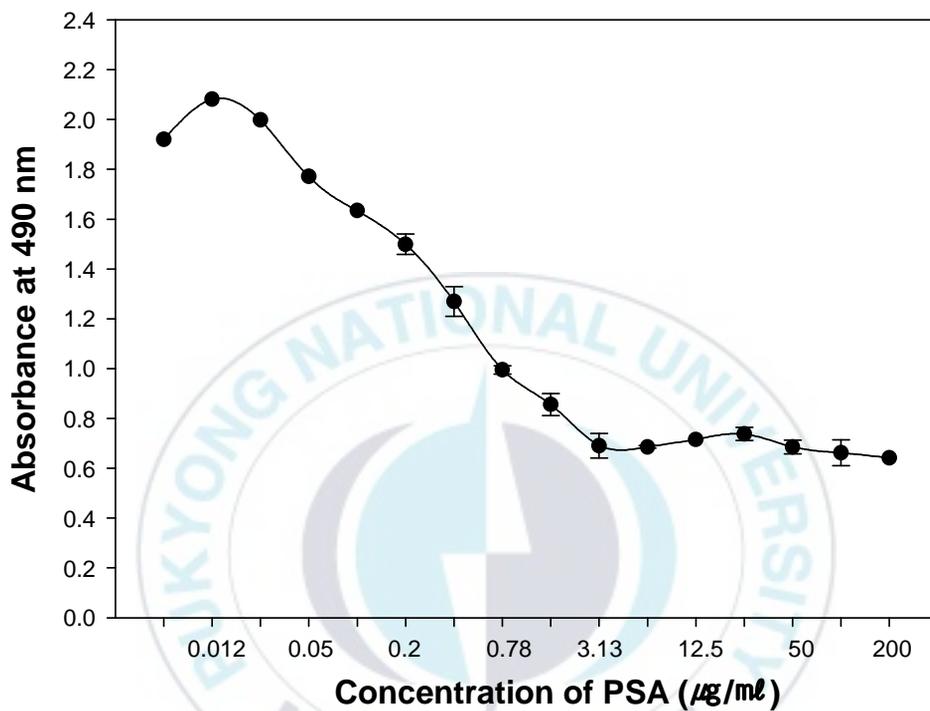


Fig. 4. Standard curve of pig-allergic patients' serum to porcine serum albumin(PSA) by Ci-ELISA. PSA was used as a coating Ag. Pig-allergic patients' serum was used for capturing PSA. PSA was serially diluted from 200 to 0.006 $\mu\text{g/ml}$.

2. 물리적 처리에 의한 *allergenicity* 변화

2-1. 가열 처리에 의한 변화

본 실험에서 PSA에 60°C(10, 30, 60 min), 80°C(10, 20 min), 100°C(10, 20 min)로 가열 처리한 결과 60°C와 80°C 처리군에서는 80% 이상으로 높은 결합력을 유지하였지만 100°C에서 20 min 처리시 52%로 결합력이 크게 감소하였다(Fig. 5). SDS-PAGE 결과에서도 60°C와 80°C 처리군은 무처리군과 비교시 거의 큰 변화가 없으나 100°C 처리군에서는 PSA band가 많이 약해졌음을 알 수 있었다. Immunoblotting 결과 100°C, 20 min 처리 시 PSA band가 항체와 거의 반응하지 않았다(Fig. 6). 일반적으로 식품의 안정성이나 저장성을 증진시키기 위해 가열 처리를 하는데 이러한 가열 처리는 식품 내 조직의 연화나 단백질의 변성을 초래하여 그에 따라 항원성도 변화될 수 있다(Kaminogawa et al., 1989). Lin 등은(Lin et al., 1976) BSA가 50°C 이상에서부터 helix의 파괴로 인해 BSA가 변성이 시작되고 60°C에서 열에 의해 응집이 일어난다고 하였으며 한 등의(Han et al., 2006) 결과에서도 우유 추출물에 가열 처리한 결과 60°C에서는 BSA band가 거의 큰 변화가 없었으나 100°C에서 BSA band가 거의 소실되었다는 연구결과가 보고되어 본 실험결과와 일치하였다. 게이지압 1 kg/cm², 온도 121°C의 가압 가열 처리에 의한 PSA의 *allergenicity*는 처리시간에 따라 감소하였으며 5, 10, 30 min 처리된 PSA는 p-IgG와 40% 이하의 낮은 결합력을 보였다. 특히 30 min 처리시에는 29% 정도로 낮은 결합력을 나타내었다(Fig. 7). 또한 pig-allergic patients' serum에 대한

결합력은 p-IgG에 대한 결합력보다 낮았으며 각각 23%, 18%, 10%의 낮은 결합력을 나타내어 가압가열 처리가 allergenicity를 감소시킨다는 것을 알 수 있었다(Fig. 8). 가압 가열 처리에 의한 PSA의 변화를 SDS-PAGE로 조사해 본 결과 5 min 과 10 min 처리시에는 PSA band가 낮은 분자량대로 분해가 많이 되었고 30 min 처리시에는 PSA band가 거의 소실되었다. Immunoblotting 결과에서는 p-IgG의 경우 5, 10, 30 min 처리된 PSA band와 거의 반응하지 않았으며 pig-allergic patients' serum에서도 5 min간 처리된 PSA band와 반응하지 않음을 알 수 있었다(Fig. 9). 이는 한등이(Han et al., 2006) BSA band가 120°C에서 항원성이 감소하였다고 연구한 결과와 일치하였다. 이것으로 PSA band는 100°C 이상의 처리하에서 항원성이 감소하는 것으로 사료된다. 돼지고기를 지방과 근막을 제거한 뒤 잘게 자른 후 60°C(60 min), 80°C(20 min), 100°C(20 min)에서 가열 처리한 후 2-4-1의 방법으로 추출하여 p-IgG에 대한 allergenicity 변화에 대해 살펴본 결과 PSA에 가열처리한 경우(Fig. 5)와 같이 60°C, 80°C에서 보다 100°C 이상의 처리에서 결합력이 크게 감소한 것을 알 수 있었으며 100°C, 121°C 처리 시 각각 23%, 6%로 낮은 결합력을 보였다(Fig. 10). SDS-PAGE 결과 무처리구와 비교시 60°C와 80°C로 처리된 pork meat extract는 66 kDa band가 열에 의해 변화가 거의 없었으나 100°C, 121°C 처리시에는 66 kDa band가 거의 소실되었다. Immunoblotting 결과에서도 100°C, 121°C 처리구가 p-IgG와 반응하지 않았다(Fig. 11). Wherfel 등(wherfel et al, 1997)이 beef에 알레르기를 보인 환자중 well-cooked beef에서는 내성을 보이지만 midium rare

beef에서 그렇지 않은 경우도 있다고 하였는데 이것은 BSA가 열에 약하다는 것을 제시해 준다고 보고하였으며 본 실험에서도 60℃와 80℃에서는 항원성이 그대로 유지되나 100℃ 이상에서 항원성이 감소하여 비교적 열에 약함을 알 수 있었다.

2-2. 초고압 처리에 의한 변화

식품 가공에 있어서 초고압 처리는 Le Chatelier의 법칙에 따라 압력이 증가함에 따라 부피는 감소하며 이로 인해 수반되는 상변이나 분자구조 변형, 화학적 반응 등이 촉진된다는 원리를 이용한 것이다(Lee et al, 1996). 일반적으로 가열처리는 미생물의 생육을 억제할 뿐만 아니라 식품 자체에도 영향을 미칠 수 있지만 비가열 처리인 초고압 처리는 식품의 품질에는 영향을 미치지 않으면서 부패 미생물을 억제한다(Hong and Park, 1999). 초고압 처리는 최근에 소개된 새로운 가공기술로 식품에서의 초고압 이용은 난백 단백질의 변성에 대한 연구(Hoover, 1993), 생유 중 미생물에 미치는 영향(Timson and Short, 1965), 야채나 과일 가공에의 이용에 대한 연구(Sumitani et al., 1994), 식육의 연화와 식육내 효소의 활성화에 있어 초고압 처리의 영향에 대한 연구(Suzuki et al., 1998)등이 보고되고 있다. 하지만 초고압 처리에 의한 알레르기 저감화에 대한 연구는 거의 전무한 실정이며 Han 등이(Han et al., 2006) 우유 추출물에 초고압처리와 열처리를 하여 allergenicity 변화에 관해 보고하였다. 고압에 의한 단백질의 변성은 단백질 내부의 정전기적 결합과 소수성 결합이 주로 영향을 받는데, 특히 대전체의 전하 손실, 염 결합과 소수성 결합의 파괴가 일어남으로써 결과적으로 단백질의 형태적 변화

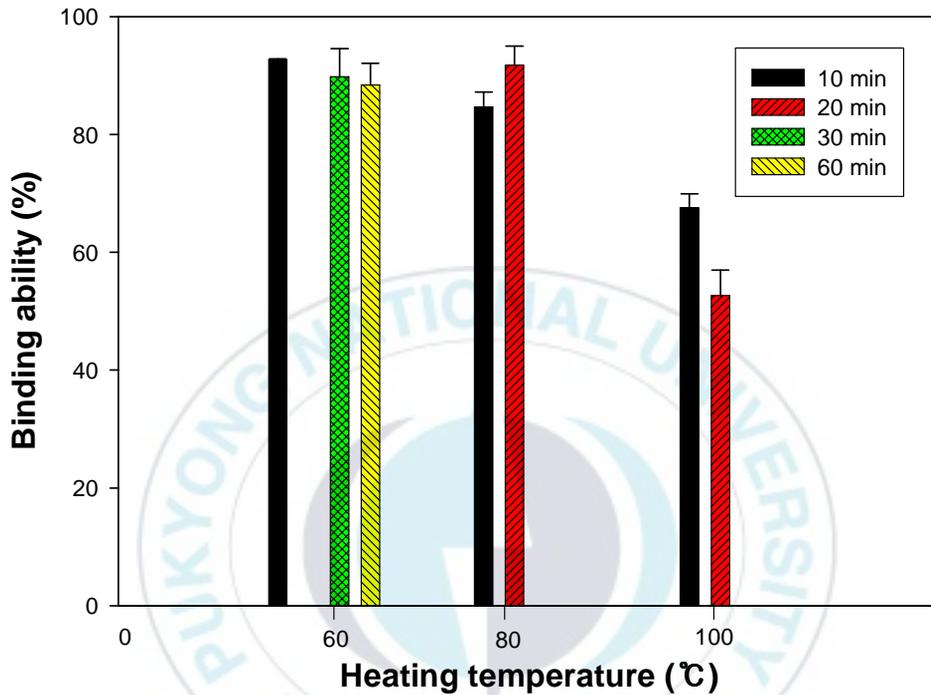


Fig. 5. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated heating.

The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated heating, B_o ; binding ability of PSA non-treated.



Fig. 6. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated heating. Samples are (1) untreated PSA, (2) 60°C 10 min, (3) 60°C 30 min, (4) 60°C 60 min, (5) 80°C 10 min, (6) 80°C 20 min, (7) 100°C 10min, (8) 100°C 20 min.

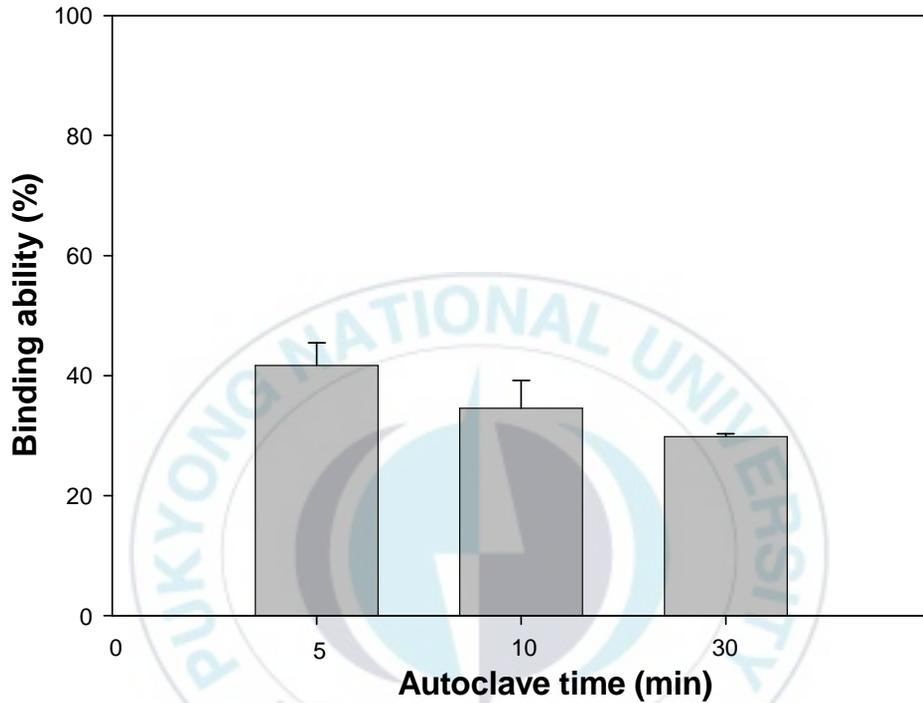


Fig. 7. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated autoclave.
The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated autoclave, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

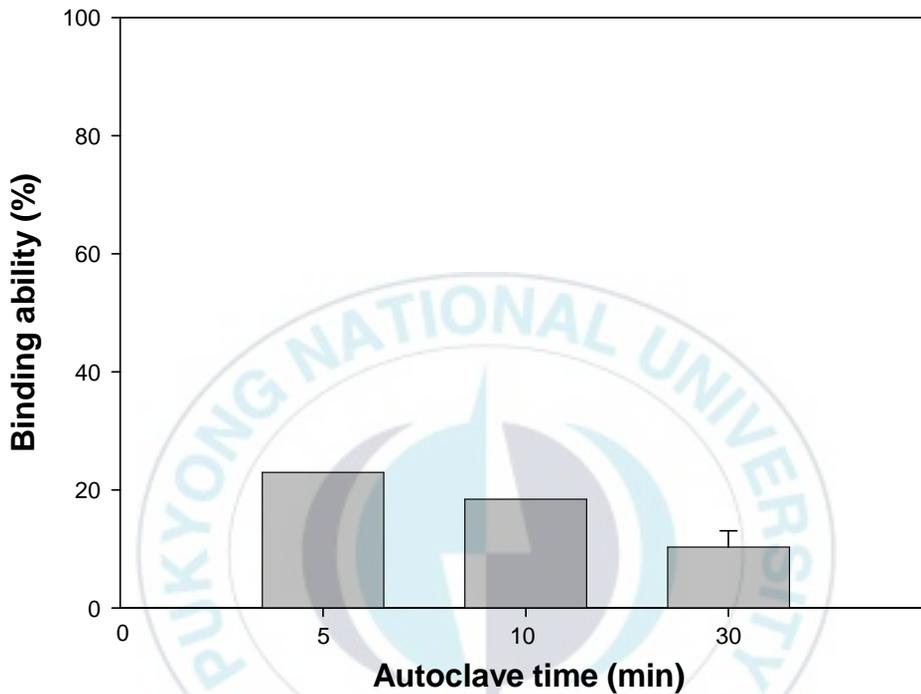


Fig. 8. Binding ability of pig-allergic patients' serum to PSA treated autoclave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated autoclave, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

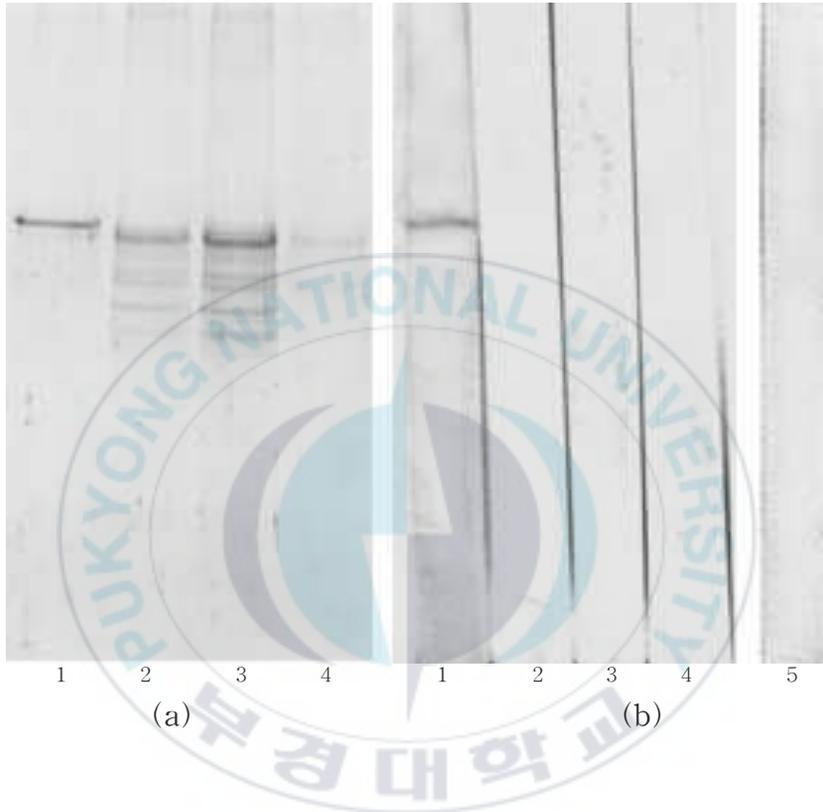


Fig. 9. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated autoclave. Samples are (1) untreated PSA, (2) 121°C 5 min, (3) 121°C 10 min, (4) 121°C 30 min, (5) 121°C 5 min. (b) 1-4 : immunoblotting of PSA to p-IgG, 5 : immunoblotting of PSA to pig-allergic patients' serum.

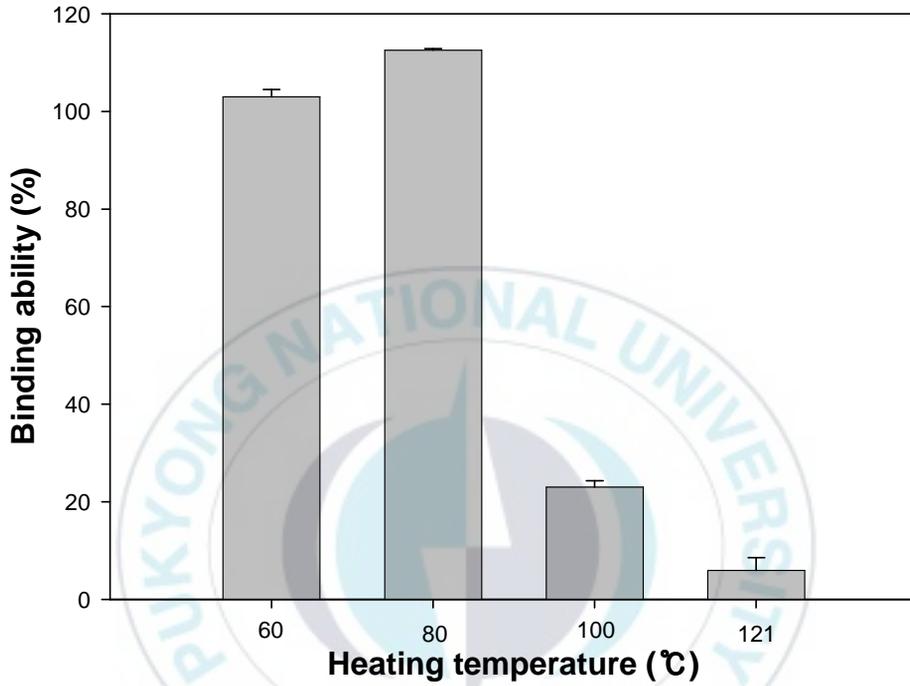


Fig. 10. Binding ability of goat p-IgG to pork meat extract treated heating. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated heating, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

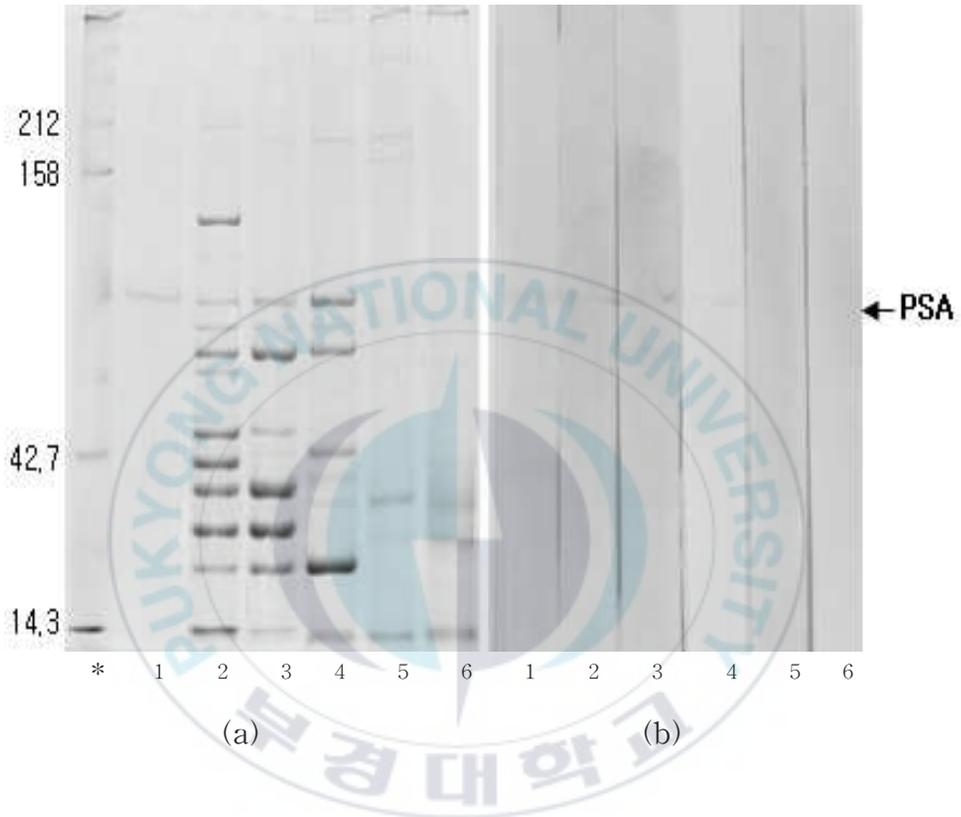


Fig. 11. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of pork meat extract treated heating. Samples are (*) Marker (1) PSA, (2) untreated pork meat extract, (3) 60°C 60 min, (4) 80°C 20 min, (5) 100°C 20 min, (6) 121°C 15 min.

및 구조적 변화를 유발한다. 따라서 소수성 결합과 이온 결합은 결합이 파괴되었을 때 부피가 감소하므로 고압 하에서 이들의 결합력은 불안정하게 된다. 그러나 본 실험 결과 PSA에 200, 300, 400 MPa로 처리하였을 때 allergen과 allergenicity의 변화를 살펴본 결과 400 MPa 처리시에도 결합력이 그대로 유지되었다(Fig 12). SDS-PAGE 결과 초고압 처리된 PSA band는 대조군과 비교해 볼 때 큰 차이가 나지 않았으며 immunoblotting 결과에서도 초고압 처리된 PSA band가 항체에 강하게 결합하였다(Fig. 13). 한 등이(Han et al., 2006) 연구한 결과에서 600 MPa 처리시에도 BSA band가 그대로 유지되어 직, 간접적으로 초고압 처리에 저항한 것으로 보고되었으며 본 실험 결과와 일치한 것을 볼 수 있었다. 이는 초고압 처리가 PSA의 주요 epitope에 영향을 주지 않아 allergenicity가 크게 감소하지 않은 것으로 사료된다.

2-3. 초음파 처리에 의한 변화

초음파는 인간의 가청범위(20 Hz~20 kHz) 이상인 1~25 MHz의 주파수 범위를 말하는데, 주로 금속이나 구조물의 비파괴 검사(Han and Roh, 1998), 의료장비(Bae and Jeong, 1998), 해양수산업의 각종 정보를 파악하는데 이용되고 있다(Lee and Ohtsuki, 1999). 하지만 식품산업에 적용된 예는 드물며 주로 식품 용기 및 야채류의 세척(Amerding, 1966), 물질의 추출(Kim and Zayas, 1991), 저온에서 미생물 사멸(Sams and Feria, 1991) 및 상승 작용(Sierra and Boucher, 1971)에 이용되고 있다. 또 식육의 경우는 햄의 결합력 향상을 위한 염지공정(Reynolds et al., 1978), 우유의 연도에 미치는 영향(Lyng et

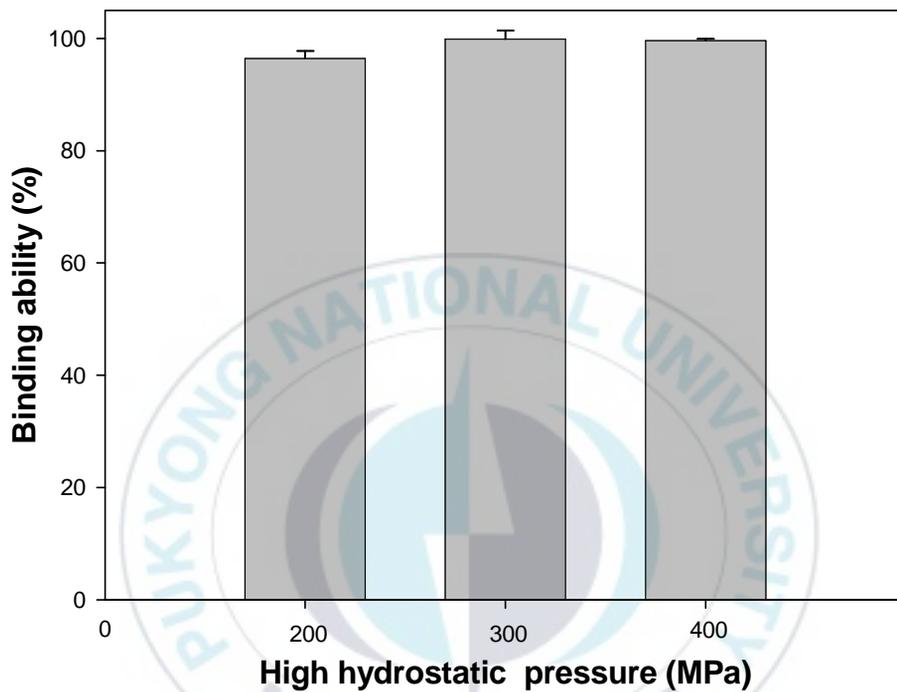


Fig. 12. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated high hydrostatic pressure(HHP). The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated HHP, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

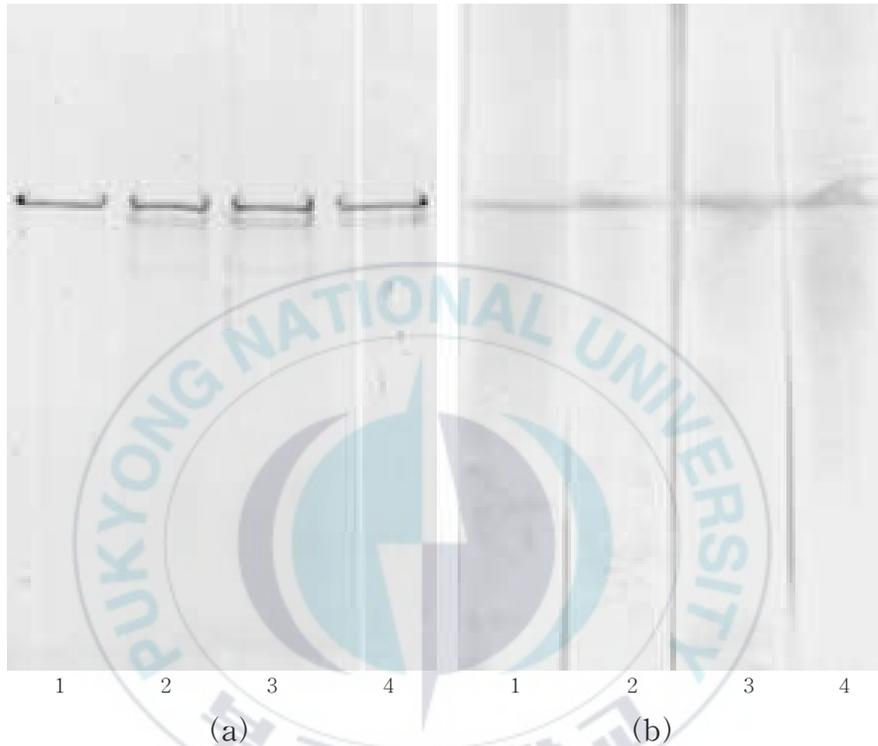


Fig. 13. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated high hydrostatic pressure (HHP). Samples are (1) untreated PSA, (2) 200 MPa, (3) 300 MPa, (4) 400 MPa.

al., 1998), 낮은 강도에서 초음파가 우육의 색, 품질 및 저장성에 미치는 영향(Pohlman et al., 1997)에 관한 연구 결과들이 보고되어 있다. 초음파 처리시간에 따른 돼지의 주요 allergen인 PSA의 allergenicity 변화에 대해 알아본 결과 5, 10, 30, 60 min간 초음파 처리하였을 경우 처리시간에 따른 큰 변화 없이 항체와 약 77% 정도의 높은 결합력을 보였다(Fig. 14). 하지만 SDS-PAGE 결과에서 PSA band는 무처리구와 비교시 초음파 처리에 의해 분해되어 band가 약해졌음을 알 수 있었다(Fig. 15). 이 결과는 고분자 용액에 초음파 처리할 경우 큰 크기의 고분자들이 작은 크기의 고분자 용액에 비해 쉽게 절단되며 장시간의 초음파 절단 반응에 의해 limiting size에 도달한다는 보고와도 일치한다(Jeong et al., 1992). Immunoblotting 결과에서도 무처리구와 비교해 볼 때 초음파 처리된 PSA band는 항체와 거의 반응하지 않음을 알 수 있었다(Fig. 15). 이는 SDS-PAGE 결과에서는 초음파 처리된 PSA가 저분자 펩타이드로 분해되었지만 초음파 처리시 PSA의 주요 epitope가 영향을 받지 않아 PSA에 대한 항체와의 반응성은 크게 감소하지 않은 것으로 사료된다.

2-4. *Microwave* 처리에 의한 변화

본 실험에서는 microwave를 이용하여 PSA의 allergenicity 변화를 알아보았다. PSA에 대하여 1, 5, 10 min간 microwave 처리한 결과 PSA는 처리시간에 따라 allergenicity가 감소하는 것으로 나타났다. 특히, 10 min 처리시에는 31% 정도로 결합력이 크게 감소하였다(Fig. 16). SDS-PAGE 결과 5, 10 min 처리시 PSA band가 많이 약해졌음을 알

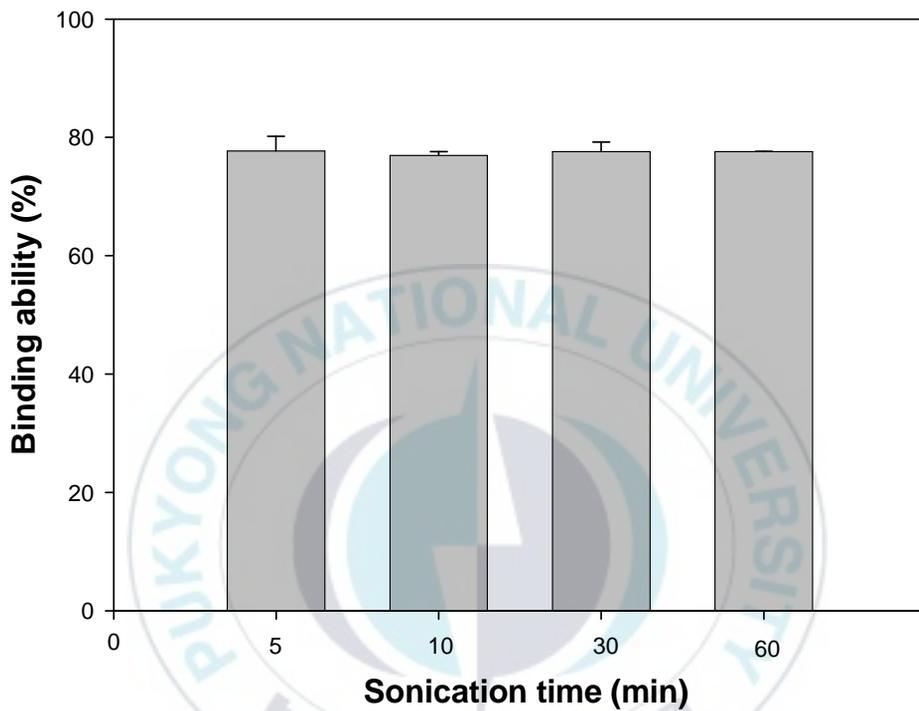


Fig. 14. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated sonication. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated sonication, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

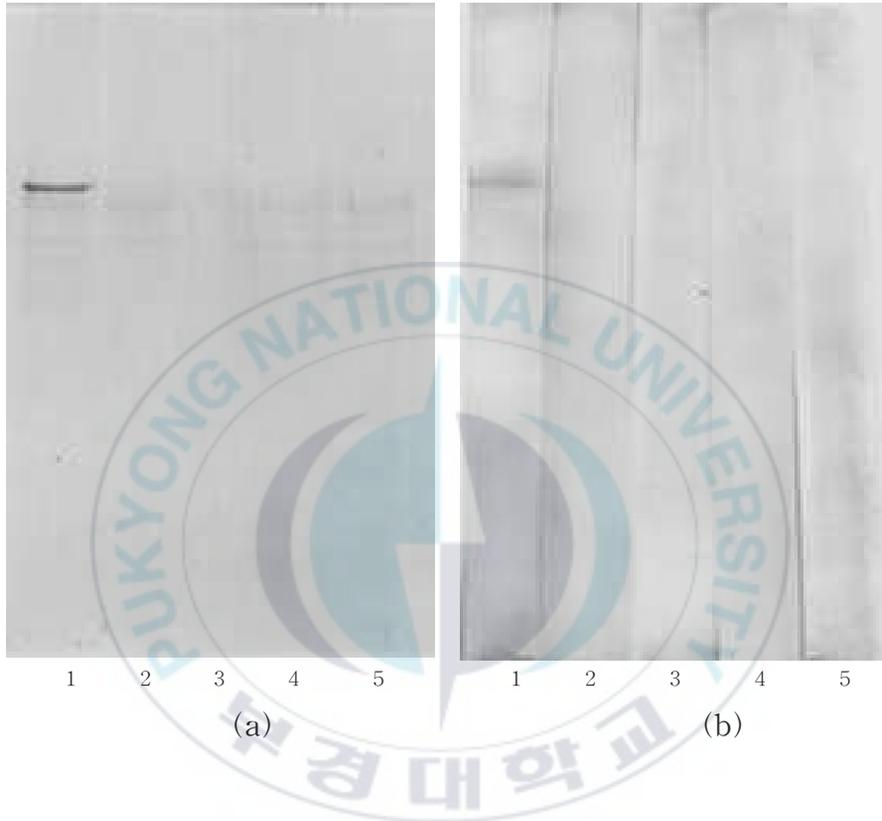


Fig. 15. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated sonication. Samples are (1) untreated PSA, (2) 5 min, (3) 10 min, (4) 30 min, (5) 60 min.

수 있으며 immunoblotting 결과에서도 1 min 처리된 PSA band가 항체와 약하게 반응하였고 5 min과 10 min 처리시에는 PSA band가 항체와 거의 반응하지 않음을 알 수 있었다(Fig. 17). 이는 PSA가 microwave 처리시 발생하는 열에 의해 분해되어 항체에 인식되지 못함으로써 allergenicity가 감소하는 것으로 보인다. 한편 냉수로 냉각하면서 열의 영향을 배제하고 microwave 처리에 의한 PSA의 allergenicity 변화를 살펴 보았을때 큰 변화가 없이 높은 결합력을 유지하였다(Fig. 18). SDS-PAGE 결과에서도 무처리군과 비교시 큰 변화가 없었으며 immunoblotting에서도 처리된 PSA가 항체와 강하게 반응하였다(Fig. 19). 모든 식품의 분자는 쌍극자로 구성되어 한쪽은 양극, 다른 한쪽은 음극 전하를 띠고 있다. 여기에 전계를 가하면 물체의 모든 분자들이 양 전하는 음극으로, 음전하는 양극으로 재정렬하게 되는데 이 과정에서 분자의 마찰열이 발생하게 된다(Kim et al., 1993). Microwave는 이런 원리를 이용한 내부 가열방식으로 널리 실용화되고 있으나 본 실험의 경우 열을 배제한 microwave에 의한 분자들간의 상호운동은 PSA의 allergenicity 변화에 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단된다. 주로 열에 의해 항원성이 감소하는 것으로 보아 앞서 Fig. 5와 Fig. 7에서 고열에 의해 allergenicity가 크게 감소한 결과와 같이 PSA는 열에 비교적 불안정한 것으로 생각되며 Werfel(Werfel et al., 1997)등이 BSA가 열에 비교적 약하다고 보고한 결과와도 일치한다.

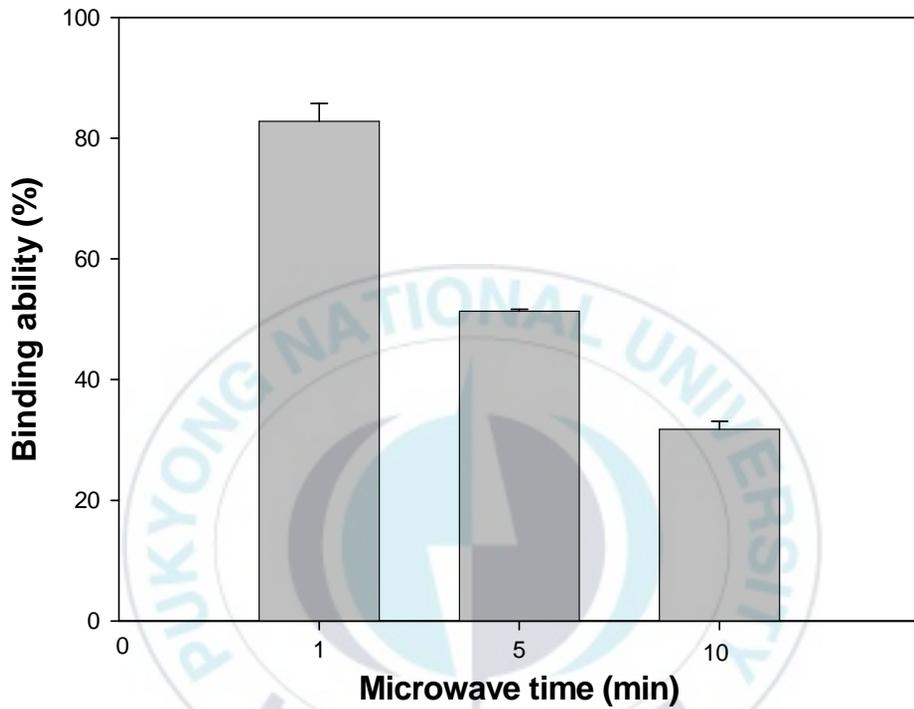


Fig. 16. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated microwave indirectly. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated microwave, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

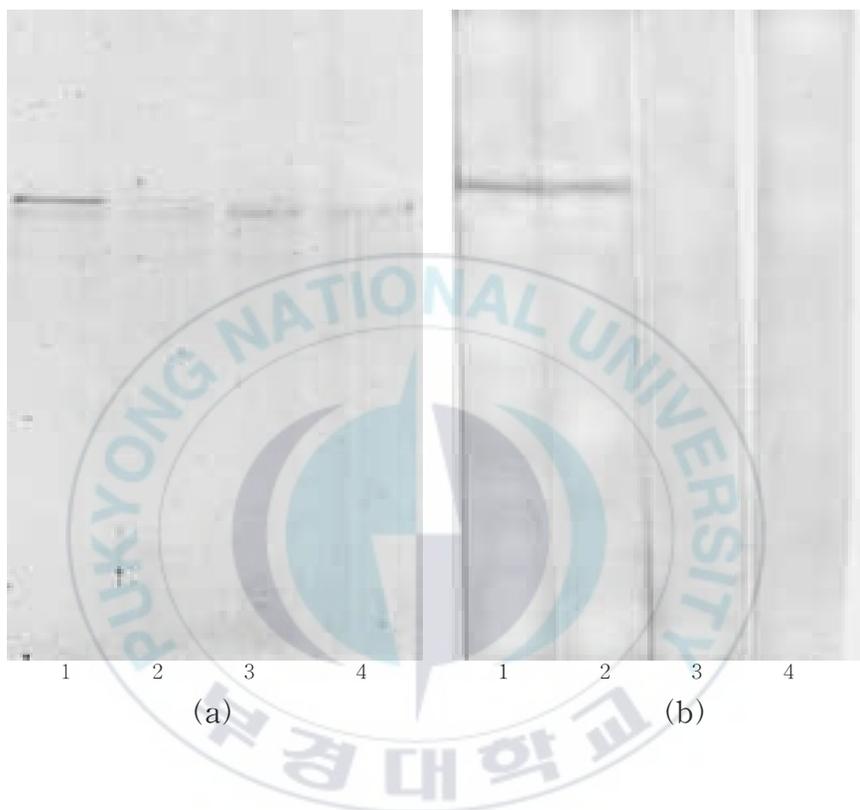


Fig. 17. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated microwave indirectly. Samples are (1) untreated PSA, (2) 1 min, (3) 5 min, (4) 10 min.

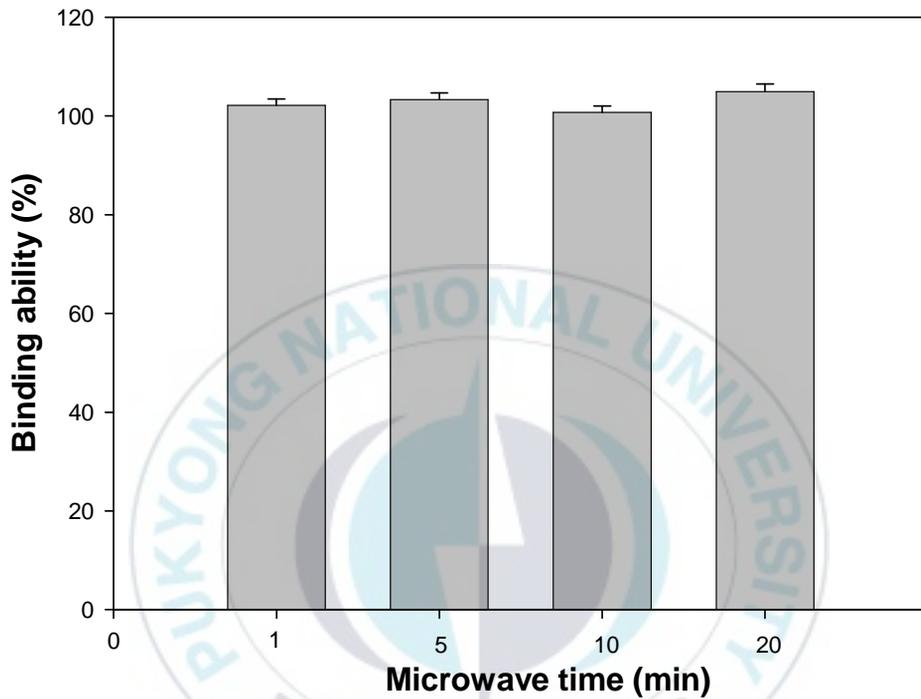


Fig. 18. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated microwave without heat. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated microwave without heat, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

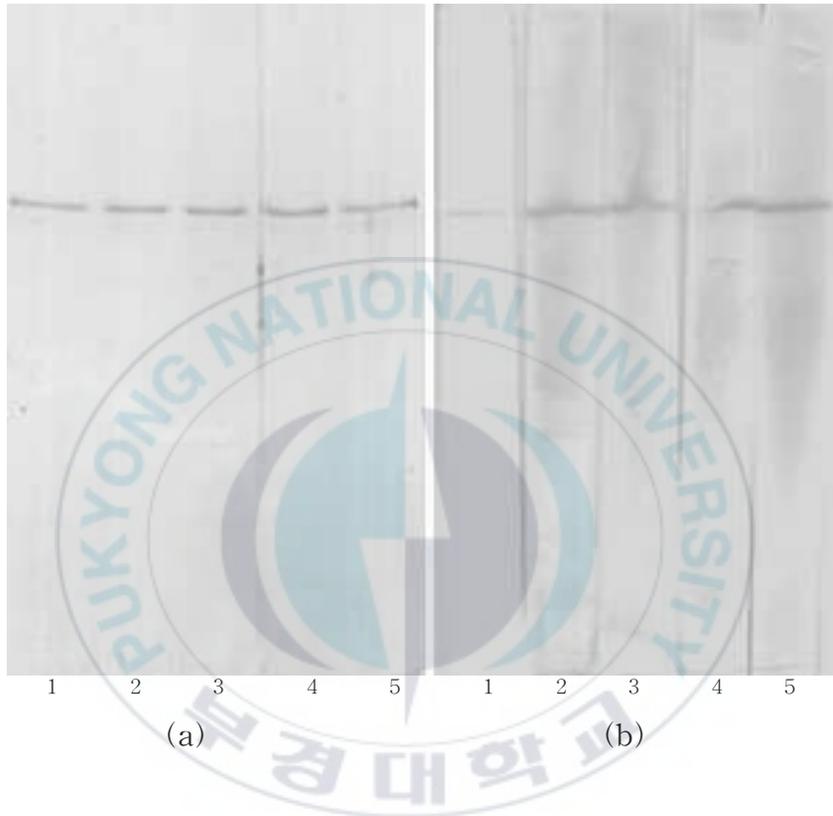


Fig. 19. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated without heat. Samples are (1) untreated PSA (2) 1 min, (3) 5 min, (4) 10 min, (5) 20min.

2-5. 방사선 처리에 의한 변화

본 실험에서는 PSA에 3, 5, 7, 10, 15, 20 kGy로 방사선처리를 한 다음 allergenicity 변화를 살펴보았다. 그 결과 p-IgG에 대한 결합력은 저 선량에서도 30% 이하로 감소하였으며 고 선량에서보다 저 선량에서 반응성이 더 증가하였다(Fig. 20). 방사선 처리된 PSA에 대한 pig-allergic patients' serum과의 결합력은 p-IgG에 대한 결합력보다 다소 감소하였으며 3, 10, 20 kGy로 조사된 PSA에 대한 결합력이 각각 15%, 11%, 19%의 낮은 결합력을 나타내어 방사선 처리시 PSA 항원성을 효과적으로 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다(Fig. 21). SDS-PAGE 결과에서도 PSA band가 저분자량 대로 분해된 것을 알 수 있으며 immunoblotting 결과에서는 방사선 처리된 PSA가 항체와 거의 반응하지 않은 것으로 나타났다(Fig. 22). 방사선 에너지는 대부분 식품을 통과하나 극히 일부분이 분자에 의해 흡수 또는 산란되어 전자를 방출하고 radical이 생성되는데 이 radical이 단백질을 구성하고 있는 펩타이드 결합과 disulfide bond를 파괴시켜 단백질의 이차 또는 삼차원적인 구조를 변성시킨다. 특히 방향족 및 황을 포함한 아미노산은 조사에 의해 영향을 받기 쉬운 아미노산이며 cysteine, cystine 및 methionine은 free radical scavenger로서 작용하여 radical의 공격에 영향을 받기 쉽다(Lee and Byun, 2003). 그리하여 궁극적으로 알러겐의 표면 IgE-binding epitope의 구조를 변화시켜 알레르기가 억제된다고 보고된(Kume T. and Matsuda T., 1995) 이래 방사선 조사 기술이 식품알레르기를 억제하거나 제거 할 수 있는 가능성에 대한 연구가 보고되고 있다. 이미 새우의 tropomyosin(Lee et al., 2000), 우유의 β

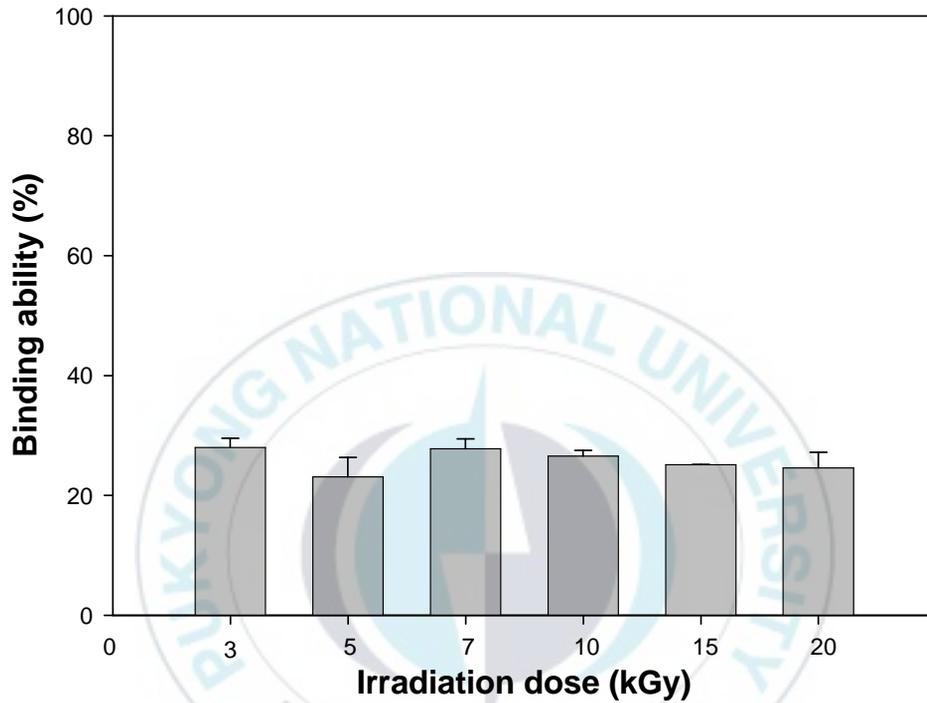


Fig. 20. Binding ability of goat p-IgG to PSA treated gamma-irradiation. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability= $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated gamma-irradiation, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

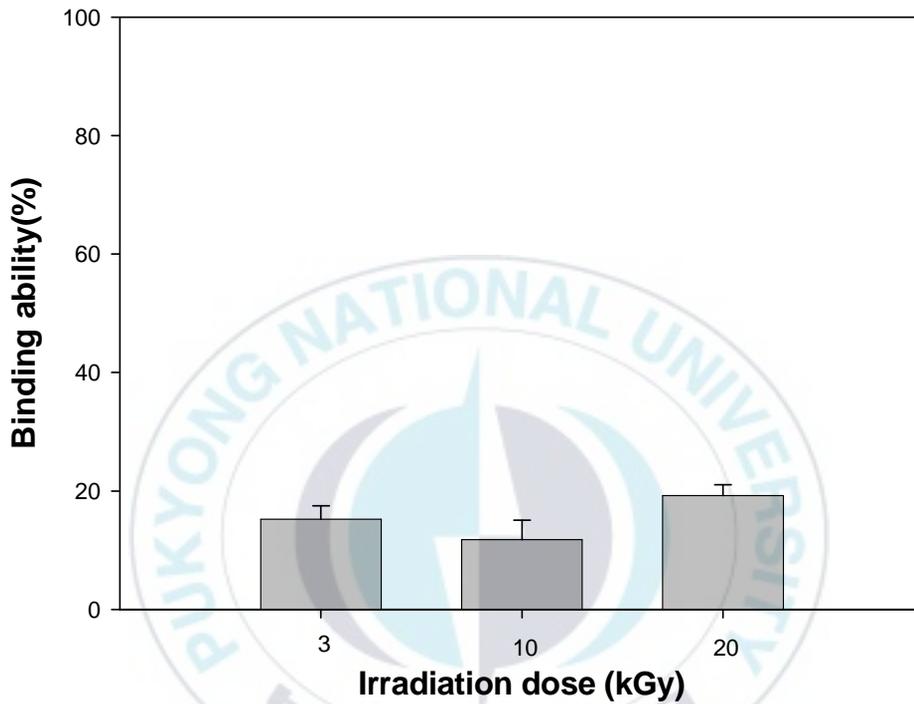


Fig. 21. Binding ability of pig-allergic patients' serum to PSA treated gamma-irradiation. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability= $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated gamma-irradiation, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

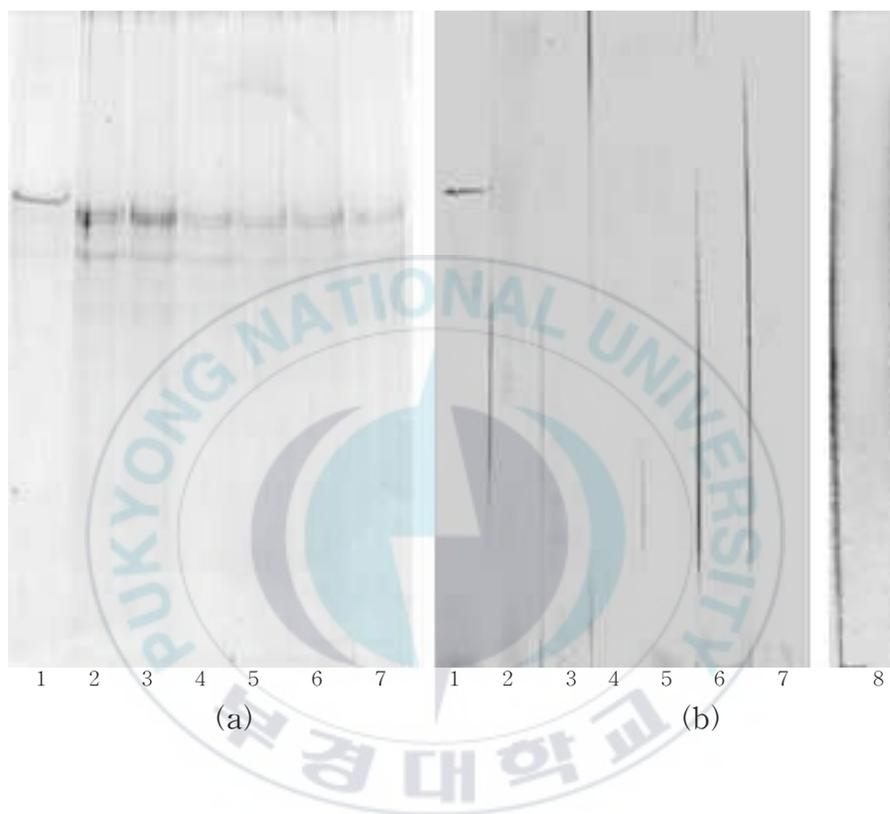


Fig. 22. SDS-PAGE(a) and Immunoblotting(b) of PSA treated gamma-irradiation. Samples are (1) untreated PSA, (2) 3 kGy, (3) 5 kGy, (4) 7 kGy, (5) 10 kGy, (6) 15 kGy, (7) 20 kGy, (8) 3 kGy. (b) 1-7 : immunoblotting of PSA to p-IgG, 8 : immunoblotting of PSA to pig-allergic patients' serum.

-lactoglobulin, α -lactalbumin, casein과 bovine serum albumin(Lee et al., 2001), 계란의 ovalbumin(Jeon et al., 2002), ovomucoid(Kang et al., 2002), 마늘의 allivin(Kim et al., 2002) 등에 방사선 처리를 하여 allergenicity가 감소하였다는 연구가 보고된바 있다. 그러므로 PSA에 방사선 조사시 allergenicity의 감소는 방사선 조사시 생성된 radical로 인해 단백질의 구조를 변형시켜 결국 epitope의 변화로 PSA가 항체에 인식되지 못함으로써 allergenicity가 감소한 것으로 보인다.



요 약

Ci-ELISA, SDS-PAGE, Immunoblotting을 이용하여 여러 가지 물리적 처리에 의한 돼지고기의 allergen 및 allergenicity의 변화를 알아본 결과는 다음과 같다.

1. P-IgG에 대한 돼지고기의 주 allergen인 PSA와 pork meat extract의 allergenicity 변화 결과는 다음과 같다.

1-1. 가열처리, 가압가열처리, 방사선 처리된 PSA의 allergenicity 변화 결과 100℃, 20 min 가열 처리시 52%, 가압 가열(121℃, 1 kg/cm²) 30 min 처리시 29%, 3 kGy의 방사선 조사시 30% 이하로 결합력이 크게 감소하였다. Immunoblotting에서도 PSA band는 항체와 거의 반응하지 않았다.

1-2. 가열처리된 pork meat extract의 allergenicity 변화 결과, 100℃, 121℃에서 처리시 PSA가 p-IgG와의 결합력이 23%, 6%로 크게 감소되었으며 immunoblotting 결과에서도 반응하지 않았다.

1-3. 초고압 처리에 의한 PSA의 allergenicity 변화를 알아본 결과 400 MPa에서도 PSA와 p-IgG와의 결합력이 높게 유지되었으며, 또한 초음파 처리시에도 77%정도로 높게 유지되었다.

1-4. 2,450 MHz의 microwave 처리와 5, 10, 30, 60 min간 초음파 처리하여 allergenicity 변화를 알아본 결과 20 min간 열을 배제하고 microwave 처리시 100% 정도의 높은 결합력을 보였으나 10 min간 중탕으로 microwave 처리에 의해서는 31%의 낮은 결합력을 보였다.

2. Pig-allergic patients' serum에 대한 돼지고기의 주 allergen인 PSA의 allergenicity 변화 결과는 121°C, 30 min 가압가열에 의해 10%, 3 kGy 방사선 조사에 의해 15% 정도의 낮은 결합력을 보였으며 immunoblotting 결과에서도 환자혈청과 반응하지 않았다.

이상의 결과에서 주 allergen인 PSA는 100°C 이상의 가열처리, 가압가열처리, 방사선 조사에 의해 allergenicity가 크게 감소하였으며, 이는 저 알레르기 돼지고기 식품 제조에 응용할 수 있을 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- Amerding, G. D. 1966. Evaporation methods as applied to the food industry. *Adv. Food Res.* 15, 303-358.
- Ayuso, S., Lehrer, S. B., Tanaka, L., Ibanez, M. D., Pascual, C., Burks, A. W., Sussman, G. L., Gordburg, B., Lopez, M., Reese, G. 1999. IgE antibody response to vertebrate meat proteins including tropomyosin. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 83, 399-405.
- Bae M. H. and Jeong M. K. 1998. A study on the improving the resolution using synthetic focusing in B-mode ultrasound imaging system. *J. Acoustical Soc. Korea.* 17, 14-28.
- Bashir, M. E. H., Hubatsch, I., Leinenbach, H. P., Zeppezauer, M., Panzani, R. C., Hussein, I. H. .1998. Ric c 1 and Ric c 3, the allergenic 2S albumin storage proteins of ricinus communis: complete primary structures and phylogenetic relationships. *International archives of allergy and immunology*, 115(1), 73-82.
- Battais, F., Pineau, F., Popineau, Y., Aparicio, C., Kanny, G., Guerin,

- L., Moneret-Vautrin, D. 2005. Food allergy to wheat products: the effect of bread baking and in vitro digestion on wheat allergenic proteins. A study with bread dough, crumb, and crust. *Clin. Exp. Allergy*, 33(7), 962-970.
- Bock, S. A. 1982. The natural history of food sensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 69(2), 173-177.
- Bock, S. A., Atkins, F. M. 1989. The natural history of peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 83(5), 900-904.
- Burks, A. W., Shin, D., Steven Stanley, G. C. J., Helm, R. M. Bannon, G. A. 1997. Mapping and mutational analysis of the IgE-binding epitopes on Ara h 1, a legume vicilin protein and a major allergen in peanut hypersensitivity. *Eur. J. Biochem.*, 245, 334-339.
- Byun, M. W., Lee, J. W., Yook, H. S., Jo, C., Kim, H. Y. 2002. Application of gamma irradiation for inhibition of food allergy. *Radiat. Phys. Chem.*, 63, 369-370.
- Cho, E. D., Kim, D. S., Jung, K. H. 2001. Identification of the chicken meat allergens. *J. Applied Pharmacology(Korea)*,

9(1), 7-14.

Chung, H. J., Park, 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.

Clarke, M. C. A., Kilburn, S. A., Hourihane, O'B. J., Warner, J. O. 1998. Serological characteristics of peanut allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 28, 1251-1257.

Cordle, C. T., Mahmoud, M. I., and Moore, V. 1991. Immunogenicity evaluation of protein hydrolysates for hypoallergenic infant formula. *J. Pediatric Gastro. Nurt.*, 13, 270-276.

Crespo J. F., Retzek, M., Foetisch, K., Sierra-Maestro E., Cid-Sanchez Ana. B., Pascual C. Y., Conti, A., Feliu, A., Rodriguez J., Vieths S., .Scheurer, S. 2006. Germin-like protein Cit s 1 and profilin Cit s 2 are major allergens in orange(citrus sinensis) fruits. *Molecular nutrition & food research*, 50(3), 282-290.

- Drouet, M., Sabbah, A. 1996. The Pork/Cat Syndrome or Crossed Reactivity between Cat Epithelia and Pork Meat. *Monographs in allergy*, 32, 164-173.
- FKI. 2004. Korean economic yearbook. 210.
- FKI. 2005. Korean economic yearbook. 218.
- 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, 798-802.
- Han G. D., Jiang ping Fan, Atsushi Suzuki. 2006. Change 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 K. H. and Roh Y. R. 1998. Design of an ultrasonic transducer with 1-3 mode piezo-composites and fabrication of its prototype. *J. Acoustical Soc.*, 17, 48-57.
- Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, Lehnert C, Hentges F. 1997. Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin.

Allergy, 52:179-187.

Hong, S. I. and Park, W. S. 1999. Effect of high hydrostatic pressures on biological systems. *Food Engineering Progress*, 3(3), 123-133.

Hoover, D. G. 1993. Pressure effects on biological systems. *Food Technol.*, 47, 150-155.

Hourihane, J. O'B., Warner, J. O. 1996. Peanut allergy in relation to heredity, maternal diet, and other atopic diseases: results of a questionnaire survey, skin prick testing, and food challenges. *BMJ.*, 313(31), 518-521.

Iikura, Y., Imai, Y., Imai, T., Akasawa, A., Fujita, K., Hoshiyama, K., Nakura, H., Kohno, Y., Koike, K., Okudaira, H., Iwasaki, E. 1999. Frequency of immediate-type food. Allergy in children in Japan. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 83, 399-405.

Jeon, G. R., Lee, J. W., Byun, M. W., Lee, S. Y..2002 Reduced allergenicities of irradiated egg white ovalbumin determined by skin prick test and ELISA inhibition test. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 22(4), 711-719.

- Jeong, S. Y., Kim, K. S., Kim Y. J., Park, M. H., Chung K. H. 1992. Ultrasonic degradation of poly(styrene-co-divinylbenzene) macrogel. *Polymer(Korea)*, 16(2), 138-144.
- Johansson, S. G. O., Hourihane, J. O., Bousquet, J., Brujnzeel-Koomen, C. ; Dreborg, S. ; Haahte., 2001. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 56(9), 813-824.
- Ju, H. R. 1998. Studies on animal models of food allergy. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27(3), 553-562.
- Kaminogawa, S., Shimizu, M., Ametani, A., Hattori, M., Ando, O., Hachimura, S., Nakamura, Y., Totsuka, M. and Yamauchi, K. 1989. Monoclonal antibodies as probes for monitoring the denaturation process of bovine β -lactoglobulin. *Biochem. Biophys. Acta.* 998, 50-56.
- Kang, K. O., Lee, J. W., Jo, C. U., 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), 52-26.

Keum, E. H., Lee, S. I., Oh, S. S. 2006. Effect of enzymatic hydrolysis of 7S globulin, a soybean protein, on its allergenicity and identification of its allergenic hydrolyzed fragments using SDS-PAGE. *Food Sci. Biotechnol.*, 15(1), 128-132.

Kim, M. A. 1993. Use of microwave range, oven change on dietary type. *Korean J. Soc. Food Sci.*, 9, 1-6.

Kim, J. H., Lee, J. W., Yook, H. S., Kim, J. O., Byun, M. W. 2000. Gamma irradiation for the inhibition of shrimp(*Penaeus aztecus*) allergy. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(3), 437-441.

Kim, M. R., Seo, J. H., Lee, J. W., Yook, H. S., Kim, M. J., Byun, M. W. 2002. Effect of gamma irradiation on the conformational changes of garlic(*Allium sativum*) protein, allivin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31(5), 723-727.

Kim, S. H., Kang, H. L., Kim, G. M., Kim, T. B., Kim, S. S., Jang, Y. S., Kim, C. U., Ban, J. U., Kim, Y. G., Jo, S. H., Park, H. S., Lee, J. M., Min, K. U., Hong, C. S., Kim, N. S., Kim, Y. Y. 2003. The sensitization rates of food allergens in a Korean

population: a multi-center study. *J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, 23, 502-514.

Kim, S. H., Kim, H. M., Ye, Y. M., Nahm, D. H., Suh C. H., Park, H. S. 2004. IgE sensitization and identification of IgE binding components of soybean allergen in adult allergy patients. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 24(3), 331-336.

Kim, S. M. and Zayas, J. F. 1991. Effects of ultrasound treatment on the properties of chymosin. *J. Food Sci.* 56(4), 926-930.

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

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

Lee, D. U., Park, J., Kang, J., Yeo, I. H. 1996. Effect of high hydrostatic pressure on the shelf-life and sensory characteristics of Angelica Keiskei juice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28(1), 105-108.

- Lee, E. B. and Ohtsuki, S. 1999. The development of ultrasonic pulsed doppler for the measurement of velocity distribution of underwater substances. *J. Acoustical Soc.*, 18, 17-23.
- Lee, J. W., Park, J. H., Kim, S. B., Kim, C. J., Hyun, C. K., 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, 401-410.
- Lee, J. W., Kim, J. H., Sung, C. K., Kang, K. O. Shin, M. G., Byun, M. W. 2000. The changes of allergenic and antigenic properties of major allergen(Pen a 1) of brown shrimp(*Penaeus aztecus*) by gamma irradiation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(4), 822-827.
- Lee J. W., Yook, H. S. 2001. The changes of allergenic and antigenic properties of egg white albumin(Gal d 1) by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(3), 500-504.
- Lee, J. W., Yook, H. S., Cho, K. H., Kim, M. R., Kim, C. J., Byun, M. W. 2001. Effects of heat treatment on the antigenicity of

gamma-irradiated egg white albumin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(5), 848-853.

Lee J. W. and Byun M. W. 2003. Food irradiation technology and the structural changes of food allergen by irradiation. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 23(1), 16-23.

Lin, V. J. C., Koenig, J. L. 1976. Raman studies on bovine serum albumin. *Biopolymers*, 15, 203-218.

Llatser, R, Polo, F., De La Hoz, F., Guillaumet, B. 1998. Alimentary allergy to pork. Crossreactivity among pork kidney and pork and lamb gut. *Clinical and Experimental allergy*, 28, 1021-1025.

Lucas, J. S. A., Lewis, S. A., Hourihane, J. O'B. 2003. Kiwi fruit allergy: A review. *Pediatric Allergy and Immunology*, 14(6), 420-428.

Lyng, J. G., Allen, P., and McKenna, B. M. 1998. The effect on aspects of beef tenderness of pre- and post-rigor exposure to a high intensity ultrasound probe. *J. Sci. Food Agric.* 78(3), 308-314.

- Metcalfe, D. D. 1984. Food hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 73(6), 749-762.
- Metcalfe, D. D. 1991. Immune mechanism in food allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 21, 321.
- Metcalfe, D. D., Astwood, J. D., Townsend, R., Sampson, H. A., Taylor, S. L. and Fuchs, R. L. 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered plants. *Critical Reviews in Food Science of Food and Agriculture*, 36, S165-S186.
- Nakase, M., Adachi, T., Urisu, A., Miyashita, T., Alvarez, A. M., Nagasaka, S., Aoki, N., Nakamura, R., Matsuda, T. 1996. Rice (*Oryza sativa* L.) α -Amylase Inhibitors of 14-16 kDa are potential allergens and products of a multigene family. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(9), 2624-2628.
- Nam, S. Y. 2004. Food allergy: diagnosis and treatment. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 14(2), 119-126.
- Pasini, G., Simonato, B., Curioni, A., Vincenzi, S., Cristaudo, A.,

Santucci, B., Peruffo, A. 2002. IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the reduced soluble proteins, is a major allergen. *Allergy*, 57(2), 98-106.

Pham, T. S. Ruder, E. J. 2000. Peanut allergy. *Continuing Medical Education.*, 65, 285-289.

Philippe A., Eigenmann D.D. 2004. Egg Allergy: Immunological and Clinical Aspects. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 14(2), 111-118.

Pohlman, F. W., Dikeman, M. E., and Zayas, J. F. 1997. The effect of low-density ultrasound treatment on shear properties, colour stability and shelf life of vacuum packaged beef semitendinosus and biceps femoris muscles. *Meat Sci.*, 45, 329-337.

Reindl, J., Rihs, H.P., Scheurer, S., Wangorsch, A., Haustein, D., Vieths, S. 2002. IgE reactivity to profilin in pollen-sensitized subjects with adverse reactions to banana and pineapple. *International archives of allergy and immunology*, 128(2), 105-114.

- Reynolds, J. B., Anderson, D. B., Schmidt, G. R., Theno, D. M., and Siegel, D. G. 1978. Effects of ultrasonic treatment on binding strength in cured ham rolls. *J. Food Sci.*, 43, 866-869.
- Sachs, M. I., Jones, R. T., Yunginger, J. W. 1981. Isolation and partial characterization of a major peanut allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 67(1), 27~34.
- Sampson, H. A. 1991. Immunologic mechanisms in adverse reactions to foods. *Immunol. Allergy Clin. North Am.*, 11(4), 701-706.
- Sampson, H. A. 1999. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 103(5), 717-728.
- Sams, A. R. and Feria, R. 1991. Microbial effects of ultrasonification of broiler drumstick skin. *J. Food Sci.*, 56(1), 247-248.
- Shimakura, K. ; Tonomura, Y. ; Hamada, Y. ; Nagashima, Y. ; Shiomi, K. 2005. Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion. *Food Chemistry*, 91(2), 247-253.
- Shin, M. Y., Han, Y. S., Park, H. Y., Ahn, Y. H., Chung, E. H.

Ahn, K. M. Lee, S. I. 2004. Cow's milk protein-specific IgE concentrations in two age groups of children with cow's milk allergy. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea)*, 14(3), 207-214.

Sicherer, S. H. 1999. Manifestation of food allergy : Evaluation and Management. *American Family Physician* 59, 415.

Sicherer, S. H., 2002. Food allergy. *Lancet*. 360, 701-710.

Sierra, G. and Boucher, R. M. 1971. Ultrasonic synergistic effects in liquid-phase chemical sterilization, *Appl. Microbiol.* 22, 160-164.

Sloan, A. E. and Powers, M. E. 1986. A perspective on popular perceptions of adverse reactions to foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 78(1), 127-133.

Sumitani, H., Suekane, S., Nakatani, A., Tatsuka, K. 1994. Changes in composition of volatile compounds in high pressure treated peach. *J. Agric. Food. Chem.*, 42. 785-790.

Suzuki, A., Kim, K., Tanji, H., Ikeuchi, Y. 1998. Effects of high hydrostatic pressure on postmortem muscle. *Recent Res.*

Devel. Agric. Biol. Chem., 2, 307-331.

Tanabe, S., Kobayashi, Y., Takahata, Y., Morimatsu, F., Shibata, R., Nishimura, T. 2002. Some human B and T cell epitopes of bovine serum albumin, the major beef allergen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 293(5), 1348-1353.

Timson, W. J. and Short, A. J. 1965. Resistance of microorganisms to hydrostatic pressure. *Biotechnol. Bioeng.*, 7, 139-159.

Towbin, H. T., Staehelin, T. and 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.

Untersmayr, E., Jensen-Jarolim, E. 2006. Mechanisms of type I food allergy. *Pharmacology and therapeutics*, 112(3), 787-798.

Wal, J. M. 2001. Structure and function of milk allergens. *Allergy*, 56(s67), 35-38.

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.

Watanabe, M., Miyakawa, J., Ikezawa, Z, Suzuki, Y., Hirao, T., Yoshizawa, T and Arai, S. 1990. Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins. *J. food science*, 55, 781-783.

Watanabe, M., Suzuki, T., Ikezawa, Z. and Arai, S. 1994. Controlled enzymatic treatment of wheat proteins for the production of hypoallergenic flour. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58, 388-390.

Werfel, S. J., Cooke, S. K., Sampson, H. A. 1997. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *The Journal of allergy and clinical immunology : official organ of American Academy of Allergy*, 99(3), 293-300.

감사의 글

벌써 2년이라는 세월이 숨가쁘게 지나가고 작은 공간에서 많은 것을 배워 갈 수 있게 해준 소중한 시간들이었습니다. 소중한 만남을 갖게 해주며 뜻깊은 일들을 허락하신 하나님께 영광과 감사를 드리며 부족한 저를 도와주신 여러분들께 감사의 인사를 전하고자 합니다.

처음 대학원을 들어와서 아무것도 모르던 나에게 연구하는 자의 올바른 자세에 대해 가르쳐 주시고 대학원 생활을 하는 동안 포기하지 않고 열심히 학업과 실험에 매진할 수 있도록 지도편달 해주신 안동현 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 부족한 저의 논문을 수정해주신 김선봉 교수님, 전병수 교수님께도 감사드리며 학업에 있어 많은 가르침을 주신 이근태 교수님, 조영제 교수님, 이양봉 교수님, 양지영 교수님, 김영목 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

2년동안 부족한 점도 많았던 나에게 학업과 연구에 있어 여러 가지 도움과 조언을 해주며 동고동락을 같이 해온 실험실 식구들 정말 고맙습니다. 처음 들어와서 실험을 가르쳐 주며 도움을 준 윤선경 선배, 박진규 선배, 같이 생활하며 도움을 준 조선희 선배, 일과 함께 학업을 병행하는 바쁘신 와중에도 챙겨주신 김봉두 선생님, 이상범 부장님, 김진률 과장님께도 감사를 드립니다. 무엇보다 도움을 많이 받은 소영, 유진, 진희, 아람이에게 고마우며, 갓 대학원에 들어와서 열심히 생활해주고 있는 미정이와 지혜, 항상 밝고 학부생활 잘하고 있는 경목, 소영, 서진, 병환, 찬, 이제 첫 실험실 생활을 시작하는 주미, 휘금이에게도 고마운 마음을 전하며 힘차게 도전정신을 갖고 앞으로 나아가길 바

랍니다.

항상 응원해주고 힘들 때에 위로가 되어주며 논문 준비하는 동안 같이 힘이 되어준 승렬이에게 고마우며 지금까지 막내딸을 묵묵히 믿고 후원해주시며 항상 힘써 주신 아버지, 어머니에게도 감사드리며 부족하나마 저의 2년동안의 결실인 이 논문을 부모님께 바칩니다.

다시 한번 논문을 완성할 수 있도록 도와주신 여러분들께 감사하며 2년동안의 소중한 가르침을 통해 더욱더 발전되어가는 한 사람이 되도록 노력하겠습니다.

