

## 물리적 처리에 의한 새우유래 Allergen 및 Allergenicity 변화

김성미<sup>2</sup> · 박진규<sup>3</sup> · 김꽃봉우리<sup>1</sup> · 이주운<sup>3</sup> · 변명우<sup>3</sup> · 박선미<sup>1</sup> · 안동현<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>부경대학교 식품공학과/식품연구소

<sup>2</sup>국립수산물품질검사원

<sup>3</sup>한국원자력연구소 방사선이용부

### Study on the Changes in Allergen and Allergenicity Originated from Shrimp by Physical Treatments

Seong-Mi Kim<sup>2</sup>, Jin-Gyu Park<sup>3</sup>, Koth-Bong-Woo-Ri Kim<sup>1</sup>, Ju-Woon Lee<sup>3</sup>,  
Myung-Woo Byun<sup>3</sup>, Sun-Mee Park<sup>1</sup> and Dong-Hyun Ahn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Food Science and Biotechnology/Institute of Food Science,  
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>2</sup>National Fisheries Products Quality Inspection Service, Gyeonggi 410-315, Korea

<sup>3</sup>Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic  
Energy Research Institute, Jeonbuk 580-185, Korea

#### Abstract

This research was conducted to evaluate the changes in allergenicity of shrimp by physical treatments using competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Ci-ELISA). Shrimp was subjected to physical treatments such as high hydrostatic pressure (HHP), sonication, autoclave and microwave. Heat-stable protein (HSP) purified from raw shrimp was used as a major allergen. The binding ability of monoclonal IgG and shrimp-allergic patients' IgE to HSP treated with HHP decreased, increasing the pressure up to 400 MPa. Especially, it became less than 50% at 400 MPa. The binding ability of mAb to HSP treated with sonication (10, 20, 30 and 60 min) decreased with the treated time. Especially, it became less than 60% with the treatment for 60 min. The allergenicity change of HSP treated with autoclave and microwave little decreased. The binding ability of mAb to HSP during the treatment for 20 min became more than 70%. The results suggest that allergenicity of HSP in raw shrimp be more easily lost by HHP or sonication treatment than by autoclave or microwave treatment.

**Key words:** shrimp allergy, heat-stable protein, high hydrostatic pressure (HHP), sonication, microwave, autoclave

#### 서 론

Allergy라는 말은 1906년 Clemens von Pirquet가 최초로 사용한 용어로서 현재까지 전 세계적으로 널리 사용되고 있으며, '이물질에 대한 신체의 잘못 변화된 능력'으로 정의되고 있다(1). 최근 우리나라에서 식품이나 화분, 진드기, 먼지 등 서로 다른 원인으로 인한 알레르기 환자가 급격히 증가하고 있는 추세이다(2). 알레르기는 알레르기를 유발시키는 물질(allergen)과의 반복되는 접촉으로 발생하는 신체 과민반응(hypersensitivity)으로 다음과 같은 세 단계를 거쳐 진행된다. 우선, allergen과의 처음 접촉에서 allergen을 인식하는 면역물질(antibody)이 체내에서 생성되고, 이 면역물질이 알레르기에 관여하는 세포에 부착되어 이후 allergen과의 반복 접촉에서 면역물질과 allergen이 결합함으로써 알레르기 관

여세포에서 화학매개체가 세포 밖으로 분비되어 조직에서 여러 가지 알레르기 증상을 일으킨다(3). Food allergy는 지역에 따른 식생활 문화나 종족간의 차이 등에 따라 질환의 빈도나 원인음식에 차이가 있을 수 있다. 그 빈도는 성인에게는 1.5%, 3세 미만에서는 5~6%로 알려져 있으나, 아토피 질환이 있는 소아의 경우 질환에 따라서 10~30%의 높은 빈도를 나타낸다(4). 식품에는 다양한 단백질이 함유되어 있는데 그 중 일부 단백질은 알레르기를 유발시키는 allergen으로 알려져 있으며(5), IgE 매개성 음식물 알레르기와 관련이 있는 주요음식물 및 음식물군은 땅콩, 콩, 우유, 계란, 생선, 갑각류, 밀, 견과류 등이 있다(6). 식품에 의한 이상반응은 면역학적, 비면역학적으로 발생할 수 있고 미지의 요인에 의해 일어날 수 있기 때문에 정확한 진단을 위해 보통 두세 가지의 방법을 병용하여 실시하고 있다. Food allergy를

\*Corresponding author. E-mail: dhahn@pknu.ac.kr  
Phone: 82-51-620-6429, Fax: 82-51-622-9248

진단하기 위해 보편적으로 사용되고 있는 방법은 skin test, 제한 식이요법(elimination diet), radioallergosorbent test (RAST)(7), enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) (8), ELISA inhibition test(9) 등이 있으며, 특히 ELISA를 이용한 sandwich ELISA, competitive indirect ELISA가 자주 이용되고 있다.

새우는 food allergy를 잘 일으키는 주요 식품군에 해당되며, 주요 allergen은 tropomyosin으로 열에 매우 안정하여 가열 후에도 그 항원성을 그대로 유지하는 열안정성 단백질(heat-stable protein, HSP)로 보고되고(10) 있으며 새우항원에 관한 국내연구는 1997년 Jeong 등(11)이 우리나라에서 흔히 섭취되는 새우(대하, 중하, 꽃새우, 돛대기새우)의 알레르기 항원성에 관하여 보고하였으며 분자량이 36 kDa인 성분이 주 알레르겐이라고 보고하였다. 외국에서는 Hoffman 등(12)이 분자량이 8~36 kDa인 6개의 항원을 밝혔고, 이중 열에 불내성인 새우의 주 알레르겐을 최초로 분리하였다.

지금까지 보고된 알레르기 억제방법은 원인물질의 소거나 변형에 그 초점을 맞추고 있다. 최근에 효소적 가수분해법을 이용한 저 민감분유가 개발되어 시판되고 있으며(13-15), 유전자 공학기법을 이용한 유전자 변형방법이 소개되었다(16). 이들 방법은 다양한 식품에 이용하기가 거의 불가능하며, 특히 새우 등과 같은 식품은 위에서 언급한 기술을 이용하기는 거의 불가능한 실정이다(17). 최근에는 물리적 방법을 이용한 식품 알레르기 억제연구가 시도되고 있으며 감마선조사와 같은 물리적 처리에 의해 새우의 주된 allergen인 HSP의 작용이 효과적으로 억제되었다는 연구결과가 보고되고 있다(18).

본 연구에서는 competitive indirect enzyme linked immunosorbent assay(Ci-ELISA)를 이용하여 여러 가지 물리적 처리에 의한 새우의 allergen 및 allergenicity의 변화를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험원료 및 주요 allergen 분리 정제

본 실험에서는 대하에 존재하는 tropomyosin을 항원으로 사용하였고, 대하는 2002년에 인근 수산매장에서 냉장상태로 구입하였으며 냉장하면서 공시하였다. 체장은 7~10 cm의 것을 이용하였다.

Lee 등의 방법(19)을 변형하여 heat stable protein(HSP)을 분리하였다. 즉 새우살을 100°C에서 15분간 삶은 후 10배의 0.01 M PBS(0.15 M NaCl, pH 7.3)를 가하여 10,000 rpm에서 2분간 균질화시킨 뒤 하룻밤동안 교반하였다. 이 액을 원심분리(7,610×g, 50 min, 4°C)하여 얻은 상층액에 황산암모늄으로 30% 포화농도가 되도록 염석 실시 후 원심분리한 다음 상층액을 60%의 포화농도가 되도록 염석하였다. 이 용액을 원심분리(10,000×g, 20 min, 4°C)하여 침전물을 0.01

M PBS로 녹여 같은 용액에서 투석한 뒤 3회 등전점 침전시켜 같은 용액으로 투석하였다. 이 용액을 0.45 μm의 filter paper로 여과한 다음 BCA protein assay kit으로 단백질 농도 1.0 mg/mL로 보정하여 초고압 처리, 가압 가열 처리, 초음파 처리, microwave 처리에 공시했다.

### 표준항원 및 항체

Mouse monoclonal IgG(mAb 4. 9. 5)는 한국원자력 연구소 방사선식품기술 개발팀에서 받아 사용하였다. 그리고 환자혈청은 일본 북해도 대학교 의학 부속병원으로부터 지원받아 수산학부 Saeki Hiroki와 공동으로 사용하였다. Anti-mouse IgG conjugated horseradish peroxidase의 경우 Sigma사(secondary IgG; A9044, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 표준항원으로는 대하로부터 Lee 등의 방법(19)에 의해 제조한 tropomyosin을 사용하였다.

### Ci-ELISA의 실험 조건

Lee 등의 방법을 변형하여 실시하였으며(20), coating, blocking시킨 well에 0.01 M PBS(pH 7.3)를 이용해 항원, 항체를 일정한 농도로 희석한 다음 각각 50 μL씩 분주하여 경합 반응시킨 뒤 2차 항체와 OPD(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액으로 반응시켰다. 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 반응을 중지시켜 ELISA reader(model 550, Bio-rad, USA)로 490 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 단계별 반응조건은 37°C에서 2 hr이고 각 단계가 끝날때마다 0.01 M PBST(Phosphate bufferen saline containing 0.05%(v/v) tween 20) 용액으로 5회 수세하였다.

### Ci-ELISA의 표준 곡선

Ci-ELISA방법으로 coating된 well에 0.01 M PBS(pH 7.3)를 사용하여 200 μg/mL에서 0.09 μg/mL까지 희석한 항원과 100 μg/mL에서 0.048 μg/mL까지 희석한 항원을 준비하여 각각의 well에 50 μL씩 분주한 후 titration curve에서 결정된 항체의 희석농도로 50 μL씩 분주하였다. 이하 모든 과정과 조건은 Ci-ELISA의 실험조건과 같으며 표준항원과 항체의 100% 결합을 위해 항체 50 μL와 0.01 M PBS(pH 7.3) 50 μL만을 well에 첨가하였으며 blank로서 0.01 M PBS(pH 7.3) 100 μL를 첨가하였다.

10 μg/μL 농도의 항원과 2 μg/μL 희석농도의 mAb와 환자혈청으로 standard curve를 그렸을 때 mAb, 환자혈청과 반응하는 HSP의 농도는 다음과 같은 식에 의해서 구할 수 있었다.

$$x = e^{\left(\frac{0.4984-y}{0.1338}\right)}$$

$x$ : mAb와 반응하는 HSP의 농도

$y$ : OD value

$$x = e^{\left(\frac{0.502-y}{0.1516}\right)}$$

$x$ : 환자혈청과 반응하는 HSP의 농도  
 $y$ : OD value

이때 mAb와 반응하는 HSP의 최적 검출농도 범위는 0.0487  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 에서 6.25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 이었으며(Fig. 1), 환자혈청과 반응하는 HSP의 최적 검출농도 범위는 0.024  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 에서 6.25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 였고(Fig. 2), 오차 범위는  $p \leq 1$ 이었다.

#### 물리적 처리 방법

**초고압 처리:** 생새우에서 분리한 HSP와 생새우 그 자체를 polyethylene bag에 담아 진공포장한 후 초고압기(MFP-7000, Mitsubishi Heave Industries Co., Japan)의 processing chamber에 넣어 20~30°C에서 100, 200, 300, 400 MPa의

압력으로 각각 10 min간 처리하였다. 이때 감압시간은 5 sec 정도로 소요되었으며 가압시간은 20~80 sec가 소요되었다(Fig. 3).

**가압 가열 처리:** HSP를 시험관에 넣고 가압멸균기(DW-AC 920, D.W. Industries, Korea)로 게이지압 1.4  $\text{kg}/\text{cm}^2$ , 온도 121°C에서 5, 10, 30, 60 min간 가열처리한 후 각각 실온에서 5 min간 식혀 사용하였다. 이때 가열 처리시간을 제외한 총 소요시간은 10 min으로 하였다.

**초음파 처리:** HSP를 시험관에 담아 지름 1인치 tip을 사용한 초음파 분쇄기(VC 100, Sonics&Materials, Japan)로 pulse 20%,  $20 \pm 1$  Watts, pulse on/off 5 sec의 조건하에서 5, 10, 30, 60 min간 초음파 처리하였다. 이 때 초음파로 인한 열 발생을 막기 위하여 시험관 주위에 얼음물을 채워 온도를  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ 이하로 유지하였다.

**Microwave 처리:** 증류수로 채운 beaker에 HSP가 들어 있는 시험관을 담고 중탕으로 1, 5, 10 min간 microwave 처리하였다. 또한 열의 작용을 배제하기 위해 HSP가 들어 있는 시험관을 얼음물을 채운 용기에 넣고 1 min 간격으로 얼음물을 교환하면서 온도를 16~17°C로 유지시켜 1, 5, 10, 20 min간 microwave(KOR-102KS, Daewoo, Korea) 처리하였으며, 이 때 microwave 처리 시 사용한 주파수는 2,450 MHz이었다.

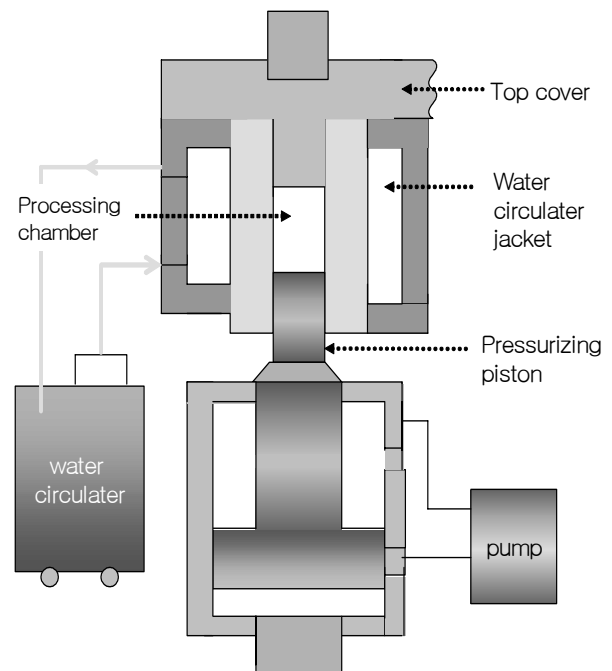
**SDS-PAGE:** 물리적 처리에 의한 HSP 변화를 살펴보기 위하여 Laemmli의 방법(21)을 이용해 전기영동을 실시하였으며 12% polyacrylamide gel(acrylamide:Bis=30:0.8)을 사용하였다. Molecular weight marker는 BioLabs사(USA)의

**Fig. 1. Standard curve of mouse monoclonal IgG to protein (HSP) by Ci-ELISA.**

HSP was used as a coating Ag. Mouse monoclonal IgG was used for capturing HSP. HSP was serially double-diluted from 100 to 0.024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The range of optimal detection was from 0.048 to 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Fig. 2. Standard curve of shrimp-allergic patients' IgE to heat stable protein (HSP) by Ci-ELISA.**

HSP was used as a coating Ag. Shrimp-allergic patients' IgE was used for capturing HSP. HSP was serially double-diluted from 25 to 0.012  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The range of optimal detection was from 0.024 to 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .



**Fig. 3. Schematic diagram of the experimental apparatus for high hydrostatic pressure.**

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), triosephosphate isomerase(26 kDa), lactate dehydrogensae(36 kDa), MBP<sub>2</sub>(42 kDa), glutamin dehydrogensae(55 kDa), serum albumin(66 kDa), phosphorylase b(97 kDa), β-galactosidase(116 kDa), MBP-β-galactosidase(158 kDa), myosin(212 kDa)을 사용하였다.

#### 통계처리

통계처리는 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검정은 분산분석을 한 후  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 초고압 처리에 의한 allergenicity 변화

초고압 처리효과는 4,000~9,000 기압의 고압에서 효소와 미생물이 불활성화 되는 것과 각종 생화학 반응이 촉진 또는 억제되는 것으로서, 생화학 반응의 변화는 주로 부피의 증가에 따른 변화로서 압력에 의해 분자간의 공간이 감소하거나 연쇄반응이 증가함으로써 발생한다(22). 일반적으로 고압은 단백질 분자의 변성을 유발하며, 이는 단백질의 구조, 압력 범위, 온도, pH, 용매의 조성에 따라 달라질 수 있는 복합적인 현상으로 oligomer 단백질은 비교적 저압(200 MPa)에서도 변성되지만 monomer 단백질은 300 MPa 이상에서 변성된다고 하였다(23). 100, 200, 300, 400 MPa로 새우에서 분리한 HSP와 생새우 그 자체에 대하여 압력처리하였을 때 처리 압력이 높아짐에 따라 mAb에 대한 HSP의 결합력은 감소하였으며 분리한 HSP의 allergenicity 변화가 생새우에 압력 처리한 것보다 큰 것으로 나타났고, 특히 400 MPa의 압력처리 시 50% 정도의 낮은 결합력을 보였다(Fig. 4). 또한, 환자 혈청을 사용한 경우에서도 비슷한 경향을 나타내었다(Fig. 4). 식품가공에 있어서 초고압 처리는 고압 하에서 부피가 줄어드는 방향으로 화학반응을 촉진시키며 그 결과 결합이 파괴되면 특히 대 전체의 전하소실, 염 결합과 소수성 결합의 파괴가 일어남으로써 결과적으로 단백질의 형태적 변화 및 구조적 변화를 유발하여 부피가 감소하는 소수성 결합과 이온 결합이 주로 영향을 받게 되어 일어난다고 하였다(24). 한편 mAb와 반응하는 HSP의 항원결정기(epitope)는 대부분이 소수성 아미노산으로 이루어진 peptide로서 초고압 처리에 의해 이 잔기들 간의 결합이 파괴됨으로서 mAb에 의해 인식이 되지못하게 한 것으로 추측된다. SDS-PAGE로 초고압 처리에 의한 새우의 주요 allergen인 HSP의 변화를 살펴본 결과 압력이 증가함에 따라 HSP가 감소하고 그 주위에 변질 현상이 일어난 것으로 보아 단백질의 입체적 구조변화 및 중합되는 것으로 사료된다(Fig. 7-A).

#### Fig. 4. Binding ability to high hydrostatic pressure (HHP).

A: mouse monoclonal IgG to HSP, B: mouse monoclonal IgG to HSP prepared from shrimp, C: shrimp-allergic patients' IgE to HSP prepared from shrimp. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo×100. Bt, binding ability of HSP prepared from shrimp treated HHP; Bo, binding ability of HSP non-treated. <sup>a-c</sup>Means bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

#### 가압 가열 처리에 의한 allergenicity의 변화

일반적으로 식품의 안정성이나 저장성을 증진시키기 위해 가열처리를 하는데 이러한 가열처리는 식품 내 조직의 연화나 단백질의 변성을 초래하는 것으로 알려져 있다. HSP에 게이지압력 1.4 kg/cm<sup>2</sup>, 온도 121°C로 가압 가열처리한 결과 HSP의 allergenicity는 5, 10, 30 min 처리 시 각각 mAb와 80% 이상의 결합력을 보였으며 60 min간 처리 시에는 이보다 약간 낮은 70% 정도의 결합력을 보였다(Fig. 5). SDS-PAGE로 가압 가열처리에 의한 HSP의 변화를 조사해 본 결과 36 kDa의 HSP는 낮은 분자량대로 분해되거나 더

#### Fig. 5. Binding ability of mouse monoclonal IgG to HSP treated sonication and autoclave.

The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo×100. Bt, binding ability of HSP treated autoclave; Bo, binding ability of HSP non-treated. <sup>a-c</sup>Means bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

높은 분자량대로 중합하여 고분자 형태로 남아있는 것으로 나타났다(Fig. 7-B). 새우의 주요 allergen인 tropomyosin은 열에 매우 안정한 물질로 알려져 있으며 삶은 후에도 특이 IgE와 결합할 뿐만 아니라 다른 감각류와 교차 결합하는 것으로 밝혀졌다(25). 본 결과에서도 가압 가열처리에 의한 HSP의 epitope는 열에 매우 안정하여 1시간정도 가압 가열 처리하였음에도 불구하고 쉽게 allergen으로서의 성질을 잃지 않는다는 것을 알 수 있으며 이는 Kim 등의 결과(17)와도 일치한다.

#### 초음파 처리에 의한 allergenicity 변화

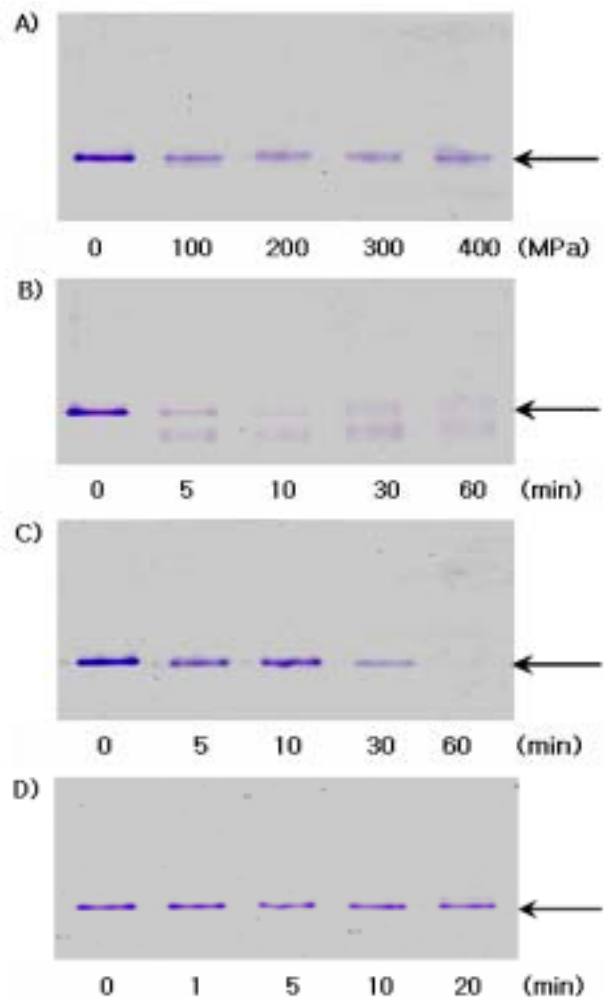
최근 들어 제품의 품질증진을 위해 개발되고 있는 비가열 처리 방식인 초음파는 인간의 가청범위(20 Hz~20 kHz)이상인 1~25 MHz의 주파수 범위를 말하며, 단백질의 분해, 가수분해, 단세포의 용해, 단백질의 미립자화, 멸균, 고온 생축매 반응이 일어날 정도로 충분한 기술로서 보고되고 있다(26). 다른 산업에서는 많이 이용되고 있지만 식품산업에서 초음파 처리는 물질의 추출(27), 저온에서의 미생물 사멸(28) 및 상승작용(29), 식품기구의 세척(30), 가열 닭고기의 품질향상(31)이나 쇠고기의 연도에 미치는 영향(32) 등이 연구된 바가 있다. 새우의 주요 allergen인 HSP에 초음파 처리한 결과 처리시간이 길어짐에 따라 HSP의 allergenicity가 감소하였다. 5, 10, 30 min간 초음파 처리한 경우 mAb와 80% 이상의 높은 결합력을 보였는데 이는 가압 가열처리에 의한 수치와도 유사했다. 반면에 60 min간 초음파 처리 시에는 약 60% 정도의 비교적 낮은 결합력을 보였다(Fig. 5). SDS-PAGE 결과 초음파 처리시간이 증가함에 따라 새우의 주요 allergen인 HSP는 감소하는 것으로 나타났다. 특히 30, 60 min간 초음파 처리 시 HSP가 크게 감소하였으며 60 min간 처리 시에는 HSP가 거의 사라졌다(Fig. 7-C). 본 결과에서는 HSP의 epitope가 초음파 처리에 의해 분해되어 mAb에 의해 인식이 되지 못한 것으로 고분자 용액에 초음파 처리할 경우 큰 크기의 고분자들이 작은 크기의 고분자 용액에 비해 쉽게 절단되며 장시간의 초음파 절단반응에 의해 limiting size에 도달한다는 보고와도 일치한다(33).

#### Microwave 처리에 의한 allergenicity 변화

Microwave 처리를 실시하여 HSP의 allergenicity 변화를 살펴보았다. 먼저 수분증발을 막기 위해서 증탕으로 HSP에 대하여 1, 5, 10 min간 microwave 처리한 결과 HSP는 1, 5 min에서는 allergenicity가 감소하는 것으로 나타났으나 10 min에서는 거의 유지되었다(Fig. 6). 한편 열을 배제한 microwave 처리에서 HSP의 allergenicity 변화를 살펴보았을 때 처리시간이 증가함에 따라 약간 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 6). Microwave 처리에 의한 HSP의 변화를 SDS-PAGE로 조사한 결과에서도 처리시간이 증가함에 따라 HSP가 약간 감소하는 것으로 나타났으나 전체적으로 볼 때 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 7-D). 일반적인 식품의 가열

**Fig. 6. Binding ability of mouse monoclonal IgG to HSP treated microwave indirectly and non-heat.**

The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability =  $B_t/B_o \times 100$ .  $B_t$ , binding ability of HSP treated microwave;  $B_o$ , binding ability of HSP non-treated. <sup>a-c</sup>Means bearing different superscript are significantly different ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 7. Changes of the allergen treated (A) high hydrostatic pressure, (B) autoclave, (C) sonication, and (D) microwave.** Arrow indicates an purified tropomyosin of shrimp.

원리는 유도과 대류의 작용으로 외부의 가열에 의한 것이지 만 microwave는 내부에서 열이 발생하여 가열되는 방식이다. 즉 모든 식품의 분자는 쌍극자로 구성되어 한쪽은 양극, 다른 한쪽은 음극전하를 띠고 있다. 여기에 물체의 분자들이 전계를 받게 되면 양전하는 음극으로, 음전하는 양극으로 평형상태를 이루어서 전계방향의 변화에 따라 진동을 시작하는데 이 분극진동이 분자간의 마찰로 되어 마찰열이 발생하게 된다(34). Microwave는 이런 원리를 이용한 내부가열 방식으로 널리 실용화되고 있으나 본 실험의 경우 microwave에 의한 분자들간의 상호운동은 HSP분자간의 결합 및 분자 내 3차원 구조에 영향을 미치지 않아 allergenicity 변화에 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

## 요 약

Ci-ELISA를 이용하여 여러 가지 물리적 처리(초고압, 가압가열, 초음파 및 microwave 처리)에 의한 새우 allergen 및 allergenicity의 변화를 살펴본 결과는 다음과 같다. 초고압 처리에 의해 새우의 allergenicity는 압력이 400 MPa까지 증가함에 따라 새우 allergen과 mAb, 환자혈청과의 결합력이 감소하였으며, 특히 400 MPa로 압력 처리했을 때 mAb와 새우 allergen과의 결합력이 50% 이하로 감소하였다. 새우 allergy의 allergenicity 변화를 알아보기 위해 5, 10, 30, 60분간 초음파 처리한 결과는 5, 10, 30분간 초음파 처리 시 처리 시간이 길어짐에 따라 새우 allergen과 mAb와의 결합력이 감소하였으며 특히 60분간 처리한 경우에 있어서는 결합력이 60% 이하로 감소하였다. 가압 가열 처리(121°C, 1.4 kg/cm<sup>2</sup>)와 microwave 처리(2,450 MHz)에 의한 새우 allergy의 allergenicity 변화를 살펴본 결과 처리시간이 증가하여도 새우 allergen과 mAb와의 결합력이 크게 감소하지 않았다. 즉 20분간 microwave 처리 시 85% 이상의 높은 결합력을 보였으며 60분간 가압 가열처리에 의해서는 70% 이상의 결합력을 보였다.

## 감사의 글

이 논문은 2003년도 부경대학교학교발전기금재단의 지원에 의하여 연구되었다.

## 문 헌

- Huby RD J, Dearman RJ, Kimber J. 2000. Why are some proteins allergens. *Toxicol Sci* 55: 235-246.
- Sampson HA. 1998. Adverse reactions to foods. In *Allergy: principal and practice*. Mosby, Philadelphia, PA, USA.
- Son DY, Lee BR, Shon DW, Lee KS, Ahn KM, Nam SY, Lee SI. 2000. Allergenicity change of soybean proteins by thermal treatment. *Korean J Food Sci Technol* 32: 959-963.
- Yum HY, Lee KE, Choi SY, Yang HS, Sohn MH, Lee SI, Park HK, Park SH, Lee SH, Lee WY, Kim KE. 2005. Wild rice, hypoallergenic rice, and GMO rice-immunologic comparison. *Pediatr Allergy Respir Dis Korea* 15: 117-125.
- Kay AB, Coombs RRA. 1985. Allergy and allergy disease. *Blackwell Science* 2: 963-968.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1995. Report of the FAO Technical Consultation on Food Allergies. Rome, Italy.
- Taylor SL, Nordlee JA. 1996. Detection of food allergens. *Food Technol* 50: 231-234.
- Jeoung BJ, Reese G, Hauck P, Oliver JB, Daul CB, Lehrner SB. 1997. Quantification of the major brown shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) by a monoclonal antibody-based sandwich ELISA. *J Allergy Clin Immunol* 100: 229-234.
- Lee JW, Park JH, Kim CJ, Shin HK. 1998. Monitoring thermally induced conformational changes in bovine muscle myosin solution by competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Ci-ELISA). *Int J Food Sci Technol* 33: 411-418.
- Leung PSC, Chu KH, Chow WK, Ansari A, Bandea CI, Kwan HS, Nagy SM, Gershwin ME. 1994. Cloning, expression, and primary structure of *Metapenaeus* tropomyosin, the major heat-stable shrimp allergen. *J Allergy Clin Immunol* 94: 882-890.
- Jeong BJ, Park KH, Lee HH, Kim KE, Koe SW, Lee KY. 1997. Identification and characterization of shrimp allergens in Korea. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 17: 278-285.
- Hoffman DR, Day ED, Miller JS. 1981. The major heat stable allergen of shrimp. *Ann Allergy* 47: 17-22.
- Maruyama N, Sugiura F, Kishimoto T, Ichise K, Takeuchi Y, Sawada T, Tsuda A, Utsumi S. 1999. Decrease IgE-binding with wheat gluten by deamination. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 567-569.
- Aselin A, Hebert J, Amiot J. 1989. Effects of in vitro proteolysis on the allergenicity of major whey proteins. *J Food Sci* 55: 1037-1039.
- Kovacs-Nolan J, Zhang JW, Hayakawa S, Mine Y. 2000. Immunolchemical and structural analysis of pepsin-digested egg white ovomucoid. *J Agric Food Chem* 48: 6261-6266.
- Astwood JD, Fuchs RL, Lavrik PB. 1997. Food biotechnology and genetic engineering. In *Food allergy: adverse reactions to food and food additives*. 2nd ed. Blackwell Scientific Pub., Boston. p 65-92.
- Kim JH, Lee JW, Yook HS, Kim JO, Byun MW. 2000. Gamma irradiation for the inhibition of shrimp (*Penaeus aztecus*) allergy. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 437-441.
- Lee JW, Yook HS, Cho KH, Cha BS, Byun MW. 2001. Application of immunoassay for the detection of gamma-irradiated shrimp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 600-604.
- Lee JW, Kim JH, Sung CK, Kang KO, Shin MG, Byun MW. 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: 822-827.
- Lee JW, Park JH, Kim SB, Kim CJ, Hyun CK, Shin HK. 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.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Asaka M, Hayashi R. 1991. Activation of polyphenol oxi-

- dase in pear fruits by high pressure treatment. *Agric Biol Chem* 55: 2439-2440.
23. Hong SI, Park WS. 1999. Effect of high hydrostatic pressure on biological systems. *Food Engineering Progress* 3: 123-133.
  24. Jwa MK, Lim SB, Mok CK, Park YS. 2003. Inactivation of microorganisms and enzymes in foxtail millet Yakju by high hydrostatic pressure treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1221-1226.
  25. Reese G, Tracey D, Daul CB, Lehrer SB. 1996. IgE and monoclonal antibody reactivities to the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) and vertebrate tropomyosins. *Adv Exp Med Biol* 409: 225-230.
  26. Shukla TP. 1992. Microwave ultrasonics in food processing. *Cereal Foods World* 37: 332-333.
  27. Kim SM, Zayas JF. 1991. Effects of ultrasound treatment on the properties of chymosin. *J Food Sci* 56: 926-930.
  28. Sams AR, Feria R. 1991. Microbial effects of ultrasonification of the broiler drumstick skin. *J Food Sci* 56: 247-248.
  29. Sierra G, Boucher RM. 1971. Ultrasonic synergic effects in liquid-phase chemical sterilization. *Appl Microbiol* 22: 160-164.
  30. Amerding GD. 1996. Evaporation methods as applied to the food industry. *Adv Food Res* 15: 303-358.
  31. Park CK, Park SH, Jeon DS, Kim HD, Moon YH, Jung IC. 2001. Effect of ultrasonic treatment on physicochemical properties and palatability of cooked chicken meat. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 126-132.
  32. Lyng JG, Allen P, McKenna BM. 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: 308-314.
  33. Jeong SY, Kim KS, Kim YJ, Park MH, Chung KH. 1992. Ultrasonic degradation of poly (styrene-co-divinylbenzene) macrogel. *Polymer* 16: 138-144.
  34. Kim MA. 1993. Use of microwave range, oven change on dietary type. *Korean J Soc Food Sci* 9: 1-6.

(2006년 6월 30일 접수; 2006년 8월 28일 채택)