

면역단백질 G(IgG)의 열처리에 대한 안정성

박종대 · 손동화 · 정관섭*

한국식품개발연구원, *서울우유 기술연구소

Stability of Immunoglobulin G(IgG) by Heat Treatment

Jong-Dae Park, Dong-Hwa Shon and Kwan-Sup Jeong*

Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

*Institute of Dairy Food Research, Seoul Dairy Co-op., Ansan 425-839, Korea

Abstract

This study was carried out to obtain fundamental data when developing new colostrum component fortified milk products. Residual immunoglobulin G (IgG) activities of both IgG fortified milk products under different pasteurization conditions and colostrum fortified milk powder products under different dissolving temperatures were measured. In the study, residual IgG activities of raw milk and IgG (50 mg and 250 mg) fortified milk products were sharply reduced upon increasing the temperature of heat treatment. After the low temperature long time (LTLT) treatment, residual IgG activities of raw milk, IgG 50 mg and 250 mg fortified milk products decreased to 79%, 30% and 21.6%, as compared to those before heat treatment, respectively. However, almost no residual IgG activities were detected when IgG fortified milk was heated at 95°C for 15 sec. There was no significant change in the residual IgG activities of IgG fortified milk powder products upon different dissolving temperatures (30°C, 40°C, 50°C and 60°C).

Key words : colostrum, immunoglobulin G(IgG), milk, temperature

서론

인류가 가축을 기르고 농경생활을 시작한 이후부터 인류의 건강을 위해 매우 유익하게 이용되는 우유는 완전식품으로 알려져 있다. 상유 100 mL중에는 약 0.5%의 유청 단백질이 함유되어 있으며, 중요한 유청 단백질로는 β -lactoglobulin이 약 58%, α -lactalbumin이 약 20%, immunoglobulin(Ig)이 약 13%, 그리고 약 7%의 혈청알부민을 함유하고 있다(1,2). 초유는 Table 1에 나타낸 바와 같이 정상유보다 알부민, 면역글로블린 등이 많이 함유되어 총단백질 함량이 높으며, pH 및 유당 함량은 대체로 낮다. 특히 총단백질 함량이 높은 주요 인은 초유중의 Ig 때문인 것으로 알려져 있다(3).

초유는 분만 후 5일 동안 생산되는 우유로서 영양분이 풍부할 뿐만 아니라 면역단백질, 락토페린 등의 생리활성물질을 공급하여 어린 송아지의 질병을 예방할 수 있는 기능을 가지며, 초유의 성장호르몬, 인슐린 유사 성장인자, 상피세포 성장인자, 신경 성장인자 등이 인체의 성장과 노화방지에

효과가 있으며, oligosaccharide, lipoprotein, biopeptide 등이 생리, 면역기능을 돕는 것으로 보고되고 있다(4).

소의 Ig는 신생우에게 단지 초유를 통한 passive immunity 방법에 의하여 전달되며, 특히 분만 후 24시간 이전의 초유에 다량의 Ig가 함유되어 있고 그 중에서도 immunoglobulin G(IgG)가 가장 많이 함유되어 있다. 일반적으로 초유의 IgG 농도는 3산과 4산의 경우에 높은 경향이 있다(3,5-7). 품종에 따른 초유 Ig의 함량도 상이하서 저어지(Jersey)가 가장 많은 Ig를 함유하고 있으며 에어셔(Ayrshire), 브라운스위스(Brown Swiss), 거언지(Guernsey), 그리고 홀스타인(Holstein)의 순서이다(8).

한편, 초유의 유용성분을 이용하여 상품화하기 위한 연구는 초보단계에 머물고 있으며 이들의 가공처리시 변성을 최소화하기 위한 연구가 시급히 요구되고 있다. 국내의 경우, 초유의 이용을 위한 연구가 일부 보고되고 있으나(6,9-13), 아직은 보존방법이 미비하고 초유의 중요성에 대한 인식이 부족하여 대부분은 갓난 송아지를 먹이고 잔량은 약 75%로 폐기되고 있는 실정이다. 또한 축산물가공처리법에 의하여 생후 5일까지의 초유 납유가 법으로 금지되어 있으며(4), 제품개발시 미국이나 뉴질랜드에서 수입한 초유분말을 이용하고 있는 실정이다. 그러므로 초유 성분을 안전하게 보존하

Corresponding author : Jong-Dae Park, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-746, Korea
E-mail : jdpark@kfri.re.kr

고 면역물질로 가장 중요하게 작용하는 IgG의 변성을 최소화하기 위한 방안을 모색하는 것은 초유 성분을 이용한 유제품의 개발시 중요한 자료로 이용될 수 있을 것이다.

따라서 초유분말을 이용한 IgG 강화우유의 살균온도에 따른 IgG의 활성 잔존율과 시판중인 초유성분 강화 유제품의 용해온도에 따른 IgG 활성 잔존율을 측정하여 초유 연구에 대한 기초자료로 활용하고자 한다.

Table 1. Physical characteristics and compositions of colostrum and whole milk^a

Item	Colostrum (No. of postpartum milking)						Milk
	1	2	3	4	5	6	
Specific gravity	1.056	1.040	1.035	1.033	1.033 ^b		1.032
pH	6.32	6.32	6.33	6.34	6.33 ^b		6.50
Total solids(%)	23.9	17.9	14.1	13.9	13.6 ^b		12.9
Fat(%)	6.7	5.4	3.9	4.4	4.3 ^b		4.0
Solids-not-fat(%)	16.7	12.2	9.8	9.4	9.5 ^b		8.8
Total protein(%)	14.0	8.4	5.1	4.2	4.1 ^b		3.1
Casein(%)	4.8	4.3	3.8	3.2	2.9	2.9	2.5
Albumin(%)	0.9	1.1	0.9	0.7	0.4	0.4	0.5
Immunoglobulins(%)	6.0	4.2	2.4	-	-	-	0.09
IgG(g/100 mL)	3.2	2.5	1.5	-	-	-	0.06
NPN(% of total N)	8.0	7.0	8.3	4.1	3.9	4.0	4.9
Lactose(%)	2.7	3.9	4.4	4.6	4.7 ^c		5.0
Ash(%)	1.11	0.95	0.87	0.82	0.81 ^b		0.74
Ca(%)	0.26	0.15	0.15	0.15	0.15	0.18	0.13
Mg(%)	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
K(%)	0.14	0.13	0.14	0.15	0.14	0.17	0.15
Na(%)	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.07	0.04
Cl(%)	0.12	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.07
Zn(mg/100 mL)	1.22	- ^d	0.62	-	0.41	-	0.30
Mn(mg/100 mL)	0.02	-	0.01	-	0.01	-	0.004
Fe(mg/100 mL)	0.20 ^f						0.05
Cu(mg/100 mL)	0.06 ^c						0.01
Co(g/100 mL)	0.5 ^c						0.1

^a Analyses are primarily those of Holstein colostrum and milk.

^b Composite of fifth and sixth postpartum milkings.

^c Composite of first through fourth postpartum milkings.

^d trace

Source : Foley and Otterby (1978)

재료 및 방법

재료

시약 Trizma® pre-set crystals(pH 9.0), phosphate buffered saline with Tween 20(PBST, pH 7.4), phosphate-citrate buffer tablets(PCB, pH 5.0), 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine dihydrochloride(TMB), anti-bovine IgG(in rabbit), standard

bovine IgG, anti-bovine IgG peroxidase conjugate(in rabbit)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, U.S.A.)로부터 구입하였다.

Nunc사(Roskilde, Denmark)의 Microtiter plate from Maxisorp™ (#446612)와 THERMOmax™ Molecular Devices사(Sunnyvale, CA, U.S.A.)의 Microplate reader를 사용하였다.

본 실험에 사용한 원유는 서울우유협동조합에서 2002년 10월에 경인지역에서 집유한 원유를 사용하였으며, 시유의 IgG 함량을 알아보기 위하여 사용한 시유 200 mL는 서울우유 3공장(안산) 생산제품을 사용하였다.

IgG를 강화하기 위해 원유에 사용된 초유분말은 미국에서 생산된 초유를 열풍건조하여 수분 5% 이하 분말로 만든 미국 S사 제품으로 국내 공급업체에서 제공한 것을 사용하였으며, 원유에 강화하기 전에 초유분말의 IgG 순도를 확인하였다.

또한, IgG가 들어있는 시판 초유제품의 용해온도별 IgG 함량을 알아보기 위하여 국내 판매중인 3개 제품을 구입하여 각각 A제품, B제품, C제품으로 명명하여 사용하였다.

Sandwich ELISA

표준 bovine IgG 농도에 대한 표준곡선을 구하고 각 시료의 IgG 농도를 알아보기 위하여 Sandwich ELISA를 실시하였다. 즉, microplate well에 1차 항체(anti-bovine IgG)를 2 µg/mL 농도가 되게 coating buffer(0.05M TRIS-HCl버퍼)로 희석하여 100 µL씩 분주하여 4℃에서 하룻밤 방치하여 항체를 coating하였다. PBST washing buffer로 세번 세척한 다음 standard bovine IgG의 농도를 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01, 0.003, 0.001 µg/mL로 희석한 다음 100 µL씩 넣고, 각 시료는 표준곡선 범위내 농도로 PBST buffer로 희석하여 100 µL씩 넣고 Al foil로 덮은 후 상온에서 1시간 동안 반응시킨다. 이를 washing buffer로 세번 세척 후 2차 항체 효소결합체(anti-bovine IgG peroxidase conjugate)를 1/400,000로 희석하여 100 µL씩 넣고 Al foil로 덮은 후 상온에서 1시간 방치시킨 다음, 각 well에 TMB 기질용액(PCB 버퍼)을 100 µL씩 넣어 30분 동안 효소반응 발색을 시켰다. 2 M H₂SO₄ 용액 50 µL씩을 각 well에 넣어 발색반응을 정지시키고 450 nm에서 ELISA plate reader(Molecular Devices사, U.S.A.)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

각 시료는 Table 2와 같이 PBST버퍼로 희석하여 3가지 희석농도로 3회 반복 실험하였으며 IgG 농도는 standard bovine IgG에 의해 작성된 표준곡선에 의해 구하였다(14-18).

우유 살균온도에 따른 IgG 안정성 측정

IgG를 강화한 우유 제조시 살균온도에 따른 IgG의 열안정성을 알아보기 위하여 원유에 IgG 초유분말을 첨가하여 IgG 함량이 각각 50 mg/100 mL, 250 mg/100 mL가 되게 강화하였다. 그리고 우유의 살균조건은 65℃/30분(LTLT), 72℃/15초

(HTST), 95°C/15초, 130°C/2초(UHT)였으며, IgG 강화우유의 조제는 UHT 살균유만이 UHT Pilot-Plant System(APV Pasilac AS, Denmark)으로 하였으며, 그 외 살균유는 실험실에서 배합하여 조제하였다. 살균온도 및 시간은 thermometer (CENTER300, Taiwan)로 측정하여 water bath상의 우유 중심 온도가 측정 조건온도에 도달하였을 때를 기준으로 각각의 살균시간 동안 열처리하였다.

얻어진 살균유는 IgG 농도를 측정하기 위하여 Sandwich ELISA를 실시하였으며, 표준곡선에 의거하여 구한 농도는 배합하기 전에 첨가한 IgG 농도에 대한 살균 후 IgG 농도를 구하여 열안정성을 다음과 같이 IgG 잔존율로 표시하였다(19).

$$\text{IgG 잔존율(\%)} = \frac{\text{살균후 IgG 농도} \times 100}{\text{살균전 첨가한 IgG 농도}}$$

Table 2. Dilution factors of each sample used this experiment

Sample	Dilution factor
Raw milk	1:1000
	1:10000
	1:100000
Market milk 200 mL	1:100
	1:1000
	1:10000
Colostrum powder	1:100000
	1:1000000
	1:10000000
IgG 50 mg and 250 mg fortified milk	1:100
	1:1000
	1:10000
A product	1:100000
	1:1000000
	1:10000000
B product	1:100000
	1:1000000
	1:10000000
C product	1:100
	1:1000
	1:10000

초유제품의 용해온도별 IgG 잔존율 측정

IgG를 첨가하여 시판하고 있는 초유관련 분말제품의 표기량에 대한 IgG 활성을 용해온도별로 측정하였다. 모두 분말 상태인 이들 제품은 실제로 유아들에게 음용시킬 때 온수에 녹이므로, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C로 용해온도를 달리하여 IgG의 활성을 측정하였다. 이때 IgG의 용해온도에 대한 안정성은 표기량에 대한 잔존율로 표시하였다.

결과 및 고찰

Sandwich ELISA법에 의한 IgG의 표준곡선

우유중 IgG 분석은 항체의 특이성을 이용한 감도가 높은 분석방법인 Sandwich ELISA법을 적용하였는데, 이는 다량의 시료를 단시간에 처리할 수 있으므로 널리 사용되고 있는 방법이다(15,16).

표준곡선 작성에 사용한 standard bovine IgG의 농도는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 0.001 µg/mL까지 희석하였으며 그 검출감도는 0.01 µg/mL까지 양호하였다. 손 등(16)은 Sandwich ELISA법으로 우유중 카제인 단백질 분석에서 0.01 µg/mL까지 검출된다고 하여 본 연구결과와 일치하였으며 간접경합 ELISA(ciELISA)법에 의한 분석에서는 0.1 µg/mL까지 검출가능하다고 하였다. 본 실험결과에 의한 IgG 농도 1 µg/mL, 0.1 µg/mL, 0.01 µg/mL는 450 nm에서 흡광도 측정시 각각 1.075, 0.776, 0.208을 나타내 전형적인 시그모이드 곡선 형태를 나타내었다.

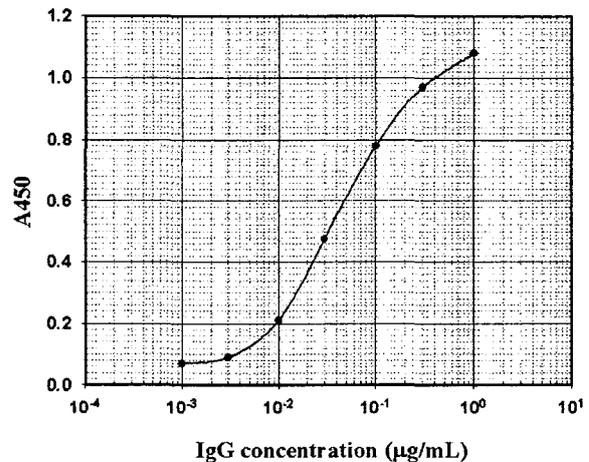


Fig. 1. Standard curve for bovine IgG as determined by Sandwich ELISA.

Sandwich ELISA was performed as follows; 100 µL of anti-bovine IgG(2 µg/mL) in coating buffer was dispensed into the wells of the microplate and bovine IgG was added up to 1 µg/mL as a standard. Then 100 µL of the diluted antibodies-HRP conjugate was added into the wells and the coloring reaction was carried out.

얻어진 표준곡선에 의거하여 경인지역에서 집유한 원유의 IgG 함량과 서울우유 3공장에서 생산한 시유 200 mL의 IgG 함량을 측정한 결과, 원유에서는 0.24 mg/mL가 검출되었고 시유 200 mL에서는 0.001 mg/mL이 검출되었다. 원유를 UHT 살균하여 생산한 시유 200 mL중 IgG 잔존율 0.42%로 대부분이 활성을 잃게 됨을 알 수 있었다. 그리고 원유에 IgG를 강화하기 위한 미국산 초유분말의 IgG 농도는 125 mg/mL가 검출되어 12.5% 순도로 확인되었다.

한편, 본 실험에 사용한 원유중의 IgG 함량은 이 등(20)이 보고한 0.72 mg/mL, 임 등(6)이 보고한 한우의 1.38 mg/mL, Foley와 Otterby(3) 및 Jenness(21)가 보고한 0.6 mg/mL, Li-Chan 등(22)이 보고한 0.03~0.71 mg/mL와 차이가 있었으며, 이는 품종, 개체, 비유기 및 실험방법 등에 의한 것으로 생각된다. 시유중의 IgG 함량은 Kummer 등(17)도 UHT 살균유의 IgG 함량이 0.03 mg/mL라고 보고한 바 있어 유사한 결과를 보여주었다.

우유 살균처리에 따른 IgG의 활성 잔존율

원유에 IgG 초유분말을 첨가하여 IgG 함량이 각각 50 mg/100 mL, 250 mg/100 mL가 되게 강화한 후 우유 살균온도에 따른 열안정성을 알아본 실험 결과는 Table 3과 같다. IgG의 잔존 활성은 열처리 하기 전의 원유중 IgG 함량을 기준으로 하여 열처리 후의 잔존 활성을 나타내었으며, 50 mg, 250 mg 첨가구는 열처리 후의 IgG 잔존 활성을 원유 유래의 활성은 제외하고 IgG 첨가 유래의 활성만을 가지고 계산하였다.

Table 3. Residual activity of IgG fortified milk heated at different pasteurization conditions (unit : %)

Sample	Pasteurization conditions			
	LTLT (65°C/30 sec)	HTST (72°C/15 sec)	95°C/15 sec	UHT (130°C/2 sec)
Raw milk	79.0	55.0	0.72	0.67
IgG 50 mg fortified	30.0	24.0	0.15	0.08
IgG 250 mg fortified	21.6	16.7	0.07	0.05

IgG concentration of raw milk before heat treatment is 0.24 mg/mL

열처리 후의 활성 잔존율은 처리 온도가 높을수록 급격히 감소하였으며, 원유의 활성 잔존율이 IgG 첨가구보다 높았다. 250 mg 첨가구는 50 mg 첨가구에 비해 활성 잔존율이 더욱 낮았다.

LTLT 살균처리시 IgG 활성 잔존율은 원유, 50 mg, 250 mg 첨가구가 각각 79%, 30%, 21.6%였다. 그러나 95°C/15초 살균처리시 IgG 활성 잔존율은 각각 0.72%, 0.15%, 0.07%로 그 이상의 열처리에는 IgG 활성이 거의 파괴됨을 알 수 있었다.

Chen과 Chang(19)은 우유에서 chromatography법으로 분리하여 동결건조한 IgG 분말, 초유중의 IgG 그리고 유청중의 IgG를 대상으로 안정성과 보호제(protectants)에 대한 연구보고를 한 바 있는데, 이 결과에서 IgG는 pH 4 이하 또는 pH 10 이상에서 불안정하다고 하였으며, 95°C 이상의 열처리에서는 대부분의 활성이 파괴된다고 하였다. IgG는 pH가 중성에서 멀어질수록 불안정해지는 경향이 있는데, 이는 단백질의 표면전하를 변화시키기 때문으로 위액 pH 1~2의 강한 산성은 소화할 때 IgG 변성의 주요한 원인이 된다(23).

Chen과 Chang(19)은 분리한 분말중의 IgG가 초유와 유청중의 IgG보다 더욱 낮은 온도에서부터 활성이 파괴되기 시작한다고 하였다. 즉 95°C/15초 열처리시 분리한 분말중 IgG는 대부분 파괴되는데 반하여, 유청과 초유중의 IgG 활성 잔존율은 각각 42%, 59%로 높았다.

또한 열처리 공정에 민감한 IgG의 활성 보존을 위하여 보호제를 탐색한 바, 5%의 당 첨가로 효과가 있었으며 fructose, maltose, sucrose, lactose, glucose, galactose 순으로 보호효과가 있었다. 이외에도 0.4% glutamic acid, 2% glycine, glycerol, sorbitol 등도 보호 효과가 있는 것으로 확인되었다. 당 첨가시 IgG의 안정화 효과는 단백질 분자 내부의 소수성 결합 증가로 IgG 구조를 안정화시켜 열처리시 변성을 억제한다(18,24). 즉, 단백질에 대한 당과 당알코올의 보호효과는 hydroxy groups의 수와 hydroxy groups의 분자내 구조에 기인한다(25).

초유제품의 용해온도별 IgG 활성 잔존율

시중에 판매되고 있는 초유관련 분말제품 3가지의 표기량에 대한 IgG 활성을 알아보기 위하여 30°C, 40°C, 50°C, 60°C로 용해온도를 달리하여 IgG의 활성을 측정하였다. 이때 IgG의 용해온도에 대한 안정성은 표기량에 대한 잔존율로 표시하였다.

Table 4에 나타난 바와 같이 IgG의 활성 잔존율은 용해온도에 관계없이 큰 차이를 나타내지 않았다. 30°C~60°C의 온도로 제품을 녹일 때 3가지 제품 모두 완전히 용해되었으며 IgG 활성 잔존율은 A제품 45%~51%, B제품 47%~56%, C제품 26%~34%였다. 3가지 제품중 C제품은 표기량에 대해 약 30%의 활성 잔존율을 보여 A, B제품보다 낮은 잔존활성을 나타내었다. 이러한 결과는 제품의 성분표기란에는 배합시 첨가량을 표기하지만 유통저장중이나 용해시에 IgG의 활성이 저하된 것으로 생각된다.

Table 4. Residual activity against marked on packaging label of IgG fortified colostrum products dissolved at different temperatures (unit : %)

Sample	Dissolution temperatures			
	30°C	40°C	50°C	60°C
A product	45	51	51	45
B product	56	47	48	53
C product	34	26	32	30

요 약

초유성분을 이용한 유제품의 개발시 기초자료로 활용하기 위하여 IgG 강화우유의 살균온도에 따른 IgG 활성 잔존율과 초유관련 분말제품의 용해온도에 따른 IgG 활성 잔존율을

측정하였다. 그 결과, 원유, IgG 50 mg, 250 mg 강화한 우유는 살균처리 온도가 높을수록 활성 잔존율이 급격히 감소하였으며, LTLT 처리시 원유, 50 mg, 250 mg 강화우유의 활성 잔존율은 각각 79%, 30%, 21.6%였다. 그러나 90°C/15초 이상의 살균 처리시에는 IgG 활성이 거의 파괴되었다. 분말제품의 30°C, 40°C, 50°C, 60°C 용해온도에 따른 IgG 활성 잔존율은 큰 차이를 나타내지 않았다.

참고문헌

- Varnam, A.H. and Sutherland, J.P. (1994) Milk and milk products. Chapman & Hall, London, England
- Ito, T. (1991) Science of breast milk. New food Industry, 33, 73
- Foley, J.A. and Otterby, D.E. (1978) Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum : A review. J. Dairy Sci., 61, 1033-1060
- 김선기, 허강철 (2000) 보존제 처리, 가열 및 동결에 의한 초유의 성분과 미생물의 변화. 한국동물자원과학회지, 42, 659-668
- 임종우 (1988) 한국 재래산 양의 Immunoglobulin 및 초유 성분의 함량 변화. 한국낙농학회지, 10, 1-7
- 임종우, 지설하, 오대균, 강만석, 안병석 (1991) 한우의 Immunoglobulin G 및 초유성분의 함량. 한국낙농학회지, 13, 225-233
- 임종우 (1995) Enzyme Linked Immunosorbent Assay에 의한 한국 모유의 Immunoglobulins 농도에 관한 연구. 한국낙농학회지, 17(3), 195-205
- Muller, L.D. and Ellinger, D.K. (1981) Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. J. Dairy Sci., 64, 1727
- 권명구, 장영호, 안종건, 고준수, 권일경 (1991) 젖소 초유의 이용성 증진에 관한 연구. 1. 유기산 첨가에 의한 초유의 보존. 한국낙농학회지, 13, 71-78
- 권명구, 장영호, 안종건, 고준수, 권일경 (1991) 젖소 초유의 이용성 증진에 관한 연구. 2. 식품보존제, 항생물질 및 formaldehyde 첨가에 의한 초유의 보존. 한국낙농학회지, 13, 97-102
- 권명구, 장영호, 안종건, 고준수, 권일경 (1991) 젖소 초유의 이용성 증진에 관한 연구. 3. 젖산균 첨가에 의한 초유의 보존. 한국낙농학회지, 13, 191-196
- 백승천, 김용휘, 신제호, 유제현 (1997) 한우 초유중 Ig의 분리정제 및 면역 반응에 관한 연구. 한국유가공기술과 학회지, 15, 1-9
- 한경식, 엄창훈, 김세현, 김영교 (1997) 비유기에 따른 초유 caesin의 분자 조성분별. 한국낙농학회지, 19(1), 49-58
- 손동화, 임선희, 이인원 (1996) 희석에 의한 우유중 Aflatoxin M1의 효소면역측정법. 한국식품과학회지, 28, 1184-1187
- 손동화, 김현정, 음병욱, 김수호, 김순미 (2000) 식품 중 대두단백질의 정량분석을 위한 효소면역측정법. 한국식품과학회지, 32, 991-996
- 손동화, 김현정, 배근원, 김순미 (2000) 우유단백질의 분석을 위한 효소면역측정법. 한국식품과학회지, 32(3), 564-569
- Kummer, A., Kitts, D.D., Li-Chan, E., Losso, J.N., Skura, B.J. and Nakai, S. (1992) Quantification of bovine IgG in milk using enzyme-linked immunosorbent assay. Food Agric. Immunol., 4, 93-102
- Shimizu, M. and Nakane, Y. (1995) Encapsulation of biologically active proteins in a multiple emulsion. Biosci. Biotech. Biochem., 59, 492-496
- Chen, C.C. and Chang, H.M. (1998) Effect of thermal protectants on the stability of bovine milk immunoglobulin G. J. Agric. Food Chem., 46, 3570-3576
- 이수원, 양동훈, 황보식, 이승환 (2001) 가공처리 조건이 초유 Immunoglobulin G의 변화에 미치는 영향. 한국축산식품학회지, 21, 265-271
- Jenness, R. (1988) Composition of milk. In Fundamentals of dairy chemistry. 3rd ed, Van Nostrand Reinhold, New York, U.S.A.
- Li-Chan, E., Kummer, A., Losso, J.N. and Nakai, S. (1994) Survey of immunoglobulin content and antibody specificity in cows milk from British Columbia. Food Agric. Immunol. 6, 443-451
- Shimizu, M., Fitzsimmons, R.C. and Nakai, S. (1988) Anti-E. coli immunoglobulin Y isolated from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient. J. Food Sci., 53, 1360-1366
- Back, J.F., Oakenfull, D. and Smith, M.B. (1979) Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols. Biochemistry, 18, 5191-5196
- Ooizumi, T., Hashimoto, K., Ogura, J. and Arai, K. (1981) Quantitative aspect for protective effect of sugar and sugar alcohol against heat denaturation of fish myofibrils. Bull. Jpn. Soc. Fish, 48, 219-226