

축산식품을 위한  
효소 면역학적 측정법의 응용

정 덕 화

(경상대학교 식품공학과)



# 축산식품을 위한 효소 면역학적 측정법의 응용

정 덕 화  
경상대학교 식품공학과

## I. 서 론

축산식품은 소화율이 높은 고 영양가의 성분이 골고루 함유되어 있으며 사람의 몸 구성 성분과 가장 가깝게 조성되어 있어 생활수준의 향상과 더불어 그 소비가 매년 증가하고 있다. 그 중에서도 우유의 경우는 오랜 옛날부터 건강식품으로는 물론 영양학적으로도 영양소를 가장 골고루 갖춘 완전식품으로 인정되고 있다. 그러나 우유는 어떤 다른 식품보다도 부패되기 쉽고, 인축 공통전염병을 매개하는 역할을 함으로써 안전성의 중요성이 강조되고 있다. 뿐만 아니라 질병의 예방과 치료, 그리고 생산성 향상을 위해 첨가되는 항균성 물질의 잔류 여부 등이 큰 관심사로 대두되어 왔다.

또한 항균성 물질 외에도 농산물이나 가축의 사료에의 오염도와 독성이 높은 aflatoxin B<sub>1</sub>을 동물이 섭취하면 체내 대사에 의하여 aflatoxin M<sub>1</sub>으로 전이되어 유아에게 치명적인 영향을 줄 수 있다. 따라서 축산물의 소비증가와 더불어 축산물에 이들 유해물질의 오염이나 잔류 여부를 확인하기 위한 분석기술의 향상이 그 어느 때보다 절실하다.

축산식품에서의 잔류 항생물질이나 곰팡이 독소의 분석은 TLC, GC, GC-MS 및 HPLC를 이용한 방법들이 사용되고 있으나 기기분석법이 지니고 있는 분석상의 한계성 때문에 1980년대 이후 이들 유해물질에 대한 항체를 동물체내에서 생산하여 항원, 항체반응으로 시료에 오염된 유해물질을 분석하는 면역학적 기법이 시도되고 있다.

효소면역학적 기법은 이들 잔류 유해물질의 분석에만 활용되고 있는 것이 아니라 최근에는 축산식품의 품질이나 육종감별에도 활용되고 있으며, 특히 축산식품에 오염된 각종 유해미생물의 검색에서는 일찍부터 이용되어 왔다.

따라서 본 발표에서는 축산식품에서의 효소면역학적 방법의 활용을 소개하기 위하여 먼저 효소면역학적 방법의 원리를 설명하고, 이들 방법이 축산식품에 응용되고 있는 내용을 분야별로 나누어 지금까지 발표된 자료를 토대로 발표하고자 한다.

## II. 효소면역학적 기법의 원리

효소면역학적 방법은 일찌기 유해미생물의 진단에 사용되어 왔으나 유해미생물의 경우는 사육

중 각종 전염병 예방 차원에서 이용되고 있고, 실제 축산식품에서는 잔류 유해 항생물질이나 잔류곰팡이 독소 등의 안전성 판별에 활용되고 있다. 뿐만 아니라 국제적으로 교역이 활발해짐에 따라 육단백질 판별의 중요성이 증가되어 이 분야에 효소면역학적 기술의 응용이 시도되고 있다. 따라서 여기에서는 축산식품의 안전성 확보 차원에서 사용되고 있는 면역학적 기법의 원리에 대해 간단히 설명하고자 한다.

### 1. 기존의 분석방법

축산식품 중 잔류 항균 물질이나 잔류 곰팡이 독소의 분석방법은 앞서 지적했듯이 TLC, HPLC 및 GC 등에 의한 AOAC법이 주로 사용되어 왔다. 그러나 이들 방법은 Table 1에서 보는 바와 같이 복잡한 정제과정을 거쳐야 하는 비능률성을 가지고 있을 뿐만 아니라 기기가 고가이고 넓은 공간과 전문인력을 필요로 하며 많은 유기용매를 사용하므로 실험자의 안전에 문제가 있어 새로운 분석방법의 필요성이 강력히 대두되었다.

### 2. 면역분석기술의 도입

최근 기존의 기기분석법의 문제점을 극복하기 위한 노력의 일환으로 면역분석기술을 잔류항균 물질이나 곰팡이 독소와 같은 저분자물질의 분석에 응용하려는 노력이 계속되고 있다. 이러한 면역분석법을 확립은 과정을 간단히 소개하면 다음과 같다.

#### 1) 항원합성

일반적으로 축산식품 중 잔류 항균물질이나 잔류 곰팡이 독소는 분자량이 적어 항원성이 결핍되어 있으므로, 이에 대한 항체를 생산하기 위해서는 우선 유해물질 유도체를 만들어 연결부위를 부여하고 다시 단백질을 결합시켜 항원성을 부여하여야 한다. 대체로 유해물질 유도체의 합성은 Thouvenot 등의 방법으로 행할 수 있고, 유해물질-유도체와 단백질과의 결합체 합성은 Pestka<sup>23)</sup>,

Table 1. Steps of sample preparation for in chemical analysis of mycotoxin

Step	Description	Purpose
1. Sampling	Probe of automatic sampler	Representative sample
2. Sample preparation	Grinding, mixing, subsampling	Representative sample
3. Extraction	Shaker or blender	Separate the toxin
4. Clean-up	Liquid-liquid partitioning column chromatography	Separate the toxin from groups of compounds in the sample
5. Final separation	Thin layer chromatography(TLC) Gas-liquid chromatography(GLC) Minicolumn chromatography	Separate the toxin from remaining compounds in the sample extract that might interfere with the toxin
6. Detection and quantitative analysis	Fluorescence on TLC plate UV absorption in solution	Detection and measurement of response
7. Confirmation	Biological test, Mass spectrometry	Identification

Liu 등의 방법을 많이 인용하고 있다.

## 2) 잔류 유해물질에 대한 항체 생산

합성한 잔류유해물질에 대한 항원으로부터 항체를 생산하는 방법은 특이성은 낮으나 항체생산이 용이한 폴리클론항체를 생산하는 방법과 실험과정은 복잡하고 비용이 많이 들지만 특이성이 높은 단클론성 항체를 생산하는 방법이 있으며 그 선택은 실험의 목적에 따라 다르다.

우선 잔류 유해물질에 대한 폴리클론항체 생산과정을 간단히 설명하면 아래와 같다. 즉, 항원성을 부여한 잔류유해물질-BSA 결합체를 complete Freund's adjuvant와 유화시켜 booster injection을 필요에 따라 실시한다. 1차 injection 후부터 적당한 간격으로 bleeding하면서 antibody titer를 실시한 다음 감도가 높은 폴리클론항체는 단백질 농도 측정 후 1mg/vial씩 나누어 동결건조시켜 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 실험에 사용한다.

또한 잔류 유해물질에 대한 단클론성 항체 생산과정도 다음과 같이 간단히 설명할 수 있다. 즉, 생후 6주된 BALB/c 마우스(암컷)에 항원인 잔류유해물질-BSA 결합체와 Freund's complete adjuvant의 혼합액을 마리당 100~200  $\mu$ g씩 복강으로 면역한다. 최종면역 후 3일이 경과된 BALB/c 마우스의 비장을 적출하여 Dulbecco's Modified Eagle's Medium 내에서 편셋으로 비장세포를 분리한다. 그런 다음 RPMI 1640으로 3회 세척하여 세포수를  $1 \times 10^7$ /ml로 조정하여 사용하여 세포융합을 실시하며 그 방법은 Kohler 등의 방법에 준한다. 융합 후 10일 내지 15일 사이에 융합된 세포 중 항체역가가 계속 유지되고 세포의 증식이 활발한 hybrid를 선택하여 클로닝을 실시한다.

클로닝은 Mckearn의 무한대 희석법으로 실시한다. 클로닝 결과 항체의 역가가 높고 특이성이 높은 항체 생산력이 있는 hybridoma를 최종 선택하여 다시 한번 클로닝을 실시하여 증식시키고,  $10^6$  cell/ml로 조절된 배양세포를 cryo tube에 1 ml씩 분주하여 -70°C에서 급속동결한 후 액체질소에 보관하면서 실험에 사용한다. 최종 선택된 hybridoma를 T-75 flask에서 대량 배양한 후 Othani 등의 방법에 따라 마우스의 복강에 이식하여 복수액을 생산하고 채취한 복수액은 ammonium sulfate법으로 정제한 후 면역분석에 사용한다.

뿐만 아니라 축산식품에 지극히 극히 미량으로 오염되어 있는 잔류 유해물질을 정제, 농축하기 위한 목적으로 affinity column을 제작할 수도 있으며 Immunoaffinity column의 잔류 유해물질의 정제원리는 Fig. 1과 같다.

## 3) 면역분석법의 확립

융합잡종세포를 BALB/c 마우스의 복강에 투여하여 얻은 단클론성 항체는 정제하여 Pestka 등의 방법에 준한 direct competitive ELISA(dcELISA)법과, Liu 등의 방법에 의한 indirect competitive ELISA(icELISA)법을 확립할 수 있다. 이들 반응조건으로는 코팅법, 배양시간, 유기용매와의 반응정도, 기질의 농도, 반응시간들이며, 이러한 조건이 조사되면 필요로 하는 면역분석법이 확립될 수 있다. 아울러 항체를 응용하여 sandwich ELISA, Terasaki plate method등 면역분석 방법확립을 시도할 수 있다. 한편 본 실험실에서 확립한 direct competitive enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)법을 사용하여 실험하면 Fig. 2와 같은 결과를 얻을 수 있으며 발색

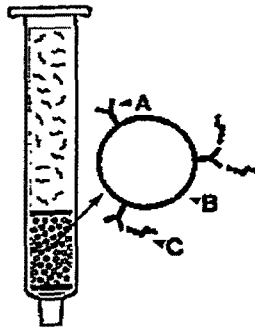


Fig. 1. Principle of developed immunoaffinity column chromatography.

- A: Monoclonal antibody
- B: Support bead
- C: Hazard materials molecule

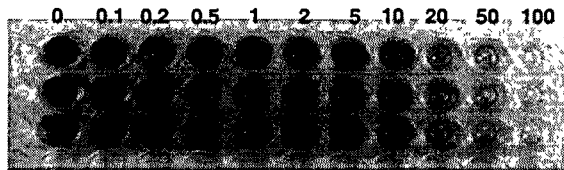


Fig. 2. Photogram of microtiter plate ELISA.

정도를 ELISA reader(Dynatech Lab. MR 600, U.S.A.)로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 표준곡선과 비교하여 시료중의 잔류유해물질 함량을 계산하면 된다. 그러나 이러한 면역기법 역시 특이성, 정확성, 신속성 및 경제성 등의 장점은 있으나 모든 방법이 그러하듯이 이 방법 역시 축산 식품분석에서 생소한 방법이며 GC, HPLC법과 같이 비 특이성 간섭물질로 인해 분석 시 다양한 간섭을 받을 수 있다는 것과 여러 성분을 동시에 분석할 수 없는 단점도 있다

### Ⅲ. 잔류 곰팡이 독소의 검색

곰팡이독소는 *Aspergillus*, *Penicillium* 및 *Fusarium*속 등의 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로 인간 및 가축에게 위해를 나타내는 물질이다. 곰팡이독소가 오염된 농산물은 섭취시 인간에게 여러 가지 유해한 반응을 나타낼 뿐만 아니라 오염된 사료의 섭취로 인해 가축에게도 장애를 주며 장애를 받는 가축의 조직, 우유 등에 잔류함으로써 인간에게 2차적인 장애를 초래하기도 한다. 경제성장과 더불어 국민 식생활의 향상으로 인한 축산물의 소비증대와 양질의 위생적인 축산물이 요구로 가축사료의 안정성이 중요시된 이래 mycotoxin의 오염 가능성에 대한 관심이 집중되었으나 외국의 활발한 연구와는 달리 분석기술의 미비, 안정성 등의 문제점으로 체계적인 연구가 되지 못하고 있다.

본 발표자도 사료중의 이들 잔류곰팡이 독소를 측정하기 위해 aflatoxin B<sub>1</sub>, zearalenone 등의 면역분석법을 개발하여 실제 각종 사료와 곡류에 오염된 곰팡이 독소를 분석하고, 그 결과를 보

**Table 2. Detection of in corn samples by rapid direct competitive ELISA**

Samples	No. of sample	Detected zearalenone(ng/g)
Imported corn	US-7	40.1
	US-17	44.5
	US-20	32.5
	US-22	48
	US-24	48.5
	KH-2	60
Domestic corn	KH-9	50
	KH-24	41.5
	KY-23	45
Local product corn	WK-2	55

**Table 3. Recovery of AFM<sub>1</sub> from artificially contaminated cow's milk without a cleanup procedure as determined by cdELISA**

Added. pg/ml	Detected. pg/ml <sup>1)</sup>	Recovery, %
100	215±30.8 (14.3)	215
300	330±29.4 ( 8.9)	110
1,000	1,040±73.5 ( 7.0)	104
3,000	3,766±368 ( 9.8)	126
Mean of CV, %		
Overall recovery, %		139 [113] <sup>2)</sup>
SD	10.0 [8.6] <sup>2)</sup>	44.8 [ 9.3] <sup>2)</sup>
CV, %		32.2 [ 8.2] <sup>2)</sup>

고한 바 있다. 그 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 사료의 연료로 쓰이는 옥수수에서 상당한 양의 zearalenone 오염을 확인할 수 있었고, 특히 지난해 생산된 보리에서도 많은 zearalenone이 오염된 것으로 나타나 앞으로 지속적인 연구가 요청된다.

손 등도 우유 중에 존재할 수 있는 발암성 곰팡이독소의 하나인 aflatoxin M<sub>1</sub>(AFM<sub>1</sub>)을 신속, 간편하게 분석할 수 있는 효소면역측정법(ELISA)을 개발하고자 하였다.

사용된 ELISA의 AFM<sub>1</sub>분석 회수율은 0.3~3.0ng/ml의 오염농도 범위에서 농도별 회수율로 평균 113%로서 이 ELISA system을 적용할 경우, 우유 중의 0.5ppm 이상의 AFM<sub>1</sub>을 정제과정없이 손쉽게 분석하는데 유용할 것으로 판단된다.

#### IV. 잔류 항균물질의 검색

질병의 예방과 치료 및 성장촉진을 목적으로 사용되고 있는 항균성 물질은 오용 및 남용에 의하여 식욕이나, 우유, 계란에 이행 잔류될 위험이 있으며, 이를 섭취한 사람에게는 과민반응을 일

으키거나 내성균을 유발시킬 가능성 등 공중위생상의 문제를 유발시키고 있음이 주지의 사실이다. 축산물 중의 잔류 항균물질을 검출하기 위한 분석법으로는 비색법과 thin-layer chromatography(TLC), gas chromatography(GC), gas chromatography/mass spectrometry(GC-MS), high-performance liquid chromatography(HPLC) 등이 있으나, 비교적 민감도가 낮거나 대부분의 경우 많은 시간을 필요로 하며 전처리가 복잡하다. 이러한 문제점 때문에 Standefer등이 1978년 토끼에서 생산한 polyclonal antibody를 사용한 competitive ELISA를 보고한 후 이들 잔류 항균물질의 신속한 분석을 위한 많은 연구가 진행되어 왔다.

국내에서도 가금 질병으로는 대장균증, 포도산구균증, 괴양성 피부염에 유효하며, 개나 고양이에 있어서는 요도, 기도, 소화기, 피부 감염증의 치료에 사용되는 gentamicin, 사료 첨가제로 많이 사용되는 sulfamethazine, 그리고 가금의 살모넬라증과 만성 호흡기 질병, 소의 전신성 살모넬라증, 송아지의 호흡기 감염증 등 다양한 세균성 질병의 예방과 치료목적으로 널리 이용되고 있는 chloramphenicol 등의 분석방법 개선에 대한 논문이 발표되었고, 최근 축산물의 수입개방과 더불어 이러한 잔류 항균물질의 신속분석개발에 많은 관심이 쏠리고 있다.

김 등은 축산식품 중에 잔류하는 gentamicin(GM)을 검출하기 위하여 GM에 특이적인 항체를 생산하고 이를 사용하여 효소면역측정법을 개발하였다. 그결과 경쟁적 ELISA로 표준곡선을 작성한 결과(n=26) 검출한계는 GM 농도 10ng/ml 수준이었으며, GM 표준품의 직선범위는 10 $\mu$ g/ml 이하였다고 보고하고 있다.

또한 잔류 sulfamethazine을 검출하기 위한 보문이 김 등에 의하여 발표되었으며, 여기서는 HRP가 결합된 protein A (prot A-HRP)를 이용한 새로운 ELISA법의 이용 가능성이 제시되었고 그때의 sulfamethazine의 검출한계는 1.0 ppb 이하이었다. 특히 다른 합성항균제와의 교차반응을

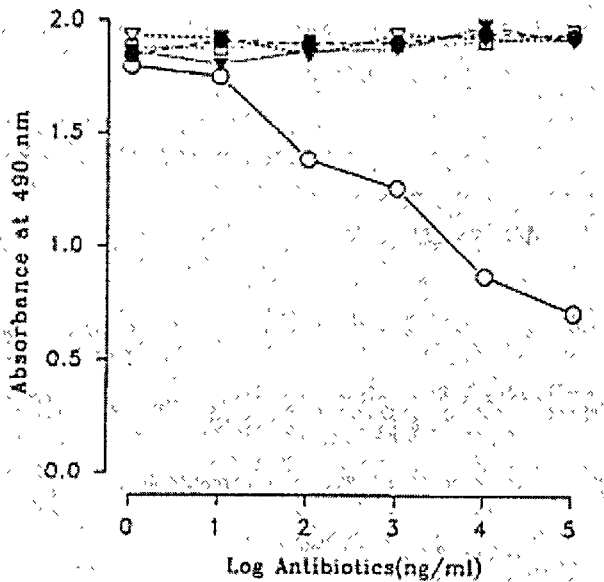


Fig. 3. Cross-reactivities of partially purified immunoglobulin against gentamicin.



Table 4. Cross reactivity of sulfamethazine and other chemicals to guinea pig-SMZ

Compounds	EC-50(ppm)
Sulfamethazine	0.020
Sulfamerazine	2.0
Sulfadimethoxine	-
Sulfaguanidine	-
Sulfamethoxyipyridazine	-
Sulfanilamide	-
Sulfapyridine	-

조사한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 sulfapyridine, sulfisoxazole, sulfadimethoxine, sulfamethoxyipyridazine, sulfanilamide, sulfamerazine, sulfaguanidine, sulfisomidine 등과는 교차반응을 보이지 않았고 sulfamerazine과 교차반응을 보여 항체의 특이성이 입증되었다. 따라서 이 방법을 식육 혹은 사료 등의 잔류하는 sulfamethazine검출을 위한 ELISA kit로서 실용화도 가능하다고 보고하였다.

최근 손 등은 퀴놀론계 항균물질을 측정하기 위해 면역크로마토그래프법을 이용한 결과를 보고하였다. 시료 중의 퀴놀론을 측정하기 위해 polyclonal 항체를 사용하였으며 colloidal gold로 표지하여 marker로 사용하여 KIT의 conjugate pad에 흡착시킨 후 건조 고정시켰다. Capture line에는 quinolone-BSA를 합성한 다음 고정시켰고, control line에는 goat anti-rabbit IgG를 최적 농도로 희석하여 nitrocellulose membrane에 분사한 다음 건조 고정시켰다. 최종 완성된 검사 KIT에 시료별 퀴놀론계 항균물질의 농도별 검출능을 조사하였던 바 enrofloxacin 항체를 사용한 스트립은 photometric reader로 측정하였을 때 우유에서의 검출한계가 2.5 µg/kg으로 보고하였다. 실제로 ciprofloxacin 항체를 사용한 스트립의 우유 및 식육내 enrofloxacin 및 ciprofloxacin의 검출한계는 우유에서는 2종 모두 10 µg/kg이었으며 식육에서는 2종 모두 30 µg/kg으로 보고하고 있다.

## V. 기타 효소면역학적 기법의 응용

이처럼 효소면역학적 기법은 축산식품의 안전성과 관련한 잔류 항생물질, 잔류 곰팡이 독소의 분석외에도 여러 가지 목적으로 응용되고 있다. 그 중 하나는 최근 국제적으로 육류의 교역이 활발해짐에 따라 육종감별의 중요성은 더욱 증가되고 있고 소비자의 권익 보호를 위하여 육제품의 종 감별은 다양한 방법으로 시도되어 왔는데 이에는 면역학적 방법, 크로마토그래피 방법, DNA hybridization법, 전기영동법 그리고 polymerase chain reaction(PCR)법 등이 있다.

이중 면역학적인 방법은 대표적으로 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)를 들 수 있고 이 방법은 신속하고 정확하며 실험과정이 간단하고 특이성이 높아 시료를 동시에 다량으로 검사해야 하는 현장에서 이용할 경우 매우 효과적이라 할 수 있다.

김 등은 가열 처리된 우유, 돈육, 계육, 양육과 염소육과의 종 판별을 위한 효소면역측정법(ELISA)을 확립하기 위하여 염소육을 98°C에서 15분간 열처리해서 추출액을 분리하였다. 열에

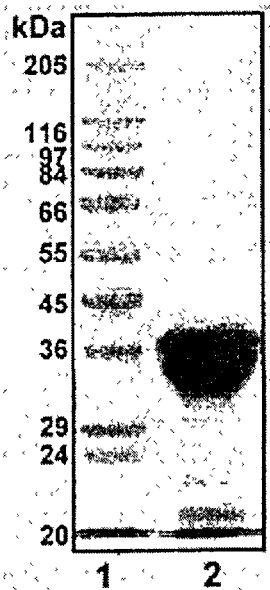


Fig. 4. SDS-PAGE pattern of purified protein from goat on 10% acrylamide gel.

안정한 주요 단백질(TS)을 분리, 정제한 후 토끼에 면역하여 염소육에 대해 특이성을 갖는 항체를 생산하고 항TS 항체는 가열 처리된 계육, 우육, 돈육, 양육과는 반응성이 전혀 없었고 동일하게 처리된 염소육과 지표단백질인 TS에만 반응성을 보였다고 하였다. 보고된 방법인 간접경합 효소면역측정법은 가열 처리된 육류 중 염소육 판별에 응용 가능성을 시사하였다.

손 등도 가공식품 중의 우유단백질 분석을 위하여 효소면역측정법, ELISA를 개발하여 발표한 바 있다. 특히 항체를 생산하기 위해 열에 안정하고 우유의 주요한 단백질인  $\alpha_{s1}$ -CN 항체를 이용하여 간접경합 ELISA를 실시한 결과 검출한계는  $0.1 \mu\text{g/ml}$  이었고  $\alpha_{s1}$ -CN, skim milk,  $\beta$ -CN 과 whey protein isolate에 대한 특이항체의 반응성은 각각 100%, 37%, 0.14%과 0.04% 로써 항체의 항원에 대한 특이성이 큰 것으로 나타났다.

뿐만 아니라 김 등도 가공한 육제품에 첨가된 대두단백질(soy protein)을 정량하기 위한 목적으로 면역분석(Immunossay)법의 연구를 시행하였다. 그결과 Fig. 5에서 나타난 바와 같이 isolated soy protein(ISP)의 whole buffer extract(WBE) 분획을 SDS 처리 후 토끼에 주사하여 생산된 항혈청의 항체역가를 indirect ELISA법으로 조사하였을때 1 : 10,000 이상에서도 반응하는 것으로 나타났다, 검정곡선(calibration curve)을 indirect competitive ELISA 법으로 작성하였을 때 ISP를 100ng/100ml까지 측정할 수 있다고 보고하였다.

그 외에도 김 등은 Myosin과 그 subfragment인 S-1과 LMM를 항원으로 하는 간접경합 효소면역분석법(Ci-ELISA)을 이용하여 동결육의 변화를 연구함으로써 수입 냉동육과 국내산 냉장 한우육과의 차별화를 위한 기초 자료를 마련하였다. 현재, 우리나라에서도 육제품의 수요가 증가함에 따라 육제품의 규격화 내지는 표준화를 위하여 이와 같은 비육단백질의 정량을 위한 방법 개발이 필요하다. 그러나 아직 면역분석법에 관한 연구가 미흡하고, 현재 사용하고 있는 면역분석법

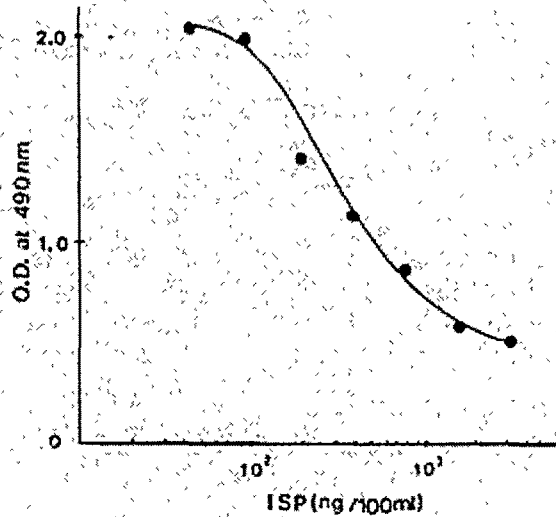


Fig. 5. Calibration curve of indirect competitive ELISA for isolated soy protein.

도 아직 해결해야 할 문제점이 있어 보다 체계적인 연구가 절실히 요구되고 있다.

## VI. 결 론

우리나라도 최근 들어 생활수준의 향상과 더불어 축산식품의 소비가 급격히 증가하고 있다. 특히 축산식품은 오랜 옛날부터 건강식품으로는 물론 영양학적으로도 영양소를 가장 골고루 갖춘 식품으로 알려진 반면 다른 어떤 식품보다도 부패되기 쉽고, 인축공동전염병을 매개하는 역할을 함으로써 안전성의 중요성이 강조되고 있으며 최근에는 질병의 예방과 치료, 그리고 생산성 향상을 위해 첨가되는 항균성 물질이나 곰팡이 독소의 잔류 여부 등이 큰 관심사로 대두되고 있다.

최근까지 축산식품 중의 잔류항균물질이나 잔류곰팡이 독소의 분석방법은 일반적으로 TLC, HPLC 및 GC 등에 의한 AOAC법<sup>21)</sup>에 주로 의존하였으나 안전성을 비롯한 분석상의 문제점으로 이 있어 새로운 분석방법의 필요성이 강력히 대두되었다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 방법의 하나로 항원, 항체반응으로 축산식품속의 유해 잔류물질이나 유해 미생물을 검색하는 방법이 면역학적 방법이다. 일반적으로 면역학적 분석법에는 효소면역학적 방법, 형광면역학적 방법, 편광면역학적 방법, 면역크로마토그래피법 등이 있으며 잔류 유해물질의 분석, 오염미생물의 검색외에도 육고기의 판별 등의 분야에 다양하게 활용되고 있다. 그러나 축산식품을 위한 효소면역학적 분석법이 국내에서 실용적인 분석법으로 자리를 잡으려면 아직도 보완해야 할 점이 너무도 많다. 모든 일이 그러하듯이 이 분야의 연구에서도 반성해야 할 것은 필요에 따라 그때 그때 행하는 단편적인 연구가 아니라 체계적이고 지속적인 연구를 계속할 수 있는 여건과 연구자 개인의 마음자세가 무엇보다 필요하다. 그 결과 효소면역학분석 KIT가 국산화되고 분석기술이 고도로 축적될 수 있게 더 많은 노력을 함으로서 안전한 육고기의 확보로 국민건강에 이바지할 수 있을 것으로 생각한다.

## VII. 참고문헌

1. 정덕화. 1990. Aflatoxin에 대한 최신 분석법과 규제동향. 한국식품위생학회지. 5(3), 131-138.
2. 정덕화, 김성영. 가축사료중 Zearalenone분석을 위한 Enzyme Linked Immunosorbent Assay법의 개발. 1991. *Kor. J. Food Hygiene*. 6. 3. 111-117.
3. 김현정, 손동화, 2000. 가열 염소육의 판별을 위한 효소면역측정법. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32. 3. 538-543.
4. 노정해, 김영봉, 한찬규, 이남형, 성기승, 손동화, 1999. 산란계의 연령과 면역주기에 따른 난황 중의 *Streptococcus mutans* 특이항체 함량. 한국축산학회지 41(5):563-574.
5. 손동화, 임선희, 이인원. 1996. 회식에 의한 우유 중 Aflatoxin M1의 효소면역측정법. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28. 6. 1184-1187.
6. 김성희, 임윤규, 1995. 잔류 Sulfamethazine 검출용 ELISA 개발에 관한 실험적 연구. *J. FdHyg. Safety.* 10.4. 213-217.
7. 김재영, 이문한, 이항, 류관동, 조명행, 박종명. 1994. 축산식품 중에 잔류하는 Gentamicin 검사를 위한 ELISA 개발에 관한 연구 I. Gentamicin에 대한 항체생산 및 특성조사. *J. FdHyg. Safety.* 9. 3. 123-131.
8. 윤동호, 이문한, 1993. 잔류 Chloramphenicol 검사용 효소 면역측정법의 개발에 관한 연구 I. Chloramphenicol에 대한 단클론 항체의 생산 및 특성 조사. *J. FdHyg. Safety.* 8. 4. 205-214.
9. 김천제, 김종배, 김병철, 이승배, 정성원, 신현길, 고원식. 1992. 육제품에 첨가된 대두단백 정량을 위한 면역분석법 개발에 관한 연구 : 대두단백 정량을 위한 항체생산 및 특성조사. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24. 3. 204-208.
10. 김성배, 이주운, 박종흠, 도형기, 현창기, 신현길. 1998. Competitive ELISA를 이용한 Bovine Myosin의 동결 변성도 측정. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30. 4. 862-870.
11. Scott P. M., Panalaks, T., Kanhere, S. and Miles, W. F. 1978. Determination of zearalenone in cornflakes and other corn-based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography and gas liquid chromatography high resolution mass spectroscopy. *J. AOAC.* 61: 593-600.
12. Narong C., Coss, W. Y., Latimer, G. W., Salinas, C. and Clement, B. A. 1989. Liquid chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxin A, and zearalenone in grains, oil seeds, and animal feeds by post-column derivatization and on-line sample clean up. *J. AOAC.* 72(2): 336-341.
13. Voller, A., Bidwell, D.E., Bartlett, A. 1997. A Guide with Abstracts of Microplate Applications. Dynatech Europe, Guernsey.
14. Pestka, J. J., Li, Y. K., Harder, W. O. and Chu, F. S. 1981. Comparison of radioimmunoassay and an enzyme-linked immunosorbent assay for the analysis of aflatoxin M1 in milk. *J. AOAC.* 64. 294.

15. Hu, W. J., Woychik, N. and Chu, F. S., 1984. ELISA of picogram quantities of aflatoxin M1 in urine and milk. *J. Food Prot.*, 47, 126.
16. Stahr, H. M., A. A. Kraft, and M. Schuh, 1979. The determination of T-2 toxin, diacetoxyscripenol and deoxynivalenol in foods and feeds. *Appl. Spectrosc.* 33: 294-297.
17. Romer, T. R., Patterson, D. S. P., 1975. Detection of twelve mycotoxins in mixed animal feedstuffs using a novel membrane cleanup procedure. *J.A.O.A.C.* 58: 1178-1181.
18. De Verdier Klingenberg, K. and Esfandiari, J. 1996. Evaluation of one-step test for rapid in practice detection of rotavirus in farm animals. *Vet. Rec.* 138(16), 393-395.
19. King, N. L. and Kruth, L. 1982. Analysis of raw beef samples for adulterant meat species by enzyme-staining of isoelectric focusing gels. *Journal of Food Science*, 47, 1608-12.
20. Kurth, L. and Shaw, F. D. 1983. Identification of the species of origin of meat by electrophoretic and immunological methods. *Food Technology*, Australia, 35, 328-31.
21. Marchalones, J. J. 1969. An enzymatic method for the trace iodination of immunoglobulins and other proteins. *Biochemistry Journal*, 113, 299-305.
22. Swart, K. S. and WILKS, C. R. 1982. An immunodiffusion method for the identification of the species of origin of meat samples. *Australian Veterinary Journal*, 59, 21-2.
23. Whittaker, R. G., Spencer, T. L. and Copland, J. W. 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay for meat species testing. *Australian Veterinary Journal*, 59, 125.
24. Charm. S. E. and Ruey. C. K. 1982. Rapid screening assay for beta-lactam antibiotics in milk : collaborative study. *J.A.O.A.C.* 65(5), 1186-1192.
25. Charm. S. E. and Ruey. C. K. 1988. Microbial receptor assay for rapid detection and identification of seven families of antimicrobial drugs in milk : collaborative study. *J.A.O.A.C.* 71(2), 304-316.