Food Engineering Progress
Vol. 16, No. 4. pp. 314~324 (2012.11)

산업식품공학
Food Engineering Progress

메밀 알레르기 연구의 최근 동향 : 총설

이채윤 · 이수진 · 오상석*
이화여자대학교 식품공학과

Recent Trends in Buckwheat Allergen Research : a mini review

Chaeyoon Lee, Sujin Lee, and Sangsuk Oh*
Department of Food Science and Technology, Ewha Womans University

Abstract

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is one of the traditional crops and there is a growing global attention as a healthy food because of its rich nutrition. Buckwheat allergy is an IgE mediated immediate-type reaction and it is considered to be a critical allergen because it causes severe allergic reactions by small amount of intake particularly in children. In this issue of Buckwheat allergy, research papers about various topics - major allergens of buckwheat, clinical reports, detection methods and methods to reduce allergenic reaction - were reviewed. Major buckwheat allergens reported and listed on IUIS are Fag e 1 with molecular weight 24 kDa, Fag e 2 with molecular weight 16 kDa and Fag e 3 with molecular weight 19 kDa. PCR and ELISA methods have been used to detect buckwheat allergens. Recently, the LC/MS method has been developed to apply to detect buckwheat allergens. In addition to detection methods development, there have been efforts to reduce buckwheat allergens using chemical and/or physical methods, but not commercialized yet.

Key words: Buckwheat, allergy, nutrition, detection, reduction

서 론

메밀은 마디풀과(Polygonacea)에 속하는 식물로, 중국에서 1000 BC부터 재배해온 오랜 역사를 지닌 작물이다. 전 세계적으로 재배되고 있는 메밀종은 9 종이 있으며, 주로 경작되는 메밀 종은 보통메밀(*Fagopyrum esculentum*)과 단달종메밀(*Fagopyrum tataricum)*이다. 보통메밀은 한국과 일본, 중국에서 주로 생산되며, 단달종메밀은 북인도, 부탄 및 네팔에서 생산되고 있다(Christa & Soral-mietana, 2008). 이 밖에도 러시아, 우크라이나, 슬로베니아, 폴란드, 헝가리, 브라질 등에서도 생산되고 있다(Kreft et al., 1999; Li & Zhang, 2001; Bonafaccia et al., 2003). 가장 많은 메밀을 생산하는 나라는 러시아로, 서부 및 북서부 지역을 중심으로 1 억 에이커 이상의 토지에서 헥타르 당 3.4 톤의 메밀을 생산한다(Alekseeva, 1993). 두 번째로 메밀을 많이 생산하는 나라는 중국이며 1 천만 에이커 이상의 토지에서 95 만톤 이상의 메밀을 생산한다. 미국에서는 몬타나, 워싱턴, 펜실베니아 등 다양한 지역에서 메밀을 생산하고 있다. 미국의 연간 메밀 생산량은 17,000-20,000 톤 정도로 추정된다(Li & Zhang, 2001).

역사적으로 메밀은 유럽에서 중요한 작물로 여겨져 왔으며 식재료로 흔히 이용되어져 왔다. 최근에는 메밀이 건강증진에 도움이 된다고 알려져 섭취가 점차 늘고 있다(Nmcov et al., 2011). 메밀은 아시아지역과 러시아 음식의 주재료로 이용하고 있다. 유럽에서는 메밀가루를 'French Gallettes', 독일의 'Poffertjes', 이탈리아의 'pizzoccheri'와 'Polenta Taragna'등 전통 음식의 재료로 사용하고 있으며(Heffler et al., 2011) 일본에서는 전통음식인 소바국수로 섭취하며 최근에는 메밀가루를 섞어 만든 쿠키나 파스타 또한 이용되고 있다(Morita et al., 2006). 한국에서 메밀에 관한 최초의 기록은 13 세기 고려왕조 시대에 출판된 "향약구급방(鄕藥救急方)"에서 찾아볼 수 있으며, 이 시대에 메밀로 국수를 만들어 먹었다는 기록이 있고(Choi et al., 2003) 최근에는 메밀가루를 냉면, 메밀국수, 메밀묵 등의 재료로 널리 이용하고 있다(Hong et al., 1997).

메밀의 영양학적 가치가 알려지면서 전 세계적인 섭취가 늘고 있으나 메밀 알레르기에 관한 연구는 초기단계에 머무르고 있다. 현재까지 알려져 있는 메밀의 주요 알레르겐

*Corresponding author: Sangsuk Oh, Department of Food Science and Technology, Ewha Womans University, 11-1 Daehyun-dong, Seodaemun-gu, Seoul, 120-750, Korea
Tel: +82-2-3277-3558; Fax: +82-2-3277-4213
E-mail: ssoh71@ewha.ac.kr
Received September 15, 2012; revised October 8, 2012; accepted October 8, 2012

은 16, 19, 24 kDa 단백질이지만 최근 환자 혈청을 이용한 allergenicity를 확인한 연구들에서는 이 세 가지 이외에도 9 kDa, 14 kDa, 30 kDa, 43 kDa, 67 kDa과 split 19 kDa 또한 메밀의 알레르겐으로 밝혀졌다. 메밀 알레르기 증상이 없는 환자의 혈청에서도 24 kDa, 16 kDa 및 9 kDa과 결합하는 것으로 나타나(Park et al., 2000) 메밀 알레르겐에 대한 보다 정확하고 체계적인 연구의 필요성이 대두되고 있다. 또한 식품 알레르기는 교차반응을 보이는 경우가 많으나, 메밀 알레르겐은 채소 식품과의 교차반응성이 적어(Park et al., 2000) 다른 식품 알레르겐과의 비교를 통한 알레르겐 연구가 용이하지 않아 독자적인 연구가 필요한 것으로 사료된다. 앞으로 동양권 뿐만 아니라 서양권에서도 메밀 섭취 증가가 예상되는 만큼 안전한 메밀 식품을 생산하기 위한 기초 연구로서 지금까지 연구된 주요 알레르겐의 특성, 검출법, 저감화 등의 기초연구 자료를 앞으로의 메밀 알레르겐 연구에 활용할 수 있도록 정리하였다.

메밀의 영양학적 성질

메밀 단백질은 필수 아미노산의 함량이 높아 영양학적으로 중요한 식품이다. 메밀은 단백질, 식이섬유, 비타민 B1, B2, B6의 함량이 높아 대체 식품으로서 중요한 의미를 갖는다(Bonafaccia et al., 2003). 메밀에 함유된 flavonoids는 혈청중성지질농도의 개선효과를 보이며, 혈당 감소와 혈장 콜레스테롤 농도를 감소시켜 기능성 식품의 원료로 사용되기도 한다(Choi et al., 2003). 또한 메밀은 Zn, Cu, Mn, Se 등의 미량원소와(Stibilj et al., 2004) K, Ca, Mg 등(Wei et al., 2003)을 함유하고 있다. 메밀에 포함되어 있는 rutin과 catechin을 비롯한 여러 폴리페놀은 항산화제로서 작용하며(Oomah & Mazza, 1996; Wanatabe, 1998), 식이섬유의 주요 공급원으로서 비만과 당뇨 예방에 적용하기 위한 연구도 진행되고 있다(Brennan, 2005). 메밀 단백질은 다른 단백질에 비해 아미노산 구성의 균형이 잘 맞추어져 있으며(Li & Zhang, 2001) 특히 일반적인 곡물에서 부족한 arginine (10.5 mg/100 g)과 lysine(6 mg/100 g)이 풍부하게 함유되어 있다(Bonafaccia et al., 2003). 밀과 비교했을 때 lysine과 arginine은 약 2 배, threonine과 tryptophan은 약 1.5 배 이상 함유되어있어 필수 아미노산에 대한 영양학적 가치가 높다(Eggum et al., 1981). Table 1은 USDA의 National Nutrient Database에서 메밀의 영양학적 성분을 분석한 자료이다(USDA, 2011).

Table 1. Nutritional Composition of Buckwheat.

	Nutrient	Unit	Value per 100.0 g
Proximates	Water	g	9.75
	Energy	kcal	343
	Protein	g	13.25
	Total lipid (fat)	g	3.40
	Carbohydrate, by difference	g	71.50
	Fiber, total dietary	g	10.0
Minerals	Calcium, Ca	mg	18
	Iron, Fe	mg	2.20
	Magnesium, Mg	mg	231
	Phosphorus, P	mg	347
	Potassium, K	mg	460
	Sodium, Na	mg	1
	Zinc, Zn	mg	2.40
Vitamins	Thiamin	mg	0.101
	Riboflavin	mg	0.425
	Niacin	mg	7.020
	Vitamin B-6	mg	0.210

메밀의 주요 알레르겐

알레르기반응은 크게 네 가지 유형으로 구분되며 제1, 제2, 제3형은 항체가 관여하는 체액성 면역반응이며 제1형과 제2형은 세포표면에서 반응이 일어나고, 제3형은 세포외액에서 반응한다. 제4형은 주로 T세포와 대식세포가 관여하는 세포매개 면역반응으로써 항원에 노출된 후 증상이 나타나기 까지 수일이 걸리는 지연형 반응이다(Table 2). 식품 알레르기는 알레르겐에 감작되는 경로에 따라 제1형 및 제2형 식품 알레르기로 구분한다. 제1형 식품 알레르기는 동물성 혹은 식물성 단백질에 의한 알레르기이며 소화기를 통해 감작된다. 제1형 알레르기는 즉시형 알레르기라고도 하며, 알레르겐이 면역 글로불린 IgE 감작 mast cell을 자극하면 mast cell에서 히스타민, 세로토닌, 헤파린 등의 화학 전달 물질이 유리되어 그 작용으로 염증을 비롯한 알레르기 증상이 나타나게 된다(Fig. 1). 제1형 식품 알레르기에 관여하는 알레르겐은 수용성의 당단백(glycoprotein)으로서 10-70 kDa 정도의 크기이며, 열이나 산, 소화 효소 등에 의해서 변형되지 않은 채 항원성을 유지하는 것이 많

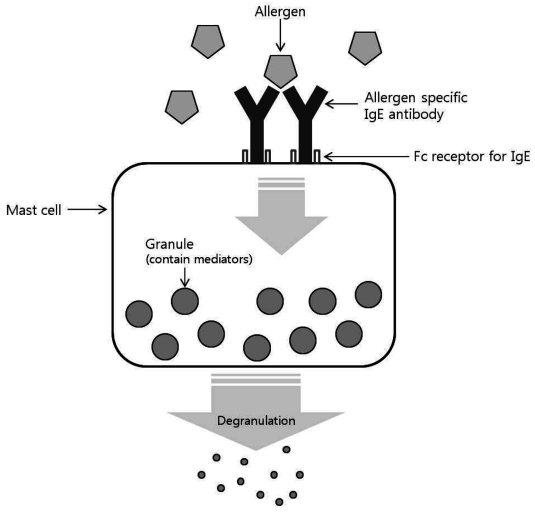

Fig. 1. Mechanism of food allergy.

Table 2. Four types of hypersensitivity reaction mediated by immunological mechanisms that cause tissue damage (Janeway et al., 2001).

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
Immune reactant	IgE	IgG	IgG	T_H1 cells	T_H2 cells	CTL
Antigen	Soluble antigen	Cell- or matrix- associated antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Cell- or matrix-associated antigen
Effector mechanism	Mast cell activation	Phagocytes, NK cells	FcR^+ cells complement	Macrophage activation	Eosinophil activation	Cytotoxicity
Example of hypersensitivity reaction	Allergic thinitis, asthma, systemic anaphylaxis	Some drug allergies	Serum sickness, Arthus reaction	Contact dermatitis, tuberculin reaction	Chronic asthma, chronic allergic thinitis	Contact dermatitis

으며, 장점막에 머무르는 시간이 길어서 아나필락시스 반응과 같은 알레르기 반응을 일으키는 경우도 있다. 반면, 제2형 식품 알레르기에 관여하는 알레르겐은 제1형과는 달리 구조적으로 불안정하고 열이나 효소에 의해 쉽게 분해되는 특성이 있다. 이는 구조적으로 상동성이 있는 흡입 알레르겐에 감작되어 교차반응을 통해 증상이 발생하며, 원인 식품 섭취 후 즉시 구강 내 소양증 및 부종이 나타나며 심한 경우 아나필락시스까지 일어난다(Trevino & Dixon, 1997).

메밀 알레르기는 일반적으로 제1형 알레르기에 속하며 메밀 알레르기의 증상으로는 두드러기, allergic rhinoconjuctivitis, 호흡곤란, 아낙필락시스 등이 있고(Wieslander, 1995), 심한 경우에는 아낙필락시스 쇼크의 급격한 혈압 강하로 인해 출혈성 질환을 보이기도 한다(Christa & Soral-mietana, 2008). 메밀 알레르기는 흔하지는 않으나, 매우 적은 양의 알레르겐으로도 심한 증상을 보이기 때문에 강력한 알레르겐으로 여겨진다(Yoshimasu et al., 2000).

Mutiah & Kagen(1990)은 9-40 kDa의 단백질이 메밀의 주요 알레르겐임을 주장하였으며 이후 지금까지 강한 IgE 결합력을 보이는 메밀 알레르겐으로써 17, 50, 100 kDa(Yanagihara, 1980), 8-9 kDa(Yano et al., 1989), 24 kDa(Urisu et al., 1994), 19, 16, 9 kDa(Park et al., 2000; Lien & Kreft, 2005), 14, 18 kDa(Yoshimasu et al., 2000)이 보고되었으며, 메밀의 수용성 분획물로부터 22, 36, 39-40, 70-72 kDa 의 알레르겐 단백질이 보고되었다(Nair & Adachi, 1999; Nair et al., 1999). 이밖에도 22 kDa(Yoshioka et al., 2004)과 15 kDa (Morita et al., 2006) 또한 메밀의 주요 알레르겐으로 보고되었다. 특히 Park et al.(2000)의 연구에서는 Urisu et al. (1995)의 연구에서 주요 메밀 알레르겐으로 알려진 24 kDa 단백질의 경우 메밀 알레르기 환자 및 무증상 감작군에서 모두 반응을 보였으나, 19 kDa 단백질은 메밀 섭취 후 알레르기 증상을 보인 환자에게서만 특이적인 반응을 보여 19 kDa 알레르겐의 생체지표로서의 가능성을 제시하였다 (Park et al., 2000).

국제적 기관으로서, 알레르겐 정보 기관으로 International Union of the Immunological Societies(IUIS) Allergen Nomenclature Sub-Committee 및 Allergome이 있다. 대부분의 알레르기 유발물질은 IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee에 의해 공식적으로 명명되고 Allergome 데이터베이스에 포함된다. 국제적인 알레르기 관련 저널에 실린 알레르기 유발물질들은 WHO에 보고된 후 데이터베이스에 포함된다. IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee 웹사이트에서 이용 가능한 데이터들은 Allergome 데이터베이스에도 동일하게 저장되며, 보다 엄격한 면역학적 · 알레르기학적 기준에 따라 규정된 알레르겐들만이 IUIS Allergen Nomenclature에 포함된다. WHO-IUIS에는 보통메밀의 주요 알레르겐으로 24 kDa으로 알려진 Fag e 1과 16 kDa인 Fag e 2, 그리고 19 kDa의 Fag e 3 세 가지 알레르겐이 등록되어있다. 반면 Allergome에는 WHO-IUIS에 등록된 3 가지 알레르겐 외에 Fag e T1이라는 trypsin inhibitor도 포함되어 있다(Table 2). Fag e 1은 Urisu et al.(1995)에 의해 밝혀진 24 kDa의 주요 알레르겐을 의미하며 현재까지 가장 많은 연구에서 주요 메밀 알레르겐으로 다루고 있는 단백질이다. 이는 11-12S globulin의 β chain으로 추측된다 (Urisu et al., 1995). Fag e 2는 2S albumin에 속하는 16 kDa의 알레르겐이며 최근 연구에서 α-amylase/trypsin inhibitor와 38%의 homology를 보였다(Park et al., 2000). Fag e 3는 7S Vicilin-like globulins이며, 최근 연구에서 쌀의 2S storage albumin과 50%의 homnology를 나타내었다 (Park et al., 2000). Fag e T1은 WHO-IUIS에서는 포함하고 있지 않은 알레르겐이며 trypsin inhibitor로서 기능을 하며, 9 kDa 알레르겐이 Fag e T1과 동일한 것으로 밝혀졌다(Park et al., 2000)(Table 3).

Park et al.(2000)의 연구에서 메밀의 주요 알레르겐인 19, 16, 9 kDa의 N-terminal sequence를 밝혔다. 이 연구 결과에 따르면 14 번째 아미노산 서열까지 밝힌 19 kDa의 N-terminal amino acid sequence는 쌀의 2S storage albumin family인 19 kDa α-globulin protein과 50%의 homology를 보였으며, 25 번째 아미노산 서열까지 밝힌 16 kDa의 N-terminal sequence는 Finger Millet의 α-amylase/trypsin inhibitor와 38%의 homology를 보였고, 9 kDa은 메밀의 trypsin inhibitor와 동일한 sequence를 임을 확인하였다(Park

Table 3. Official list of allergens of *Fagopyrum esculentum* (2012).

	Allergen name	Common Names	MW(SDS-PAGE)	Biological Function
WHO-IUIS	Fag e 1	-	-	-
	Fag e 2	2S albumin	16 kDa	-
	Fag e 3	Vicilin	19 kDa (fragment)	-
Allergome	Fag e 1	13S Globulin, BW24KD, Legumin	24 kDa	Legumin-like Proteins
	Fag e 2	2S Albumin, BWp16	-	2S Albumins
	Fag e 3	7S Vicilin	-	7S Vicilin-like Globulins
	Fag e TI	-	-	Trypsin Inhibitors

et al., 2000). 이후 19 kDa 알레르겐의 N-terminal sequence를 이용하여 full amino acid sequence를 밝힌 연구에서 19 kDa 알레르겐은 135 개의 아미노산으로 이루어져 있는 것으로 밝혀졌으며, 약 16 kDa의 분자량을 가진 것으로 추정하였다. 또한 English walnut, Cashew, Sesamumindicum의 알레르겐과 35% 이하의 homology를 확인하였다(Choi et al., 2007).

임상 보고

메밀은 동양권에서 식품으로 많이 이용되고 있는데, 특히 우리나라에서는 메밀가루는 식용으로, 껍질은 베게의 내용물로 사용하고 있어서 메밀에 의한 아나필락시스가 특히 많이 보고되고 있다. 밀과 비교하였을 때 메밀은 gliadin 함량이 0.06% 미만으로 보고되고 있어서, 최근에 서양에서는 메밀을 gliadin 과민반응이 있는 환자의 대체식품으로 이용되고 있다(Kim & Park, 2002).

메밀이 포함된 음식을 섭취한 후 알레르기 반응을 보인 경우는 Smith(1909)의 논문에서 처음 발표되었으며 Peshkin (1926)와 Rowe(1937)의 논문에서 보고된 바 있다. Nakamura et al.(1974)는 9 건의 메밀 알레르기 임상 증례를 통해 메밀 알레르기 반응이 IgE와 관련된 반응인 제1형 알레르기임을 보고하였다.

메밀 알레르기에 대해 알려진 임상보고는 일본에서 많이 이루어졌으며, 90 년대에 요코하마의 학교에서 92,680 명을 대상으로 메밀 알레르기를 연구한 결과 모두 140 명의 남자아이와 54 명의 여자아이(0.22% of all children)에게서 알레르기 증상이 관찰되었다. 알레르기 증상 중 37.3%가 두드러기 증상을 보였고, 26.5%가 호흡곤란 증세를 보였다. 아낙필락시스 증세는 3.9%였다(Takahashi et al., 1998).

Suh et al.(2003)은 1,738 명의 성인 알레르기 환자를 검사한 결과 국내산 메밀에 대한 피부단자 시험에서 3.5%인 60 명이 양성 반응을 보여 계란, 우유, 대두, 밀과 함께 한국의 주요 5 대 알레르기 원인 식품으로 확인하였다.

반면 대한 소아알레르기호흡기학회의 국내 21 개 병원을 대상으로 한 조사에 따르면, 소아 아나필락시스의 원인 중 식품이 46.1%로 가장 많은 부분을 차지하였으며, 식품별 원인으로는 메밀이 29.3%로 가장 많았고 우유 9.8%, 키위 9.8%, 잣 7.3%, 꽃게 5.3%, 번데기 4.9%, 땅콩 4.9%, 새우 2.4%, 율무 2.4%, 삼계탕 2.4%, 생선 2.4%, 과자 2.4%, 오렌지쥬스 2.4%, 카레 2.4% 순으로 나타났다(Lim, 2010).

미국에서는 알레르기 유발 가능성이 있는 재료가 들어간 식품에 표시를 하는 'Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act (FALCPA)'법을 2004 년 8 월에 통과시켰으며 2006 년부터 효력이 시작되었다. 이 법은 미국 FDA에서 관리하는 모든 식품에 적용되며 여기서 정한 8 가지 주요 알레르기 식품으로 우유(milk), 계란(egg), 생선(fish), 갑각류(crustacean shellfish), 너트(tree nut), 밀(wheat), 땅콩(peanuts), 콩(soybean)을 지정하고 있으며, 메밀은 포함하지 않고 있다(US FDA, 2004). EU도 미국과 마찬가지로 메밀은 포함하고 있지 않으나(Poms et al., 2004), 2011 년 영국의 Sammut et al.(2011)은 논문을 통해 메밀 알레르기가 21 세기 영국의 잠재적 문제임을 주장하였다. 반면 메밀의 섭취가 많은 일본에서는 노동후생성에서 메밀, 땅콩, 밀, 계란, 우유를 포함한 24 개 항목에 대해 신고하도록 법으로 정하고 있다(Urisu et al., 2011). 한국은 식품 등의 표시기준에 따라 난류, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토를 함유한 식품에 대해 원재료명을 표시하도록 하고 있다(KFDA, 2003).

메밀의 영양학적 이점이 부각되어 점차 전 세계적으로 섭취가 늘어나면서 최근 태국(Wang et al., 2006), 프랑스(Sammut et al., 2011), 스페인, 프랑스, 스위스, 미국, 스웨덴, 중국(Wieslander & Norbck, 2001)에서도 메밀 알레르기에 의한 환자 발생 사례가 보고되고 있다. 특히 일본에서 아나필락시스의 원인으로서 메밀이 3.4%를 차지하며 (Imamura et al., 2008), 한국에서는 약 5%(Lee et al., 2005)를 차지한다는 보고가 있다. 프랑스의 French Allergy Vigilance Network에서 2002 년부터 2006 년에 조사한 바에 따르면 메밀이 전체 식품 알레르기 사고 원인의 4.5%를 차지하는 것으로 나타났다(Beaudoin et al., 2007). 이 밖에도 이탈리아 Allergy Clinics의 최근 역학조사에 따르면 제1형 식품 알레르기 중 1% 정도가 메밀에 의한 것으로 보고되었다(Asero et al., 2009).

메밀 알레르겐 검출 방법

식품에서 알레르기 유발물질을 검출하는 방법으로 대부분 단백질이나 DNA를 타겟으로 한 방법을 사용하고 있다. 단백질에 기초한 방법은 주로 항체를 이용한 면역학적 방법(immunological techniques)으로서 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)가 가장 널리 쓰이고 있으며, 최근에는 DNA를 기초로 PCR을 이용한 방법이 사용되고 있다(van Hengel, 2007). ELISA 기술은 편리하나 알레르겐 검출을 위해 다른 식품과의 교차반응이 없는 특이항체를 얻어야 하며, 또한 가공식품에서 알레르겐을 검출 할 경우 식품의 가공과정 중 알레르겐이 변성되어 검출감도가 떨어질 수 있다는 단점이 있다. 최근 이용되고 있는 PCR기술은 ELISA와 비교하였을 때 검출감도가 뛰어나고 특이성이 높으며, DNA는 식품 가공과정에서 비교적 안정하기 때문에 검출감도가 떨어지지 않는다는 장점이 있으나(Jeon et al., 2007), 계란과 같이 단백질 함량이 높고 DNA 함량이 적은 경우 식품에서 DNA를 검출하기 어렵다는 단점이 있어, 이 기술은 단백질 함량이 적은 식품인 경우에 더 유용하다(van Hengel, 2007).

식품 알레르겐 검출법 및 최근 검출법(Table 4)중, ELISA 및 Dipstick 방법은 상업적으로 사용되고 있는 방법이며, ELISA 방법은 식품 안전 관리 기관에서 공식적으로 사용되는 방법이다. 이 방법은 식품 알레르겐을 포함한 넓은 범위의 식품 오염을 확인할 수 있으며 민감도와 특이성, 안정성이 높다는 장점이 있다(van Hengel, 2007). 또한 상용화된 ELISA kit의 경우, 땅콩에서 0.07 mg/kg까지 측정할 수 있는 등 검출 한계가 비교적 낮고 사용 방법이 간편하며 전문가가 아니어도 사용할 수 있다는 장점이 있다. 반면 식품 알레르겐 단백질의 추출과 농도 측정에 시간이 걸리며, 각 ELISA kit의 회사, 식품 matrix interferences와 식품 가공 방법에 의해 영향을 받을 수 있다는 단점이 있다(van Hengel, 2007; Taylor et al., 2009).

DNA를 이용한 방법은 기존에 주로 사용되어 왔던 ELISA와 같은 단백질에 기초한 방법에 비해 특이성, 감도 및 효율적인 면에서 장점을 가진다. 단백질은 식품의 가공과정에서 변성되어 검출 감도가 감소할 가능성이 있으나, DNA는 단백질에 비해 안정하고, 환경적인 차이로 인한 단백질 함량의 차이에 관계없이 유전물질을 증폭하여 적은 오차의 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있다(Goodwin, 2004). DNA-ELISA 방법은 real-time PCR과 ELISA를 이용하는 방법으로, real-time PCR은 정량적 검출에 이용되며 특이성이 높은 방법이다. 지금까지의 연구에서는 DNA와 면역학적 방법으로 땅콩 및 헤이즐넛 가공식품에서 10 ppm 이하의 식품 알레르겐을 검출한 보고가 있다(Holzhauser et al., 2000; Stephan & Vieths, 2004). 그러나 DNA에 기초한 검출법일지라도 가공과정을 많이 거친 경우에는 DNA의 degradation이 일어나 결과에 영향을 줄 수 있다(Stephan & Vieths, 2004). 땅콩에 열처리를 한 경우,

Table 4. Commonly used methods for the detection of food allergens.

Methods	Target analyte	LOD/LOQ[a] (mg/kg)	References
RAST/EAST	Proteins	1	Fremont et al., 1996 Koppelman et al., 1999
Immonoblotting	Proteins	2.5-5	Scheibe et al., 2001 Blais et al., 2001
Rocket immuno-electrophoresis	Proteins	2.5-30	Malmheden et al., 1994 Holzhauser et al., 1998
ELISA	Proteins	0.1-2	Koppelman et al., 1996 Holzhauser et al., 1999 Morishita et al., 2008
Strip-immunoassay (indirect ELISA)	Proteins	<1	Ben Rejeb et al., 2005
Dipstick	Proteins	1	Stephan et al., 2002
Biosensor	Proteins	0.5-2	Muller-Renaud et al., 2004 Indyk et al., 2004
PCR	DNA	1	Hirao et al., 2005
PCR and ELISA	DNA	10	Holzhauser et al., 2002 Stephan et al., 2004
RT-PCR	DNA	2	Ehlert et al., 2008
Real-time PCR	DNA	2-10	Hird et al., 2003 Stephan et al., 2004 Antonio et al., 2011 Platteau et al., 2011
LDPA	DNA	5	Ehlert et al., 2009
Digital Versatile Disk	DNA	1 mg/kg	Tortajada-Genaro et al. 2012

[a] Either the LOD or the LOQ as stated in the references is given. The LOD/LOQ stated here is directly derived from the references and is therefore expressed either in mg/kg or ppm

PCR과 ELISA를 함께 이용 하였을 때 더 좋은 결과를 나타내었다(Scaravelli et al., 2009). 또한 서로 가까운 종(species)인 식품을 분석 할 경우에는 ELISA보다 PCR이 더 높은 selectivity를 보였다(Monaci & Visconti, 2010). Dipstick 방법은 ELISA 방법에 비해 편리하고 결과를 빨리 볼 수 있는 장점이 있지만 정량적인 알레르겐 검출 방법으로는 한계가 있다. Biosensor 방법은 최근 개발 및 사용이 증가하고 있는 방법으로, 시간이 적게 걸리고 자동화가 가능하다는 장점이 있다(van Hengel, 2007).

최근에는 mass spectrometry를 이용하여 식품 알레르겐을 검출하는 방법이 개발되고 있다. 이 방법을 이용하면 분자량에 관한 정보를 바탕으로 sequence fragments와 peptides의 matching을 이용하여 데이터베이스 검색 알고리즘을 통해 단백질을 판별할 수 있다. Monaci & Visconti (2009)는 연구논문을 통해 땅콩 및 우유 가공식품에서 mass spectrometry를 기초로 한 여러 방법으로 allergen peptide biomarkers를 검출한 여러 연구자들의 결과들을 정리하였다. MS에 기초한 좀 더 진보적인 방법으로 MALDI-TOF-MS를 이용하여 헤이즐넛(Lauer et al., 2008), 우유(Natale et al., 2004), 대두(Krishnan et al., 2009), 복숭아(Gaier et al., 2008)에서 알레르겐을 검출한 연구가 진행된 바 있으며 SELDI-TOF-MS를 이용한 바나나 알레르겐의 검출(Hsieh et al., 2002) 및 LC-ESI-MS를 이용한 과일주스에서의 알레르겐 검출(Careri et al., 2008) 등이 보고된 바 있다. 최근에는 inductively coupled plasma MS(ICP-MS)를 ELISA 기술과 결합하여 땅콩 알레르겐을 검출한 연구가 진행되었으며 이 방법은 민감도가 높아 숨어있는 알레르겐을 검출할 수 있는 매우 획기적인 방법이다(Monaci & van Hengel, 2008). 그러나 MS를 기초로 한 식품 알레르겐 검출방법에 대한 연구가 진행된 지 오래 되지 않았고 아직까지는 서구의 주요 식품 알레르겐을 중심으로 연구가 진행되고 있다.

메밀 식품에서 메밀 알레르겐을 검출한 연구는 알레르겐 연구 초기단계에 머무르고 있다. Matsumoto et al.(2004)은 메밀의 10 kDa 단백질 cDNA를 제작하여 real-time PCR을 수행한 결과 50 fg의 검출한계까지 메밀 DNA를 검출하였다. 국내에서 Jeon et al.(2007)이 PCR을 이용하여 식품에서 메밀의 10 kDa 유전자를 검출하였으며, 메밀 10 kDa 유전자의 염기서열을 이용하여 특이적 primer를 제작하여 메밀 및 메밀 가공식품에 적용한 결과 메밀이 포함된 가공식품에서만 메밀 특이적 DNA band를 보였으며 검출한계는 1 ng이였다. Choi et al.(2007)은 19 kDa 메밀 알레르겐의 cDNA를 이용하여 생산한 단백질로 ELISA 및 IgE immunoblot 방법을 적용하여 19 kDa 메밀 알레르겐의 allergenicity를 측정하였다.

메밀은 US FDA 및 EU의 알레르기 식품 표시 목록에는 포함되어있지 않지만 최근 서구에서 글루텐 알레르기 환자의 대체식품 및 건강식품으로서의 메밀 식품에 대한 관심이 증가하면서 메밀 단백질을 검출할 수 있는 commercial kit로서 'Rapid ELISA test kit(Elisa Systems, Windsor)가 상품화 되었다. 이 kit는 메밀 제품과의 교차오염 등을 통한 알레르기 환자 발생 예방을 위해 개발되었으며, 약 45 분만에 2.5 ppm의 메밀 단백질을 검출할 수 있다(Pchubert-Ullrich et al., 2009).

메밀 알레르겐의 저감화

식품 알레르겐을 저감화 하는 일반적인 방법으로는 열처리, 효소처리, 산/알칼리 처리 등이 있다(Table 5). 가열처리에 따른 식품 알레르겐의 반응성 연구가 가장 널리 진행되었으며 가열을 통해 단백질의 구조변형 및 변성, disulfide bond의 재배열 및 응집이 일어나 알레르겐 반응성의 변화가 일어나는데, 일부 연구에서는 알레르겐 반응성이 감소하였으나(Mondoulet et al., 2005) 반대로 반응성이 증가하는 경우도 있으며 이는 새로운 IgE 결합 부위가 노출되었기 때문인 것으로 여겨진다(Pasini et al., 2001; Leszczynska et al., 2003). 열처리는 가장 손쉬운 알레르겐 저감화 방법이지만 식품의 질감과 향미 변화 및 영양성분의 손실 가능성이 있다. 또한 대두의 경우 100°C에서 60 분 처리시 비가열 대두와의 비교에서 환자의 특이 항체 IgE와의 반응성에 차

Table 5. Methods reported for the reduction of allergenicity of buckwheat.

Treatment	Target allergen	Reference
Heat Acid Alkali Urea Reduced carboxylation	14 kDa, 18 kDa	Yoshimasu et al., 2000
Salting	24 kDa	Lee et al., 1997; Yum et al., 2000
Buckwheat seed fraction	Fag e 1 (22 kDa), Fag e 2 (15 kDa)	Morita et al., 2006
Fungi(*Rhizapus oligosporus*)	22 kDa	Handoyo et al., 2006
Maillard-type glycosylation	Fag e 1 (22 kDa)	Nakamura et al., 2008
Autoclave treatment	24 kDa	Tomotake, 2012

이가 없는 등 가열처리가 효과가 없거나(Son et al., 2000), 대두를 80ºC에서 30분간 가열처리 시 11S와 7S의 알레르기성은 감소하였으나 2S 단백질의 알레르기성은 오히려 약간 증가하는 등(Shibaski et al., 1980) 한 가지 식품에 존재하는 다양한 알레르겐들의 특성 차이로 인해 한 가지 처리만으로는 완벽한 알레르기성의 저감화 효과를 보기 힘든 경우도 있는데, 가열처리와 효소처리를 병행하거나(Hiroshi et al., 1996) 고압처리와 효소처리를 병행(Peas et al, 2006)하여 대두의 알레르기성을 저감화한 연구가 보고된 바 있다. 이 밖에 미생물을 이용한 발효도 알레르겐 저감화 방법 중 하나로 이용되고 있는데, 이전 연구들 중 콩 및 밀에 효소처리를 하거나 미생물 발효를 통해 알레르겐 단백질을 제거한 성과가 있었다(Watanabe et al., 2000; Kobayashi et al., 2004).

메밀의 알레르겐은 식품 생산에 있어 하나의 과제로 여겨지고 있다. 많은 연구자들이 식품에서 알레르기 유발물질을 제거하거나 저감화한 식품 개발에 대해 연구하였으나 연구 제품의 알레르기 항원 저감화 수준은 여전히 불명확하다. 지금까지 진행된 메밀 알레르겐을 저감화 연구는 주로 물리 · 화학적 방법을 이용하고 있으며, 이 밖에도 미생물을 이용한 발효 및 메밀 자체의 구조를 이용한 방법 등 알레르겐을 저감화하기 위해 다양한 시도가 이루어졌다. Yoshimasu et al.(2000)은 IgE와 결합한 epitope(s)의 안정성을 확인하기 위해 메밀 단백질 추출 샘플에 다양한 처리를 하여 indirect ELISA를 이용하여 측정하였다. 처리 방법으로는 가열(100ºC), 산성(pH 1.5) 및 알칼리(pH 12.0) 처리, Urea 처리, carboxymethylation 저감화를 시행하였으며 그 결과, Urea 처리를 제외한 모든 처리 방법에서 50% 이상 IgE와의 결합도가 감소하였다.

Morita et al.(2006)은 메밀의 부위에 따른 알레르겐 분포를 조사하여 이를 메밀 알레르겐 저감화 식품 연구에 이용하고자 하였다. 메밀 낱알을 가장 중심부위부터 껍질부분까지 17 개의 조각으로 나누어 각 부위의 단백질 함량을 조사하였으며, 안쪽에서 바깥쪽 부위로 갈수록 단백질 함량이 증가하였고 그 차이는 40%정도로 나타났다. 각 부위의 단백질을 추출하여 SDS-PAGE로 확인한 결과, 부위에 따라 다른 단백질 분포를 보였으며 메밀의 주요 알레르겐 단백질인 22 kDa 단백질은 안쪽 부위로 갈수록 더 많이 존재하였다. 또한 15 kDa과 50 kDa 알레르겐 단백질은 안쪽 부위로 갈수록 사라지는 것을 관찰할 수 있었다. 9 명의 메밀 알레르기 환자의 혈청으로 IgE-immunoblotting 실험을 수행한 결과, IgE와 15 kDa 및 22 kDa 과의 결합 양상이 메밀의 안쪽부위로 갈수록 줄어들었다. 따라서 메밀 낱알의 안쪽 부위를 가공하여 메밀가루를 만든 후 식품 가공에 이용한 메밀 알레르기 저감 식품 제조 가능성을 제시하였다.

미생물 발효를 이용한 메밀 알레르겐 저감화 연구로서, Handoyo et al.(2006)의 연구에서는 *Rhizopus oligosporus*를 이용하여 알레르겐 저감화 소바면을 개발하였다. 메밀을 *Rhizopus oligosporus*와 함께 발효시킨 후 SDS-PAGE 및 western blotting을 이용하여 발효 시간에 따른 알레르겐 단백질 저감화 효과를 관찰하였는데, 발효 48 시간 후 SDS-PAGE gel 상에서 대부분의 단백질의 양이 절대적으로 줄어든 것을 확인할 수 있었고, IgE immunoblotting 결과로 미발효 메밀에서 보인 22 kDa 단백질 밴드가 발효 48 시간에서 완전히 사라진 것을 확인하였다. 이러한 결과는 *Rhizopus oligosporus*가 생장을 위해 알레르겐 단백질을 에너지원으로 이용하기 때문인 것으로 추측하면서, 이를 메밀 발효에 이용하였을 때 아미노산과 미네랄 함량은 높으나 알레르겐 단백질 함량은 낮추는 효과가 있어 식품에의 적용 가능성을 제시하였다.

Nakamura et al.(2008)은 단백질의 구조적 특이성을 이용한 메밀 알레르겐 저감화를 시도하였다. Maillard-type glycosylation이 단백질의 알레르기 활성을 감소시킨다는 점에 착안하여, 천연 식물성 다당류인 arabinogalactan과 xyloglucan을 Fag e 1(22 kDa 메밀 알레르겐)과 공유결합시켜 Fag e 1의 활성을 메밀 알레르기 환자 혈청을 이용하여 SDS-PAGE 및 immuno dot-blotting으로 확인하였다. 그 결과, xyloglucan이 arabinogalactan보다 Fag e 1과 50% 이상 강한 결합을 보였고, immuno dot-blotting 결과에서 결합하지 않은 Fag e 1은 환자혈청 모두와 반응한 반면, arabinogalactan-conjugate와 xyloglucan-conjugate은 모든 환자 혈청과 반응하지 않았다. 이는 다당류와 알레르겐 단백질의 공유결합 유도를 위한 Maillard-type glycosylation중 Fag e 1의 구조가 변형되거나 epitopes가 분해되어 allergenicity가 줄어든 것으로 추측하였다.

가장 최근 연구로 Tomotake et al.(2012)은 메밀가루를 autoclave 처리 한 후 SDS-PAGE에서 단백질 밴드를 확인하였을 때, 24 kDa 알레르겐 단백질 밴드가 줄어든 것을 확인하였다. 또한 24 kDa 메밀 단백질에 대한 단일클론항체를 이용한 ELISA 분석 결과 autoclave 처리에 의해 단백질 추출물과의 반응성이 줄어들었다.

국내에서는 Lee et al.(1997)이 0.5 M NaCl을 이용하여 salting하는 방법으로 저항원성 메밀을 제조하여 환자혈청으로 항원 결합 특이 IgE 면역검출을 시행하여 저항원성 메밀의 항원성 저감 효과를 관찰하였다. SDS-PAGE 결과에서 순수 메밀에서는 30 개 이상의 항원이 관찰되었으나, salting방법을 적용한 저항원성 메밀에서는 10 여개의 항원이 약하게 관찰되었다. 또한 순수 메밀의 항원을 6 명의 환아에게 적용한 결과 6 명 모두의 메밀 특이 IgE와 결합하였으나, 저항원성 메밀의 경우 5 명의 환아에서 메밀 특이 IgE와 결합하는 항원이 관찰되지 않아 메밀알레르기 환아의 대체 식품 제조 방법의 가능성으로 제시하였다(Lee et al., 1997). Yum et al.(2000)은 salting 방법으로 제조한 저항

원성 메밀의 항원성 변화를 검증하기 위해 순수 메밀에 대한 단일클론 항체를 이용하여 immunoblotting을 시행하였다. 그 결과, 순수 메밀과 비교할 때 50, 36, 13 kDa 단백질은 소실되었으나, 메밀의 주 알레르겐으로 알려진 24 kDa 단백질은 약하게 남아있었고, 3 개의 메밀 단일클론 항체를 적용한 결과 2 개의 단일클론 항체와 24 kDa 단백질이 결합하였다. 따라서 저항원성 메밀로 활용되기 위한 주 알레르겐의 양을 더욱 감소시킬 수 있는 연구의 필요성을 역설하였다(Yum et al., 2000).

유전자변형 기술이 발전하면서 쌀(Tada et al., 1996)과 대두(Herman et al., 2003)에서 알레르겐 단백질 발현 유전자를 조작하여 알레르겐을 감소시키거나 제거하는 연구들이 진행되었으며 이 기술을 바탕으로 보통메밀에서도 알레르겐을 저감화 할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 유전자변형 식품에 대한 대중의 인식이 좋지 않고, 유전자 조작 작물의 대부분이 새로운 단백질을 발현하기 때문에 새로운 알레르기가 발생할 가능성이 있는 등 안전성 입증의 문제가 있기 때문에 메밀 알레르겐을 저감화 하는 방법으로 추천하지는 않고 있다(Yum et al., 2005).

결 론

식품 알레르기는 건강을 위협할 수 있는 주요 원인 중 하나이며 최근 이에 대한 관심이 증가하고 있다. 지금까지 식품 알레르기에 대처하는 방법은 원인 식품을 피하는 것이 대부분이었고, 미국과 유럽에서는 식품에 알레르기 유발 가능 재료를 표시하는 법을 시행하여 소비자를 보호하고 있으며 국내에서도 알레르기 원인식품의 상세한 조사를 통해 관련법을 시행하여야 할 것으로 생각된다. 이번 총설에서는 여러 가지 알레르기 원인식품 중 동양권에서 주로 섭취하는 메밀에 대한 알레르기 연구들을 종합하였다. 메밀은 소량의 섭취만으로도 아낙필락시스 등의 중증 증상을 보일 수 있어 이에 대한 연구 및 관리가 필요하다. 지금까지의 연구결과를 종합해 볼 때, 메밀의 주요 알레르겐은 Fag e 1으로 명명하는 22-24 kDa 단백질과 Fag e 2로 명명하는 15-16 kDa 단백질, 그리고 Fag e 3로 명명하는 19 kDa의 단백질이며, IUIS-WHO에서 정한 단백질 크기는 각각 24 kDa, 16 kDa 및 19 kDa이나 연구자들마다 단백질 밴드 크기를 유추함에 있어 약간의 오차가 있는 것으로 추정된다. 평상시 소바국수를 즐겨 먹는 일본의 경우, 메밀 알레르기에 대한 연구가 가장 많이 진행되고 있으며 여러 가지 물리・화학・미생물적 방법을 통한 메밀 알레르기 저감화 연구가 발표되었다. 한국에서도 메밀면, 막국수, 메밀묵 등 여러 가지 메밀 음식을 섭취하고 있으며 메밀은 대두, 계란, 우유, 밀과 함께 주요 알레르기 유발 식품 중 하나로 꼽힌다. 최근 전 세계적으로 건강식품에 대한 관심이 증가하면서, 메밀 사용량의 증가가 예상되나 구체적인 알레르기 저감 식품으로의 적용은 미비한 상황이며, 이는 메밀 고유의 식감과 물성을 그대로 보존하면서 물리・화학적 방법을 통해 알레르겐을 저감화하기가 쉽지 않기 때문인 것으로 판단된다. 앞으로 대두나 계란과 같이 전 세계적으로 널리 섭취되고 그 알레르겐에 대한 연구가 많이 진행된 식품의 적용 방법을 메밀에 적용하고, 초고압기술(HPP)・Ohmic heating・광펄스기술 등 비가열 물리적 처리 기술과 접목하는 연구로 확대 진행될 것으로 기대된다.

참고문헌

Alekseeva EC. 1993. Buckwheat-a multirole crop. Foreign Agriculture. 93: 53-54.

Asero R, Antonicelli L, Arena A, Bommarito L, Caruso B, Colombo G, Crivellaro M, De Carli M, Della Torre E, Della Torre F, Heffler E, Rizzini FL, Longo R, Manzotti G, Marcotulli M, Melchiorre A, Minale P, Morandi P, Moreni B, Moschella A, Murzilli F, Nebiolo F, Poppa M, Randazzo S, Rossi G, Senna GE. 2009. Causes of food-induced anaphylaxis in italian adults: A multi-centre study. Int Arch. Allergy. Immunol. 150: 271-277.

Beaudoin E, Sergeant P, Flabbee J, Morisset M, Kanny G, Moneret-Vautrin DA. 2007. Buckwheat allergy: Analysis of 22 cases recorded by the allergy vigilance network (2002-2006). 39: 303-306.

Ben Rejeb S, Abbott M, Davies D, Cléroux jD, Delahaut P. 2005. Multi-allergen screening immunoassay for the detection of protein markers of peanut and four tree nuts in chocolate. Food Add. Cont. 23: 1260-1264.

Bonafaccia G, Marocchini M, Kreft I. 2003. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chem. 80: 9-15.

Brennan CS. 2005. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. Mol. Nutr. Food Res. 49: 560-570.

Careri M, Elviri L, Maffini M, Mangia A, Mucchino C, Terenghi M. 2008. Determination of peanut allergens in cereal-chocolate-based snacks: metal-tag inductively coupled plasma mass spectrometry immunoassay versus liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. Rapid Commum. Mass Spectrom. 22: 807-811.

Choi SY, Sohn JH, Lee YW, Lee EK, Hong CS, Park JW. 2007. Characterization of buckwheat 19-kD allergen and its application for diagnosing clinical reactivity. Int. Arch. Allergy Immunol. 144: 267-274.

Choi YS, Lee HH, Park CH. 2003. Food, chemical and nutraceutical research on buckwheat in Korea: Literature survey. Fagopyrum. 20: 73-80.

Christa K, Soral-Śmietana M. 2008. Buckwheat grains and buckwheat products- nutritional and prophylactic value of their components-a review. Czech J. Food Sci. 26: 153-162.

Eggum B, Kreft I, Javornik B. 1981. Chemical composition and protein quality of buckwheat(Fagopyrum esculentum Moench). Qual. Plant Plant Foods Hum. Nutr. 30: 175-179.

Ehlert A, Hupfer C, Demmel A, Engel KH, Busch U. 2008. Detection of cashew nut in foods by a specific real-time PCR method. Food Anal. Methods. 1: 136-143.

Ehlert A, Demmel A, Hupfer C, Busch U, Engel KH. 2009. Simultaneous detection of DNA from 10 food allergens by ligation-dependent probe amplification. Food Add. Cont. 26: 409-418.

Gaier S, Marsh J, Oberhuber C, Rigby NM, Lovegrove A, Alessandri S, Briza P, Radauer C, Zuidmeer L, van Ree R, Hemmer W, Samcho AI, Mills C, Hoffmann-Sommergruber K, Shewry PR. 2008. Purification and structural stability of the peach allergens Pru p 1 and Pru p 3. Mol. Nutr. Food Res. 52: S220-S229.

Goodwin PR. 2004. Food allergen Detection Methods: A coordinated approach. J. AOAC Int. 87: 1383-1390.

Handoyo T, Maeda T, Urisu A, Adachi T, Morita N. 2006. Hypoallergenic buckwheat flour preparation by Rhizopus oligosporus and its application to soba noodle. Food Res. Int. 39: 598-605.

Heffler E, Nebiolo F, Asero R, Guida G, Badiu I, Pizzimenti S, Marchese C, Amato S, Mistrello G, Canaletti F, Rolla G. 2011. Clinical manifestations, co-sensitizations, and immunoblotting profiles of buckwheat allergic patients. Allergy. 66: 264-270.

Herman EM, Helm RM, Jung R, Kinney AJ. 2003. Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean. Plant Physiol. 132: 36-43.

Hiroshi H, Akio O, Tadashi O, Hideaki T, Rintarou Y, Noriko B, Tou K. 1996. Method for reducing allergen of soybean. Japan Patent 1996-056600.

Holzhauser T, Wangorsch A, Vieths S. 2000. Polymerase chain reaction (PCR) for deetection of potentially allergenic hazelnut residues in complex food matrixes. Eur. Food Res. Technol. 211: 360-365.

Hong ES, Park JA, Shin TR, SEO KY, Woo GE, Lee NY, Kim MS, Maeng SH, Cho YJ. 1997. One case of buckwheat allergy proved by oral provocation test. Ewha Med. J. 20: 1-5.

Hsieh LS, Moharram R, Akasawa A, Slater J, Martin BM, 2002. Banana allergen detection and identification using SELDI technology. J. Allergy Clin. Immunol. 1: S305.

Imamura T, Kanagawa Y, Ebisawa M. 2008. A survey of patients with self-reported severe food allergies in Japan. Pediatr. Allergy Immunol. 19: 270-274.

Janeway CA Jr, Travers P, Walport M. 2001. Immunobiology: The immune system in health and disease. 5th edition. Chapter 12, Allergy and Hypersensitivity. Garland Science, NY, USA. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/

Jeon YJ, Kang ES, Hong KW. 2007. A PCR method for rapid detection of buckwheat ingredients in food. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 50: 276-280.

KFDA. 2003. Regulation of Korea food and drug administration 2003-27, food labeling regulation, 1-7) raw material and content.

Kim KE, Park HS. 2002. The korean academy of asthima, allergy and clinical immunology. Asthma and allergic diseases. Koonja Press, Seoul, Korea, pp. 125-126.

Kobayashi M, Hasmimoto Y, Tamuchi S, Tanabe S. 2004. Degradation of wheat allergen in Japanese soy sauce. Int. J. Mol. Med. 13: 821-827.

Kreft S, Knapp M, Kreft I. 1999. Extraction of rutin from buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis. J. Agric. Food Chem. 47: 4649-4652.

Krishnan HB, Kim WS, Jang S, Kerley MS. 2009. All three subunits of soybean β-conglycinin are potential food allergens. J. Agric. Food Chem. 57: 938-943.

Lauer I, Alessandri S, Pokoj A, Reuter A, Conti S, Viets S, Scheurer S. 2008. Expression and characterization of three important panallergens from hazelnut. Mol. Nutr. Food Res. 52: S262-S271.

Lee KY, LEE HH, Kim KE, Park KH, Kim YK, Jeong BJ. 1997. A comparative study on allergenicity of raw and hypoallergenic buckwheat flour. Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea) 7: 13-22.

Lee SY, Oh S, Lee K, Jang YJ, Sohn MH, Lee KE, Kim KE. 2005. Murine Model of Buckwheat Allergy by Intragastric Sensitization with Fresh Buckwheat Flour Extract. J. Korean Med. Sci. 20: 566-572.

Leszczynska J, Łącka 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.

Li S, Zhang Q.H. 2001. Advances in the development of functional foods from buckwheat. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 41: 451-464.

Lien M, Kreft I. 2005. Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) low molecular weight seed proteins are restricted to the embryo and are not detectable in the endosperm. Plant Phys. Biochem. 43: 862-865.

Lim DH. 2010. Food Anaphylaxis. Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol. 30: 91-92.

Matsumoto R, Fujino K, Nagata Y, Hashiguchi S, Ito Y. 2004. Molecular characterization of a 10-kDa buckwheat molecule reactive to allergic patients' IgE. Allergy. 59: 533-538.

Monaci L, van Hengel A. 2008. Development of a method for the quantification of whey allergen traces in mixed-fruit juices based on liquid chromatography with mass spectrometric detection. J. Chrom. 1192: 113-120.

Monaci L, Visconti A. 2009. Mass spectrometry-based proteomics methods for analysis of food allergens. Trac-Trend Anal. Chem. 28: 581-591.

Monaci L, Visconti A. 2010. Immunochemical and DNA-based methods in food allergen analysis and quality assurance perspectives. Trends Food Sci. Tech. 21: 272-283.

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.

Morishita N, Kamiya K, Masumoto T, Sakai S, Teshima R, Urisu A. 2008. Reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of soybean proteins in processed foods. J. Agric. Food Chem. 56: 6818-6824.

Morita N, Maeda T, Sai R, Miyake K, Yoshioka H, Urisu A, Adachi T. 2006. Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from w hole buckwheat grains. Food Res. Int. 39: 782-790.

Mutiah R, Kagen S. 1990. Food allergens: isolation and characterization of major buckwheat carbohydratedependent allergens (abstract). J. Allergy Clin. Immunol. 85: 151.

Nair A, Adachi T. 1999. Inmunodetection and characterization of allergenic proteins in common buckweat (Fagopyrum esculentum). Plant Biotech. 16: 219-224.

Nair A, Ohmoto T, Woo SH, Adachi T. 1999. A molecular-genetic approach for hypoallergenic buckwheat. Fagopyrum. 16: 29-36.
Nakamura S, Yamaguchi M, Oishi M, Hayama T. 1974. Studies on the buckwheat allergose report 2: clinical investigation on 169 cases with the buckwheat allergose gathered from the whole country of Japan. 20: 457-465.
Nakamura S, Suzuki Y, Ishikawa E, Yakushi T, Jing H, Miyamoto T, Hashzume K. 2008. Reduction of in vitro allergenicity of buckwheat Fag e 1 through the Maillard-type glycosylation with polysaccharides. Food Chem. 109: 538-545.
Natale M, Bisson C, Monti G, Peltran A, Garoffo LP, Valentini S, Fabris C, Bertino E, Coscia A, Conti A. 2004. Cow's milk allergens identification by twodimensional immunoblotting and mass spectrometry. Mol. Nutr. Food Res. 48: 363-369.
Němcovà L, Zima J, Barek J, JanovskD. 2011. Determination of resveratrol in grains, hulls and leaves of common and tartary buckwheat by HPLC with electrochemical detection at carbon paste electrode. Food Chem. 126: 374-378.
Oomah DB, Mazza G. 1996. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. J. Agric. Food Chem. 44: 1746-1750.
Park JW, Kang DB, Lim CW, Ko SH, Yum HY, Kim KE, Hong CS, Lee KY. 2000. Identification and characterization of the major allergens of buckwheat. Allergy. 55: 1035-1041.
Pasini G, Simonato B, Giannattasio M, Peruffo ADB, Curioni A. 2001. Modifications of wheat flour proteins during in vitro digestion of bread dough, crumb, and crust: An Electrophoretic and Immunological Study. J. Agric. Food Chem. 49: 2254-2261.
Pchubert-Ullrich P, Rudolf J, Ansari P, Galler B. 2009. Commercialized rapid immunoanalytical tests for determination of allergenic food proteins: an overview. Anal. Bioanal. Chem. 395: 69-81.
Peñas E, Restani P, Ballabio C, Prstamo G, Fiocchi A, Gmez R. 2006. Assessment of the residual immunoreactivity of soybean whey hydrolysates obtained by combined enzymatic proteolysis and high pressure. Eur. Food Res. Technol. 222: 286-90.
Peshkin MM. 1926. Asthma in children etiology. Am. J. Dis. Child. 31: 763.
Platteau C, De Loose M, De Meulenaer B, Taverniers I. 2011. Detection of allergenavellena and soy (Glycine max). J. Agric. Food Chem. 59: 10803-10814.
Poms RE, Klein CL, Anklam E. 2004. Methods for allergen analysis in food: a review. Food Add. Contam. 21: 1-31.
Rowe AH. 1937. Individual food and drug allergies and their control. Clinical Allergy, Manifestations, Diagnosis and Treatment. Lea & Febiger Press, Philadelphia, USA, p. 563.
Sammut D, Dennison P, Venter C, Kurukulaaratchy RJ. 2011. Buckwheat allergy: a potential problem in 21st century Britain. BMJ Case Reports (On-line).
Scaravelli E, Brohée M, Marchelli R, van Hengel AJ. 2009. The effect of geat treatment on the detection of peanut allergens as determined by ELISA and real-time PCR. Anal. Bioanal. Chem. 395: 127-137.
Shibasaki M, Suzuki S, Tajima S, Nemoto H, Kuroume T. 1980. Allergenicity of major component proteins of soybean. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 61: 441-448.
Smith HL. 1909. Buckwheat poisoning with report of a case in man. Arch. Intern. Med. 3: 350-359.
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(Korean). 32: 959-963.
Stephan O, Vieths S. 2004. Development of real-time PCR and a sandwich ELISA for detection of potentially allergenic trace amounts of peanut(Arachis hypogea) in processed foods. J. Agric. Food Chem. 389: 171-178.
Stibilj V, Kreft I, Smrkolj P, Osvald J. 2004. Enhanced selenium content in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) and pumpkin (Cucurbita pepo L.) seeds by foliar fertilisation. Eur. Food. Res. Technol. 219: 142-144.
Suh YJ, Yoon SH, Shin YS, Choi JH, Suh CH, Nahm DH, Kim YK, Min KU, Park HS. 2003. Buckwheat allergy in adults: composition of specific IgE between homemade ELISA and CAP system, and identification of IgE-binding components. Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol. 23: 474-482.
Tada Y, Nakase M, Adachi T, Nakamura R, Shimada H, Takahashi M, Fujimura T, Matsuda T. 1996. Reduction of 14-16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene. FEBS lett. 391: 341-345.
Takayashi Y, Ichikawa S, Amara Y, Yokota S. 1998. Buckwheat allergy in 90,000 schoolchildren in Yokohama. Arerugi. 47: 26-33. [in Japanese].
Taylor SL, Nordlee JA, Niemann LM, Lambrecht DM. 2009. Allergen immunoassays-consideration for use of naturally incurred standards. Anal. Bioanal. Chem. 395: 83-92.
Tomotake H, Yamazaki R, Masayuki Y. 2012. An Autoclave Treatment reduces the solubility and antigenicity of an allergenic protein found in buckwheat flour. J. Food. Protect. 75: 1172-1175.
Tortajada-Genaro LA, Santiago-Felipe S, Morais S, Gabaldn JA, Puchades R, Maquieira. 2012. Multiplex DNA detection of food allergens on a digital versatile disk. J. Agric. Food Chem. 60: 36-43.
Trevino RJ, Dixon HS. 1997. Food allergy american academy of otolaryngic allergy monograph series. Thieme Medical Publishers, Stuttgart, Germany.
Urisu A, Kondo Y, Morita Y, Tagi E, Tsuruta M, Yasaki K, Kurosawa K. 1994. Isolation and characterization of a major allergen in buckwheat seeds. Allergy Clin. Immunol. News. 6: 151-155.
Urisu S, Kondo Y, Morita Y, Yagi E, Tsuruta M, Yasaki T, Yamada K. 1995. Isolation and characterization of a major allergen in buckwheat seeds. Shinshu University Press, Matsumoto, Japan, pp. 965-974.
Urisu A, Ebisawa M, Mukoyama T, Morikawa A, Kondo N. 2011. Japanese guideline for food allergy. Allergology Int. 60: 221-236.
USDA. 2011. Composition of foods raw, processed, prepared USDA national nutrient database for standard reference, release 24.
US FDA. 2004. Food allergen laeling and consumer protection act of 2004, Public law 108-282.
van Hengel AJ. 2007. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers. Anal. Bioanal. Chem. 389: 111-118.
Wang TC, Shyur SD, Wen DC, Kao YH, Huang LH. 2006. Buckwheat anapylaxis: An unusual allergen in taiwan. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 24: 2-3.

Watanabe M. 1998. Catechins as antioxidants from buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) Groats. J. Agric. Food Chem. 46: 839-845.

Watanabe M, Watanabe J, Sonoyama K, Tanabe S. 2000. Novel method for producing hypoallergenic wheat flour by enzymatic fragmentation of the constituent allergens and its application to food processing. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64: 2663-2667.

Wei YM, Hu XZ, Zhang GQ, Ouyang SH. 2003. Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. Nahrung/Food. 47: 114-116.

Wieslander G. 1995. Allergy to buckwheat. Curr. Adv. Buckwheat Res. 951-955.

Wieslander G, Norbäck D. 2001. Buckwheat allergy. Allergy. 56: 703-704.

Yanagihara Y. 1980. Buckwheat hypersensitivity. Kansensho. 10: 184-188.

Yano M, Nakamura R, Hayakawa S, Torii S. 1989. Purification and properties of allergenic proteins in buckwheat seeds. Agric. Biol. Chem. 53: 2387-2392.

Yoshimasu MA, Zhang JW, Hayakawa S, Mine Y. 2000. Electrophoretic and immunochemical characterization of allergenic proteins in buckwheat. Int. Arch. Allergy Immunol. 123: 130-136.

Yoshioka H, Ohmoto T, Urisu A, Mine Y, Adachi T. 2004. Expression and epitope analysis of the major allergenic protein Fag e 1 from buckwheat. J. Plant Physiol. 161: 761-767.

Yum HY, Ryu JW, Kim KE, LEE KY. 2000. Immunoblot analysis of hypoallergenic buckwheat with monoclonal antibodies to raw buckwheat. Pediatr. Allergy Respir. Dis.(Korea) 10: 34-40.

Yum HY, Lee SY, LEE KE, Sohn MH, Kim KE. 2005. Genetically modified and wild soybeans: An immunologic comparison. Allergy Asthma Proc. 26: 210-216.