

## 가압가열 및 Microwave 처리에 의한 중력분 Gliadin의 항원성 변화

곽지희<sup>1</sup> · 김꽃봉우리<sup>1</sup> · 이청조<sup>1</sup> · 김민지<sup>1</sup> · 김동현<sup>1</sup> · 선우찬<sup>1</sup> · 정슬아<sup>1</sup>  
강주연<sup>1</sup> · 김현지<sup>1</sup> · 최정수<sup>2</sup> · 김성원<sup>3</sup> · 안동현<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>부경대학교 식품공학과/식품연구소

<sup>2</sup>경남정보대학 제과제빵조리전공

<sup>3</sup>부산 성모병원 소아청소년과

### Changes in Antigenicity of Gliadin from Medium Flour by Autoclave and Microwave Treatments

Ji-Hee Kwak<sup>1</sup>, Koth-Bong-Woo-Ri Kim<sup>1</sup>, Chung-Jo Lee<sup>1</sup>, Min-Ji Kim<sup>1</sup>, Dong-Hyun Kim<sup>1</sup>,  
Chan Sunwoo<sup>1</sup>, Seul-A Jung<sup>1</sup>, Ju-Youn Kang<sup>1</sup>, Hyun-Jee Kim<sup>1</sup>, Jung-Su Choi<sup>2</sup>,  
Seong-Won Kim<sup>3</sup>, and Dong-Hyun Ahn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>2</sup>Subdivision of Food Science, Kyungnam College of Information and Technology, Busan 617-701, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Pediatrics, Busan ST. Mary's Medical Center, Busan 608-838, Korea

#### Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of physical treatments on the antigenicity of gliadin in medium wheat flour. The wheat flour was treated with an autoclave (5, 10, 30, 50 min), a microwave (1, 5, 10 min), and both (10, 30, 50 min/ 5, 10 min), and investigated by SDS-PAGE, immunoblotting and Ci-ELISA using anti-gliadin IgG. The results showed that the binding ability of anti-gliadin IgG to gliadin in wheat flour was slightly decreased when autoclaved or when autoclaved and microwaved. Especially, it was reduced to about 69% after autoclaving for 50 min and 73% after autoclaving for 50 min and microwaving for 5 min. In addition, gliadin bands in the 50 min autoclaved group disappeared in both SDS-PAGE and immunoblotting. On the other hand, the antigenicity of gliadin was unaffected by microwaving alone. Consequently, there were no considerable changes in using an autoclave alone or in combination with a microwave. These results suggest that autoclaving may affect the reduction of the antigenicity of gliadin in medium wheat flour.

**Key words:** wheat allergy, gliadin, autoclave, microwave

#### 서 론

식품 알레르기는 식품 섭취 후에 비이상적으로 발생하는 면역학적 기전에 매개되는 과민반응을 일컫는다(1). 그 증상으로는 구토, 설사, 두드러기, 아토피피부염 이외에도 심한 경우 전신증상으로 아나필락시스의 증상이 나타나기도 하며, 환자의 수도 지속적인 증가를 보이며 중증도 심해지고 있는 추세이다. 이러한 식품 알레르기의 원인 물질이 되는 항원은 일반적으로 10~70 kDa의 당단백질로 다른 식품 단백질에 비해 비교적 열에 안정하고 소화효소의 영향을 덜 받는다(2). 알레르기를 일으키는 주요 식품으로는 우유, 계란, 밀, 갑각류, 생선, 콩, 견과류 등이 있으며(3), 2002년 보고된 한 연구에 따르면 국내에서는 계란, 우유, 대두, 메밀, 밀이 주요 알레르기 원인식품인 것으로 밝혀졌다(4).

한편 최근 급속한 경제성장과 국민 소득의 향상으로 서양

식생활이 보급되어 밀은 쌀에 이어 우리나라에서 제2의 주식으로 자리 잡게 되었다. 이에 최근 국민 1인 1일당 밀가루 공급량 또한 증가하고 있으며(5), 식생활의 간편화로 인해 빵, 면 등 다양한 밀 가공식품 소비량 또한 증가하고 있는 추세이다. 이로 인해 밀 알레르기 발생 빈도가 증가하고 있으며, 식품위생법의 표시기준에 따라 국내 주요 알레르기 유발식품으로 지정되어 있어(6) 그 심각성이 점차 높아지고 있다. 밀 알레르기는 기도를 경유한 항원자극으로 인해 유럽 지역에서 밀가루를 취급하는 작업자들에게서 자주 일어나는 baker's asthma라고 불리는 천식증상이나 비염을 일으키는데, α-amylase inhibitor가 주요 항원으로 동정되어있다(7). 또한 밀가루 및 밀 가공식품을 섭취 시에는 밀의 주요 단백질인 gluten도 알레르기 증상을 일으킴이 증명되었다. 특히 glutenin과 함께 밀 단백질의 주성분인 gluten을 구성하는 gliadin은 주로 소장의 용모를 손상시켜서 흡수 장애를

\*Corresponding author. E-mail: dhahn@pknu.ac.kr  
Phone: 82-51-629-5831, Fax: 82-51-629-5824

일으켜 신진대사의 결함 및 만성 장 질환을 가져오므로 주요 밀 알레르기 원인단백질로 잘 알려져 있다(7,8). 알코올에 녹는 gliadin은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 및  $\omega$ -gliadin으로 나뉘며, 각각의 밀 알레르기 환자의 IgE와 반응하는 주요 epitope가 밝혀져 있다(9).

지금까지 알려진 알레르기 억제 방법은 원인식품의 제거 식이, 항히스타민제, 스테로이드제 등의 약물 치료 및 알레르기 면역요법 등이 알려져 있다(10). 하지만 알레르기를 일으키는 식품들은 대부분 단백질 공급원이며, 쌀, 밀 등은 주식으로 주로 섭취하고 있기 때문에 이를 기피할 시 영양학적으로 문제가 되며, 약물치료는 지속적인 치료가 불가능하다는 점에서 문제가 되고 있다. 따라서 근본적인 해결책이 필요하며, 이에 최근 감마선 조사, 가압가열, microwave 및 초고압 처리와 같은 물리적 방법과 효소처리와 같은 화학적 방법 등을 이용한 식품알레르기 억제 연구가 시도되고 있는 실정이다. 현재 국내에서는 계란(11), 우유(12), 대두(13), 돼지고기(14), 새우(15) 및 우육(16) 등에 대해 다양한 물리, 화학적 처리를 통한 항원성 감소에 관한 연구가 보고되어 있다. 더불어 최근에는 두 가지 이상의 물리적 방법을 병행 처리(17,18)하거나 물리적, 화학적 방법을 병행 처리(16,19)하여 항원성 변화에 대해 살펴본 연구도 보고되고 있다.

그러나 밀의 알레르기 저감화에 관한 연구로는 국외의 경우 주로 효소적 처리 방법을 이용하였으며(20,21), 특히 물리적 처리로는 gliadin에 대해 감마선과 microwave 처리를 하여 항원성을 감소시키기 위한 시도를 하였지만 큰 효과를 얻지 못한 것으로 보고되었다(22,23). 이에 반해 국내에서는 효소분해에 의한 밀가루의 항원성 변화 및 저알레르기 빵의 개발(24,25)에 대한 보고가 되어 있을 뿐 물리적 처리를 이용한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 밀가루에 가압가열, microwave를 단독 또는 병행으로 처리하여 밀의 주요 항원으로 작용하는 gliadin의 단백질 패턴 및 항원성 변화에 대해 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용된 중력분은 중력1등 밀가루로 (주)동아원에서 제공받은 것을 사용하였다.

### 표준 항원 및 항체

표준 항원인 gliadin(gliadin from wheat, G3375)과 항체로 사용된 anti-gliadin IgG(G9144) 및 anti-rabbit IgG peroxidase antibody conjugate(A0545)는 Sigma사(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

### 가압가열 처리

밀가루를 각각 시험관에 10 g씩 취한 뒤, 밀가루가 들어있는 시험관을 가압멸균기(DW-AC920, D.W. Industries,

Seoul, Korea)에 넣고 온도 121°C, 게이지압 1.2 kg/cm<sup>2</sup>에서 5, 10, 30 및 50분 동안 가압가열 처리하였다. 각 처리시간 후 압을 빼는데 소요되는 시간은 약 10분이었고, 처리 후 냉각시킨 뒤 gliadin을 추출하여 실험에 사용하였다.

### Microwave 처리

중류수로 가득 채운 250 mL beaker에 10 g의 밀가루가 들어있는 시험관을 넣은 후 중탕하며 1, 5 및 10분간 microwave(MW-272LB, LG, Seoul, Korea) 처리하였다. 1, 5 및 10분 처리 후 온도는 각각 약 37, 90 및 100±1°C이었으며, 이때 사용한 주파수는 2,450 MHz이었다.

### Gliadin 단백질 추출

Leszczynska 등(22)의 방법에 따라 정제된 gliadin 및 가압가열, microwave 처리한 밀가루와 밀반죽에 40% 에탄올을 1:1의 비율로 가하여 10분간 shaking하였다. 그 후 원심분리기(Micro 17TR, Hanil Co., Incheon, Korea)를 이용하여 2,500×g에서 10분간 원심분리하고 얻어진 상층액을 실험에 사용하였다. 단백질 농도는 BCA protein assay kit(Pierce, Rockford, IL, USA)로 측정된 뒤, 일정 농도로 희석하여 Ci-ELISA, SDS-PAGE 및 immunoblotting에 사용하였다.

### SDS-PAGE

밀가루 gliadin의 변화를 알아보기 위해 Laemmli(26)의 방법을 사용하여 SDS-PAGE(17% separating gel, 4.5% stacking gel)를 실시하였다. 1 mg/mL 농도로 희석한 시료와 sample buffer(16 mM tris-HCl; pH 8.0, 6.2 mM EDTA, 31% glycerol, 3.1% SDS) 및 2-mercaptoethanol을 혼합한 후 2분 동안 가열하였다. 그 후 BPB 용액(0.1% bromophenol blue, 50% glycerol)을 가한 후 냉동보관하며 실험에 사용하였다. 각 lane에 12 µL씩 loading 한 후, gel은 CBB 용액(50% methanol, 10% acetic acid, 0.1% coomassie brilliant blue R-250)으로 1시간 동안 염색하고, 탈색액(5% methanol, 7% acetic acid)을 이용하여 탈색하였다. 표준분자량 marker로는 protein marker(New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)를 사용하였다.

### Immunoblotting

Towbin 등(27)의 방법을 변형하여 SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane(Bio-rad, Hercules, CA, USA)에 전사시킨 후 각 strip을 0.2 M tris buffered saline(pH 7.5)으로 녹인 3% gelatin을 이용하여 1시간 동안 blocking 시켰다. 1차 항체로 anti-gliadin IgG를 1% gelatin을 사용하여 64 µg/mL 농도로 희석하여 3시간 30분간 반응시킨 후 TBST(tris buffered saline; pH 7.5) 용액으로 3회 세척하였다. 2차 항체로 anti-rabbit IgG를 TBST로 1:1,000의 비율로 희석시켜 1시간 반응시킨 후 TBST로 3회 세척한 뒤, DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma Chemical Co.) 용액을 기질로 사

용하여 발색시켰다. 모든 과정의 실험은 실온에서 진행되었다.

Competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay(Ci-ELISA)

Ci-ELISA는 Lee 등(28)의 방법을 변형하여 costar 96-well flat bottom plate(469957; Nunc, Kamstrupvej, Denmark)에 0.2 M bicarbonate coating buffer(pH 9.6)를 이용하여 200 µg/mL로 희석한 후 100 µL씩 분주하여 4°C에서 하룻밤 동안 coating 시켰다. 1% gelatin으로 blocking하여 비특이적인 반응을 막고 0.01 M PBS(phosphate buffered saline; pH 7.3)를 이용하여 항원, 항체를 일정 농도로 희석한 다음 각각 50 µL씩 반응시켰다. 그 후 0.01 M PBS로 희석한 2차 항체를 100 µL씩 넣어 반응시키고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가한 OPD (o-phenylenediamine, Sigma Chemical Co.) 용액을 넣어 30 분간 반응시켰다. 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 첨가하여 반응을 중지시킨 후 ELISA reader(model 550, Bio-rad)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응조건은 37°C, 2시간이며 각 단계가 끝날 때마다 0.01 M PBST[phosphate buffered saline containing 0.1% tween 20(v/v)] 용액으로 4회씩 수세하였다.

#### 통계처리

실험 결과의 통계처리는 SAS program(Statistical analytical system V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석을 하였으며, 항목들 간의 유의성 검정은 p<0.05 수준에서 Duncan의 다중검정법으로 실시하였다.

## 결과 및 고찰

#### Ci-ELISA의 표준곡선

200 µg/mL 농도의 coating 항원과 1차 항체인 anti-gliadin IgG를 64 µg/mL로 희석하여, 미리 coating된 gliadin 항원과 일정하게 희석하여 첨가된 gliadin 항원간의 경쟁을 통해 얻어진 흡광도 값으로 표준곡선을 작성하였다. 이때, anti-gliadin IgG와 반응하는 gliadin의 농도는 다음의 식으로 구하였다.

$$x = e^{\frac{0.9756 - y}{0.243}}$$

x=anti-gliadin IgG와 반응하는 gliadin의 농도

y=absorbance value

이때 anti-gliadin IgG와 반응하는 gliadin의 최적 검출 농도 범위는 0.98~31.25 µg/mL이었으며(Fig. 1), 상관계수 R<sup>2</sup>=0.9929, 오차 범위는 p≤1이었다.

#### 중력분에 대한 가압가열 처리의 영향

식품가공 중에 보편적으로 사용되는 열처리는 식품의 안전성이나 저장성을 증진시키기 위해서 사용되는데 단백질 변성을 유도함으로써 식품의 항원성 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다(15). Rumbo 등(29)은 gliadin에 대해서

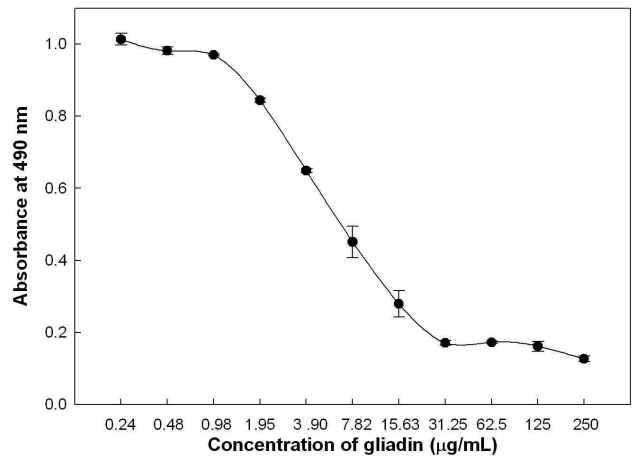
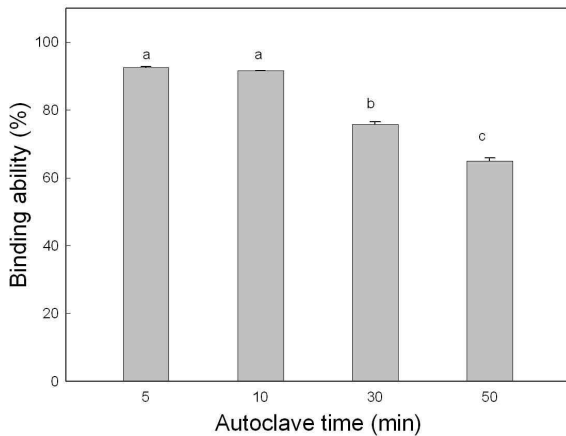


Fig. 1. Standard curve of anti-gliadin IgG to gliadin by Ci-ELISA. Gliadin was used as a coating antigen. Anti-gliadin IgG was used for capturing gliadin. Gliadin was serially diluted from 250 to 0.24 µg/mL.

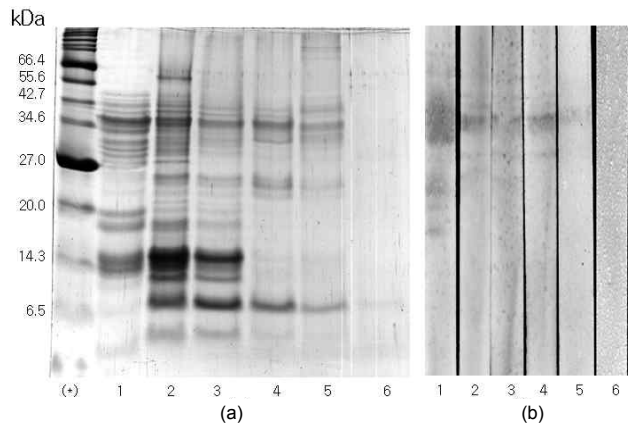
100°C, 20분 가열처리에 의해 항원성이 감소되었으며, 각각 α-, β-, γ- 및 ω-gliadin fraction에 따른 큰 차이를 보이지 않는다고 하였다. 땅콩에 대한 열처리의 경우, boiling에 의해 항원성이 감소되었고, roasting에 의해 땅콩 알레르기 환자의 IgE와 정제된 알레르겐과의 결합력이 증가한 것으로 나타났다(30). Shibata 등(31)의 연구에서는 가압가열 처리에 의해 대두 단백질의 변성이 일어났지만 항원성은 그대로 남아있었고, lupine flour의 경우 138°C에서 20분간 가압가열 처리하였을 때, 항원성이 감소되었다(32). 또한 Varjonen 등(33)은 RAST test를 통해서 80, 100 및 120°C에서 10, 20 및 60분간 가압가열 처리한 뒤 산성, 중성에서 추출한 밀가루 단백질의 항원성이 감소되었다고 보고하였다.

밀은 베이킹, 쿠키 등과 같은 고온의 열처리 없이도 소비되지 않는 전형적인 식품 중의 하나이다. 그러나 밀 알레르기 환자들이 밀 가공제품 섭취 후에도 알레르기 반응을 일으킨다는 것은 오븐과 같은 고온의 열처리에 의해서도 항원성이 그대로 남아있다는 증거이다. 따라서 이를 저감화시키기 위해 가압가열 처리와 같은 다른 가공 처리 방법의 필요성이 대두되고 있다.

본 실험에서는 가압가열 처리한 중력분 gliadin의 항원성 변화를 알아보기 위하여, 중력분을 게이지압 1 kg/cm<sup>2</sup>, 121°C에서 5, 10, 30 및 50분간 가압가열 처리한 후 추출하여 각각 0.5 mg/mL의 농도로 보정하여 Ci-ELISA를 실시하였다. 그 결과(Fig. 2), gliadin 항원과 anti-gliadin IgG 항체와의 결합력이 가압가열 처리에 의해 다소 감소하였으며, 이는 30분 이상 처리 시 가압가열 처리 시간이 길어질수록 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히 50분 처리구에서 약 69%로 가장 낮은 결합력을 보였다. 또한 가압가열 처리한 중력분의 gliadin(분자량, 약 14~50 kDa) 단백질 변화를 알아보기 위해 SDS-PAGE를 실시하였다. 그 결과(Fig. 3a), 처리구가 무처리구에 비해서 전체적으로 단백질 band의 강



**Fig. 2.** Binding ability of gliadin-IgG to gliadin in wheat flour treated with autoclave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo $\times$ 100. Bt: binding ability of gliadin in wheat flour treated with autoclave, Bo: binding ability of gliadin in wheat flour non-treated.



**Fig. 3.** SDS-PAGE (a) and immunoblotting (b) of wheat flour extracts treated with autoclave. Samples are (\*) protein marker, (1) gliadin, (2) untreated wheat flour extracts, (3) 5 min, (4) 10 min, (5) 30 min, (6) 50 min.

도가 약화되었으며, 특히 50분 처리구의 gliadin 단백질이 상당히 소실된 것으로 관찰되었다. Cuadrado 등(34)은 가압 가열 처리에 의해 콩과 식물(렌즈콩, 병아리콩)의 단백질이 펩타이드로 분해되어 항원성이 감소되었다고 보고하였다. 또한 Kim 등(15)은 새우 유래 allergen의 경우, SDS-PAGE 결과 가압가열 처리에 의해 낮은 분자량대로 분해되거나 더 높은 분자량대로 중합하여 고분자 형태로 남아있는 것으로 나타났다고 하였다. 따라서 밀가루의 경우에도 가압가열 처리에 의해 gliadin 단백질이 중합 또는 분해되었을 것으로 예상된다.

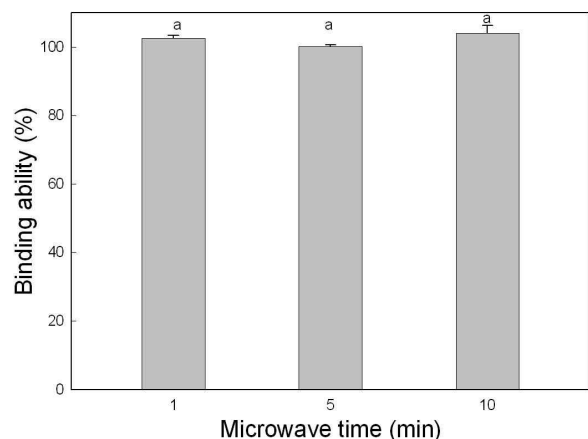
Gliadin은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 및  $\omega$ -gliadin으로 분류되는데,  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -gliadin이 30~40 kDa,  $\omega$ -gliadin이 40~50 kDa에 해당한다고 알려져 있다(35). Immunoblotting 결과에서 5분 및 10분 처리구는 gliadin 단백질 중 약 27, 35 및 40 kDa 부근의 단백질이 처리 후에도 IgG와 반응하였으며, 특히 약 35 kDa 부근의 단백질이 강하게 반응하였다. 이를 통해 주로

$\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -gliadin이 anti-gliadin IgG와 반응한다는 것을 알 수 있었다. 또한 30분 처리구의 경우, 약 35 kDa 부근의 단백질만 약하게 반응하였고, 그 외에는 거의 반응하지 않았으며, 50분 처리 시에는 모든 단백질이 항체와 거의 반응하지 않아 가압가열 처리에 의해 항원-항체 결합력이 다소 약화된 것을 알 수 있었다(Fig. 3b). 이러한 결과를 비추어 볼 때, 약 35 kDa 부근의 단백질의 구조변화가 gliadin의 항원성 변화에 큰 영향을 주는 것으로 생각된다. 이상의 결과를 종합해볼 때, 121°C에서 가압가열 50분 처리구가 약 35 kDa 부근 gliadin band의 강도가 상당히 감소하여 gliadin의 항원성 감소가 가장 크게 나타난 것으로 사료된다.

#### 중력분에 대한 microwave 처리의 영향

중력분을 1, 5 및 10분간 microwave 처리한 후, Ci-ELISA를 실시하여 gliadin에 대한 anti-gliadin IgG와의 결합력을 알아보았다. 그 결과(Fig. 4), microwave 처리구 모두 gliadin과 항체와의 결합력이 무처리구와 비슷하게 높게 유지되어 항원성에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 밀 gliadin(분자량, 14~50 kDa)의 단백질 변화 정도를 알아보기 위해 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 5a), microwave 1분 및 5분 처리구에서는 무처리구와 비교하여 큰 변화가 없었고, 10분 처리구에서는 약 27 및 30 kDa 부근의 단백질 band의 강도가 약해졌으나 약 35 kDa 부근의 band는 큰 변화를 나타내지 않았다. Immunoblotting 결과, gliadin 단백질 중 약 30, 35 및 40 kDa 부근의 단백질에서 반응이 나타났고, 특히 약 35 kDa 부근의 단백질이 microwave 처리 후에도 IgG와 강하게 반응하였다(Fig. 5b).

식품에 대한 microwave 처리는 가공시간이 짧고 품질변화가 적은 장점 때문에 조리, 건조, 해동 및 가공에 널리 이용되고 있다. 식품이나 물은 microwave를 흡수하며, 흡수된 에너지는 식품 중의 물이나 다른 쌍극자 물질들의 극성 회전



**Fig. 4.** Binding ability of gliadin-IgG to gliadin in wheat flour treated with microwave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo $\times$ 100. Bt: binding ability of gliadin in wheat flour treated with microwave, Bo: binding ability of gliadin in wheat flour non-treated.

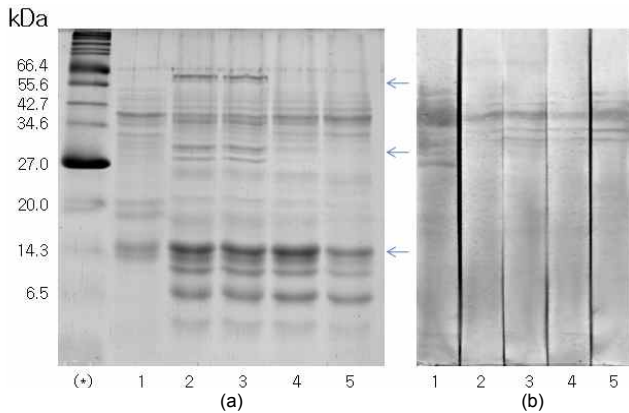


Fig. 5. SDS-PAGE (a) and immunoblotting (b) of wheat flour extracts treated with microwave. Samples are (\*) protein marker, (1) gliadin, (2) untreated wheat flour extracts, (3) 1 min, (4) 5 min, (5) 10 min.

운동이나 이온성 성분들의 전도현상에 의해 열에너지로 바뀌게 되어 가열현상이 일어난다(36). 이러한 분자간의 상호 운동에 따라 단백질의 구조도 변화하게 되므로 최근에는 식품의 항원성을 감소시키기 위한 물리적 처리 방법 중의 하나로 microwave를 이용한 연구가 진행되고 있다. Venkatachalam 등(37)의 연구에서는 microwave 3분 처리에 의해 아몬드 단백질의 항원성이 감소하였고, 우유단백질에서도 microwave에 의한 단백질 구조 변화로 인한 항원성이 감소되었다고 하였다(38). 반면 lupine flour의 경우, microwave 처리 후에도 항원성에 큰 변화가 없었으며(32), Leszczynska 등(23)의 연구에서는 gliadin과 밀가루에 대한 70, 200 및 500 W의 전력으로 1, 2, 3 및 5분간 microwave 처리가 오히려 항원성을 증가시킨다는 결과가 보고되었다. 이는 microwave 처리 시 발생한 열에 의해 gliadin 단백질의 구조가 항체와 더 잘 결합할 수 있는 구조로 변했기 때문이라고 하였다. 식품의 종류에 따라 다른 양상을 보이는 것은 항원에 따라 단백질의 구조 및 열 안정성에 대한 특징이 다르기 때문에 microwave 열처리에 대한 감수성이 다르게 나타나기 때문이라고 생각된다. 본 실험에서 사용된 전력은 700 W이며, 1, 5 및 10분간 처리로도 gliadin의 항원성에 큰 변화가 없었다. 따라서 밀가루에 microwave 처리 시 일부 gliadin 단백질의 변화가 일어났음에도 불구하고 항원성 변화와 가장 관계되어 있는 것으로 예상되는 약 35 kDa에 해당하는 단백질에는 영향을 미치지 않아 항원성에는 큰 변화를 보이지 않은 것으로 사료된다.

중력분에 대한 가압가열 및 microwave 병행 처리의 영향

앞선 결과에서 가압가열 처리는 밀 gliadin의 항원성을 약간 감소시켰으며, microwave 처리는 단백질 구조만 변화시킬 뿐 항원성에는 큰 영향을 미치지 않았다. 여러 가지 처리 방법의 병행에 의해 상승효과가 생겨 항원성 감소 효과가 나타나기도 한다. 따라서 최근 두 가지 이상의 물리적 방법을 병행하거나 물리적, 화학적 방법을 병행 처리하여 항원성

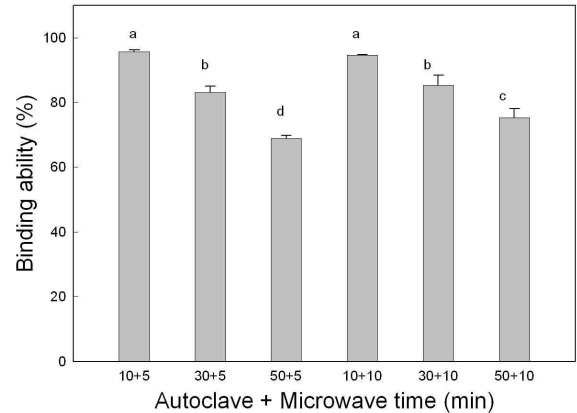


Fig. 6. Binding ability of gliadin-IgG to gliadin in wheat flour treated with autoclave and microwave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability =  $B_t/B_o \times 100$ .  $B_t$ : binding ability of gliadin in wheat flour treated with autoclave and microwave,  $B_o$ : binding ability of gliadin in wheat flour non-treated.

이 변화되었다는 연구 결과에 대해서도 보고되고 있다(18, 39, 40). 이에 가압가열과 microwave 병행 처리가 gliadin의 항원성에 미치는 영향에 대해서 알아보기 위해 중력분에 두 가지 방법을 병행 처리한 뒤, gliadin의 항원성 및 단백질 변화를 관찰하였다. Gliadin의 항원성 변화를 살펴보기 위해 Ci-ELISA 실시 결과(Fig. 6), 무처리구에 비해 처리구에서 항원성이 감소하였는데, 특히 가압가열 50분 처리 후 microwave 5분 처리 시 결합력이 약 73%로 가장 많이 감소되었다. 이는 같은 조건의 microwave 처리에서는 가압가열 처리 시간이 길어질수록 항원-항체 결합력이 유의적으로 낮아지는 경향을 보였다. 그러나 같은 조건의 가압가열 처리 시 microwave 처리 시간에 따른 차이는 가압가열 50분 처리시를 제외하고 유의적인 변화가 없었다. 약 14~50 kDa 사이의 gliadin 단백질 변화를 알아보기 위한 SDS-PAGE 결과(Fig. 7a), 가압가열 처리 시간이 증가될수록 단백질 band가

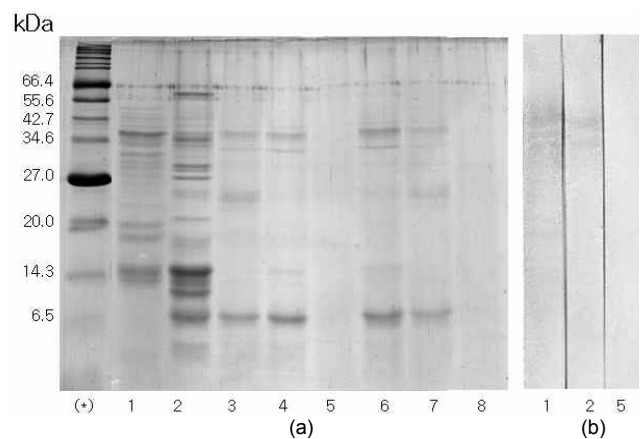


Fig. 7. SDS-PAGE (a) and immunoblotting (b) of wheat flour extracts treated with autoclave and microwave. Samples are (\*) protein marker, (1) gliadin, (2) untreated wheat flour extracts, (3) 10 min+5 min, (4) 30 min+5 min, (5) 50 min+5 min, (6) 10 min+10 min, (7) 30 min+10 min, (8) 50 min+10 min.

전체적으로 약화되었으며, 특히 가압가열을 50분 처리하였을 때 단백질 band가 가장 많이 소실되었다. 또한 gliadin의 항원성 감소에 영향을 주는 것으로 생각되는 약 35 kDa 부근의 단백질은 가압가열 10분 및 30분 처리구에서는 변화가 없었으나, 50분 처리구에서 band의 강도가 상당히 감소된 것으로 나타났다. Ci-ELISA에서 가장 효과가 있었던 가압가열 50분, microwave 5분 처리구에 대해 immunoblotting을 실시한 결과, gliadin band가 IgG와 거의 반응하지 않은 것을 확인하였다(Fig. 7b). 따라서 가압가열과 microwave 병행 처리 시 gliadin의 항원성이 감소되었음을 확인하였다.

대부분의 단백질은 열처리에 의해서 열 응고를 일으켜 원심분리 시 침전되어 하층에 모이게 되며, 이로 인해 열응고 부분과 비응고부분에 항원성의 차이를 보인다고 한다. Han 등(16,41)의 연구결과에서 열처리한 우유추출물의 항원성이 상층액에서 침전층으로의 이동됨을 확인하였고 이것은 원심분리에 의한 상층액과 침전층의 분리로 인한 상대적 농도의 상승에 따른 항체와의 반응성 증가 때문이라고 설명하였다. 따라서 본 실험을 통해 밀가루의 에탄올 가용성 단백질의 항원성 변화는 확인하였으나, 침전물에 남아있을 가능성을 배제할 수 없을 것으로 보인다.

## 요 약

본 연구에서는 가압가열 및 microwave 처리가 gliadin의 항원성에 미치는 영향을 살펴보기 위해 중력분에 가압가열과 microwave를 단독 또는 병행으로 처리하여 Ci-ELISA, SDS-PAGE 및 immunoblotting을 실시하였다. 가압가열 처리의 경우, 처리 시간이 길어질수록 IgG와의 결합력이 감소하였으며, 특히 50분 처리구에서 약 69%로 가장 낮은 결합력을 보였다. 또한 SDS-PAGE와 immunoblotting 결과에서도 무처리구에서 강하게 보였던 gliadin band가 처리에 의해서 거의 소실되고 항체와 반응하지 않았다. 가압가열 및 microwave를 병행 처리한 경우도 마찬가지로 gliadin의 결합력이 다소 감소하였으며, 처리구 중에서는 가압가열 50분, microwave 5분 처리구에서 약 73%로 가장 낮은 결합력을 보였다. 반면 microwave를 단독으로 처리하였을 때에는 일부 단백질의 변화는 관찰되었으나 항원성 감소에는 큰 영향을 미치지 않았다. 이상의 결과를 통해 가압가열을 단독 처리에 의해 gliadin의 항원성이 다소 감소되었으며, microwave 병행 처리에 의한 차이는 크게 나타나지 않은 것을 확인하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2010년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것으로 이에 감사드립니다(No. 2010-0004106).

## 문 헌

1. Sampson HA. 1999. Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 103: 717-728.
2. Lee SI. 2006. Food allergy. *Safé Food* 1: 12-17.
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1995. Report of the FAO Technical Consultation on Food Allergies. Rome, Italy. November 13-14.
4. Son DY, Yoon KR, Lee SI. 2002. Study of the most common allergic foods in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 34: 885-888.
5. Food balance sheet. 2008. Korea rural economic institute.
6. Korea Food and Drug Administration. Labeling standards for foods etc. KFDA notification No. 2011 (Amendment on Mar. 31, 2010). Accessed Jan. 1, 2011.
7. Shon DW. 2000. Food and allergy. *Food Sci Indus* 33: 2-9.
8. Falchuk ZM, Gebhard RL, Sessoms C, Strober W. 1974. An in vitro model of gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest* 53: 487-500.
9. Battais F, Mothes T, Moneret-Vautrin DA, Pineau F, Kanny G, Popineau Y, Bodinier M, Denery-Papini S. 2005. Identification of IgE-binding epitopes on gliadins for patients with food allergy to wheat. *Allergy* 60: 815-821.
10. Lee SY. 2004. Food allergy. *Korean J Pediatr* 47: 240-246.
11. Lee JW, Yook HS, Cho KH, Lee SY, Byun MW. 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: 500-504.
12. Shin JH, Jeong SG, Han GS, Jang A, Chae HS, Yoo YM, Ahn CN, Lee JW, Jo C, Lee WK, Ham JS. 2008. Reduction of the antigenicity of powdered milk by gamma irradiation. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28: 306-311.
13. 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.
14. Kim SJ, Kim KBWR, Song EJ, Lee SY, Yoon SY, Lee SJ, Lee CJ, Park JG, Lee JW, Byun MW, Ahn DH. 2009. Changes of pork antigenicity by heat, pressure, sonication, microwave, and gamma irradiation. *Korean J Food Sci Ani Resour* 29: 709-718.
15. Kim SM, Park JG, Kim KBWR, Lee JW, Byun MW, Park SM, Ahn DH. 2006. Study on the changes in allergen and allergenicity originated from shrimp by physical treatments. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 990-996.
16. Han GD, Fan JP, Atsushi S. 2006. Changes 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: 594-599.
17. Li Z, Lin H, Cao L, Khalid J. 2007. Impact of irradiation and thermal processing on the immunoreactivity of shrimp (*Penaeus vannamei*) proteins. *J Sci Food Agr* 87: 951-956.
18. Su M, Venkatachalam M, Teuber SS, Roux KH, Sathe SK. 2004. Impact of  $\gamma$ -irradiation and thermal processing on the antigenicity of almond, cashew nut and walnut proteins. *J Sci Food Agr* 84: 1119-1125.
19. Izquierdo FJ, Penas E, Baeza ML, Gomez R. 2008. Effects of combined microwave and enzymatic treatments on the hydrolysis and immunoreactivity of dairy whey proteins. *Int Dairy J* 18: 918-922.
20. Kumagai H, Suda A, Sakurai H, Kumagai H, Arai S, Inomata N, Ikezawa Z. 2007. Improvement of digestibility, reduction in allergenicity, and induction of oral tolerance of wheat gliadin by deamidation. *Biosci Biotechnol Biochem*

- 71: 977-985.
21. Maruyama N, Sugiura F, Kishimoto T, Ichise K, Takeuchi Y, Sawada T, Tsuda A, Utsumi S. 1999. Decreased IgE-binding with wheat gluten by deamidation. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 567-569.
  22. Leszczynska J, Łacka A, Szemraj J, Lukamowicz J, Zegota H. 2003. The influence of gamma irradiation on the immunoreactivity of gliadin and wheat flour. *Eur Food Res Technol* 217: 143-147.
  23. Leszczynska J, Łacka A, Szemraj J, Lukamowicz J, Zegota H. 2003. The effect of microwave treatment on the immunoreactivity of gliadin and wheat flour. *Eur Food Res Technol* 217: 387-391.
  24. Park JY, Ahn JY, Hong HO, Hahn YS. 2004. Reduction of allergenicity of wheat flour by enzyme hydrolysis. *Korean J Food Sci Technol* 36: 152-157.
  25. Sungshin Women's University. 2002. Report: Development of hypoallergenic bread for domestic wheat. Ministry of Science and Technology. p 1-43.
  26. Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
  27. Towbin HT, Staehelin T, Gordon J. 1979. Electrophoretic transfers of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 4350-4354.
  28. 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.
  29. Rumbo M, Chirido FG, Fossati CA, Anon MC. 2001. Analysis of the effects of heat treatment on gliadin immunochemical quantification using a panel of anti-prolamin antibodies. *J Agric Food Chem* 49: 5719-5726.
  30. Mondoulet L, Paty E, Drumare MF, Ah-Leung S, Scheinmann P, Willemot RM, Wal JM, Bernard H. 2005. Influence of thermal processing on the allergenicity of peanut proteins. *J Agric Food Chem* 53: 4547-4553.
  31. Shibata M, Saegusa S, Hosoi T, Ogawa T, Numata K. 2008. The fate of soybean allergens in autoclaved soybeans and 'Edo-ama' miso. *Bull Tokyo Metro Agric Fores Res Cen* 3: 71-79.
  32. Álvarez-Álvarez J, Guillamón E, Crespo JF, Cuadrado C, Burbano C, Rodríguez J, Fernández C, Muzquiz M. 2005. Effects of extrusion, boiling, autoclaving, and microwave heating on lupine allergenicity. *J Agric Food Chem* 53: 1294-1298.
  33. Varjonen E, Björkstén F, Savolainen J. 1996. Stability of cereal allergens. *Clin Exp Allergy* 26: 436-443.
  34. Cuadrado C, Cabanillas B, Pedrosa MM, Varela A, Guillamón E, Muzquiz M, Crespo JF, Rodríguez J, Burbano C. 2009. Influence of thermal processing on IgE reactivity to lentil and chickpea proteins. *Mol Nutr Food Res* 53: 1462-1468.
  35. DuPont FM, Vensel WH, Chan R, Kasarda DD. 2000. Characterization of the 1B-type  $\omega$ -gliadins from *Triticum aestivum* cultivar butte. *Cereal Chem* 77: 607-614.
  36. Mullin J. 1995. Microwave processing. In *New Methods of Food Preservation*. Gould GW, ed. Blackie Acad Prof., Glasgow, UK. p 112-134.
  37. Venkatachalam M, Teuber SS, Roux KH, Sathe SK. 2002. Effects of roasting, blanching, autoclaving, and microwave heating on antigenicity of almond (*Prunus dulcis* L.) proteins. *J Agric Food Chem* 50: 3544-3548.
  38. Hanane K, Kamel Eddine EM, Omar K, Djamel S. 2006. Microwave treatment modify antigenicity properties of bovine milk proteins. *Afr J Biotechnol* 5: 1267-1270.
  39. Kim MJ, Lee JW, Yook HS, Lee SY, Kim MC, Byun MW. 2002. Changes in the antigenic and immunoglobulin E-binding properties of hen's egg albumin with the combination of heat and gamma irradiation treatment. *J Food Prot* 65: 1192-1195.
  40. Bonomi F, Iametti S, Rasmussen P, Restani P, Rovere P. 2000. Advances in the combined application of enzymatic and physical treatments for reducing food allergenicity. *High Pres Res* 19: 175-181.
  41. Han GD, Matsuno M, Ikeuchi Y, Suzuki A. 2002. Effects of heat and high-pressure treatments on antigenicity of beef extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 202-205.

(2011년 5월 13일 접수; 2011년 9월 8일 채택)