

물리적 처리에 의한 강력분 밀가루 Gliadin의 항원성 변화

강보경¹ · 김꽃봉우리² · 김민지² · 박시우¹ · 박원민¹ · 김보람¹
안나경¹ · 최연욱¹ · 최정수³ · 최호덕⁴ · 안동현^{1†}

¹부경대학교 식품공학과/식품연구소, ²부경대학교 수산과학연구소
³경남정보대학교 호텔외식조리계열, ⁴세종대학교 식품공학과

Changes in Allergenicity of Gliadin in Strong Wheat Flour by Physical Treatments

Bo-Kyeong Kang¹, Koth-Bong-Woo-Ri Kim², Min-Ji Kim², Si-Woo Park¹, Won-Min Pak¹, Bo-Ram Kim¹,
Na-Kyung Ahn¹, Yeon-Uk Choi¹, Jung-Su Choi³, Ho-Duk Choi⁴, and Dong-Hyun Ahn^{1†}

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

²Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 619-911, Korea

³Subdivision of Culinary Arts, Kyungnam College of Information and Technology, Busan 617-701, Korea

⁴Dept. of Food Science & Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea

ABSTRACT This study was conducted to evaluate the effects of physical treatments on the antigenicity of gliadin in strong wheat flour. Strong wheat flour was treated with an autoclave (5, 10, 30, 50 min), a microwave (1, 5, 10 min), or both (10, 30, 50 min/ 5, 10 min), followed by SDS-PAGE, immunoblotting, and Ci-ELISA using anti-gliadin IgG. The results indicated that the binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour slightly decreased after autoclaving or autoclaving/microwaving. In particular, the binding ability was reduced to about 87% after autoclaving for 50 min and to 89% after autoclaving/microwaving (50/5 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. In conclusion, the results of this study suggest that autoclaving may reduce the antigenicity of gliadin in strong wheat flour.

Key words: autoclave, microwave, allergenicity, gliadin

서 론

최근 급속한 경제성장과 국민소득의 향상으로 식생활 패턴이 서구화됨에 따라 밀은 우리나라에서 제2의 주식으로 자리 잡고 있으며, 빵, 면, 과자 등과 같이 다양한 2차 가공품의 형태로 이용할 수 있어 식생활에서 차지하는 비중이 매우 큰 식품이다(1).

밀은 영양학적으로 우수하여 당질 70~74%, 단백질 10~14%, 지질 1.9~2.3%를 함유하고 비타민 및 엽산의 함량이 높은 식품이며 지방 함량이 낮은 뿐만 아니라 불포화도가 높아 cholesterol 감소 효과가 있다(2,3). 밀의 1차 가공품인 밀가루는 밀 단백질의 주성분으로 반죽 시 점탄성을 나타내는 gluten의 함량에 따라 강력분, 중력분, 박력분으로 나뉘는데 일반적으로 제빵용으로는 단백질 함량이 높은 강력분을 사용한다.

그러나 밀은 주요 알레르기 유발 식품으로 소비량의 지속적인 증가와 함께 그 심각성이 증대되고 있다(4). 식품 알레르기는 식품 섭취 후 비이상적으로 발생하는 면역학적 기전에 매개되는 과민반응으로, 대표적 증상으로는 구토, 설사, 두드러기, 아토피 피부염이 있으며 심할 경우 전신 증상으로 아나필락시스 증상이 나타나기도 한다(5,6). 일반적으로 알려져 있는 식품 알레르기의 주요 원인 식품으로는 계란, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기 등 주로 주요 단백질원 공급 식품들이 있는데, 그중 밀에 의해 일어나는 밀 알레르기는 소아에서 약 1% 정도가 발병된다고 알려져 있으나(7), 최근에는 4세 소아의 4% 정도가 밀에 감작되어 있다는 연구 결과가 보고된 바 있다(8). 국내에서는 아직 밀 알레르기에 대한 보고가 미약한 편이나 밀 소비량의 증가와 함께 그 심각성이 높아지고 있으며, 또한 면역력이 낮은 환자들에게서는 천식, 두드러기, 과민성 장질환뿐만 아니라 심한 경우 아나필락시스와 같은 전신증상을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다(9,10). 특히 밀 단백질 중 glutenin과 함께 gluten을 구성하는 gliadin은 밀의 경구섭취에서 주로 소장의 용모를 손상시킴으로써 흡수 장애를 일으켜 신진

Received 12 December 2013; Accepted 20 March 2014

[†]Corresponding author.

E-mail: dhahn@pknu.ac.kr, Phone: +82-51-629-5831

대사의 결함 및 만성 장질환을 유발함으로써 밀 알레르기를 일으키는 주요 원인 단백질이다. 알코올 용해성을 가지는 gliadin은 monomeric 단백질로 밀 단백질의 약 30%를 차지하며, acid-PAGE에서 전기영동 이동도에 따라 α -, β -, γ - 및 ω -gliadin으로 나누어진다. α -, β -, γ -Gliadin의 분자량은 30~40 kDa이며 ω -gliadin의 경우 40~75 kDa으로 각각 밀 알레르기 환자의 IgE와 반응하는 주요 항원결정기가 밝혀져 있다(11-13).

이러한 식품 알레르기의 치료법으로는 원인이 되는 식품을 회피하는 직접 제거법이나, 항히스타민제, 스테로이드 등의 약물 치료법 및 면역 치료법 등이 알려져 있다(14). 그러나 이러한 치료법은 지속적인 치료가 불가능하고 부작용을 초래할 수 있으며, 다양한 2차 가공품에서 원료로 사용되는 밀의 경우 원인 식품 자체의 제거가 어려운 실정이다. 또한 170°C 이상의 고온에서 가공되는 밀 가공제품의 경우에도 알레르기 반응을 일으키기 때문에 근본적인 해결을 위해서는 알레르기의 원인이 되는 단백질을 제거하거나 변성시키는 방법이 효과적이다. 이러한 방법의 일환으로 효소처리(15), 열처리(16), microwave(17), 감마선 조사(18), 초음파(19) 및 압력(20) 처리와 같은 물리적 처리법을 이용한 식품 알레르기 억제 연구가 시도되고 있다. 더불어 최근에는 두 가지 이상의 물리적 방법을 병행 처리(21,22)하여 항원성 변화에 대해 살펴본 연구도 보고되고 있다. 현재까지 효소를 이용하여 gluten 단백질의 분해를 유도하여 밀 알레르기의 저감화를 시도한 연구(23,24)가 보고된 바 있으나, 물리적 처리에 의한 밀 알레르기 저감화에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 강력분 밀가루에 가압가열과 microwave 처리를 통하여 gliadin의 항원성 및 단백질 변화를 측정하여 밀 알레르기 저감화 식품 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 밀가루는 (주)동아원(Busan, Korea)에서 제공받은 것으로 수분 13.9%, 회분 0.419%, 단백질 12.21%인 1등 강력분 밀가루를 사용하였다.

표준 항원 및 항체

표준 항원으로 사용된 gliadin, 1차 항체로 사용된 anti-gliadin IgG 및 2차 항체로 사용된 anti-rabbit IgG peroxidase antibody conjugate는 Sigma사(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Anti-human IgE antibody peroxidase는 KPL사(Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다.

Competitive indirect enzyme linked immunosorbent assay(Ci-ELISA)

Gliadin의 항원성 변화를 알아보기 위해 Lee 등(25)의 방법을 변형하여 Ci-ELISA를 실시하였다. 0.2 M bicarbonate coating buffer(pH 9.6)를 이용하여 gliadin을 일정 농도로 희석한 뒤, costar 96-well flat bottom plate (469957; Nunc, Kamstrupvej, Denmark)의 well에 100 μ L씩 분주하였다. 4°C에서 하룻밤 동안 coating 시킨 후 비특이적인 반응을 막기 위해 1% gelatin 용액으로 blocking 하였다. 0.01 M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.3)를 이용하여 anti-gliadin IgG는 64 μ g/mL 농도로 희석하여 항원과 항체를 각각 50 μ L씩 분주하여 반응시켰다. 2차 항체(anti-rabbit IgG: 1:30,000)를 넣은 다음 OPD(o-phenylenediamine, Sigma-Aldrich Co.) 용액으로 발색시켰다. 그 후 2 M H₂SO₄로 반응을 중지시켜 ELISA reader (Model 550, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)의 490 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 단계별 반응 조건은 37°C에서 2시간이며 각 단계가 끝날 때마다 0.01 M PBST [phosphate buffered saline containing 0.1% tween 20(v/v)]용액으로 4회씩 수세하였다.

가압가열 및 microwave 처리

밀가루는 일정량을 시험관에 넣은 후 가압멸균기(DW-AC 920, D.W. Industries, Busan, Korea)에 넣은 후 온도 121°C, 게이지압 1 kg/cm²에서 5, 10, 30 및 50분간 가압가열 처리하였다. Microwave(MW-272LB, LG, Seoul, Korea) 처리는 증류수로 채운 beaker에 밀가루가 들어있는 시험관을 넣은 후 중탕하여 1, 5 및 10분간 처리하였으며, 이때 사용한 주파수는 2,450 MHz이고 정격고주파출력은 700 W였다.

Gliadin 추출

Leszczynska 등(26)의 방법에 따라 표준항원으로 사용된 gliadin 및 가압가열 및 microwave 처리한 밀가루에 40% 에탄올을 1:1 비율로 가하여 10분간 진탕 교반하여 gliadin을 추출하였다. 그 후 원심분리기(Micro 17TR, Hanil Co., Incheon, Korea)를 이용하여 2,500×g에서 10분간 원심분리 하고 얻어진 상층액을 실험에 사용하였다. 단백질 농도는 BCA protein assay kit(Pierce, IL, USA)로 측정된 뒤 일정 농도로 희석하여 Ci-ELISA, SDS-PAGE 및 immunoblotting에 사용하였다.

SDS-PAGE

밀가루 gliadin의 변화를 알아보기 위해 Laemmli(27)의 방법을 사용하여 17% separating gel과 4.5% stacking gel로 구성된 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide 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. Loading한 후의 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 사용하였으며, 분자량별 standard는 B chain(2.3 kDa), insulin A(3.4 kDa), aprotinin(6.5 kDa), lysozyme(14.3 kDa), trypsin inhibitor(20 kDa), triosephosphate isomerase(27 kDa), thioredoxin reductase(34.6 kDa), MBP2(42.7 kDa), glutamic dehydrogenase(55.6 kDa), serum albumin(66.4 kDa), phosphorylase b(97 kDa), β -galactosidase(116 kDa), MBP- β -galactosidase(158 kDa), myosin(212 kDa)을 이용하였다.

Immunoblotting

Towbin 등(28)의 방법을 참고하여 SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 methanol-activated polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane(Bio-rad)에 150 mA에서 5시간 동안 전사시킨 후 각 strip을 3% gelatin으로 1시간 동안 blocking 시켰다. 1차 항체로 anti-gliadin IgG를 1% gelatin을 사용하여 128 μ g/mL 농도로 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-Aldrich Co.) 용액을 기질로 사용하여 발색시킨 다음 반응 정도를 관찰하였다. 모든 과정의 실험은 실온에서 진행되었다.

통계처리

실험 결과의 통계처리는 SAS program(Statistical analytical system V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)

을 이용하여 평균값을 분산분석한 후, Duncan의 다중검정법으로 $P < 0.05$ 수준에서 항목들 간의 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

Microwave 처리에 의한 강력분 gliadin의 단백질 변화

강력분 밀가루에 microwave 1, 5 및 10분 동안 처리 후 약 30~75 kDa인 gliadin 단백질의 변화를 SDS-PAGE를 실시하여 살펴보았다(Fig. 1a). 식품에 microwave를 처리하면 식품의 분자 및 물의 쌍극자는 전계를 받아 내부 진동을 일으키며 마찰열이 발생하여 가열 현상이 일어나는데, 이러한 열처리와 분자간의 상호 운동에 따라 단백질의 구조도 변화하게 된다(29,30). 본 연구 결과, microwave 5~10분 처리 시 무처리구에 비해 강력분 gliadin의 55 kDa 부근 단백질 band가 약해진 것을 확인하였으며, 특히 10분 처리 시 약 30 kDa 부근의 단백질 band가 약해진 것을 확인하여 microwave 처리에 의해 gliadin이 분해되어 단백질이 변화된 것으로 사료된다.

가압가열 처리에 의한 강력분 gliadin의 단백질 변화

강력분 밀가루에 5, 10, 30 및 50분 동안 가압가열 처리 후 강력분 밀가루의 gliadin 단백질 변화를 알아보기 위하여 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 1b), 30 및 50분 처리 시 약 35 kDa 부근의 단백질 band가 현저히 약화됨을 확인하였으나, 42~66 kDa 부근의 단백질 band는 5분 처리 시 가장 약화된 것을 확인하였다. 따라서 10분 이상의 가압가열 처리에 의해서 감소된 35 kDa 부근의 단백질이 중합되어 42~66 kDa 부근의 단백질 band가 증가된 것으로 보인다. 열처리에 의한 gliadin의 용해도 변화는 주로 공유 교차 결합에 의한 것이며, Schofield 등(31)은 gliadin의 열변성에서 disulfide-sulfhydryl exchange 반응이 증가하고 sulfur-rich gliadin에서 분자간의 상호결합이 일어난다고 보고하였으며, Hill과 Skerritt(32)는 열처리 시 ω -gliadin이 α -, β - 및 γ -gliadin(sulfur rich)보다 열의 영향을 덜 받으며

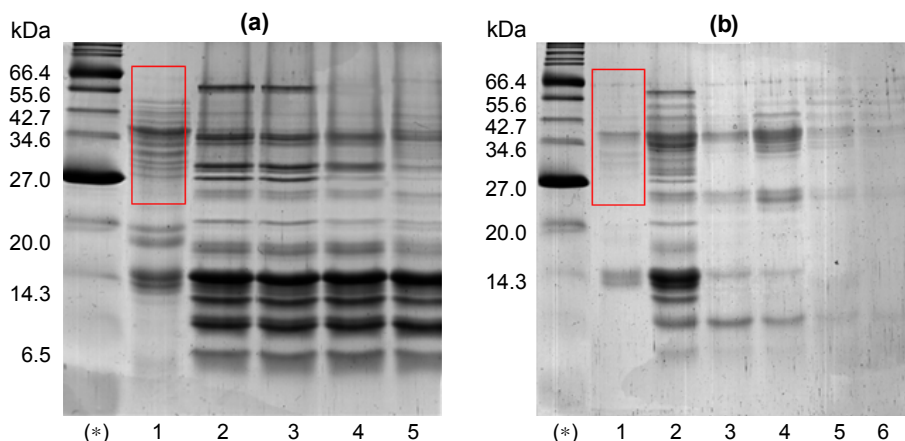


Fig. 1. SDS-PAGE of strong wheat flour treated with microwave (a) and autoclave (b). Samples are (*), protein marker; (1), gliadin; (2), untreated strong wheat flour; (a3), microwave 1 min; (a4), microwave 5 min; (a5), microwave 10 min; (b3), autoclave 5 min; (b4), autoclave 10 min; (b5), autoclave 30 min; (b6), autoclave 50 min.

이는 ω -gliadin이 cysteine 부족으로 sulfhydryl group간의 공유 교차 결합을 하지 않기 때문이라고 하였다. 따라서 전기영동 결과에서 ω -gliadin이라 추정되는 55~65 kDa 사이의 단백질은 다른 gliadin 단백질에 비해 열처리 후에도 남아있어 가압가열에 영향을 덜 받은 것으로 보인다.

가압가열 및 microwave 병행처리에 의한 강력분 gliadin의 단백질 변화

강력분 밀가루에 가압가열 121°C에서 10, 30 및 50분간의 가압가열 처리 직후 각각 5 및 10분간 microwave를 처리한 후 SDS-PAGE를 실시한 결과(Fig. 2a), 약 35 kDa 단백질이 가압가열 처리 시간이 증가함에 따라 강도가 감소하였으며 그 외의 gliadin 단백질은 무처리구와 비교 시 큰 차이가 나지 않았다. Immunoblotting 결과(Fig. 2b), 무처리구에서는 약 34 kDa 단백질이 반응하였으며, 약 30 kDa 단백질도 약하게 IgG와 반응하였다. 하지만 가압가열 50분/microwave 10분 병행처리구에서는 IgG와 반응하지 않았다. Immunoblotting 결과를 볼 때 가압가열 및 microwave 처리 후에도 약 35 kDa의 단백질에서 반응이 일어나는 것을 확인하여 병행처리에 의해 큰 변화가 없는 것을 확인하였다. Native-PAGE 결과(Fig. 2c), 가압가열 50분 및 microwave 5분의 병행처리와 무처리구의 비교 시 단백질 band가 나타나지 않아 밀 단백질이 영향을 받아 분해된 것으로 사료된다. 단백질은 고온처리에 의해 분자사이의 결합, 소수성 작용 등에 의하여 polymer 형태로 중합이 일어나거나 S-S 결합 등의 파괴로 분해되기도 하며(31,33), Leszczynska 등(26)은 microwave 처리에 의해 gliadin의 구조적, 화학적 변화가 일어났다고 보고하였다. 따라서 본 연구 결과, microwave 동일 조건에서 가압가열 시간이 증가함에 따라 단

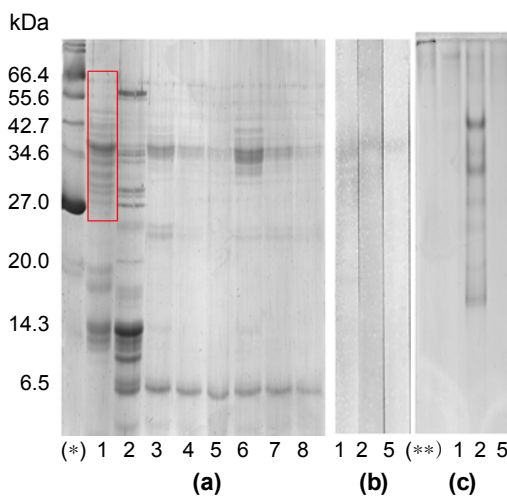


Fig. 2. SDS-PAGE (a), immunoblotting (b), and native-PAGE (c) of strong wheat flour treated with autoclave and microwave. Samples are (*), protein marker; (**), gluten; (1), gliadin; (2), untreated strong wheat flour; (3), 10 min+5 min; (4), 30 min+5 min; (5), 50 min+5 min; (6), 10 min+10 min; (7), 30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

백질 band가 감소한 것은 가압가열과 microwave를 연속 처리함으로써 가해진 열에 의해 단백질들 사이의 중합으로 인해 용출량이 감소되었거나, S-S 결합의 파괴와 같은 분해로 인해 항원성이 감소된 것으로 사료되며, 이는 Kwak 등(34)의 연구에서 중력분에 가압가열 및 microwave 병행 처리 시 가압가열 시간이 증가할수록 35 kDa 및 55 kDa 부근의 gliadin 단백질 band가 약화되었다는 연구 결과와 유사하다.

Microwave 처리에 의한 gliadin의 항원성 변화

강력분 밀가루에 1, 5 및 10분 동안 microwave 처리 후 gliadin에 대한 항원성 변화를 Ci-ELISA를 통해 알아본 결과(Fig. 3), 강력분 밀가루에 microwave 1, 5 및 10분 처리 시 각각 97.7, 98.3, 99%로 높은 결합력을 유지하여 항원성 감소에는 효과가 없었다. Leszczynska 등(26)은 밀가루 및 gliadin에 70, 200 및 500 W의 전력으로 microwave를 1, 2, 3 및 5분간 처리 시 항원성이 증가되었으며, 이는 microwave에 의해 밀 gliadin이 항체와 더 잘 결합할 수 있는 구조로 변했기 때문이라고 하였다. 또한 Alvarez-Alvarez 등(35)의 연구에서도 lupine flour에 microwave 처리 시 항원성의 변화가 없었다고 보고하였다. 그러나 다른 식품 allergen 중 아몬드 단백질 및 우유 단백질의 경우 microwave에 의해 항원성이 감소함을 보였는데 이는 단백질마다 구조가 달라 microwave에 의한 영향이 다르게 나타나기 때문으로 사료된다.

가압가열 처리에 의한 gliadin의 항원성 변화

강력분 밀가루에 5, 10, 30 및 50분 동안 가압가열 처리 후 gliadin과 anti-gliadin IgG와의 결합력 변화를 Ci-ELISA를 통해 알아본 결과(Fig. 4), 강력분에 가압가열 처리 시 30 및 50분 처리구에서 각각 95.6, 87.6%의 결합력을 보여 항원성이 유의적으로 감소하였으며, 특히 50분 처리

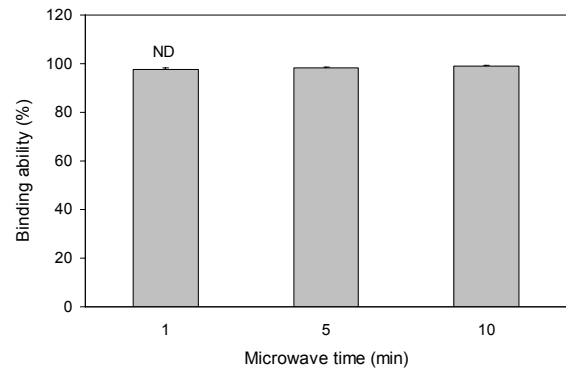


Fig. 3. Binding ability of anti-gliadin IgG to gliadin in strong wheat flour treated with microwave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo \times 100. Bt, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour treated with microwave; Bo, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour non-treated. NDNot significantly different.

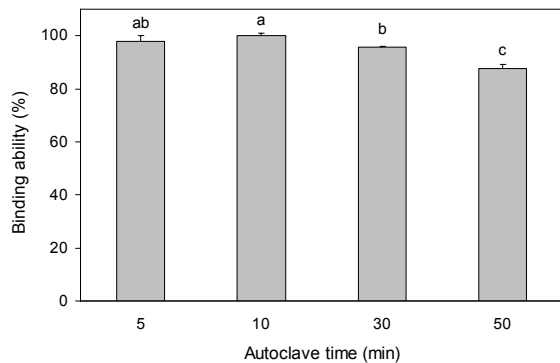


Fig. 4. Binding ability of anti-gliadin IgG to gliadin in strong wheat flour treated with autoclave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo \times 100. Bt, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour treated with autoclave; Bo, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour non-treated. ^{a-c}Means with different letters are significantly different ($P<0.05$).

시 가장 낮은 결합력을 보였다. Gliadin은 전기영동 이동도에 따라 α -, β -, γ - 및 ω -gliadin으로 나뉘며, α -, β -, γ -gliadin은 sulfur-gliadin으로 분자량은 30~40 kDa이며 ω -gliadin의 경우 40~75 kDa로 각각 밀 알레르기를 일으키는 주요 항원으로 작용한다고 알려져 있다(13). Rumbo 등(36)은 밀가루의 α -, β -, γ - 및 ω -gliadin fraction에 100°C, 10분 가열처리 시 anti-gliadin rabbit serum에 대해 β -gliadin이 약 40%, α -gliadin 및 γ -gliadin이 약 20% 정도 결합력이 감소되었고, ω -gliadin의 경우는 열처리에 의해 거의 영향을 받지 않았다고 보고하였다. 또한 Waga 등(37)은 α -, β -, γ -gliadin은 황을 많이 함유하고 있으며, thioredoxin 처리로 인한 S-S 결합 파괴로 gliadin의 항원성이 감소되었다고 보고하였다. 따라서 가압가열 30 및 50분 처리 시의 gliadin의 항원성 감소는 α -, β - 및 γ -gliadin과 같은 sulfur rich gliadin의 S-S 결합 변화에 기인한 것으로 사료된다.

가압가열과 microwave 병행처리에 의한 gliadin의 항원성 변화

강력분 밀가루에 가압가열 및 microwave 병행처리 후 항원성 변화를 살펴보기 위해 121°C에서 10, 30 및 50분간의 가압가열 처리 후 각각 5, 10분간 microwave를 처리한 뒤 Ci-ELISA를 통해 항원성 변화를 측정하였다(Fig. 5). Microwave 처리 조건이 5분으로 동일할 때 가압가열 10, 30 및 50분 처리 시 결합력이 각각 99, 96, 89%로 나타났으며, microwave 10분과 가압가열 10, 30 및 50분 처리 시 결합력이 99, 95, 94%로 나타나 microwave 처리 조건이 동일할 때 가압가열 시간이 증가할수록 항원성이 유의적으로 감소함을 확인하였다. 가압가열 50분 처리 후 microwave 5 및 10분 처리 시, 10분 처리 시가 5분 처리 시보다 IgG와의 반응성이 오히려 증가하는 경향을 보였다. 이상으

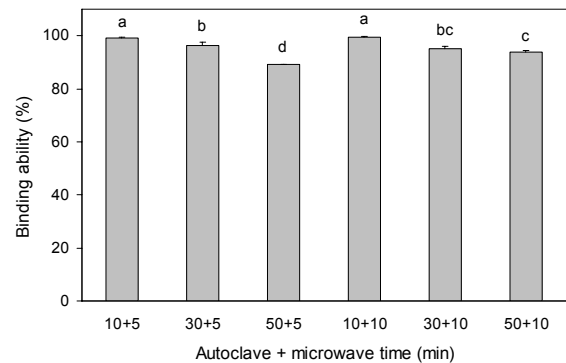


Fig. 5. Binding ability of anti-gliadin IgG to gliadin in strong wheat flour treated with autoclave and microwave. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability=Bt/Bo \times 100. Bt, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour treated with autoclave and microwave; Bo, binding ability of IgG to gliadin in strong wheat flour non-treated. ^{a-d}Means with different letters significantly different ($P<0.05$).

로 가압가열 50분 및 microwave 5분 병행처리 시가 무처리구에 비해 89%의 항원성을 보여 병행처리구 중 가장 높은 항원성 감소 효과를 보임을 확인하였다.

Gliadin에 열처리 시 gliadin 분자 사이나 gliadin과 식품에 존재하는 다른 단백질 또는 성분들 간에 새로운 상호작용이 일어나게 되며 이러한 작용에 의해 식품 내 gliadin의 용출성 및 단백질 구조는 변화하게 되는데, 단백질의 구조가 변함에 따라 항체와 결합하는 epitope 부분의 변화에 의해 항원성 또한 변화하게 된다(36). 따라서 본 연구 결과, 가압가열과 microwave 연속 처리 시 단백질들 사이의 중합으로 인해 용출량이 감소되었거나 S-S 결합 파괴와 같은 분해로 인해 항원성이 감소된 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 가압가열 및 microwave 처리가 gliadin의 항원성에 미치는 영향을 살펴보기 위해 강력분에 가압가열과 microwave를 단독 또는 병행으로 처리하여 Ci-ELISA, SDS-PAGE 및 immunoblotting을 실시하였다. 가압가열 처리의 경우 시간이 길어질수록 IgG와의 결합력이 감소하였으며, 특히 50분 처리구에서 약 87%로 가장 낮은 결합력을 보였다. 또한 SDS-PAGE와 immunoblotting 결과에서도 무처리구에서 강하게 보였던 gliadin band가 가압가열 처리에 의해 거의 소실되고 항체와 반응하지 않았다. 가압가열 및 microwave를 병행 처리 시도 마찬가지로 gliadin의 결합력이 감소하였으며, 처리구 중 가압가열 50분, microwave 5분 처리구에서 약 93%로 가장 낮은 결합력을 보였다. 반면 microwave를 단독으로 처리한 경우에는 일부 단백질의 변화는 관찰되었으나, 항원성 감소에는 효과가 없음을 확인하여 단백질 변화가 항원성에는 큰 효과를 준 것 같지 않다. 이상의 결과를 통해 가압가열 단독 처리 및 가압가

열 및 microwave의 병행처리 시 gliadin의 항원성이 감소함을 확인하였다.

감사의 글

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

REFERENCES

- Park SY, Park KS, Im MH, Choi H, Chung MI, Kwon CH, Kim SG, Lee HK, Hong MK, Shim JH, Kim JH. 2009. Studies for the processing factors of pesticides during the milling of wheat grain. *Korean J Pesticide Sci* 13: 70-78.
- Sidhu JS, Al-Saqer J, Al-Zenki S. 1997. Comparison of methods for the assessment of the extent of staling in bread. *Food Chem* 58: 161-167.
- Park JY. 2002. Development of hypoallergenic bread using domestic wheat. *MS Thesis*. Sungshin Women's University, Seoul, Korea.
- Sampson HA. 1999. Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 103: 717-728.
- Lee SI. 2006. Food allergy. *Safe Food* 1: 12-17.
- Korea Food and Drug Administration. Labeling standards for foods etc. KFDA notification No. 2011 (Amendment on Mar. 31, 2010). <http://www.lawnb.com/data/Focuslawdata/lawnbfocusB0000014499.pdf> (Accessed Jan. 2011).
- Poole JA, Barriga K, Leung DY, Hoffman M, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. 2011. Timing of initial exposure to cereal grains and the risk of wheat allergy. *Pediatrics* 117: 2175-2182.
- Ostblom E, Lilja G, Ahlstedt S, van Hage M, Wickman M. 2008. Patterns of quantitative food-specific IgE-antibodies and reported food hypersensitivity in 4-year-old children. *Allergy* 63: 418-424.
- Park HB, Choi BS, Kim MN, Hong JY, Lee KE, Lee YJ, Beak JY, Kim KW, Sohn MH, Kim KE. 2010. A case of gluten allergy in a 4-year-old boy with recurrent urticaria. *Pediatr Allergy Respir Dis* 20: 292-296.
- 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.
- Usui Y, Nakase M, Hotta H, Urisu A, Aoki N, Kitajima K, Matsuda T. 2001. A 33-kDa allergen from rice (*Oryza sativa* L. *Japonica*). *J Biol Chem* 276: 11376-11381.
- 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.
- Gianibelli MC, Larroque OR, MacRitchie F, Wrigley CW. 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Am Assoc Cereal Chem* 1: 158-236.
- Shon DW. 2000. Food and allergy. *Food Sci Indus* 33(4): 2-9.
- Watanabe M, Miyakawa J, Ikezawa Z, Suzuki Y, Hirao T, Yoshizawa T, Arai S. 1990. Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins. *J Food Sci* 55: 781-783.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kim SJ, Kim KBWR, Song EJ, Lee 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.
- Kim KBWR, Kim SJ, Lee SY, Song EJ, Ahn DH. 2008. Changes in allergenicity of porcine serum albumin by microwave, sonication, high hydrostatic pressure. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28: 499-504.
- 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 Agric* 87: 951-956.
- Su M, Venkatachalam M, Teuber SS, Roux KH, Sathe SK. 2004. Impact of γ -irradiation and thermal processing on the antigenicity of almond, cashew nut and walnut proteins. *J Sci Food Agric* 84: 1119-1125.
- 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.
- Park JY, Ahn JY, Hahn YS. 2005. Development and quality evaluation of hypo-allergenic bakery products using home-grown wheat. *Korean J Food Sci Technol* 37: 736-740.
- 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 denaturation of bovine myosin. *Int J Food Sci Technol* 33: 401-410.
- 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.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Towbin H, 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.
- Mullin J. 1995. Microwave processing. In *New Methods of Food Preservation*. Gould GW, ed. Blackie Academy, London, UK. p 112-134.
- Kim MA. 1993. Use of microwave range, oven change on dietary type. *Korean J Soc Food Sci* 9: 1-6.
- Schofield JD, Bottomley RC, Timms MF, Booth MR. 1983. The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions. *J Cereal Sci* 1: 241-253.
- Hill AS, Skerritt JH. 1990. Determination of gluten in food using a monoclonal antibody-based competition enzyme immunoassay. *Food Agric Immunol* 2: 21-35.
- Restani P, Ballabio C, Cattaneo A, Isoardi P, Terracciano L, Fiocchi A. 2004. Characterization of bovine serum albumin epitopes and their role in allergic reactions. *Allergy* 59:

- 21-24.
34. Kwak JH, Kim KBWR, Lee CJ, Kim MJ, Kim DH, Sunwoo C, Jung SA, Kang JY, Kim HJ, Choi JS, Kim SW, Ahn DH. 2011. Changes in antigenicity of gliadin from medium flour by autoclave and microwave treatments. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1423-1429.
35. Alvarez-Alvarez 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.
36. Rumbo M, Chirido FG, Fossati CA, Añona MC. 1996. Influence of thermal treatment of food on the immunochemical quantification of gliadin. *Food Agric Immunol* 8: 195-203.
37. Waga J, Zientarski J, Obtulowicz K, Bilo B, Stachowicz M. 2008. Gliadin immunoreactivity and dough rheological properties of winter wheat genotypes modified by thio-redoxin. *Cereal Chem* 85: 488-494.