

시판 조제 분유의 Allergenicity 에 관한 연구

정은자 · 이부웅* · 박성오**

서울보건전문대학 식품영양과, *전북대학교 농과대학 축산학과

** 서울여자대학교 식품과학과

A Study on the Allergenicity of the Commercial Infant Formula

Eun-Ja Jeong, Bou-Oung Lee, Sung-Oh Park

Dept. of Nutrition and Food Science, Seoul Health Junior College

*College of Agriculture, Chon buk National University

**Dept. of Food Science, Seoul Woman's University

Abstract

I experimented on commercial infant formula in passive cutaneous anaphylaxis inhibition methods. I used several guinea pigs for this experiment. The results obtained from this study were as follows:

- 1) Commercial infant formula showed positive reactions, while soy-based formula showed negative reactions.
- 2) The products from differnt companies showed different reactions respectively. The products of "A" company showed low allergenicity compared to the products of "B" company. The products of "C" company showed the lowest allergenicity.
- 3) It seemed to be that the differences of allergenicity among the products by various companies were caused by the differences of the materials used, the combination ratio of materials, the heat tretment level, and manufacturing processes.

Key words : commercial infant formula, PCA inhibition, allergenicity

서 론

식품 allergy는 임상증세도 다양할 뿐 아니라 원인이 되는 식품의 종류도 다양하여 약 140여종의 식품이 인간에게 allergy를 일으킨다고 한다¹⁾. 흔히 allergy를 일으키는 식품으로는 우유, 달걀, 밀, 치즈, 과일, 조개, 생선, 닭고기, 버섯, 채소 등이 있다²⁾. 식품 allergy는 우리 일상생활에서 항상 접하는 음식물들이 항원으로 작용하므로 그 중요성이 크다고 할 수 있으며 쌀³⁾, 밀가루^{4, 5)}, 사과⁶⁾, 밤⁷⁾, 번데기^{8, 9)}, 달걀^{10~12)}, 우유^{13~15)}에 의한 식품 allergy가 보고되어 있다. 식품 allergy의 증상으로는 담마진, 천식, 발진, 설사 및 복통, 비염, atopy성 피부염, 부종 등 다양하게 나타난

다^{16, 17)}. 이¹⁸⁾는 우리나라 소아의 atopy성 피부염의 원인식품으로 우유와 달걀이 가장 많다고 하였고 Cant¹⁹⁾등도 allergy질환을 가지고 있는 유아들이 주로 달걀과 우유의 allergy였다고 보고하였다. 우유는 달걀, 대두와 함께 식품 allergy를 유발하는 3대 주요 원인 식품²⁰⁾으로 우유 allergy의 빈도는 보고자마다 차이가 있지만 영·유아의 1~3%라고 알려져 있으며^{21~24)} 대부분 인공영양을 시작한지 한 달이나 두 달내에 나타난다고 한다. 우유에는 인체내에서 항체를 생성할 수 있는 항원성 단백질이 20여종 함유되어 있는데 그중 우유 allergy와 관계있는 단백질은 β -lactoglobulin과 casein으로 62~100%의 환자에게서 증세를 일으키는 것으로 알려져 있다^{25, 26)}. 본 연구는 불가피한 이유로 모유수유가 불가능한 유아를 위해 제조된 인공영양식인 조제분유의 allergenicity를 알아보고자

Corresponding author : Eun-Ja Jeong

우리나라에서 시판되고 있는 조제분유를 guinea pig를 이용한 PCA inhibition method를 실시하여 측정하여 비교 연구하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 원 유

본 실험에 사용한 원유는 전북대학교 농과대학 부속 목장에서 건강한 Holstein종 젖소에서 착유하여 원심분리하여 사용하였다.

2) 조제분유

조제분유를 제조하고 있는 제조회사별로(A, B, C) 구입한 조제분유 3종과 저 allergy 분유 2종을 슈퍼마켓에서 구입하여 실험재료로 사용하였다.

3) 실험동물

한일 양토장에서 구입한 New Zealand White종의 체중 2.3 kg의 토끼와 250~300 g의 guinea pig를 고형사료(화성사료 주식회사)와 풀로 사육하여 본 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

1) 항혈청 제조

신선한 원유를 질소 증류 장치를 사용하여 질소 정량한 후 단백질이 5 mg/ml가 되도록 0.85% 생리 식염수에 희석한 것 1 ml와 동량의 Complete Freund's Adjuvant(Sigma사)를 첨가하여 유회시킨 후 2.3 kg의 토끼의 양 뒷발 대퇴부 근육에 1 ml씩 주사하였다. 7일 간격으로 10회 행하고 4주 후부터 각각 주사하기 전날에 귀정맥에서 부분 채혈하여 immunodiffusion을 실시하여 항체가 생긴 것을 확인하였다. 최종 주사 일로부터 1주일 후에 전부 채혈하여 희석법에 의하여 PCA 역가를 구하였다²⁷⁾.

신선한 달걀도 균질기에서 잘 섞은 후 원료 난액을 단백질 농도가 5 mg/ml가 되도록 조정 후 위의 원유와 섞어서 동량의 Complete Freund's Adjuvant

(Sigma)와 유회액을 만든 후 위와 같은 방법으로 토끼에게 면역시켜 채혈하였다. 채혈한 혈액을 37°C에서 1시간, 4°C에서 하룻밤 방치한 후 원심분리(4°C, 3,000rpm, 30분) 하여 혈청을 얻었다. 얻어진 혈청을 56°C에서 30분간 가열하여 보체(complement)를 불활성화 시킨 후 -80°C의 냉동고에서 보관하였다.

2) PCA(passive cutaneous anaphylaxis) inhibition 실험

약 250~300 g의 건강한 guinea pig 등에 200배로 희석한 상기 혈청 0.1 ml를 주사하고 4시간 후 증류수에 용해한 조제분유 0.5 ml(단백질 5 mg/ml)와 PBS(phosphate buffer saline) 완충용액에 용해시킨 1% Evan's blue 0.5 ml를 혼합하여 정맥에 주사하였다. 30분 후 희생시켜서 피하에 나타난 blue spot의 직경을 대조군과 비교하였다. 5 mm이내를 ±, 5~10 mm를 +, 10~15 mm를 ++, 15~20 mm를 +++, 20 mm 이상을 ++++로 등급화 하였다²⁸⁾.

3) 주사전자현미경

각각의 조제분유를 aluminum tray 위에 양면 tape를 부착시킨 후 가루를 뿌리고 가볍게 압착시켜서 tape 위에 부착된 분말을 conway cell에서 gas로 고정 후 Sputt Coater(Ladd, Res. Ind., USA)에서 Au로 금속화 시켜서 주사전자현미경(Jeol, Model JSM T330, Japan)으로 촬영하였다²⁹⁾.

결과 및 고찰

영유아용 조제분유의 allergenicity를 측정하기 위해 국내 유가공업체인 A, B, C 3개 회사에서 제조되어 시판되고 있는 조제분유와 저 allergy분유라고 불리는 soy-based formula에 대하여 passive cutaneous anaphylaxis를 실시한 결과를 Fig. 1~5와 Table 1에 나타내었다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 저 allergy 분유는 2개 회사 제품 모두 반응을 일으키지 않았다. 그러나 콩에 allergy가 있는 유아는 우리나라에서 시판되고 있는 저 allergy분유의 사용을 금하여야 한다. 조제분유에 있어서는 제조회사별로 서로 다른 반응을 나타내었다.

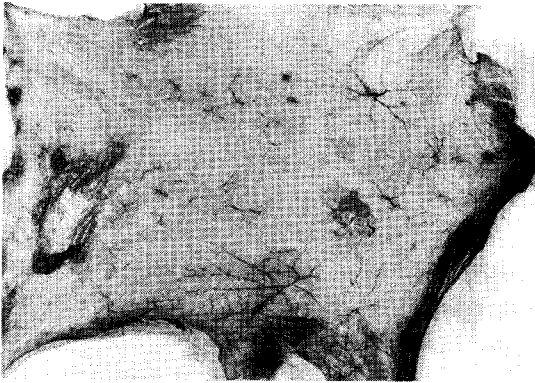


Fig. 1. Result of PCA test of soy-based formula.



Fig. 2. Result of PCA test of raw milk.

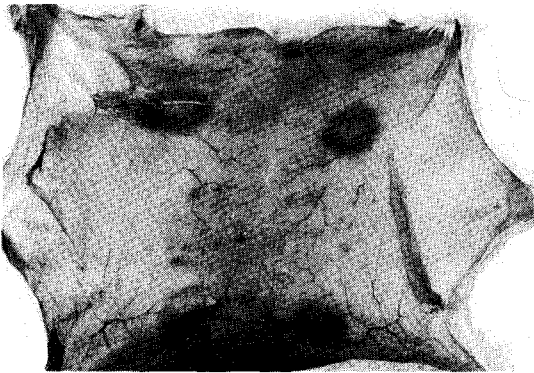


Fig. 3. Result of PCA test of infant formula manufactured by company A (right: antiserum against milk, left: antiserum against milk and egg).

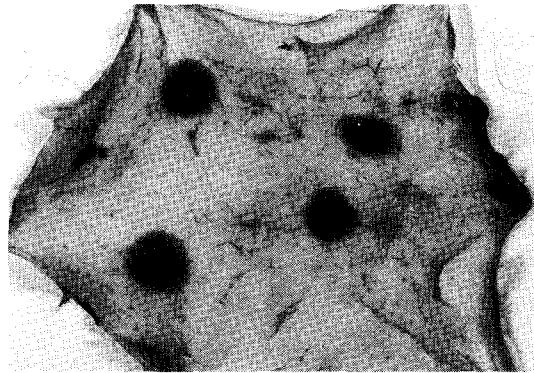


Fig. 4. Result of PCA test of infant formula manufactured by company B (right: antiserum against milk, left: antiserum against milk and egg).

원유를 사용하여 실시한 control(Fig. 2)과 비교하였을 때 A회사 제품은 blue spot의 직경이 13.5 mm로 ++등급이었고 B회사 제품은 직경이 15.5 mm로 +++등급이었고 C회사 조제분유는 4.5 mm로 ±등급이었다. 제조회사 중에 B회사의 조제분유가 가장 강한 allergenicity를 가지고 있는 것으로 나타났다(Fig. 3). 이 결과는 이 회사 제품이 많은 항원 결정기를 가지고 있음을 시사한다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 C회사의 조제분유는 ±등급으로 가장 낮은 allergenicity를 나타내었다. 이와 같은 제조회사간의 al-

lergenicity의 차이는 조제분유의 제조방법의 차이에서 기인된다고 사료된다. 우유에는 12~16종의 항원성 단백질이 존재하는데 우유의 가공처리 과정에서 이들 단백질의 천연 항원결정기가 파괴되거나 혹은 새로운 항원 결정기가 생기는 등 여러가지 변화가 일어난다^{30, 31)}. Kilshaw³²⁾는 조제분유 제조기간 중에 적용된 열처리가 우유단백질의 immunological sensitising capacity를 감소시킨다고 하였고 Maloughlan³³⁾과 Heppel³⁴⁾등도 우유의 강한 열처리가 guinea pig를 oral 면역시켰을 때 감작능력을 감소시킨다고 보고하

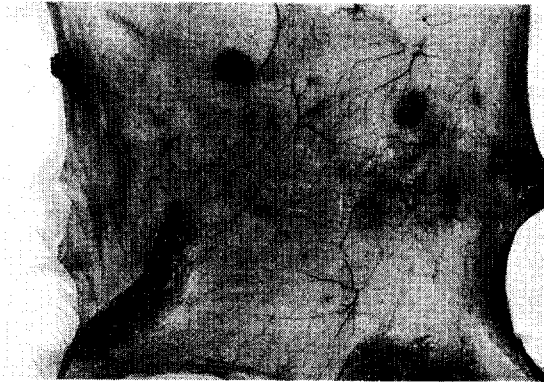


Fig. 5. Result of PCA test of infant formula manufactured by company C (right: antiserum against milk, left: antiserum against milk and egg).

었다. 또한 May³⁵⁾ 등은 우유의 강한 열처리가 whey-protein의 구조를 변화시키므로 immediate hypersensitivity를 감소시킬 수 있다고 보고한 바 있다. 그러나 Poulson³⁶⁾ 등은 pasteurization이 anaphylaxis 반응을 일으키는 우유의 능력을 변화시키지 않았다고 보고하였다. 또한 그는 균질화된 우유가 쥐에 있어 강력한 anaphylaxis 반응을 유발하였다고 했는데 이는 표면적의 증가로 표면에 노출되는 항원결정기들의 집중이 원유에서 보다 훨씬 높기 때문인 것으로 생각된다. Jost³⁷⁾는 조제분유 제조시 고도의 단백질 용해성을 유지하기 위해 열처리를 줄여 온건한 열처리를 하는 경우 유청단백질의 불완전한 변성을 가져오게 되므로 allergy를 일으킬 수 있다고 하였다. 제조회사별로

다르게 나타난 allergenicity는 이러한 제조과정상의 차이에서 기인된다고 사료된다. Table 1에서 보는 바와 같이 우유 단독에 의한 반응보다 우유와 달걀을 면역시켜 얻은 항체를 사용했을 때 A, B, C회사 조제분유 모두 더 강한 반응을 나타내었다. A회사 제품이 15.5 mm로 +++등급, B회사 제품이 16.5 mm로 +++등급, C회사 제품이 8.5 mm로 +등급으로 나타났다. 역시 B사>A사>C사의 순으로 나타났는데 이는 cross-reaction때문인 것으로 사료된다.

조제분유의 전자 현미경의 촬영목적은 분유입자를 관찰하므로서 시각적으로 단백질의 변성이나 입자 균일 밀도를 관찰하므로서 품질을 평가할 수 있기 때문이다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 A에서는 약 50 μm 크기의 입자 표면에 지방구로 보이는 작은 입자들이 부착되어 있고 B에서는 A보다 큰 약 100 μm 의 입자들에 마찬가지로 작은 지방구들이 부착되어 있다. C에서는 입자의 크기가 보다 크고 불균일한 것으로 나타나고 역시 작은 지방구들이 부착되어 있으나 이들의 크기는 다양하였다. D는 50 μm 의 약간 작은 입자에 비슷하거나 약간 작은 지방구들이 부착된 것으로 나타났다. E의 형상은 다소 복잡하여 표면에 모양과 크기가 불균일하고 이 입자에 작은 지방구들이 부착되어 있고 약 25 μm 의 깊이로 유기 침전물이 나타났다. 전형적인 구형모양과 다르게 나타난 것은 과도한 열처리 때문이라고 예측되며 이것은 allergy에 간접적으로 영향을 미치는 요소라고 생각된다. 이상의 결과로 시판 조제분유는 저 allergy 분유라는 명칭의 soy-based formula를 제외하고는 allergy 반응을 일으키는 것으로 나타났으며 제조회사별로 allergenicity의 차이를

Table 1. Allergenicity of commercial infant formulas and soy-based formulas

Kinds	Company	PCA inhibition		
		Antiserum(milk+egg)	Antiserum(milk)	Color
Infant formula	A	15.5(+++)	13.5(++)	light blue
Infant formula	B	16.5(+++)	15.5(+++)	deep blue
Infant formula	C	8.5(+)	4.5(+)	Slightly light
Soy-based formula	A	None	None	None
Soy-based formula	B	None	None	None

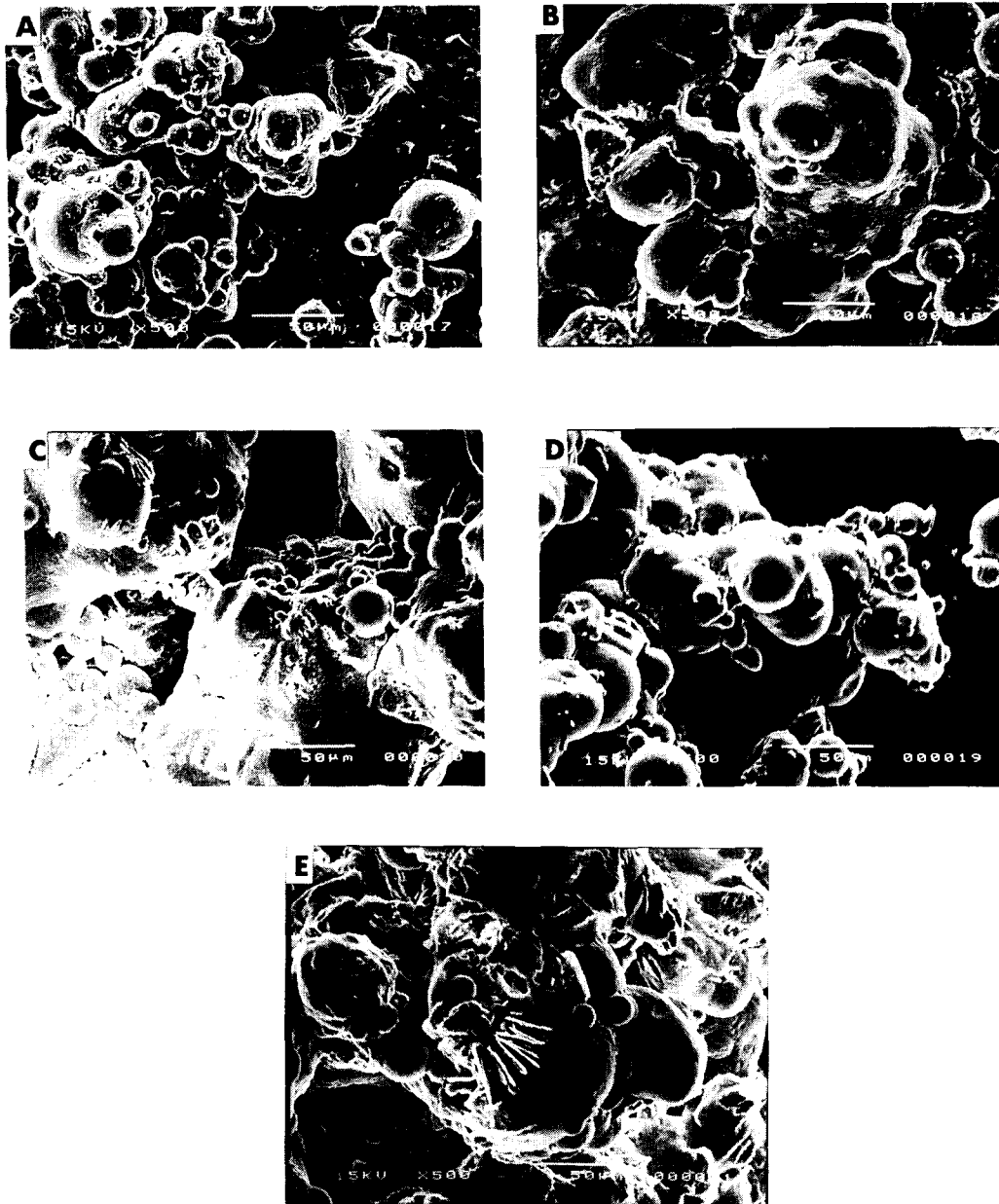


Fig. 6. Scanning Electron Microscope of commercial infant formulas

A: A company, soy-based formula

B: B company, soy-based formula

C: C company, Infant formula

D: B company, infant formula

E: A company, infant formula

보였다. 저 allergy분유는 콩을 기초로 만든 분유로 대두도 allergy를 일으키는³⁾ 주된 식품으로 알려져 있으므로 대두에 allergy인 유아에게는 allergy 반응을 일으킨다. 또한 대두는 우유에 비하여 영양가가 떨어지며 조제분유는 모유의 영양성분과 유사하여 유아의 성장에 지장을 초래하면 안되므로 단백질의 품질이 우수하고 유아에게 모유대용품이 될 수 있는 우유를 기초로한 저 allergy조제분유가 개발되어야 한다고 사료된다. 이를 위하여는 우유단백질의 allergenicity를 저하시킬 수 있는 여러가지 방법들과 항알레르기 인자들의 검색이 연구되어야할 것으로 사료된다.

요 약

시판되는 조제분유를 제조회사별로 구입하여 guinea pig를 이용한 PCA inhibition test로 allergenicity를 측정 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

저 allergy분유는 negative반응을 나타내었고 조제분유는 positive 반응을 나타냈으나 제조회사별로 차이가 있었다. 가장 allergenicity가 강한 것은 B회사 제품으로 대조군과 비교하여 착색된 직경의 크기나 색에 있어 차이가 없었으며 A회사 제품은 B회사 제품보다 allergenicity가 적은 것으로 나타났다. C회사 제품은 미약한 반응을 나타내 제조과정중 allergenicity가 감소되었음을 알 수 있었다. 이들 회사간의 allergenicity의 차이는 사용한 재료의 종류 및 사용비율, 열처리의 정도, 기타 제조과정상의 차이점에 기인된다고 사료된다.

참고문헌

1. Chiramonte, L. T., Schneider, A. T. and Lifshitz, F. : Food allergy, Marcel Dekker, Inc., p. 90 (1988)
2. 손근찬: 소아 식품 알레르기, 알레르기학회지, 1 (1), 29 (1981)
3. 池澤善郎, 池部敏市: アトピー性皮膚炎に對する低アレルギー米, アレルギー, 40(5) 633 (1991)
4. 椿和文, 栗山智之: アトピー性皮膚炎患者の小

5. 麥抗原に對する IgG 應答性の解析, アレルギー, 40(5), 521 (1991)
6. 강석영: 직업성 밀가루 알레르기, 알레르기학회지, 2, 128 (1982)
7. 박기홍, 궁성수, 강석영: 사과 알레르기 1 예, 알레르기학회지, 3, 120(1983)
8. 윤희철: 밤에 의한 접촉성 두드러기 1 예, 최신의학, 25, 174 (1982)
9. 이명혜, 김유영, 강석영: 번데기에 의한 식품 알레르기 2 예, 알레르기학회지, 2, 23 (1982)
10. 김소연, 백승은, 강석영: 번데기를 먹은 후 발생한 아나필락시스 1 예, 알레르기학회지, 3, 175 (1983)
11. 박기범, 윤희철, 이유신: 우유 및 계란 알레르기 1 예, 알레르기학회지, 6(1), 51(1986)
12. 유왕성, 전형식, 문희범, 강석영: 계란에 의한 위장관 알레르기 1 예, 알레르기학회지, 4, 184 (1984)
13. Amlot, P. L., Urbanek, R., Youlten, L. J. F., Kemerny, M. and Lessof, M. H. : type II allergy to egg and milk proteins: Comparison of skin prick tests with Nasal, Buccal and Gastric Provocation Tests, *Int. Archs Allergy Appl. Immun.*, 77, 171 (1985)
14. 최인선, 최병휘, 민경업, 강석영: 성인에 발생한 우유 알레르기의 1 예, 알레르기학회지, 2, 116 (1982)
15. 송제일, 김유영, 강석영: 혈관 부종을 동반한 우유 알레르기 1 예, 알레르기학회지, 1(2), 131 (1981)
16. 박장환, 박인수, 송준영: 우유 알레르기 1 예, 대한피부과학회지, 21, 735 (1983)
17. 이혜란, 홍동선, 손근찬: 소아 allergy에 관한 조사, 대한의학협회지, 26(3), 254 (1983)
18. 홍천수, 허갑범, 이상용: 음식물에 의한 호흡기 알레르기 질환 8 예의 임상적 관찰, 알레르기학회지, 1, 11 (1981)
19. 이기영: 지발성 식품 알레르기, 알레르기학회지, 12(2), 133 (1992)
20. Cant, A., Marsden, R. A. and Kilshaw, P. J.

- : Egg and Cow's milk hypersensitivity in exclusively breast fed infants with eczema and detection of egg protein in breast milk, *British Medical J.*, **291**, 932 (1985)
20. 館野幸司, 岸 菊子: 子 ともの 食物 アレルギー, p 22 (1981)
 21. 池田輝生: 今日の乳兒榮養, p 129 (1985)
 22. Freier, S. and Kletter, B. : Milk allergy in infants and young children, *Clin. Pediatrics*, **9**, 449 (1970)
 23. Bahna, S. L. and Heiner, D. C. : Allergies to milk, Greune and Stratton, New York, 128 (1980)
 24. Atkins, F. M. : The basis of immediate hypersensitivity reactions to foods, *Nutr. Rev.*, **41**, 229 (1983)
 25. Goldman, A. S., Anderson, D. W., Sellers, W. A., Seperstein, S., Kniker, W. T. and Halpern, S. R. : Milk allergy. I. Oral challenge with milk and isolated proteins in allergic children, *Pediatrics*, **32**, 425 (1963)
 26. Kuitunen, P., Visakorpi, J. K., Savilahti, E. and Pekonen, P. : Malabsorption syndrom with cow's milk intolerance. Clinical findings and course in 54 cases, *Arch. Dis., Child*, **50**, 351 (1973)
 27. Otani, H., Dong, X. Y. and Hosonho, A. : Preparation of low-immunogenic peptide fragments from cow milk casein, *Milchwissenschaft*, **45**(4), 217 (1990)
 28. Ovary, Z. : Immediate reactions in the skin of experimental animals provoked antigen interaction, *Prog. Allergy*, **5**, 459 (1958)
 29. 이부웅, 안효일: 탈지분유로 제조한 치즈의 미세구조, *한국식품과학회지*, **16**(3), 279 (1983)
 30. Mckenzie, H. A. : Milk proteins. chemistry and molecular biology, Academic press, New York and London, **1**, 45(1970)
 31. 高橋富士雄, 幡田三郎: 酪農科學, **25**, 51 (1976)
 32. Kilshaw, P. J., Heppel, L. M. and Ford, J. E. : Effect of heat treatment of cow's milk and whey on the nutritional quality and antigenic properties, *Archives of Disease in Childhood*, **57**, 842 (1982)
 33. Malaughlan, P., Anderson, K. J., Widdowson, E. M., Coombs, R. R. A. : Effect of heat treatment on the anaphylactic sensitising capacity of cow's milk, Goat's milk and various infant formula fed to guinea pig, *Arch. Dis. Child*, **56**, 165 (1981)
 34. Heppell, L. M. J., Cant, A. J. and Kilshaw, P. T. : Reduction in the antigenicity of whey proteins by heat treatment. A possible strategy for producing a hypoallergic infant milk formula, *Bri. J. Nutr.*, **51**, 29 (1984)
 35. May, C. D., Fomon, S. T. and Remioglio, L. : Immunologic consequences of feeding infants with cow's milk and soy products, *Acta. Paediatr. Scand*, **71**, 43 (1982)
 36. Poulsen, O. M. and Hau, J. : Murine passive cutaneous anaphylaxis test for the 'all or none' determination of allergenicity of bovine whey proteins and peptides, *Clin. Allergy*, **17**, 75 (1987)
 37. Jost, R., Monti, J. C. and Pashud, J. J. : Whey protein allergenicity and it's reduction by technological means, *Food Tech. October*, **118** (1987)

(1994년 11월 26일 수리)