

***Helicobacter pylori* 항원을 이용한 면역우유의 열처리와 저장 중 항체의 안전성**

정은주 · 박나영 · 배만종¹ · 이신호[†]

대구가톨릭대학교 식품외식산업학부, ¹대구한의대학교 한방바이오식품과학과

Stability of antibody during heat treatment and storage in immunized milk with *Helicobacter pylori* antigen

Eun-Ju Jeong, La-Young Park, Man-Jong Bae¹ and Shin-Ho Lee[†]

Faculty of Food service and Technology, Catholic University of Daegu, Hayang 712-702, Korea
Department of Oriental Medicine Biofood Science, Daegu Hannan University, Gyeongsan 712-715, Korea

Abstract

Optimal heat treatment conditions for maintaining the immuno-activity of immunized milk with *Helicobacter pylori* antigen were studied. Total bacterial count of immunized milk with *H. pylori* antigen decreased according to the increasing heating temperature and time. The viable cell number of immunized milk was 10^3 CFU/mL after heat treatment for 30 min at 60°C, and coliform bacteria did not appear in immunized milk after heat treatment. Immuno-activity measured in terms of IgG concentration, was maintained up to 99.99% after heat treatment for 30min at 60°C, but decreased rapidly below 50% after heat treatment above 70°C. The quality characteristics of immunized milk were examined during storage at 2°C, 4°C and 10°C. The pH, titratable acidity and total bacterial count were not changed significantly during 21 day storage at 2°C and 4°C, but rapidly changed after 7 day storage at 10°C. The immuno-activity was kept well for 14 day storage at 2°C, 4°C and 10°C but decreased rapidly after 14 days at every temperatures tested.

Key words : *Helicobacter pylori*, milk, immunize, immunized milk, stability, storage

서 론

Helicobacter pylori(*H. pylori*)는 1983년 Warren과 Marshall이 위점막에서 발견한 균으로 위궤양 환자의 70~80%, 십이지장궤양 환자의 90% 이상에서 *H. pylori* 균이 발견되고 있으며(1) 위염, 위궤양, 십이지장궤양, 위암 및 위 림프종과 같은 소화성 질환의 원인으로 알려져 있다(2,3). 국내 정상 성인의 *H. pylori* 감염률은 약 60~75% 정도로 서구 여러 나라에 비해 매우 높은 보균율을 보이고 있다(4). 우리나라에서 *H. pylori* 제균을 위해 치료에 사용되는 항생제로는 amoxicillin, clarithromycin, metronidazole과 tetracycline 등이 있다(5~7). 그러나 부작용과 pH의 상승으로 인한 *H. pylori*에의 재감염 위험, 내성균의 출현 등의 문제점

이 있어(8~13) 최근 *H. pylori*의 새로운 치료방법으로 비항생제성 물질들이 관심의 대상이 되고 있다. 즉, *H. pylori*의 위점막 부착을 억제하는 3-sialyl lactose 등의 항부착 물질, 환자의 면역반응을 높여주는 anti-*H. pylori* Ig, 정균효과(bacteriostatic acitivity)를 보이는 lactoferrin(10), 그 외 lactobacilli가 함유된 발효유(11,12), 포도주 등과 같은 항생제가 아닌 여러 식용물질들에 관한 연구 등이 활발히 진행되고 있다(13). 또한 *H. pylori*의 치료를 위해 건강 보조식품형태로 계란이 판매되고 있으나, 날계란으로 섭취해야 한다는 문제와 cholesterol 때문에 섭취를 회피하는 경향이 있다(14). 현재 일부 유업체에서는 발효유와 가공유에 정제된 IgY 성분을 첨가하여 시판중인 것도 있으나, 원유 생산단계에 천연적으로 항 *H. pylori* 성분이 함유되어 있는 원유를 이용한 가공 제품은 아직 전무한 상태이다. 보다 편리하게 *H. pylori*에 의한 위장장애 현상을 예방하고, 치료효과를 갖는 기능성 우유를 생산가공하는 일은 시급히 이루어져야

[†]Corresponding author. E-mail : leesh@cu.ac.kr
Phone : 82-53-850-3217, Fax : 82-53-850-3217

할 일이다.

이에 본 연구에서는 *H. pylori*에 대한 특이항체가 함유된 기능성 우유를 개발하고자 특이항체가 함유된 원유의 살균 조건과 저장조건에 따른 면역우유의 품질특성과 면역 활성의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

항원의 제조

항원생산용 균주는 한국유전자은행(대전광역시 유성구)으로부터 분양 받은 *Helicobacter pylori* KCTC 12083을 사용하였다. 공시 균주를 fetal bovine serum(FBS)을 5% 첨가한 Mueller Hinton Broth(MHB)배지에서 37°C, 48시간 동안 배양하여 0.5% formalin 용액으로 3시간 살균처리한 후 균체를 회수하여 멸균한 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 3회 세척(4°C, 4,000 rpm/30 min)한 후 sonication (pulse 20, duty cycle 50)하여 균 현탁액을 670 nm에서 O.D=1.0이 되도록 조정한 후 항원으로 사용하였다(14).

면역우유

사육중인 홀스티언종의 젖소에 백신을 총 4회 투여하여 면역된 젖소(14)에서 착유한 *H. pylori* 항체를 가진 원유를 사용하였다.

면역우유의 열처리

원유의 최적 살균조건을 알아보기 위해 착유 후 냉각된 원유를 미리 예열시킨 2 mL gold band ampoule(Wheaton Co., USA)에 각각 분주하여 60°C에서 30분, 75°C에서 15초, 30초, 60초 그리고 100°C에서 10초, 20초, 30초 동안 열처리한 후 급냉시켜 시료로 사용하였다.

pH와 산도

pH는 pH meter(ORION 410A, Orion Research Ins USA)로 측정하였으며, 산도는 시료 10 mL에 중류수 10 mL를 가하고 0.1% phenolphthalein을 넣은 후 0.1N NaOH로 적정하였으며, 산도는 lactic acid 함량으로 환산하였다.

미생물 수 측정

생균수는 pour plate method, 총균수는 plate count agar(Difco, USA), 대장균수는 violet red bile agar(Difco, USA)를 이용하여 37°C에서 24~48시간동안 배양한 후 나타난 colony를 계수하였다.

면역 활성 분석을 위한 시료의 전처리와 활성 측정

면역우유의 면역 활성을 측정하기 위해 열처리한 시료를 4°C에서 14,000 rpm으로 30분 동안 원심 분리하여 고형분을

제거하고 1N-HCl로 pH 4.6으로 조절한 후 4°C에서 3,000rpm으로 5분 동안 원심 분리하여 casein을 제거하였다. Casein이 제거된 유청(whey)을 1N-NaOH로 pH 7.0으로 조절 후 -20°C에 보관하면서 Fig. 1과 같이 처리한 후 ELISA reader(Bio-Rad 550, Japan)로 흡광도를 측정하여 IgG 검량곡선으로 IgG 함량을 환산하여 anti-*H. pylori* 항체 활성을 측정하였다(14).

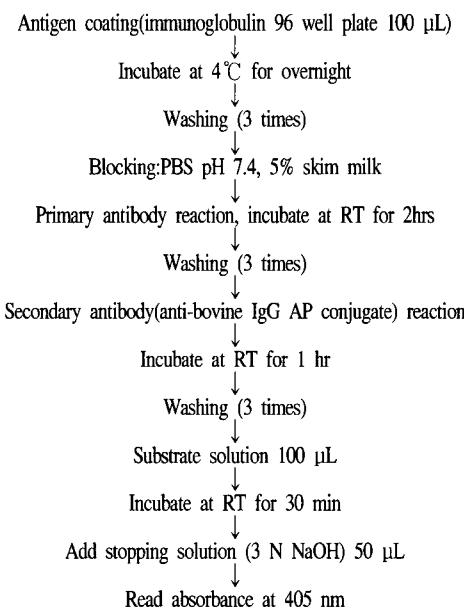


Fig. 1. ELISA (enzyme-linked immunosorbent) test.

면역우유의 저장성

면역우유의 저장성을 검토하기 위해 60°C에서 30분 동안 열처리한 후 급냉시켜 2°C, 4°C 및 10°C에서 저장하면서 3일 간격으로 21일 동안 면역우유의 pH, 적정산도, 총균수, 유산균수, 면역 활성의 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

살균 온도에 따른 면역우유의 품질변화

H. pylori 항체를 가진 원유의 열처리에 온도에 따른 pH, 산도, 미생물수 및 면역활성을 측정하였다. *H. pylori* 항체를 가진 원유의 열처리후의 미생물 수의 변화는 Table 1에서 보는 바와 같다.

열처리 전 총균수는 10^5 CFU/mL, 60°C에서 30분 열처리 한 구는 10^3 CFU/mL을 나타내어 원유에 비해 약 2 log cycle 감소하였다. 75°C에서 15초, 30초, 60초 열처리한 경우 각각 10^2 , 10^2 , 10^1 CFU/mL을 나타내어 원유에 비해 3~4 log cycle 정도 감소하였으며, 100°C에서 열처리한 구는 모두 균이 관찰되지 않았다. Coliform bacteria의 경우는 원유

Table 1. Effect of heat treatments on survival of total and coliform bacteria in immunized milk with *Helicobacter pylori* antigen

Microorganism (log No. CFU/mL)	Sample							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Total	5.6±0.09 ^d	3.5±0.01 ^c	2.2±0.21 ^b	2.2±0.29 ^b	1.0±0.03 ^a	ND	ND	ND
Coliform	2.0±0.23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

A: raw milk, B: 30min at 60°C, C: 15sec at 75°C, D: 30sec at 75°C.
E: 60sec at 75°C F: 10sec at 100°C G: 20sec at 100°C H: 30sec at 100°C.
ND: none detected Means ± Standard deviation n=3.

^{a-d}Means with different superscripts within a row are significantly different(P<0.05).

에서 10^2 CFU/mL이 관찰되었으나 열처리구의 경우 모든 처리온도와 시간대에서 균이 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Lee 등(15)의 LTTLT 및 HTST 살균유의 생산에 사용된 원유의 세균수는 약 1.3×10^5 CFU/mL, 4.0×10^5 CFU/mL이었으나, 열처리한 후 LTTLT 및 HTST 살균유의 세균수는 3.96×10^3 CFU/mL, 1.46×10^1 CFU/mL이었다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

열처리 온도와 열처리 시간에 따른 면역우유의 pH와 산도의 변화 및 면역 활성의 변화는 Table 2에서 보는 바와 같다.

Table 2. Effect of heat treatments on changes of IgG concentration(µg/mL) in immunized milk with *Helicobacter pylori* antigen

Treatment	Sample							
	A	B	C	D	E	F	G	H
IgG concentration ratio	8.39±0.01 ^f	8.39±0.01 ^f	3.94±0.01 ^c	3.22±0.00 ^d	2.74±0.00 ^f	1.13±0.00 ^f	1.23±0.01 ^b	1.23±0.01 ^b

All abbreviations are the same as Table 1.

Means ± Standard deviation n=3.

^{a-d}Means with different superscripts within a row are significantly different(P<0.05).

원유의 pH는 6.35이고 60°C에서 30분 열처리한 구는 6.28, 75°C에서 15초, 30초, 60초 동안 열처리 한 후의 pH는 각각 6.30, 6.26, 6.23을 나타내었고, 100°C에서 10초, 15초, 30초 열처리한 구의 pH는 각각 6.25, 6.22, 6.27을 나타내어 열처리 온도가 높아질수록, 열처리 시간이 증가 할수록 다소 낮아지는 경향을 나타내었으나 원유의 pH와 뚜렷한 차이는 나타내지 않았다. 원유의 산도는 0.23%, 60°C에서 30분 열처리한 구는 0.22% 그리고 75°C와 100°C에서 열처리 경우는 원유의 산도와 유사한 경향을 나타내어, 열처리에 의한 우유의 산도는 뚜렷한 변화를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 Kang 등(16)의 HTST, LTTLT 살균유 및 UHT 처리유의 pH는 6.73~6.78이고, 적정산도는 0.14~0.15%였다는 결과와는 상이하였으나 열처리에 의한 pH와 적정 산도의 변화는 원유에 비해 뚜렷한 차이가 없다는 경향은

유사하였다.

다양한 조건에서 열처리 후 Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유 중 면역 활성의 변화는 열처리 전 면역우유의 IgG 함량 8.39 µg/mL이 60°C에서 30분 동안 열처리한 후에도 8.39 µg/mL의 IgG함량을 나타내어 99.9(약 100)%의 면역 활성을 유지하는 경향을 나타내었다. 75°C에서 처리한 경우 15초, 30초, 60초 열처리에 의해 각각 항체의 활성이 47.3%, 38.3%, 32.6%를 유지하는 경향을 나타내어 열처리 온도가 높아짐에 따라, 열처리 시간이 길어짐에 따라 면역 우유의 면역 활성은 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 100°C에서 10초, 20초, 30초 열처리에 의해 각각 13.4%, 14.7%, 14.7%의 항체 활성을 나타내었다. Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 원유의 면역 활성은 열처리 온도가 높을수록 낮게 나타났고 75°C에서 열처리에 의해 면역 활성이 50%이 하로, 100°C에서 열처리한 경우 15%이하로 급격하게 감소하였다. 이는 Park 등(14)의 Anti-*H. pylori* 항체의 열안전은 60°C에서 60분간 안정하고, 70°C에서 60분경과 후 전체적인 활성이 40% 감소하며, 80°C, 8분 후 활성이 소멸된다고 보고한 결과와 유사한 경향을 나타내었다. Chen 등(17)은 설탕용액을 IgG와 IgY에 첨가하였을 때 열에 대한 방어효과가 있다고 보고하였으며, Shimizu 등(18)과 Back 등(19)은 열처리 공정에 민감한 IgG의 활성 보존을 위하여 보호제를 탐색한 결과, 5%의 당 첨가로 열에 대한 보호효과는 fructose, maltose, sucrose, lactose, glucose, galactose 순으로 보호효과가 있다고 확인하였다. 당 첨가의 경우 IgG의 안정화 효과는 단백질 분자 내부의 소수성 결합 증가로 IgG 구조를 안정화시켜 열처리시 변성을 억제하기 때문이라고 보고하였다. 즉, 단백질에 대한 당과 당알코올의 보호효과는 hydroxy groups의 수와 hydroxy groups의 분자 내 구조에 기인한다고 Ooizumi 등(20)이 보고한 바 있다. Lee(21)는 IgY가 100°C이하의 저온살균 조건에서는 항체가 크게 감소되지 않아 저온살균에 대해서는 비교적 안정한 항체로 생각된다고 보고와 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다.

본 실험의 결과 60°C에서 30분 열처리한 경우가 총균수에서는 다른 열 처리구에 비해 다소 높게 나타났지만 식품 공전상의 기준 세균수인 2×10^4 CFU/mL 보다 낮게 검출되었으며 coliform bacteria도 음성으로 관찰되어 미생물학적 품질은 양호하였으며, 또한 IgG의 활성 또한 약100% 유지되어 비교적 안전한 면역 활성을 나타내어 면역우유의 열처리 조건은 60°C에서 30분간이 적절한 것으로 판단되었다.

면역우유의 저장성

면역우유의 면역활성은 60°C에서 30분 동안 열처리에 의해 거의 대부분 유지되므로 anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유를 60°C에서 30분 동안 열처리한 후 2°C, 4°C 그리고 10°C에서 저장하면서 면역우유의 저장성 중 품질변화를

비교하였다. Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유의 열처리 후 온도별 저장 중 pH와 산도의 변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 저장 초기 2°C와 4°C에 저장한 경우 21일 동안 pH 6.78에서 뚜렷한 변화는 관찰할 수 없었으나, 10°C에 저장한 경우에는 저장 7일 이후 감소하는 경향을 나타내어 저장 14일째 pH 4.63을 나타내었다.

면역우유의 저장 중 산도의 변화는 pH와 유사한 경향을 나타내어 2°C와 4°C에 저장한 경우 21일 저장기간 동안 저장기간이 경과함에 따라 초기 산도에 비해 뚜렷한 변화를 관찰 할 수 없었으며 10°C에 저장한 경우 저장 7일 이후 산도가 증가하여 14일째 0.75%를 나타내어 산패현상을 나타내었다.

Table 3. Changes in pH and titratable acidity of immunized milks with *Helicobacter pylori* antigen during storage for 21 days at 2°C, 4°C and 10°C after heat treatment for 30 min at 60°C

Storage time (days)	pH			Titratable acidity		
	2°C	4°C	10°C	2°C	4°C	10°C
0	6.78±0.04	6.78±0.04	6.78±0.04 ^c	0.18±0.01	0.18±0.01	0.18±0.01 ^a
7	6.79±0.01	6.78±0.03	6.78±0.03 ^c	0.18±0.01	0.18±0.01	0.19±0.02 ^a
14	6.78±0.01 ^B	6.78±0.02 ^B	4.63±0.02 ^{BA}	0.18±0.01 ^A	0.18±0.01 ^A	0.75±0.01 ^{BE}
21	6.78±0.01 ^B	6.79±0.01 ^B	4.21±0.03 ^{AA}	0.18±0.01 ^A	0.19±0.01 ^A	0.82±0.01 ^{EB}

Means ± Standard deviation n=3.

^{a-c}Means with different superscripts within a row are significantly different(P<0.05).

^{A-B}Means with different superscripts within a column are significantly different(P<0.05).

열처리 면역우유의 저장 중 총균수의 변화와 면역활성의 변화는 Table 4에서 보는 바와 같다. 저장 초기 10³ CFU/mL에서 2°C와 4°C에 저장한 열처리 면역우유의 총균수는 저장 21일 동안 뚜렷한 증가현상을 관찰할 수 없었으며 10°C에 저장하였을 경우 저장 7일 까지는 완만한 증가현상을 보였으나 7일 이후 급격히 증가하여 저장 14일 이후 10⁸ CFU/mL로 부패현상을 나타내었다. 저장 중 총균수의 변화 양상은 pH와 산도의 변화와 동일한 경향을 나타내었다. 이는

Table 4. Changes in total bacteria and IgG concentration(µg/mL) of immunized milks with *Helicobacter pylori* antigen during storage for 21 days at 2°C, 4°C and 10°C after heat treatment for 30min at 60°C

Storage time (days)	Total bacteria			IgG concentration(µg/mL)		
	2°C	4°C	10°C	2°C	4°C	10°C
0	3.70±0.02 ^D	3.70±0.02 ^B	3.70±0.02 ^A	11.03±0.04 ^C	11.03±0.04 ^C	11.03±0.04 ^D
7	3.33±0.02 ^{EC}	3.19±0.02 ^{AA}	5.12±0.02 ^{AB}	11.10±0.03 ^{BD}	11.10±0.01 ^{BD}	10.97±0.01 ^{EC}
14	2.93±0.04 ^{AA}	3.18±0.02 ^{BA}	8.11±0.04 ^{AC}	10.17±0.02 ^{AB}	10.17±0.02 ^{AB}	10.23±0.03 ^{AB}
21	3.06±0.05 ^{AB}	4.23±0.03 ^{AC}	8.76±0.03 ^{BD}	4.49±0.02 ^{BA}	4.49±0.01 ^{BA}	4.18±0.02 ^{AA}

Means ± Standard deviation n=3.

^{a-c}Means with different superscripts within a row are significantly different(P<0.05).

^{A-D}Means with different superscripts within a column are significantly different(P<0.05).

LTLT 및 HTST 살균유의 냉장(10°C)상태에서 저장 7일 동안 2×10⁴ CFU/mL 이하로, 산도는 0.18%를 유지 하였으나 저장 10일째 이후 2×10⁸ CFU/mL이상, 선도는 0.70%이상 나타내었다고 보고한(15)바와 유사하였다.

면역우유를 60°C에서 30분간 열처리하여 2°C, 4°C 그리고 10°C에 21일간 저장하면서 면역활성의 변화를 관찰한 결과는 Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유의 저장 중 면역 활성의 변화는 저장 온도에 관계없이 저장 14일까지는 저장초기의 활성에 비해 뚜렷한 차이는 나타나지 않았으나 14일 이후 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 저장 14일째 열처리한 면역우유의 활성은 2°C, 4°C, 10°C에서 각각 9.87 µg/mL, 10.07 µg/mL, 10.58 µg/mL의 IgG가 관찰되었으며, 저장 21일째 면역우유의 IgG 함량은 2°C, 4°C, 10°C에서 저장 초기 대비 각각 46.1%, 40.5%, 42.4% 유지하는 경향을 나타내었다.

본 실험에 사용한 Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유는 60°C에서 30분간 열처리할 경우 면역 활성이 100% 유지될 수 있으며, 4°C이하에서 저장할 경우 유통기한 내 면역 활성의 변화 없이 우유의 품질을 유지할 수 있을 것으로 판단되었다.

요약

Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 면역우유를 60°C에서 30분 열처리한 것과 열처리 하지 않은 Anti-*H. pylori* 항체를 함유한 원유의 면역활성 비교시 99.99(100)%의 면역 활성을 나타내었으며, 75°C 이상의 열처리에 의해서는 면역 활성이 급격하게 감소하여 약 50%이하로 감소하였다. 열처리 온도가 높을수록, 열처리 시간이 증가할수록 총균수의 감소율이 증가하였다. Coliform bacteria의 경우는 원유에서 10² CFU/mL이 관찰되었으나 모든 열처리 구에서는 관찰되지 않았다. 면역우유를 2°C, 4°C 그리고 10°C에서 21일 동안 저장한 결과 면역우유의 저장 중 pH의 변화는 저장 21일 동안 2°C와 4°C에 저장한 경우 저장온도에 따른 뚜렷한 변화는 관찰할 수 없었으며, 10°C에 저장한 경우 저장 7일 이후 급격히 감소하였다. 총균수의 변화는 저장 초기 10³ CFU/mL에서 2°C와 4°C에 저장한 열처리 면역우유의 총균수는 저장 21일 동안 뚜렷한 증가현상을 관찰할 수 없었으며, 10°C에 저장하였을 경우 7일 이후 급격히 증가하여 저장 14일째 10⁸ CFU/mL로 부패현상을 나타내었다. 면역우유의 저장 중 면역 활성의 변화는 저장 온도에 관계없이 저장 14일까지는 저장초기의 활성에 비해 뚜렷한 차이는 나타나지 않았으나 14일 이후 급격히 감소하는 경향을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술관리센터 지원에 의해 수행된 농림기술개발 연구과제 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, H.R., Kim, Y.U. and Kim, D.K. (1999) The seroprevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection. J. Kor. Publ. Heal. Assoc., 25, 72-82
2. Warren, J.R. and Marshall, B.M. (1983) Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet., 1, 1273-1275
3. Ahn, H.S., Kim, I.H., Lee, S.O., Kang, M.J., Kim, D.G. and Lee, S.T. (2004) The changes of matrix metalloproteinase-9 expression in the gastric acral mucosa after *Helicobacter pylori* eradication; immunohistochemical study. Kor. Soc. of Gastroenterol., 43, 90-95
4. Pollard, W.S. (1929) Histamine test meals. An analysis of nine hundred and eighty-eight consecutive tests. Arch. Intern. Med., 92, 903-919
5. NIH, C.C. (1994) *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. Jama., 272, 65-69
6. Bazzoli, F., Pozzato, P., Rokkas, T. (2002) *Helicobacter pylori* the challenge in therapy. Heicobacer., 7, 43-49
7. Kim, J.K., Kim, J.J., Kim, J.H. and Kim, H.Y. (2001) *Helicobacter pylori* : basic and clinical practice. Seoul. Gunja publ. Co.
8. Ki, M.R. and Hwang, S.Y. (1997) The effect of omeprazole on the membrane bound ATPase activities of *Helicobacter pylori*. J. of Ins. of sci. and Technol., 5, 85
9. Kim, B.J., Kang, B.H., Kim, T.Y., Kim, T.H. and Kim, K.W. (1997) Production and characterization of IgY specific to *Helicobacter pylori*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 25, 612-616
10. Mysore, J.V., Wigginton, T., Simon, P.M., Zopf, D., Hemant-Ackam, L.M. and Dubois, A. (1999) Treatment of *Helicobacter pylori* infection in rhesus monkeys using a novel antiadhesion compound. Gastroenterol., 117, 1316-1325
11. Aiba, Y., Suzuki, N., Kabir, A.M., Takagi, A. and Koga, Y. (1998) Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. Am. J. Gastroenterol., 93, 2097-2101
12. Coconnier, M.H., Lievin, V., Hemery, E. and Servin, A.L. (1998) Antagonistic activity against *Helicobacter* infection *in vitro* and *in vivo* by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. Appl. Environ. Microbiol., 64, 4573-4580
13. Daroch, F., Hoeneisen, M., Gonzalez, C.L., Kawaguchi, F., Salgado, F., Solar, H. and Garcia, A. (2001) *In vitro* antibacterial activity of chilean red wines against *Helicobacter pylori*. Microbios., 104, 79-85
14. Park, C.H., Ye, E.J., Kim, S.J., Bae, M.J. (2005) Study on characteristics of antibody from milk immunized with some *Helicobacter pylori* antigen. J. Korean Soc. Food Sci. Nur., 43, 619-625
15. Lee, S.C., Kim, K.H., Chung, M.E., Kim, S.I., Byun, S.K., Lee, D.S., Jeong, S.K., Park, S.W., Jun, K.S., Lee, K.H., Cho, N.I., Lee, H.G. and Kim, O.K. (2001) A Study on the Quality Changes of the LTLT and HTST Treated Milk by Storage Conditions. Kor. J. Vet. Publ. Hlth., 25, 221-227
16. Kang, I.S., Lee, J.H. and Lee, S.W. (1995) A comparative study on the quality of pasteurized milk in Korea. Kor. J. Dairy Sci., 17, 161-166
17. Chen, C.C., Tu, Y.Y. and Chang, H.H. (2000) Thermal Stability of Bovine Milk Immunoglobulin G(IgG) and the Effect of Added Thermal Protectants on the stability. J. Food Sci., 65, 188-193
18. Shimizu, M. and Nakane, Y. (1995) Encapsulation of biologically active proteins in a multiple emulsion. Biosci. Biotech. Biochem., 59, 492-496
19. Back, J.F., Oakenfull, D. and Smith, M.B. (1979) Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols. Biochem., 18, 5191-5196
20. 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
21. Lee, K.A. (1996) Studies on the Stability of Hen's Egg Yolk Immunoglobulins. Kor. J. Soc. Food Sci., 12, 54-59