

## 감마선 조사에 의한 분유 단백질의 항원성 저감화

신지혜 · 정석근 · 한기성 · 장애라 · 채현석 · 유명모 · 안종남 · 이주운<sup>1</sup> · 조철훈<sup>2</sup> · 이완규<sup>3</sup> · 함준상\*  
농촌진흥청 축산과학원, <sup>1</sup>한국원자력연구원, <sup>2</sup>충남대학교, <sup>3</sup>충북대학교

## Reduction of the Antigenicity of Powdered Milk by Gamma Irradiation

Ji-Hye Shin, Seok-Geun Jeong, Gi-Sung Han, Aera Jang, Hyun-Seok Chae, Young-Mo Yoo,  
Chong-Nam Ahn, Ju-Woon Lee<sup>1</sup>, Cheorun-Jo<sup>2</sup>, Wan-Kyu Lee<sup>3</sup>, and Jun-Sang Ham\*

National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 440-706, Korea

<sup>1</sup>Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

<sup>2</sup>Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>3</sup>Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

### Abstract

The aim of this work was to examine the reduction in antigenicity of milk proteins in powdered milk by gamma irradiation which is increasingly used for food safety. Skim milk powder samples were exposed to irradiation doses of 1, 5, and 10 kGy. A greater reduction of  $\alpha_{S1}$ -casein and  $\beta_{A1}$ -casein was found than  $\alpha_{S0}$ -casein and  $\beta_{A2}$ -casein by capillary electrophoresis. Competitive indirect ELISA and passive cutaneous anaphylaxis tests using guinea pigs showed a reduction in antigenicity of powdered milk by 10 kGy gamma irradiation. These results indicated that gamma irradiation reduce allergenicity of milk proteins by structural changes of  $\alpha_{S1}$ -casein and  $\beta_{A1}$ -casein, and can be useful for dairy products.

**Key words :** Powder milk, gamma irradiation, antigenicity

### 서 론

유아의 성장과 발육을 위하여 조제분유는 모유를 대체하는 수단으로 널리 사용되고 있다. 조제분유는 건조를 포함하는 제조 공정의 특성 상 멸균된 식품이 될 수 없으며, 오염된 조제유로 인한 식중독으로 *Enterobacter sakazakii*와 *Salmonella enterica*가 발생한 예가 보고되고 있다. *S. enterica*는 널리 알려진 식중독균으로서 성인과 유아에 상관없이 질병을 유발시키지만 *E. sakazakii*는 특히 유아에 수막염 및 장염을 일으키는 식중독균으로서 감염된 유아의 20-50%가 사망하고 생존하는 유아는 신경학적 이상 등 심각한 후유증을 일으킨다고 보고되고 있다(Rowe *et al.*, 1987; Van Acker *et al.*, 2001). 이에 대한 대책의 하나로 한국원자력연구원에서는 일반적으로 식품 살균을 위해 조사하는 방사선의 3분의 1정도 에너지인 3 kGy의 감마선을 조사하면 사카자키 균을 없앨 수 있고 안전성도 뛰어나다고 주장하였다(Lee *et al.*, 2006). 또한 방사선 조사는

식품 안전성 향상 목적 외에도 골수 이식 환자를 위한 무균 유제품 디저트(Dong *et al.*, 1992), 식용 및 생물학적 분해가능 포장재(Ciesla *et al.*, 2004) 등 기능성 향상을 위한 기술개발도 수행된바 있으며, Lee 등(2001)과 Cho 등(2001)은 우유의 대표적 단백질인 케이스인, 락토글로블린, 알부민 등 각각의 단백질 용액에 감마선을 조사하여 유단백질의 항원성이 저감됨을 보여 감마선 조사에 의한 알러지 저감 유제품 제조 가능성을 제시하였다. 또한 Ham 등(2005)은 우유에 감마선 조사시 5 kGy 이상에서 항원성 저감이 가능함을 ELISA를 이용한 *in vitro* 시험을 통해 확인하였으며, 제조과정에서 85°C 열처리와 산 첨가에 의해 커드를 형성시키는 신선치즈의 일종인 퀘소블랑코 치즈의 제조시 스타터 유산균을 첨가하지 않기 때문에 발생할 수 있는 유해미생물의 오염 가능성 제거를 위해 3 kGy의 감마선 조사에 의해 안전성 확보가 가능하다고 보고한 바 있다(Ham *et al.*, 2007). 감마선 조사에 의한 우유 단백질의 변화와 관련하여 Ham 등(2008)은 모세관 전기영동을 이용하여 UHT 처리 우유는 저온살균이나 감마선 조사 우유와는 달리 단백질이 융합되어 나타났으며 이에 따라 렌넷첨가에 의한 응고현상이 나타나지 않았다고 보고하였

\*Corresponding author : Jun-Sang Ham, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea. Tel: 82-31-290-1692, Fax: 82-31-290-1697, E-mail: hamjs@rda.go.kr

다. 유단백질은 열처리 과정에서 산화적으로 변형되어 변형/산화(modified/oxidized) 아미노산 잔기를 형성할 수 있으며, 이로 인해 단백질 분해에 대한 민감성이 크게 감소되어 소화에 저항하는 식품 알러젠 구성요소가 될 수 있다(Fenaille *et al.*, 2005).

이와 같이 감마선 조사는 식품의 안전성 향상 및 항원성 저감을 위해 산업적으로 이용 가능성이 높은 기술이나 감마선 조사에 의한 단백질의 변성 및 *in vivo* 알러지 저감 효과에 대해서는 연구가 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 감마선 조사가 분유 단백질에 미치는 영향과 *in vitro* 항원성 저감을 규명하고 수동피부아나필락시스(PCA, Passive Cutaneous Anaphylaxis) 반응을 이용한 *in vivo* 알러지 저감효과를 확인하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 분유시료 및 감마선 조사

서울우유에서 생산하는 탈지분유를 시중에서 구입하였으며, 감마선 조사는 한국원자력연구소 방사선연구원(Jeongeup, Korea) 내 감마선 조사시설을 이용하여 실온(14±1°C)에서 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 1, 5, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter(지름 5 mm, Bruker Instruments, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다.

### 일반성분분석

치즈의 일반성분 조성은 AOAC 방법(1995)에 준하여 측정하였다.

### 아미노산 조성

분유시료 1 g을 취하여 6 N HCL 40 mL을 가하고 110°C에서 24시간 가수분해하였다. HCl을 제거하기 위해 rotary evaporator(Eyela, Japan)로 농축 후 잔류물을 증류수로 3회 세척한 후 농축하고 여과지로(Toyo, No. 5B) 여과하였다. 여과액을 증류수로 50 mL로 만든 후 아미노산 분석기(HITACHI L-8500A, Japan)로 분석하였다. Cysteine과 methionine은 HCl 첨가전에 안정액(85% formic acid 45 mL + 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mL) 20 mL을 가하여 cysteic acid와 methionine sulfone으로 변환시켰다.

### 모세관전기영동

모세관전기영동(Capillary electrophoresis)는 Revilla 등(2005)과 de Jong 등(1993)의 방법에 따라 DAD detector가 장착된 P/ACE™ system(Beckman Instruments, USA)을 이용하여 수행하였다. Reduction buffer는 73 mg의 triso-

dium citrate dehydrate(Merck, Germany)와 38 mg의 DL-dithiothreitol(DTT) (Sigma, USA)을 8M urea 37.5 mL에 녹여 제조하였다. 분유시료(0.5 g)를 2.5 mL reduction buffer에 용해하고 상온에서 1시간 배양하여 상정액을 CE 분석에 사용하였다. Fused-silica capillary column(eCap™, Beckman)(60 cm × 50 μm i.d.; 50 cm to the detector window)으로 분리하였으며, running buffer(50 mM)는 14.7 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 847 μL를 6M urea(0.05% HPMC) 250 mL에 혼합하여 제조하였다. 시료용액은 0.5 psi로 5초간 주입하였다. 분리는 25 kV, 20°C에서 수행하였으며 214 nm로 검출하였다. 각 시료 주입 전에 capillary는 0.1 M NaOH로 5분간, deionized distilled water로 5분간, 그리고 1 M HCl로 5분간 세척하고 running buffer로 평형하였다.

### Competitive Indirect ELISA

Kim 등(2003)의 방법으로 실시하였다. 50°C의 탈지유를 멸균한 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2) 1 mL에 용해하고 동량의 Freund's complete adjuvant(Sigma, U.S.A)와 혼합하여 W/O emulsion을 만들어 1.5 mL을 토끼(New Zealand White 종)의 등부위 10군데 피내주사하였다. 최초 면역 후 2주 및 6주째에 추가면역(boosting)을 실시하였다. 이때 항원의 주입량은 일차면역과 같았으나 Freund's incomplete adjuvant(Sigma, USA)를 사용하였다. 마지막 면역 10일 후 혈액을 채취하여 4°C에서 24시간 정치시킨 후 항혈청을 분리하였다. 항원으로 사용한 탈지유를 0.1 M sodium bicarbonate buffer(pH 9.5)에 0.5%의 농도로 용해하여 microplate의 각 well당 200 μL씩 분주하여 4°C에서 24시간 이상 coating한 후 well당 200 μL의 0.05% tween-20을 함유하는 PBS(PBS-tween)로 3회 세척하였다. 상기의 항혈청을 PBS-tween으로 1/7,000로 희석하고 PBS-tween에 용해한 각 농도의 분유시료를 동량 혼합하여 well당 100 μL씩 첨가하고, 37°C에서 한 시간 배양한 다음 tween-20으로 앞에서와 같이 세척하였다. Anti-rabbit IgG-alkaline phosphatase conjugate(Sigma A8025)를 Tween-20에 1/1,000로 희석하여 well당 100 μL씩 주입하고 37°C에서 1시간 반응시켰다. 1 M diethanolamine buffer(pH 9.8)에 0.1% 농도로 용해시킨 p-nitrophenylphosphate 용액을 well당 100 μL씩 주입하고 37°C에서 30분간 배양한 후, 5 N NaOH를 well당 20 μL씩 첨가하여 효소 반응을 중지시키고 ELISA reader로 흡광도(405 nm)를 측정하였다.

### Passive Cutaneous Anaphylaxis(PCA) test

수동피부아나필락시스 반응은 Kim 등(2003)의 방법에 의한 heterologous PCA test로 실시하였다. 즉 건강한 guinea pig(Hartley 계통, 250-300 g)를 실험동물로 하여 등의 털을 제거하고, 미리 PBS(pH 7.6)으로 1/5, 1/10,

1/20, 1/40, 1/80, 1/120으로 희석하여 둔 토끼 anti-casein 항혈청을 각각 100  $\mu$ L씩 guinea pig의 등부위에 여러군데 나누어 피내주사하여 4시간동안 감각하였다. 다음으로 PBS에 용해한 항원용액을 1% Evans blue 용액과 동량 혼합하고 마리당 2.5 mg씩의 항원을 뒷다리의 복재정맥(Saphenous vein)에 0.5 mL 주사하였다. 30분 후에 guinea pig를 처사하고 피내주사한 부위의 피부를 절개하여 피부의 안쪽에 나타난 청색반점을 사진으로 촬영하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반조성

실험에 사용된 상업용 분유의 일반조성은 Table 1에서 보는 바와 같이 단백질 34.8%, 지방 0.3%, 탄수화물 58.5%, 그리고 회분 함량은 6.4%였다. 감마선 조사에 의해 성분상의 차이는 관찰되지 않았다.

### 아미노산조성

분유의 아미노산 조성을 Table 2에 표시하였다. Ham 등(2005)이 보고한 원유의 아미노산 조성과의 유사하였으나, 분유제조공정에서 원유는 상당한 열처리를 받으므로 Table 2에 나타난 성적은 열처리 후의 방사선 조사 처리 효과를 나타낸다고 할 수 있다. 분유의 감마선 조사에 의한 아미노산 조성 변화는 다소 무작위적이었으며 일정한 경향을 발견할 수 없었다.

Table 1. General composition of the skim milk powder (%)

Treatment	Protein	Fat	Ash	
Control	34.8±0.25 <sup>a</sup>	0.3±0.06	6.4±0.10	
Irradiation	1 kGy	34.6±0.01	0.2±0.07	6.3±0.21
	2 kGy	34.7±0.07	0.4±0.03	6.7±0.25
	3 kGy	34.6±0.04	0.4±0.09	6.8±0.31
	5 kGy	34.7±0.46	0.4±0.10	6.9±0.42
	10 kGy	34.7±0.12	0.3±0.12	6.8±0.75

a : mean±S.D.

Table 2. Amino acid composition of the powder milk protein

(g/100g protein)

Treatment	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	HIS	ILE	LEU	
Control	3.17	3.31	7.58	1.05	21.53	1.86	2.46	4.33	9.99	
Irradiation	1 kGy	3.18	3.32	7.58	0.96	21.80	1.85	2.46	4.34	10.01
	5 kGy	3.21	3.28	7.68	0.95	21.55	1.83	2.42	4.32	9.93
	10 kGy	3.19	3.27	7.56	0.96	21.65	1.83	2.43	4.37	9.96
Treatment	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	TYR	VAL		
Control	7.73	2.15	4.69	10.14	5.67	4.38	4.46	5.51		
Irradiation	1 kGy	7.74	1.96	4.70	10.13	5.61	4.37	4.46	5.50	
	5 kGy	7.85	1.93	4.63	10.73	5.63	4.36	4.43	5.37	
	10 kGy	7.79	1.98	4.62	10.61	5.62	4.36	4.38	5.41	

### 모세관전기영동

분유단백질의 모세관전기영동 결과는 Fig. 1과 같다. Fig. 1a는 원유의 모세관전기영동 결과를 표시하였다. 우유와 달리 탈지분유 대조구(Fig. 1b)에서 케이션 및 유청단백질이 모두 융합되어 나타났는데, 이는 UHT 처리(135°C, 4초간) 우유(Ham *et al.*, 2008)에서와 유사한 형태지만 정도는 심하였다. 이는 분유 제조시에 UHT(135°C, 4초간)보다 심한 열처리를 받게 됨을 보여준다고 생각된다. 분유의 제조시 원료유는 74.4°C에서 25초 또는 105-125°C에서 5초 이상 살균처리되며, 135-204°C의 열풍에 의한 건조 과정을 거치게 되므로(Choi *et al.*, 2005) 분유의 제조시 UHT 처리보다 열처리 정도가 심한 것으로 생각된다. 감마선 조사 도스가 증가함에 따라 케이션 피크가 전체적으로 작게 나타났으며,  $\alpha_{S1}$ -케이션 피크와  $\beta_{A1}$ -케이션 피크가  $\alpha_{S0}$ -케이션 피크와  $\beta_{A2}$ -케이션 피크에 비해 상대적으로 더 많이 감소되었다.  $\alpha_{S1}$ -케이션은 우유의 주요 알러젠이며 유아식이나 다른 가공식품에서 항원성 저감을 위해 가수분해물이 널리 사용된다(Elsayed *et al.*, 2004). 감마선 조사에 의한 단백질 분해, 특히  $\alpha_{S1}$ -케이션과  $\beta_{A1}$ -케이션 분해에 의해 우유단백질의 항원성이 저감될 것으로 기대된다.

### 항원성

ELISA로 측정된 각 시료의 농도에 따른 흡광도를 Fig. 2에 나타내었다. 10 kGy 조사 처리구에서 대조구에 비해 흡광도가 증가하여 항원성이 낮아진 결과를 나타내었다. 기질의 발색 감소는 항원이 많이 존재함을 의미하며, 10 kGy의 감마선 조사처리에 의해 항원이 감소됨을 나타낸다. Lee 등(2001)은 감마선 조사에 의해 우유 항원의 epitopes가 구조적으로 변화된다고 주장하였으며, 감마선 조사에 의한 식품 항원의 구조적 변화에 의해 human IgE-binding epitopes를 파괴하여 항원성이 감소된다는 연구결과가 많이 보고되고 있다(Byun *et al.*, 2000; Filali-Mouhim *et al.*, 1997; Horowitz *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 2000).

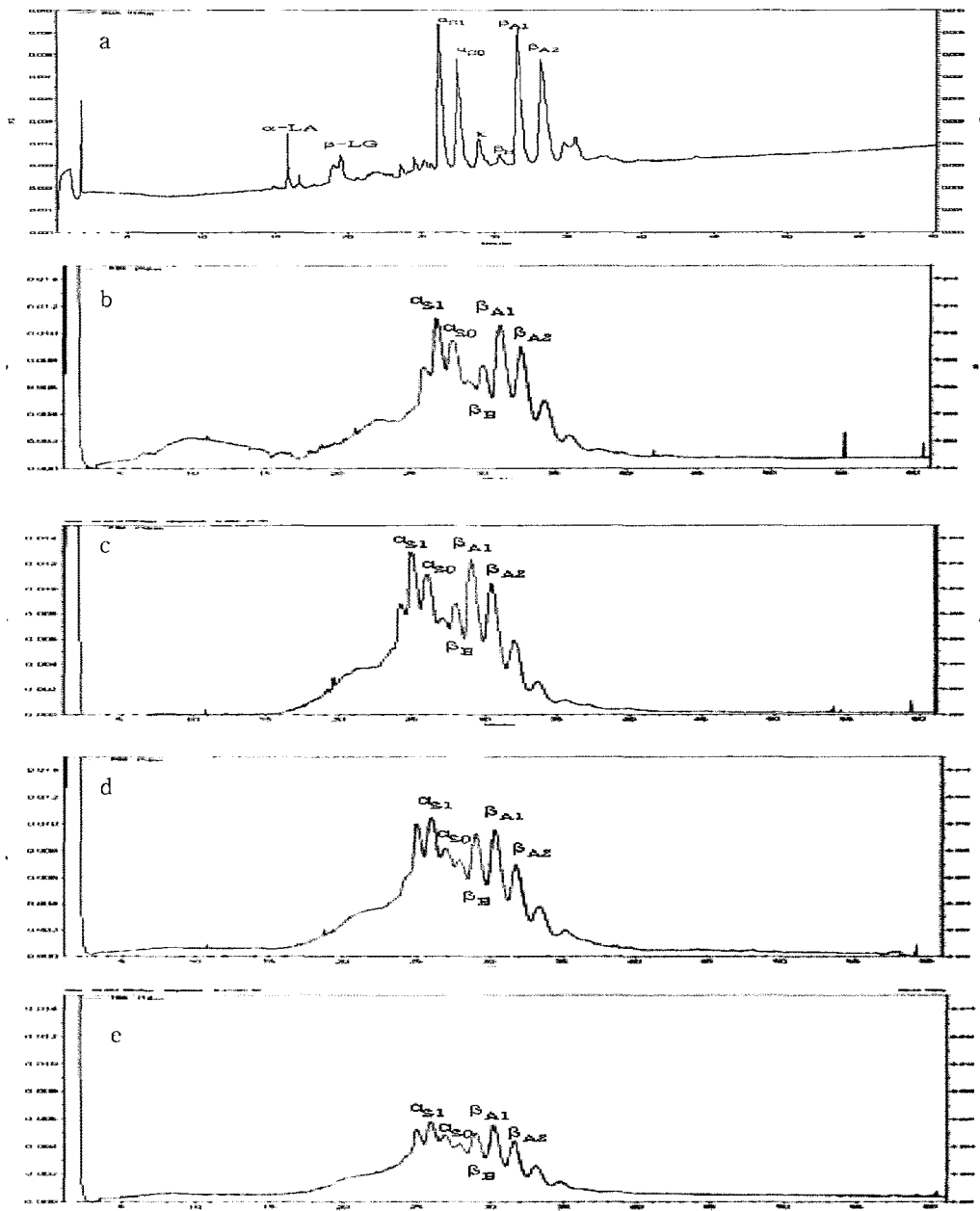


Fig. 1. Capillary electrophoresis patterns of irradiation-treated milk protein. a, Raw milk; b, Skim milk powder control; c, Skim milk powder-1 kGy irradiated; d, Skim milk powder-5 kGy irradiated; e, Skim milk powder-10 kGy irradiated.

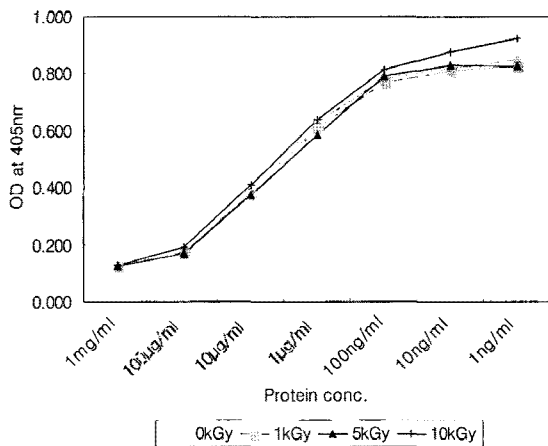


Fig. 2. Binding of rabbit antiserum to milk proteins in irradiated powder milk.

Passive Cutaneous Anaphylaxis(PCA) test

감마선 조사 도스에 따른 항원성 정도를 guinea pig을 이용한 PCA 시험결과를 Fig. 3에 나타내었다. 이 실험은 rabbit anti-casein antiserum을 guinea pig의 등부위에 주사하여 국소적으로 면역되었을때 혈류를 통해 해당항원과 색소를 혼합주사하면 알러지가 있는 경우에 anaphylaxis 반응이 국소적으로 일어나면 그 부위에 청색반점이 생긴다. 대조구로서 일반 탈지분유의 경우 항혈청의 희석배율에 따라 점점 흐려지나 청색 반점이 관찰되었다. 감마선 조사처리 도스에 따라 청색반점이 흐려졌으며, 10 kGy에서는 청색반점이 관찰되지 않았다. 따라서 감마선 조사에 의해 항원성이 저감됨을 알 수 있다.

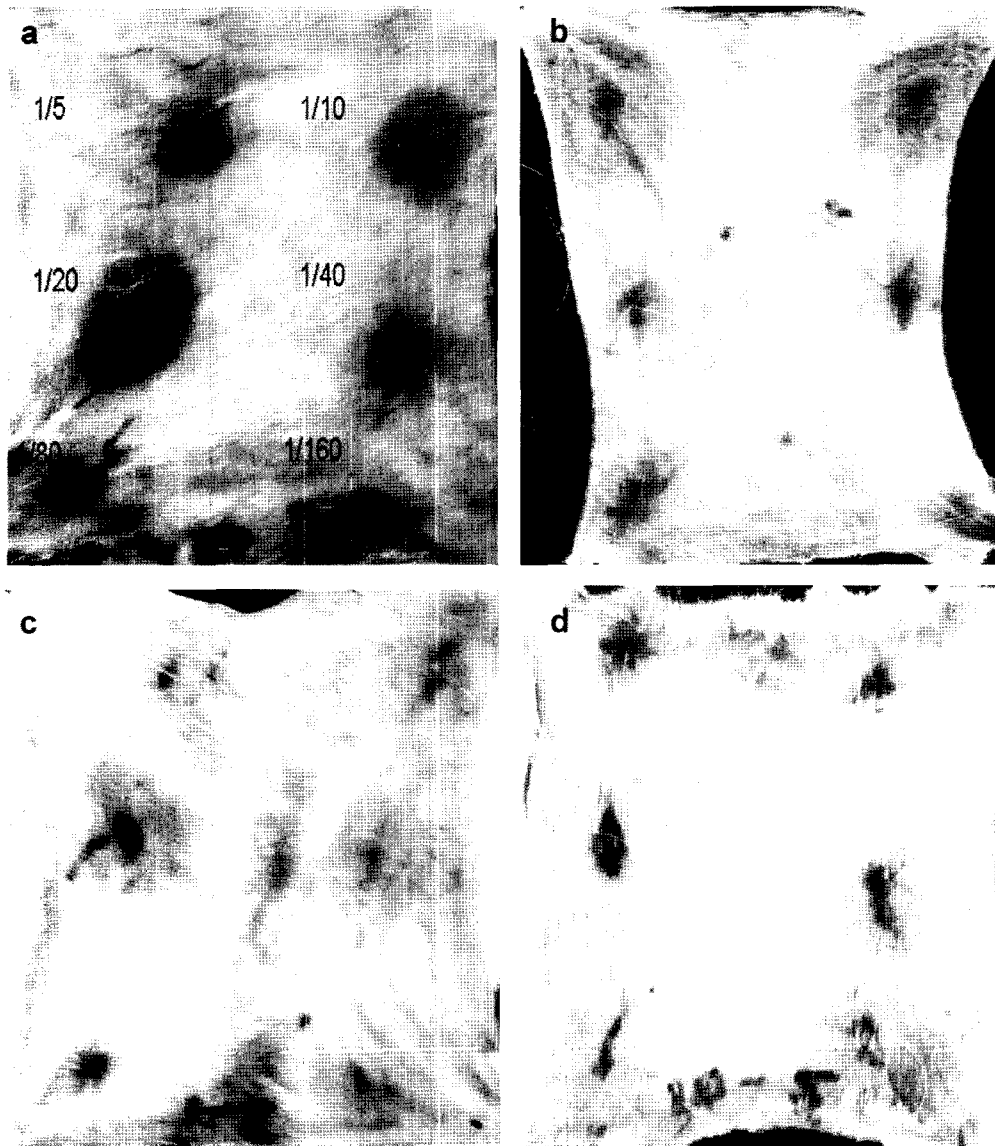


Fig. 3. Typical profiles of PCA test of irradiated milk powder with rabbit anti-casein antiserum (a : Control, b : 1 kGy, c : 5 kGy, d : 10 kGy). 100  $\mu$ L of antiserum was injected into guinea pig intracutaneously. Four hours later 0.5 mL of 0.5% Evans blue containing of 2.5 mg of milk powder was injected into heart. The animal was sacrificed 30 min. later.

## 요 약

본 연구는 안전성 확보차원에서 식품분야에 활용성이 증가하고 있는 감마선 조사처리가 유제품의 항원성 저감에도 효과가 있음을 보이기 위해 수행되었다. 모세관전기영동 결과  $\alpha_{S1}$ -케이신과  $\beta_{A1}$ -케이신이  $\alpha_{S0}$ -케이신과  $\beta_{A2}$ -케이신보다 상대적으로 많이 분해되었음을 확인하였다. cELISA를 이용한 *in vitro* 시험 결과와 기니픽을 이용한 수동피부아나필렉시스(Passive cutaneous anaphylaxis) 반응을 통해 10 kGy의 감마선 조사에서 뚜렷한 항원성 저감을 확인하였다. 이상의 결과는 감마선 조사가 우유 단백질의 항원, 특히  $\alpha_{S1}$ -케이신과  $\beta_{A1}$ -케이신의 구조를 변화시켜 항원성을 감소시키는 것으로 판단되며, 따라서 감마선 조사는 알레르기 유발 식품의 항원성 감소에 유용한 기술로 생각된다.

## 참고문헌

1. AOAC (1995) Official Methods of Analysis, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
2. Byun, M. W., Kim, J. H., Lee, J. W., Park, J. W., Jong, C. S., and Kang, I. J. (2000) Effects of gamma irradiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. *J. Food Prot.* **63**, 940-944.
3. Cho, K. H., Yook, H. S., Lee, J. W., Lee, S. Y., and Byun, M. W. (2001) Changes of binding ability of milk-hypersensitive patients' IgE to gamma-irradiated milk proteins. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* **30**, 505-509.
4. Choi, S. H., Lee, S. B., and Choi, J. W. (2005) Microbiological safety of infant formula and baby food. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **23**, 65-71.
5. Ciesla, K., Salmieri, S., Lacroix, M., and Le Tien, C. (2004)

- Gamma irradiation influence on physical properties of milk proteins. *Radiat. Phys. Chem.* **71**, 93-97.
6. De Jong, N., Visser, S., and Olieman, C. (1993) Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *J. Chromatography A*. **652**, 207-213.
  7. Dong, F. M., Hashisaka, A. E., Rasco, B. A., Einstein, M. A., Mar, D. R. and Aker, S. N. (1992) Irradiated or aseptically prepared frozen dairy desserts: acceptability to bone marrow transplant recipients. *J. Am. Diet Assoc.* **92**, 719-723.
  8. Elsayed, S., Hill, D. J., and Do, T. V. (2004) Evaluation of the allergenicity and antigenicity of bovine-milk  $\alpha_{s1}$ -casein using extensively purified synthetic peptides. *Scand. J. Immunol.* **60**, 486-493.
  9. Filali-Mouhim, A., Audette, M., St-Louis, M., Thauvette, L., Denoroy, L., Penin, F., Chen, X., Rouleau, N., Le Caer, J. P., Rossier, J., Potier, M., and Le Maire, M. (1997) Lysozyme fragmentation induced by gamma-radiolysis. *Int. J. Radiat. Biol.* **72**, 63-70.
  10. Fenaille, F., Parisod, V., Tabet, J. C., and Guy, P. A. (2005) Carbonylation of milk powder proteins as a consequence of processing conditions. *Proteomics* **5**, 3097-3104.
  11. Ham, J. S., Noh, Y. B., Kim, S. I., Kim, H. S., Jeong, S. G., Chae, H. S., Ahn, J. N., Jo, C., and Lee, Y. K. (2005) Changes of chemical, bacteriological, and allergenicity of raw milk by gamma irradiation. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **23**, 93-98.
  12. Ham, J. S., Jeong, S. G., Noh, Y. B., Shin, J. H., Han, G. S., Chae, H. S., Yoo, Y. M., Ahn, J. N., Lee, J. W., Jo, C., and Lee, Y. K. (2007) Effects of gamma irradiation on Queso Blanco cheese. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **25**, 15-20.
  13. Ham, J. S., Shin, J. H., Noh, Y. B., Jeong, S. G., Han, G. S., Chae, H. S., Yoo, Y. M., Ahn, J. N., Lee, Y. K., and Jo, C. (2008) Chemical and microbiological quality, capillary electrophoresis pattern, and rennet coagulation of UHT-treated and irradiated milk. *Food Sci. Biotechnol.* **17**, 58-65.
  14. Horowitz, R., Kempner, E. S., Bisher, M. E., and Podolsky, R. J. (1986) A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. *Nature* **323**, 160-164.
  15. Kim, D. W., Choe, H. S., Ahn, C. N., Jeong, S. G., Ham, J. S., and In, Y. M. (2003) Reduction of antigenicity of bovine casein by microbial enzymes. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **21**, 97-104.
  16. Lee, J. W., Yook, H. S., Lee, K. H., Kim, J. H., and Byun, M. W. (2000) Conformational changes of myosin by gamma irradiation. *Radiat. Phys. Chem.* **58**, 271-277.
  17. Lee, J. W., Kim, J. H., Yook, H. S., Kang, K. O., Lee, S. Y., Hwang, H. J., and Byun, M. W. (2001) Effects of gamma radiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. *J. Food Prot.* **64**, 272-276.
  18. Lee, J. W., Oh, S. H., Kim, J. H., Yook, H. S., and Byun, M. W. (2006) Gamma radiation sensitivity of *Enterobacter sakazakii* in dehydrated powdered infant formula. *J. Food Prot.* **69**, 1434-1437.
  19. Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M., and Rodriguez-Nogales, J. M. (2005) Evaluation of the effect of somatic cell counts on casein proteolysis in ovine milk cheese by means of capillary electrophoresis. *J. Capill. Electrophor. Microchip Technol.* **9**, 45-52.
  20. Rowe, B., Begg, N. T., Hutchinson, D. N., Dawkin, H. C., Gilbert, R. J., Jacob, M., Hales, B. H., Rae, F. A., and Jepson, M. (1987) *Salmonella ealing* infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet* **2**, 900-903.
  21. Van Acker, J., de Smet, F., Muyldeans, G., Anne Naessens, A., and Lauwers, S. (2001) Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 293-297.

(2008. 6. 16 접수/2008. 7. 11 수정1/2008. 8. 7 수정2/  
2008. 8. 8 채택)