



Microwave, 초음파 및 초고압 처리에 의한 돼지 혈청 알부민의 항원성 변화

김꽃봉우리 · 김서진 · 이소영 · 송유진 · 안동현*

부경대학교 식품공학과/식품연구소

Changes in Allergenicity of Porcine Serum Albumin by Microwave, Sonication, and High Hydrostatic Pressure

Koth-Bong-Woo-Ri Kim, Seo-Jin Kim, So-Young Lee, Eu-Jin Song, and Dong Hyun Ahn*

Faculty of Food Science & Biotechnology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

Even though pork have frequently induced allergic reactions in Korea, few papers have been published on pork allergy. This study was carried out to investigate the changes in allergenicity of porcine serum albumin (PSA) by microwave, sonication, and high hydrostatic pressure (HHP). The binding ability of p-IgG to PSA treated with microwave (1, 5, or 10 min) directly decreased with increasing treatment time. Particularly, the binding ability of PSA treated 10 min was about 30%. Immunoblotting assay with p-IgG showed that band of PSA treated microwave directly disappeared at 5 and 10 min. However, the binding ability of PSA was not changed by the microwave treatment without heat. Also the reduction of allergenicity by sonication or HHP treatment was not found. In conclusion, allergenicity of PSA treated with microwave directly decreased with increasing time, therefore these results may be used for development of hypoallergenic pork.

Key words : porcine serum albumin, microwave, sonication, high hydrostatic pressure

서 론

알레르기란 말은 그리스어 'allos'에서 유래되었으며 이는 '변형된 것'을 뜻한다. 즉 알레르기는 인간에게 도움이 되거나 해를 끼칠 수 있는 변형된 면역상태를 의미하며 과민반응이라고도 한다(Haw, 1996). 알레르기를 유발하는 항원으로는 흡입성 항원, 식이성 항원, 약물 항원, 접촉성 항원 등이 있는데 이 중에서도 식품 또는 식품 첨가물에 의해 유발되는 식품 알레르기는 최근 식생활의 변화와 다양한 식품가공 기술로 인해 더욱 증가하고 있는 추세이다. 식품 알레르기는 식이 형태로 생체에 들어온 특정의 물질에 의해 발생하는 신체 과민반응으로 비만세포로부터 유리되는 화학매개물질로 인해 다양한 증상이 나타난다(Metcalf, 1991; Sicherer, 1999). 대표적인 증상은 두드러기, 홍반, 설사 및 구토 등이며 심한 경우에는 아나필락시스

스 쇼크 및 사망을 일으키기도 한다(Yunginger *et al.*, 1988). 대부분의 식품 알레르기는 출생 후 1-2년에 발생하며 연령이 증가함에 따라 유병률은 감소하게 된다. 식품 알레르기의 빈도는 종류, 연령, 지역에 따라 차이가 있지만 생후 1세경의 소아에서 8-10%, 성인에서는 약 2%의 유병률을 나타낸다(Bock, 1987). 국내에서는 대한소아알레르기 및 호흡기학회에서 1995년과 2000년 2회에 걸쳐 6-12세의 초등학생 및 13-15세의 중학생을 대상으로 설문조사를 하여 식품 알레르기의 유병율을 알아본 결과 식품 알레르기로 진단받은 적이 있다고 응답한 경우는 초등학생이 1995년과 2000년에 각각 4.2 및 4.7%, 중학생이 각각 3.8 및 5.1%로 조사되었다(Oh *et al.*, 2004). 식품 알레르기를 유발하는 원인 식품은 그 종류가 매우 다양하지만 우리나라에서는 식품 등의 표시기준의 제9조, 별지1에 나타난 내용에 따라 우유, 가금류의 알, 메밀, 땅콩, 대두, 돼지고기, 밀, 고등어, 계, 복숭아, 토마토, 새우의 항목을 주요 알레르기 유발 물질로 지정하고 있다. 식품 알레르기의 빈도를 알아보기 위하여 한 국내 대학병원에서 379명의 알레르기 천식 환자를 대상으로 연구를 수행한 결과 계란

*Corresponding author : Dong-Hyun Ahn, Faculty of Food Science & Biotechnology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea. Tel: 82-51-629-5831, Fax: 82-51-629-5824, E-mail: dhahn@pknu.ac.kr

(22.7%), 돼지고기(14.8%), 복숭아(14.0%), 고등어(12.7%), 닭고기(11.1%), 우유(10.0%), 메밀(7.4%), 계(6.3%), 밀가루(4.7%) 및 토마토(4.4%) 순서대로 알레르기 유발 빈도가 높았다(Kim *et al.*, 1995). 최근 보고된 다른 연구 결과에서는 어린이 74명을 대상으로 식품(총 21종류)에 대한 IgE 특이 항체량을 검사한 결과 혈액 내 IgE 농도가 높았던 어린이 그룹에서 치즈 24명, 돼지고기 21명, 콩 20명, 난백 20명, 우유 17명으로 IgE 항체와 반응한 주요 식품군을 알 수 있었다(Moon *et al.*, 2007). 최근에는 식품 알레르기를 억제하기 위하여 원인 물질을 제거하거나 변형하는 방법이 연구되고 있다. 국내에서는 물리적, 화학적, 효소적 처리를 이용하여 항원성 변화를 알아본 연구가 보고되고 있으며(Ryu *et al.*, 2000; Son *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2001; Byun *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2004; Ryu *et al.*, 2004; Ham *et al.*, 2007) 효소적 가수분해법을 이용한 저알레르기 분유가 개발되어 시판되고 있다. 하지만 돼지고기 알레르기에 대한 국내 연구는 교차반응(Choi *et al.*, 2007)이나 유발성분에 대해서만 보고되고 있을 뿐 돼지고기 알레르기를 저감화하는 방법에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 돼지고기의 주요 항원으로 밝혀진 PSA(Chung *et al.*, 2001)에 microwave, 초음파 및 초고압 처리를 하여 PSA의 항원성 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

표준항원 및 항체

PSA의 표준 항원은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 goat polyclonal-IgG는 Bethyl사(Bethyl laboratories Inc., USA)에서 구입하여 사용하였다. Anti-goat IgG peroxidase conjugate는 Sigma사(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

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

Lee 등(1998)의 방법을 변형하여 실시하였으며 costar 96-well flat bottom plate(469957; Nunc, Kamstrupvej, Denmark)에 0.2 M bicarbonate coating buffer(pH 9.6)를 이용하여 PSA를 일정 농도로 희석한 후 4°C에서 하룻밤 동안 coating 시켰다. 비 특이적 반응을 막기 위해 1% gelatin 용액으로 blocking한 후 0.01 M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.3)를 이용해 항원, 항체를 일정 농도로 희석한 다음 각각 50 μ L씩 분주하여 반응 시켰다. 그 후 2차 항체와 OPD(*O*-phenylenediamine, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 용액으로 반응시키고 2 M H₂SO₄로 반응을 중지시켜 ELISA reader(Model 550, Bio-rad, USA)로 490 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 단계별 반응

조건은 37°C에서 2시간이고 각 단계가 끝날 때마다 0.01 M PBST(phosphate buffered saline containing 0.05%(v/v) tween 20)용액으로 3회 수세하였다.

Ci-ELISA의 적정곡선

표준 항원과 1차 항체와의 최적 결합 농도를 찾기 위해 적정곡선을 작성하였으며 Lee 등(1998)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 즉 coating buffer(pH 9.6)에 5, 10 및 20 μ g/mL로 희석된 표준항원을 well에 넣은 다음 4°C에서 하룻밤 coating시키고 0.01 M PBS(pH 7.3)를 이용하여 희석된 1차 항체를 100 μ L씩 넣었다. 이하 모든 과정은 Ci-ELISA의 실험조건과 동일하다.

Ci-ELISA의 표준곡선

Ci-ELISA의 실험조건으로 표준항원을 coating 시킨 well에 0.01 M PBS(pH 7.3)를 이용하여 200 μ g/mL에서 0.195 μ g/mL까지 희석된 항원을 각각 50 μ L씩 분주한 후 titration curve에서 결정된 항체의 희석농도로 50 μ L씩 분주하였다. 이하 모든 과정은 Ci-ELISA의 실험조건과 동일하며 표준 항원과 항체의 100% 결합을 위해 항체 50 μ L와 0.01 M PBS(pH 7.3) 50 μ L만을 well에 첨가하였으며 blank로서 0.01 M PBS(pH 7.3) 100 μ L를 첨가하였다.

Microwave 처리

중류수로 채운 beaker에 PSA가 들어있는 시험관을 넣은 후 중탕으로 1, 5 및 10분간 microwave 처리하였다. 열의 작용을 배제하기 위해 PSA가 들어있는 시험관을 얼음물에 넣고 1분 간격으로 얼음물과 교환하면서 온도를 6-9°C로 유지시켜 1, 5 및 10분간 microwaveoven(KOR-102KS, Daewoo, Korea)로 처리하여 측정하였다. 이 때 microwave 처리 시 사용한 주파수는 2,450 MHz이었다.

초음파 처리

PSA를 시험관에 담은 후 지름 1인치 tip을 사용한 초음파 분쇄기(VC 100, Sonics & Materials, Japan)로 pulse 20%, 20 \pm 1 Watts, pulse on/off 5 sec의 조건 하에서 5, 10, 30 및 60분간 초음파 처리하였다. 이 때 초음파로 인한 열 발생을 막기 위하여 시험관 주위에 얼음물을 채워 사용하였다.

초고압 처리

Polyethylene bag에 PSA를 담아 진공 포장한 다음 초고압기(ABB Autoclave Systems Inc., OHIO, USA)의 processing chamber에 넣어 25-40°C에서 200, 300 및 400 MPa의 압력으로 각각 10분간 처리하였다. 이 때 감압 시간은 5초 정도로 소요되었으며 가압 시간은 30-80초가 소요되었다.

Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)

물리적 처리에 의한 PSA의 변화를 관찰하기 위하여 Laemmli(1970)의 방법으로 SDS-PAGE를 실시하였으며 12% polyacrylamide gel(Acrylamide:Bis=30:0.8)을 사용하였다.

Immunoblotting

Towbin 등(1979)의 방법을 참고하여 SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 methanol-activated polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane에 electrotransfer한 후 각 strip을 3% gelatin으로 1시간 동안 실온에서 blocking 시켰다. 1차 항체는 1% gelatin을 사용하여 1:500으로 희석한 후 실온에서 3시간 30분 동안 반응시키고 TBST(tris buffered saline containing 0.1%(v/v) tween 20)로 3회 세척하였다. TBST를 사용하여 1:1000으로 희석시킨 2차 항체를 넣고 실온에서 1시간 반응시킨 후 TBST로 3회 세척하였으며, DAB (3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)용액을 기질로 사용하여 발색시킨 다음 반응정도를 관찰하였다.

결과 및 고찰

Ci-ELISA의 적정곡선

항체와 결합하는 표준항원과 goat polyclonal-IgG와의 최적 결합 희석 농도를 찾기 위하여 titration curve를 그린 결과 10 µg/mL의 농도로 희석한 항원이 각각의 희석 항체와 가장 강하게 반응하였으며 항체는 2 µg/mL로 희석하였을 때 각각의 희석 항원과 가장 강하게 반응하였다. 따라서 coating 항원의 희석농도는 10 µg/mL, 항체는 2 µg/mL로 실험에 사용하였다.

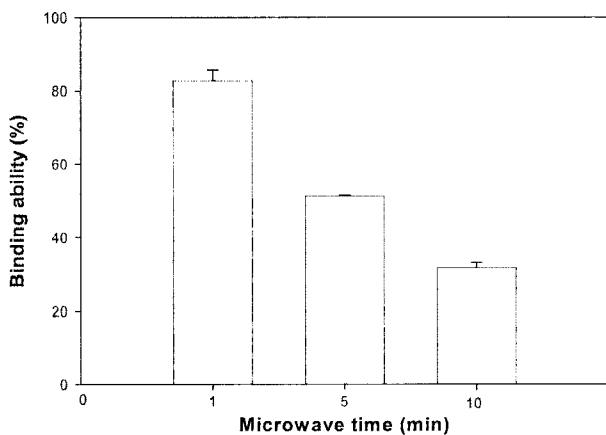


Fig. 1. The binding ability of goat p-IgG to PSA treated with microwave indirectly. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = Bt/Bo×100. Bt; binding ability of PSA treated with microwave, Bo; binding ability of PSA non-treated.

Ci-ELISA의 standard curve

10 µg/mL 농도의 항원과 2 µg/mL 희석농도의 goat p-IgG로 standard curve를 그린 결과 p-IgG와 반응하는 PSA의 농도는 다음의 식으로 구할 수 있었다.

$$x = e^{\left(\frac{2.0628-y}{0.3045}\right)}$$

x = p-IgG와 반응하는 PSA의 농도

y = 흡광도

이 때 p-IgG와 반응하는 PSA의 최적 검출 농도 범위는 0.78 µg/mL에서 200 µg/mL이었으며 오차 범위는 p ≤ 1이었다.

Microwave 처리에 의한 항원성 변화

PSA의 항원성 변화를 살펴보기 위해 microwave로 1, 5

PSA →

Fig. 2. SDS-PAGE (left) and Immunoblotting (right) of PSA treated with microwave indirectly. Samples are (1) untreated PSA, (2) 1 min, (3) 5 min, (4) 10 min.

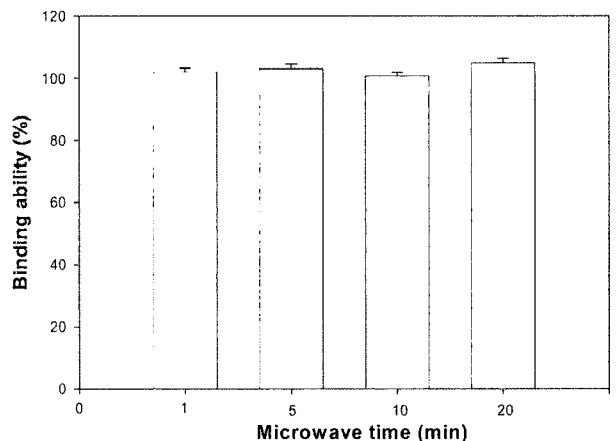


Fig. 3. The binding ability of goat p-IgG to PSA treated with microwave without heat. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = Bt/Bo × 100. Bt; binding ability of PSA treated with microwave without heat, Bo; binding ability of PSA non-treated.

및 10분 처리한 후 Ci-ELISA를 실시한 결과, 1, 5 및 10분 처리한 PSA가 항체와 각각 81, 50, 30% 정도의 결합력을 나타내어 처리시간이 증가함에 따라 결합력이 감소하는 것을 알 수 있었다. SDS-PAGE 로 조사한 결과에서는 5, 10분 처리시에 PSA band의 강도가 많이 약해졌으며 무처리구와 비교 시 처리구의 PSA band가 저분자 펩타이드로 많이 분해된 것을 알 수 있었다. Immunoblotting 결과에서도 5, 10분 처리시에 PSA가 항체와 거의 반응하지 않아 SDS-PAGE 결과와 일치함을 알 수 있었다. 한편 열을 배제한 microwave 처리에서 PSA의 항원성 변화를 살펴보았을 때 Ci-ELISA 결과에서는 microwave 처리구 모두 큰 변화 없이 높은 결합력을 유지하였다. SDS-PAGE에서도 처리구의 PSA band가 무처리구와 비교 시 큰 차이를 보이지 않았으며 immunoblotting 결과에서도 처리구 모두 PSA가 항체와 강하게 반응하였다. 모든 식품의 분

자는 쌍극자로 구성되어 한쪽은 양극, 다른 한쪽은 음극 전하를 띠고 있다. 여기에 전계를 가하면 물체를 구성하는 모든 분자들이 양극전하는 음극으로, 음극전하는 양극으로 정렬하게 된다. 이렇게 전계의 방향을 연속적으로 바꾸어 주면 분자들은 전계에 따라 재정렬을 하게 되고, 재정렬하는 과정에서 분자의 마찰열이 발생하게 된다(Lee, 1989). 이러한 원리를 이용한 microwave는 비교적 빠른 시간에 식품내부를 가열할 수 있어서 현재 널리 보급되어 있다. 하지만 microwave 처리 시 열을 배제한 경우는 분자들 간의 상호운동이 PSA의 결합 및 구조에 영향을 미치지 않아 항원성 변화에 큰 영향을 주지 않은 것으로 사료된다. Kim 등(2006)이 연구한 결과에서도 열을 배제한 microwave 처리는 새우의 항원성 변화에 큰 영향을 주지 않아 본 연구결과와 일치함을 알 수 있었다.

초음파 처리에 의한 항원성 변화

초음파가 항원성 변화에 미치는 영향을 살펴보기 위해 돼지고기의 주요 항원인 PSA에 초음파 처리(5, 10, 30 및 60분 한 후 Ci-ELISA를 실시하여 PSA에 대한 goat p-IgG와의 결합력을 알아보았다. 그 결과, 시간처리에 따른 큰 변화 없이 초음파 처리구 모두 약 78% 정도의 높은 결합력을 나타내었다. 하지만 SDS-PAGE 결과에서는 초음파 처리구의 PSA band가 무처리구와 비교 시 저분자 펩타이드로 분해되어 band가 약해진 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 작은 크기의 고분자 용액보다 큰 크기의 고분자 용액들이 초음파 처리에 의해 더 쉽게 절단되기 때문에 나타나게 된다(Jeong *et al.*, 1992). Immunoblotting에서는 처리구의 PSA가 항체와 거의 반응하지 않았는데 이는 초음파 처리가 PSA의 epitope는 파괴하지 못하였기 때문에 PSA에 대한 항체의 결합력이 감소하지 않은 것으로 사료된다. Zhenxing 등(2006)의 연구에서도 새우 추출물과 새

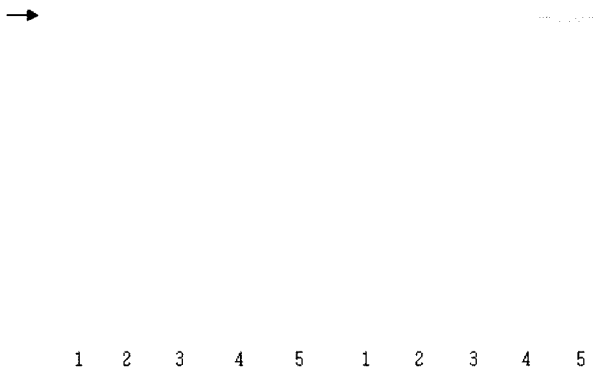


Fig. 4. SDS-PAGE (left) and Immunoblotting (right) of PSA treated with microwave without heat. Samples are (1) untreated PSA (2) 1 min, (3) 5 min, (4) 10 min, (5) 20 min.

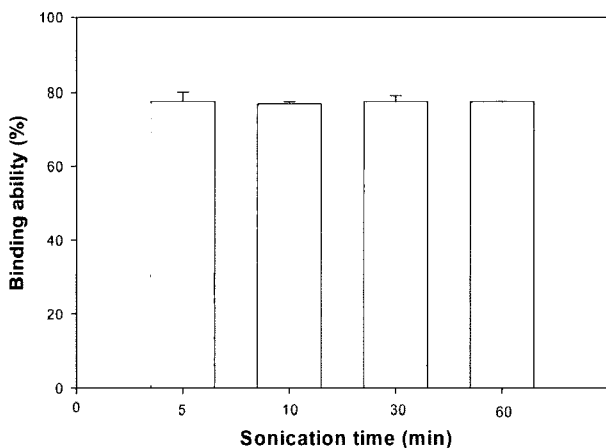


Fig. 5. The binding ability of goat p-IgG to PSA treated with sonication. The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = $B_t/B_o \times 100$. B_t ; binding ability of PSA treated with sonication, B_o ; binding ability of PSA non-treated.

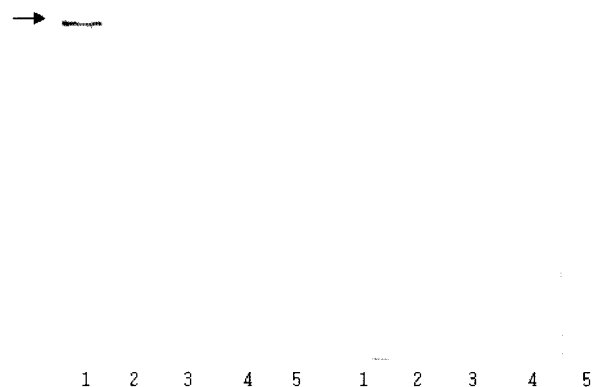


Fig. 6. SDS-PAGE (left) and Immunoblotting (right) of PSA treated with sonication. Samples are (1) untreated PSA, (2) 5 min, (3) 10 min, (4) 30 min, (5) 60 min.

우의 주요 항원인 Pen a 1에 열을 배제한 초음파 처리를 하였을 때 새우의 항원성이 거의 변화하지 않았다고 보고 하였다.

초고압 처리에 의한 항원성 변화

PSA에 200, 300 및 400 MPa로 각각 10분 처리한 후 Ci-ELISA로 항원성 변화를 살펴본 결과 초고압 처리구 모두 PSA와 항체와의 결합력이 약 98%로 높은 결합력을 유지하였다. SDS-PAGE 결과에서는 초고압 처리구의 PSA band가 무처리구와 비교 시 큰 변화를 보이지 않았으며 immunoblotting에서도 초고압 처리한 PSA가 항체와 강하게 결합하였다. 열에 의한 단백질 변성이 주로 공유결합의 변성과 분해에 기인하는 것과는 달리 고압 처리에 의한 단백질 변성은 분자의 소수성 또는 이온결합을 분해시키는데 단백질의 분자구조가 풀어지면서 단백질의 부피도

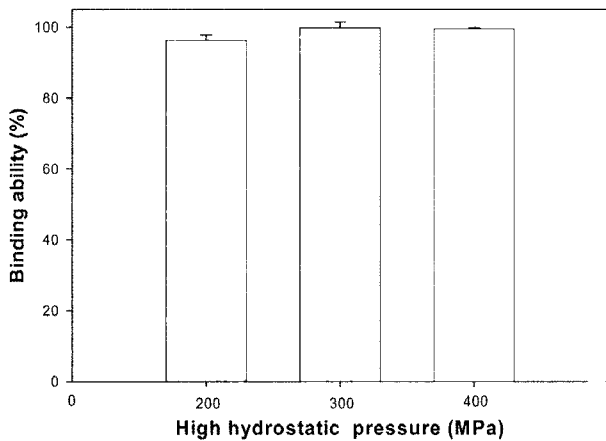


Fig. 7. The binding ability of goat p-IgG to PSA treated with high hydrostatic pressure (HHP). The binding ability was measured by Ci-ELISA. Binding ability = Bt/Box100. Bt; binding ability of PSA treated with HHP, Bo; binding ability of PSA non-treated.

→

1 2 3 4 1 2 3 4

Fig. 8. SDS-PAGE (left) and Immunoblotting (right) of PSA treated with high hydrostatic pressure (HHP). Samples are (1) untreated PSA, (2) 200 MPa, (3) 300 MPa, (4) 400 MPa.

감소한다(Koo *et al.*, 2007). 따라서 PSA의 경우 비가열 처리인 고압 처리가 PSA 분자간의 결합 및 epitope에 영향을 미치지 못한 것으로 사료된다. 이러한 결과는 Han 등(2006)이 쇠고기의 주요 항원인 BSA에 초고압 처리를 하였을 때 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다는 연구와도 일치한다. 하지만 Kim 등(2006)의 연구에서는 초고압 처리에 의해 새우의 항원성이 400 MPa까지 압력이 증가함에 따라 항체와의 결합력이 감소하였다고 보고하였는데 이는 식품 항원의 종류 및 특성에 따라 초고압 처리에 대한 감수성이 다르기 때문이다.

요 약

Microwave, 초음파 및 초고압 처리에 의한 PSA의 항원성 변화를 살펴본 결과는 다음과 같다. microwave 처리에 의한 변화를 알아본 결과 처리시간이 증가함에 따라 PSA와 항체와의 결합력이 감소하였으며 특히 10분 처리 시에 약 30% 정도로 가장 낮은 결합력을 나타내었다. SDS-PAGE 결과에서는 5, 10분 처리 시에 PSA band가 많이 약화되었으며 immunoblotting에서도 5, 10분 처리한 PSA가 항체와 거의 반응하지 않았다. 하지만 열을 배제하고 microwave 처리한 경우에는 처리구 모두 큰 변화 없이 높은 결합력을 유지하였다. 초음파 처리(5, 10, 30 및 60분)에 의한 PSA의 항원성 변화를 살펴본 결과에서는 초음파 처리구 모두 약 78% 정도의 높은 결합력을 보였으나 immunoblotting에서는 초음파 처리한 PSA가 항체와 거의 반응하지 않았다. PSA에 초고압 처리(200, 300 및 400 MPa)한 후 항원성 변화를 살펴본 결과 초고압 처리구 모두 PSA와 항체와의 결합력이 약 98%로 높은 결합력을 유지하였으며 immunoblotting에서도 초고압 처리구의 PSA가 항체와 강하게 결합하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 열을 배제한 microwave, 초음파 및 초고압 처리는 PSA의 항원성을 감소시키지 못하였으나 열을 배제하지 않은 microwave 처리는 시간이 증가함에 따라 PSA의 항원성을 크게 감소시켰으므로 이를 저 알레르기 돼지고기 식품 개발에 응용할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Bock, S. A. (1987) Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics* **79**, 683-688.
- Byun, M. W., Seo, J. H., Kim, J. H., Kim, M. R., Oh, N. S., and Lee, J. W. (2004) The comparison of a conformational alteration of ovalbumin irradiated with radiation of gamma and electron beam. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1169-1174.
- Choi, S. J., Hur, G. Y., Shin, S. Y., and Park, H. S. (2007) A

- case of adult onset cow's milk allergy presenting beef and pork meat allergy. *J. Asthma Allergy Clin. Immunol.* **27**, 200-203.
4. Chung, H. J., Park, J. H., Kim, J. H., Kim, Y. O., Chung, S. T., Kim, J. H., Cho, E. D., Cho, D. H., Noh, G. W., and Kim, D. S. (2001) Identification of allergens in pork meat. *J. Pharm. Kor.* **45**, 39-45.
 5. 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. U., and Lee, W. K. (2007) Effects of gamma irradiation on queso blanco cheese. *J. Kor. Dairy Technol. Sci.* **25**, 15-20.
 6. Han, G. D., Fan, J. P., and Suzuki, A. (2006) Changes of SDS-PAGE pattern and allergenicity of BSA and BGG in beef extract treated with heat and high pressure. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 594-599.
 7. Haw, C. R. (1996) Skin allergy. *J. Kyung Hee Univ. Med. Cent.* **12**, 108-116.
 8. Jeong, S. Y., Kim, K. S., Kim, Y. J., Park, M. H., and Chung K. H. (1992) Ultrasonic degradation of poly(styrene-co-divinylbenzene) marcrogel. *Polymer* **16**, 138-144.
 9. Kim, K. E., Jeoung, B. J., and Lee, K. Y. (1995) The incidence and principal foods of food allergy in children with asthma. *Pediatr. Allergy Respir. Dis.* **5**, 96-105.
 10. Kim, S. M., Park, J. G., Kim, K. B. W. R., Lee, J. W., Byun, M. W., Park, S. M., and Ahn, D. H. (2006) Study on the changes in allergen and allergenicity originated from shrimp by physical treatments. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 990-996.
 11. Koo, S. Y., Cha, K. H., and Lee, C. D. (2007) Effects of high hydrostatic pressure on foods and biological system. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **40**, 23-30.
 12. Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
 13. Lee, H. W. (1989) Structure and principle of microwave. *Kor. J. Food Cookery Sci.* **5**, 85-87.
 14. Lee, J. W., Park, J. H., Kim, S. B., Kim, C. J., Hyun, C. K., and Shin, H. K. (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.
 15. Lee, J. W., Yook, H. S., Cho, K. H., Kim, M. R., Kim, C. J., and Byun, M. W. (2001) Effects of heat treatment on the antigenicity of gamma-irradiated egg white albumin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 848-853.
 16. Metcalfe, D. D. (1991) Immune mechanism in food allergy. *Clin. Exp. Allergy* **21**, 321-324.
 17. Moon, E. K., Bae, H. C., Nam, M. S., and Gereltuya, R. (2007) The relationship between food allergen sensitization and allergic disease in childhood. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **27**, 337-344.
 18. Oh, J. W., Pyun, B. Y., Choung, J. T., Ahn, K. M., Kim, C. H., Song, S. W., Son, J. A., Lee, S. Y., and Lee, S. I. (2004) Epidemiological change of atopic dermatitis and food allergy in school-aged children in Korea between 1995 and 2000. *J. Kor. Med. Sci.* **19**, 716-723.
 19. Park, J. Y., Ahn, J. Y., Hong, H. O., and Hahn, Y. S. (2004) Reduction of allergenicity of wheat flour by enzyme hydrolysis. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**, 152-157.
 20. Ryu, J. H., Lee, J. M., and Shon, D. H. (2000) Changes in the antigenicity of chicken egg white by the treatments of protease, trifluoromethanesulfonic acid, heat and NaOH. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 720-725.
 21. Ryu, J. H., Park, C. W., Lee, J. M., and Shon, D. H. (2004) Antigenicity changes of ovomucoid and ovalbumin in chicken egg white by NaOH, heat and protease treatments. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**, 147-151.
 22. Sicherer, S. H. (1999) Manifestations of food allergy : Evaluation and management. *Am. Fam. Physician* **59**, 415-424.
 23. Son, D. Y., Lee, B. R., Dong, W. S., Lee, K. S., Ahn, K. M., Nam, S. Y., and Lee, S. I. (2000) Allergenicity change of soybean proteins by thermal treatment. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 959-963.
 24. Towbin, H. T., Staehelin, T., and 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.
 25. Yunginger, J. W., Sweeney, K. G., Sturmer, W. Q., Giannandrea, L. A., Teigland, J. D., Bray, M., Benson, P. A., York, J. A., Biedrzycki, L. and Squillace, D. L. (1988) Fatal food-induced anaphylaxis. *J. Am. Med. Assoc.* **260**, 1450-1452.
 26. Zhenxing, L., Caolimin, L., and Jamil, K. (2006) Reduction of allergenic properties of shrimp (*Penaeus Vannamei*) allergens by high intensity ultrasound. *Eur. Food Res. Technol.* **223**, 639-644.