

## 백김치 유래 유산균을 이용한 요구르트의 *Anti-Helicobacter pylori* 활성

임성미<sup>1\*</sup> · 김덕술<sup>2</sup> · 안동현<sup>3</sup>

<sup>1</sup>동명대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>동명대학교 의공학학과, <sup>3</sup>부경대학교 식품공학과

### *Anti-Helicobacter pylori* Activity of Yogurt Fermented with Lactic Acid Bacteria from Baikkimchi

Sung-mee Lim<sup>1\*</sup>, Duck-Sool Kim<sup>2</sup>, and Dong-Hyun Ahn<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, <sup>2</sup>Department of Bio-medical Engineering,  
Tongmyong University, Busan 608-735, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Republic of Korea

(Received September 3, 2014 / Accepted October 7, 2014)

The objective of this study was to evaluate the microbiological and physicochemical characteristics, and the antagonistic activity against *Helicobacter pylori* ATCC 43504, of yogurt fermented with the lactic acid bacteria from Baikkimchi kept under cold storage. The viable cell counts, titratable acidity, viscosity, and total solid content of the yogurt were different according to the bacterial strains used for fermentation. There was no significant change ( $P>0.05$ ) in the various properties of refrigerated yogurt. Among the tested strains, the strongest resistance against artificial gastric juice and bile salt was found for *Lactobacillus brevis* BK11 and *Lactobacillus paracasei* BK57. Due to high lactic acid levels obtained from these two lactic acid bacteria, yogurt may show good anti-*Helicobacter* effects according to the time-kill assay. In particular, yogurt fermented with *L. brevis* BK11 significantly reduced the number of *H. pylori* adhering to gastric epithelial AGS cells and the urease activity of this pathogen ( $P<0.05$ ).

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, antimicrobial activity, lactic acid bacteria, probiotic, yogurt

*Helicobacter pylori*는 만성 위염, 위궤양, 점막연관성 림프종 및 위암 등의 원인균으로써 *H. pylori*의 감염률은 풍토병이 성행하는 개발도상국이나 개인 위생이 열악한 환경에서 높게 보고된다(Watanabe *et al.*, 1998). *H. pylori* 제균을 위해 가장 많이 이용되는 방법으로는 2종의 항생제와 proton pump 억제제를 혼합하여 사용하고 있는데, 이는 약 90% 정도의 제균율을 보이긴 하나, 약제의 가격이 높고, 항생제에 대한 내성균주 출현 가능성과 더불어 소화불량이나 위막성 대장염 등의 부작용을 종종 동반한다(Perri *et al.*, 2003). 이런 부작용의 발생을 줄이고 보다 안전하게 병원균을 제거하기 위한 노력이 시도되는 가운데 프로바이오틱스의 anti-*H. pylori* 활성에 관심이 집중되고 있다.

프로바이오틱스는 사람이나 동물의 건강을 향상시키고 숙주의 장내 미생물을 개선시키는데 도움을 주는 살아있는 미생물로서 급성 감염성 설사증과 같은 장내 질환의 치료에 효과적인 유익균으로 주로 발효식품 스타터로 이용되는 유산균들이 이에 해

당된다(Fuller, 1991; Gill and Guarner, 2004). 장내 균총의 정상화 및 면역기능 향상 등 건강에 이로운 발효식품인 요구르트 발효 과정 중 생성되는 각종 유기산이나 대사산물 등은 병원성 미생물의 증식을 억제하거나 사멸시키는 항균활성을 있는 것으로 이미 알려져 있다(Parvez *et al.*, 2006; Boyanova *et al.*, 2009). Aiba 등(1998)에 따르면, 배양시간이 경과됨에 따라 *Lactobacillus salivarius*의 세포수와 유산 생성량은 비례적으로 증가된 반면, *H. pylori* 균수는 점점 감소되었다고 하여 유산이 *H. pylori*의 증식을 억제함을 알 수 있었다고 하였다. 몇몇 연구에 의해 밝혀진 프로바이오틱스의 *H. pylori* 제균 메커니즘으로는 위장 상피세포 내 결합부위를 두고 서로 경쟁함으로써 병원균의 부착을 억제시키고, cytokine 생성 조절, 염증반응 조절, immunoglobulin (Ig) A 분비 개선, 상피세포로부터 점액 분비 촉진 및 *H. pylori*의 독성 인자 생성을 하위 조절함으로써 병원균의 감염력을 약화시키는데 기여한다(Prasanthi *et al.*, 2011).

게다가 *L. acidophilus*와 *Bifidobacterium*는 *H. pylori*의 증식과 urease 활성을 직접적으로 억제시키는데 효과적인 것으로 밝혀진 바 있다(Wang *et al.*, 2004). *Lactobacillus* 세포 혹은 배양

\*For correspondence. E-mail: limsm020@tu.ac.kr; Tel.: +82-51-629-1714; Fax: +82-51-629-1709

액은 위장 상피세포에 *H. pylori*의 부착을 저해하는 효과를 나타내며, 이러한 유산균들의 투여는 *H. pylori* 감염을 억제하고 치료하는데 도움을 주는 것으로 보고되고 있다(Cocconnier *et al.*, 1998; Michetti *et al.*, 1999). *H. pylori*에 감염된 환자에게 유산균으로 발효시킨 요구르트를 섭취하게 한 경우 병원균의 제거에 효과적이고, 항생제 치료법에 대한 상승 효과도 나타나는 것으로 알려져 있다(Sheu *et al.*, 2002). 따라서 본 연구에서는 백김치로부터 분리한 유산균으로 요구르트를 제조하여 냉장온도에서 저장하는 동안 미생물학적 및 물리화학적 특성의 변화와 인공 소화액 내에서의 유산균 저항성 확인 및 요구르트 내의 항균물질 함량을 측정하여 *H. pylori*에 대한 항균활성을 조사하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용 균주

본 실험에 사용된 균주는 가정에서 담근 백김치를 수집하여 Lactobacilli MRS agar (BD Difco Co., USA) 평판배지 상에서 순수 분리한 유산균 6종으로써 API 50 CHL kit (bioMérieux Co., France)와 16S rRNA gene sequence analysis로 동정하였다. 분리된 균주는 *in vitro* 상에서 *H. pylori*에 대한 항균활성을 나타낸 것으로 전보(Lim, 2014)에서 보고한 바 있으며, 본 실험에서는 요구르트 제조를 위해 *Lactobacillus plantarum* BK10, *Lactobacillus brevis* BK11, *Lactobacillus acidophilus* BK13, *Pediococcus pentosaceus* BK34, *Lactobacillus paracasei* BK57 및 *Lactococcus lactis* BK65를 선발하여 사용하였다. 한편, *H. pylori* ATCC 43504 균주는 American Type Culture Collection (ATCC)으로부터 분양 받아 사용하였다.

### 요구르트 제조

선발된 유산균은 MRS broth 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 원심분리(7,000 × g, 10 min, 4°C)하였다. 세포 침전물만을 회수하여 인산완충용액(pH 7.0)으로 2회 세척한 다음 요구르트 제조용 균주로 준비하였다. 시판하는 멸균 우유에 탈지분유(5%, w/v)를 첨가하여 90°C에서 10분간 저온 살균한 다음 40°C 전후로 식힌 후 무균적으로 유산균 배양액(1.0 × 10<sup>3</sup> CFU/ml) 5% (v/v)를 접종하였다. 이들 혼합물은 37°C에서 30시간 배양하여 요구르트를 제조하였고, 배양 직후 냉장온도(4°C)에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 요구르트의 미생물학적 및 물리화학적 특성

요구르트 내에 존재하는 유산균수는 표준한천평판배양법으로 측정하였다. 즉, 발효 직후부터 4°C에서 7일간 저장하는 동안 일정한 시간에 시료를 채취한 다음 멸균된 인산완충용액(pH 7.0)으로 십진 희석하여 MRS agar 평판배지 상에서 배양(37°C, 48 h) 하였다. 배양 후 생성된 집락수를 측정하고 CFU/g으로 표시하여 생균수로 환산하였다. 요구르트의 pH는 시료(10 g)에 증류수(10 ml)를 가한 다음 약 2분간 균질화(KMC-133V, Vision Scientific, Korea) 시킨 다음 pH meter (Fisher Scientific, USA)로 측정하였다. 총 산도 측정을 위해 요구르트 시료(10 g)에 증

류수(250 ml)를 첨가하여 혼합하여 여과(Whatman, No. 2) 시킨 다음 0.5% phenolphthalien 지시약을 2-3방울 떨어뜨린 후 0.1 N NaOH로 적정하여 다음 식에 대입하여 산도를 측정하였다. 총 산도(%) = [0.009 × NaOH 소비량(ml) × NaOH 역가 × 희석배수 / 시료 무게(g)] × 100. 점도는 1분 간격으로 50 rpm의 속도로 회전시키면서 spindle (No. 3)로 장착된 Brookfield viscometer (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA)로 측정하였다. 한편, 요구르트의 총 고형물 함량은 110°C에서 2시간 건조시킨 후 측정하였고, 단백질 함량은 Kjeldahl method에 따라 측정하였다.

### 요구르트 내 유산균의 위액 및 담즙액에 대한 내성

인공 위액 및 담즙액에 대한 요구르트 내 유산균의 저항성은 Huang와 Adams (2004)의 방법을 일부 변형하여 조사하였다. 인공 위액은 pH 2.0으로 조정된 인산완충용액 내에 NaCl (125 mM), KCl (7 mM), NaHCO<sub>3</sub> (45 mM) 및 pepsin (1 mg/ml; Sigma-Aldrich, USA)으로 구성되었다. 인공 담즙액은 인산완충용액에 pancreatin (1 mg/ml, Sigma-Aldrich)과 bovine bile (0.5%, Sigma-Aldrich)을 첨가한 후 NaOH를 사용하여 pH 8.0으로 조정하여 제조하였다. 요구르트 시료(1 g)는 인공 위액(9 ml)에 가한 후 37°C에서 30, 60 및 120분간 배양하였으며, 인공 담즙액(9 ml) 내에서는 60, 120 및 240분간 배양하였다. 배양 시간 경과 후 배양액(1 ml)을 채취하여 인산완충용액(pH 7.0)으로 십진 희석한 다음 MRS agar 배지 상에서 표준한천평판배양법으로 집락수를 계수하여 CFU로 나타내었다.

### 요구르트 내 항균물질 함량 측정

요구르트 내 함유된 유산 함량은 Shah와 Ravula (2002)의 방법에 따라 측정하였다. 요구르트 시료(3 ml)는 15.5 M nitric (50 μl) 및 0.01 M sulfuric acid (1 ml)와 혼합한 다음 단백질질을 제거하기 위해 원심분리(14,000 × g, 30분)하였다. 상등액은 0.22 μm membrane filter (Millipore Corp., USA)로 여과 제균한 후 HPLC의 이온 교환 컬럼(Aminex HPX-87 H, 300×7.8 mm, Biorad Life Science Group, USA)으로 65°C를 유지하면서 유산을 분리하였다. 이동상은 유속 0.6 ml/min인 0.01 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였고, 유산의 함량은 표준곡선으로부터 구하였다.

요구르트 내에 함유된 과산화수소의 함량을 측정하기 위해 Gilliland (1969)의 방법을 이용하였다. 요구르트 시료(10 g)는 0.1 N HCl/NaOH를 이용하여 pH 4.5로 조정한 다음 0.1 M acetate buffer (2 ml)를 첨가한 후 멸균수를 이용하여 20 ml로 조정하였다. 여과지로 여과시킨 다음 얻어진 여액(5 ml)은 1% *o*-dianisidine (100 μl)와 horseradish peroxidase (0.01 mg, Fisher Scientific, USA)가 든 멸균된 시험관에 넣고 상온에서 약 10분간 반응시켰다. 반응은 4 N HCl (200 μl)를 첨가하여 종료하였고, 400 nm에서 흡광도(Spectrocount, Packard Instruments, USA)를 측정하여 과산화수소의 함량은 표준곡선으로부터 계산하였다.

### 요구르트와의 혼합 배양에 의한 *H. pylori* 증식 저해

*H. pylori* ATCC 43504 균주는 5% (v/v) fetal bovine serum (FBS, Gibco BRL, USA), 0.2% (w/v) 2,6-di-*o*-methyl-β-cyclodextrin

(CD), 및 antibiotics (cefsulodin, vancomycin, trimethoprim, and amphotericin B)가 포함된 Brucella broth (Difco) 배지에 접종하여 미호기성 조건(10% CO<sub>2</sub>, Anoxomat system, MART Co., Netherland) 하에서 배양(37°C, 48시간)하였다. *H. pylori* 배양액은 원심분리(7,000×g, 10분간, 4°C)하여 세포 침전물을 회수한 다음 인산완충용액(pH 7.0)으로 2회 세척하였다. Antibiotic-free Brucella broth (10 ml)에 *H. pylori* 세포 현탁액( $1.0 \times 10^5$  CFU/ml)을 접종하고 요구르트 시료(5, 10, 및 20%)를 첨가하여 37°C, 미호기성 조건 하에서 48시간 배양 후 표준한천평판배양법으로 *H. pylori* 균수를 조사하였다.

#### 요구르트 첨가에 의한 위장 상피세포에 대한 *H. pylori*의 부착능

ATCC로부터 분양 받은 위장 상피세포(human stomach adenocarcinoma, AGS CRL 1739)는 l-glutamine, NaHCO<sub>3</sub>, kanamycin (60 µg/ml), streptomycin (20 µg/ml) 및 10% (v/v) FBS를 함유한 RPMI 1640 (Gibco BRL) 배지에 접종하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기 내에서 37°C, 3일간 배양하였다. Monolayer를 형성한 세포주는 trypsin-EDTA를 처리하여 tissue culture flask (75 cm<sup>2</sup>, Falcon, Beckton Dickinson, USA)로부터 탈착시켜 인산완충용액(pH 7.0)으로 2회 세척하고 난 후 세포 현탁액( $5 \times 10^4$  cells/ml)은 12-well plate (Falcon)에 접종하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>/95% 공기 조성 하에서 배양하였다. 배양된 세포는 인산완충용액(pH 7.0)으로 세척하고 난 다음 antibiotic-free RPMI 1640배지를 plate 내에 분주하고 37°C에서 2시간 배양하였다. 한편, 10% (v/v) FBS를 함유한 Brucella broth에서 배양된 *H. pylori* 배양액은 원심분리(7,000 × g, 10분간, 4°C)하여 세포 침전물만 모은 뒤 인산완충용액(pH 7.0) 내의 세포 현탁액( $1.0 \times 10^8$  CFU/ml) 100 µl을 well plate에 분주하고 37°C에서 2시간 배양함으로써 AGS 세포에 *H. pylori* 세포를 부착시켰다. 배양 후 인산완충용액(pH 7.0)으로 세척하고 나서 요구르트 시료(5, 10, 및 20%)가 첨가된 RPMI 1640 배지를 well plate에 분주하고 동일한 조건 하에서 2시간 배양하였다. 그런 다음 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해 각 well 내에 인산완충용액(pH 7.0)을 가하여 세척하고, 0.1% Triton X-100 (1 ml)를 첨가하여 AGS 세포를 용해시켰다. AGS 세포에 부착된 *H. pylori*의 균수를 측정하기 위해 배양액은 10% (v/v) FBS가 첨가된 Brucella agar 평판배지 상에서 표준한천평판배양법으로 조사하였으며, 요구르트 시료를 첨가하지 않았을 때 AGS 세포에 부착된 *H. pylori*의 균수와 비교하여 부착 저해율을 측정하였다.

#### 요구르트 첨가에 의한 *H. pylori*의 urease activity 활성 변화

AGS 세포에 부착된 *H. pylori*의 urease 활성에 대한 요구르트의 저해 효과는 phenol red method (Sgouras et al., 2005)에 따라 측정하였다. 앞에서 언급한 바와 같이 AGS 세포에 부착된 *H. pylori*에 요구르트 시료(5, 10, 및 20%) 처리 후 2시간 배양하였다. AGS 세포에 부착된 *H. pylori*의 urease 활성 측정하기 위하여 microtiter plate 내에 *H. pylori* 배양액(10 µl)은 인산완충용액에 20% (w/v) urea와 0.012% phenol red를 용해시킨 후 최종 pH 6.5로 조정하여 제조한 urease reaction 완충용액(300 µl)

을 첨가해서 혼합하였다. *H. pylori*가 urea로부터 암모니아를 생성하도록 37°C에서 1시간 동안 배양한 다음 microplate reader (Packard Instruments, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 통계처리

각 실험별로 총 3회 측정된 후 얻어진 값은 평균±표준편차로 나타내었으며, SPSS 프로그램(Ver. 12.0, USA)의 paired *t*-test를 통해 대조구와의 유의적인 차이(*P*<0.05)를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

#### 요구르트의 미생물학적 및 물리화학적 특성

*In vitro* 상에서 *H. pylori* ATCC 43504에 대한 항균활성을 가진 유산균주 6종을 이용하여 요구르트를 제조한 후 4°C에서 7일간 저장하는 동안 유산균수, 산도, 점도 및 총고형물 함량 등의 미생물학적 및 물리화학적 특성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. *L. plantarum* BK10 혹은 *L. paracasei* BK57 스타터(5%)를 접종하여 37°C에서 30시간 배양 후 얻은 요구르트 내 유산균수는 약 7 log cycle 정도로 나타났으나, *L. brevis* BK11과 *P. pentosaceus* BK34로 제조한 요구르트 내의 균수는 각각  $6.72 \pm 0.42$  및  $6.36 \pm 0.72$  log CFU/g으로 BK10과 BK57 보다 낮았다. 반면, *L. acidophilus* BK13 혹은 *L. lactis* BK65로 발효시킨 만든 요구르트 내에는 8 log cycle 이상으로 가장 많은 생균수가 측정되었다. *L. plantarum* BK10, *L. brevis* BK11, *L. acidophilus* BK13 및 *P. pentosaceus* BK34에 의해 제조된 요구르트의 pH는  $4.04 \pm 0.13$  내지  $4.56 \pm 0.19$  정도를 나타내었으나, *L. paracasei* BK57과 *L. lactis* BK65의 균주에 의해 생산된 요구르트의 pH는 각각  $3.93 \pm 0.16$ 과  $3.81 \pm 0.12$ 로 다른 균주들에 비해 더 낮게 나타났다. 한편, 요구르트의 총 산도는 *P. pentosaceus* BK34에 의해 생산된 경우  $0.52 \pm 0.06$ 으로 가장 낮은 반면, *L. lactis* BK65에 의해 제조된 요구르트의 총 산도( $1.01 \pm 0.22$ )는 다른 균주들보다 유의한 수준으로 높게 나타났다. *P. pentosaceus* BK34에 의해 제조된 요구르트의 점도는  $925.19 \pm 2.68$  cps로 가장 낮은 반면, *L. paracasei* BK57과 *L. lactis* BK65의 스타터로 발효시킨 요구르트의 점도는 각각  $1,095.55 \pm 4.05$  cps와  $1,174.67 \pm 3.61$  cps로 다른 균주들에 비해 높게 나타났다. 요구르트의 총 고형물 함량은  $13.26 \pm 0.25\%$  내지  $15.82 \pm 0.09\%$ 로 나타났는데, *L. lactis* BK65에 의해 생산된 요구르트의 총 고형물 함량이 가장 높게 나타났다. 요구르트 내 단백질 함량은 *L. paracasei* BK57에 의해 발효시켰을 때 가장 높았으며( $3.61 \pm 0.25\%$ ), *L. lactis* BK65에 의해서도 비슷한 수준( $3.57 \pm 0.34\%$ )의 단백질 함량을 나타내었다. 이상의 결과에서 볼 때, 백김치로부터 분리된 유산균으로 제조한 요구르트는 균주에 따라 미생물학적 및 물리화학적 특성에 차이가 있었고, 이러한 특성은 발효 직후부터 냉장온도에서 7일간 저장하는 동안 유의할만한 차이가 없었다.

Dave와 Shah (1997)에 의하면, 균질화한 우유에 탈지유 2%를 첨가하고 *Streptococcus thermophiles*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. acidophilus* 및 bifidobacteria에 의해 발효시켜 만

**Table 1.** Changes in microbiological and physicochemical properties of yogurt fermented with lactic acid bacteria isolated from baikkimchi during storage at 4 °C

Yogurt starter	Storage period (days)	Microbiological and physicochemical properties					
		Viable cell counts (Log CFU/g)	pH	Titrateable acidity (%)	Viscosity (cps)	Total solid content (%)	Protein content (%)
<i>Lactobacillus plantarum</i> BK10	0	7.40±0.21	4.04±0.13	0.85±0.01	1,060.38±1.49	14.32±0.06	3.05±0.16
	1	7.51±0.32	4.10±0.10	0.83±0.10	1,054.24±3.51	14.21±0.08	3.10±0.41
	3	7.39±0.06	4.11±0.09	0.87±0.13	1,057.39±2.03	14.34±0.15	3.09±0.08
	5	7.42±0.12	4.02±0.13	0.90±0.06	1,061.44±0.96	14.39±0.20	3.00±0.01
	7	7.60±0.40	4.00±0.22	0.85±0.04	1,058.45±1.34	14.27±0.24	2.99±0.17
<i>Lactobacillus brevis</i> BK11	0	6.72±0.42	4.16±0.10	0.72±0.09	1,031.74±2.02	13.26±0.25	3.09±0.31
	1	6.46±0.28	4.21±0.08	0.70±0.15	1,027.68±2.63	13.20±0.13	3.14±0.94
	3	6.29±0.33	4.10±0.10	0.73±0.03	1,035.42±3.11	13.31±0.06	3.20±0.13
	5	6.30±0.50	4.17±0.14	0.68±0.08	1,040.25±2.20	13.27±0.09	3.18±0.87
	7	6.51±0.19	4.22±0.19	0.70±0.01	1,033.55±1.54	13.33±0.14	3.11±0.75
<i>Lactobacillus acidophilus</i> BK13	0	8.28±0.32	4.24±0.16	0.68±0.09	1,010.48±3.35	14.60±0.31	3.20±0.51
	1	8.33±0.22	4.31±0.07	0.70±0.12	1,017.25±2.90	14.51±0.26	3.15±0.64
	3	8.60±0.45	4.40±0.05	0.71±0.15	1,014.67±1.83	14.53±0.20	3.25±0.72
	5	8.17±0.37	4.29±0.08	0.67±0.08	1,018.60±2.12	14.59±0.17	3.29±0.37
	7	8.25±0.28	4.36±0.21	0.69±0.08	1,016.06±1.46	14.62±0.05	3.16±0.89
<i>Pediococcus pentosaceus</i> BK34	0	6.36±0.72	4.56±0.19	0.52±0.06	925.19±2.68	15.02±0.19	3.31±0.51
	1	6.44±0.27	4.60±0.12	0.49±0.02	931.42±1.94	15.09±0.16	3.15±0.25
	3	6.61±0.35	4.42±0.14	0.50±0.08	919.07±2.16	15.11±0.13	3.28±0.78
	5	6.58±0.08	4.58±0.03	0.53±0.05	932.97±0.87	15.05±0.14	3.17±0.67
	7	6.70±0.16	4.40±0.11	0.54±0.07	929.54±0.74	15.13±0.07	3.20±0.44
<i>Lactobacillus paracasei</i> BK57	0	7.88±0.80	3.93±0.16	0.87±0.07	1,095.55±4.05	15.59±0.11	3.61±0.25
	1	7.67±0.55	3.89±0.16	0.85±0.05	1,089.20±2.09	15.48±0.25	3.55±0.38
	3	7.50±0.30	3.95±0.11	0.83±0.10	1,098.13±1.75	15.42±0.30	3.49±0.55
	5	7.51±0.44	4.00±0.02	0.90±0.06	1,086.46±0.68	15.53±0.15	3.70±0.61
	7	7.42±0.39	3.97±0.12	0.89±0.09	1,099.35±1.13	15.56±0.04	3.52±0.48
<i>Lactococcus lactis</i> BK65	0	8.31±0.31	3.81±0.12	1.01±0.22	1,174.67±3.61	15.82±0.09	3.57±0.34
	1	8.40±0.17	3.92±0.19	0.99±0.02	1,163.58±2.53	15.78±0.06	3.60±0.35
	3	8.55±0.46	3.83±0.18	0.98±0.05	1,179.30±1.61	15.73±0.08	3.71±0.46
	5	8.67±0.58	3.87±0.10	1.00±0.09	1,168.46±1.24	15.80±0.21	3.80±0.52
	7	8.49±0.71	3.99±0.12	1.01±0.05	1,171.42±0.55	15.83±0.18	3.62±0.60

Data are means±SD from triplicate determinations

든 요구르트의 단백질 함량은 3.55-3.65%이고, 총 고형물 함량은 15.99-16.24%로 측정되어 발효 스타터의 종류에 따라 다소 차이가 있음을 보여주었다. 또한 우유의 초기 총 산도는 0.14% 이었으나, 요구르트 제조 직후에는 0.68-0.77%에 이르렀고, 4°C에서 5일간 저장 후에는 0.70-0.84%로 증가되었다고 하여 본 연구의 결과보다 총 산도는 비교적 낮은 값을 나타내었고, 저장기간 동안 산도가 증가한다는 점에서 다소 차이가 있었다. 게다가 우유의 pH는 6.55-6.62 정도였으나, 요구르트 제조 직후 4.33-4.61로 감소되었으며 35일간 저장 후 pH 값은 더 낮아진 것으로 확인되었다. Salvador와 Fiszman (2004)에 의하면, 탈지유로 제조한 요구르트의 pH의 범위는 4.01-4.27 정도였으며, 산도는 0.82-1.15로 나타났다고 하였다.

**요구르트 발효 스타터의 인공 위액 및 담즙액에 대한 내성**

인공 위액 및 담즙액에 요구르트를 첨가한 후 일정시간 동안 배양한 다음 잔존하는 유산균수를 조사하여 소화액에 대한 요구르트 발효 스타터의 내성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. *L. acidophilus* BK13과 *L. paracasei* BK57로 발효시킨 요구르트 내의 유산균은 인공 위액 내에서 120분 동안 6 log cycle 이상의 균수를 유지하였다. 또한 *L. brevis* BK11의 균수도 초기 균수로부터 약 1 log cycle 정도로만 감소되었다. 하지만, *L. plantarum* BK10, *P. pentosaceus* BK34 및 *L. lactis* BK65로 발효시킨 요구르트를 인공 위액에 접종한 후 배양 시간이 경과할수록 요구르트 내 유산균수는 유의하게 감소하는 경향을 나타내었으며, 120분간 배양 후 2-3 log cycle 정도의 균수가 잔존하였다.

한편, 담즙액 내에서 *L. paracasei* BK57로 발효시킨 요구르트

트 내의 유산균수는 0.5% bovine bile 하에서 전혀 감소되지 않고 240분 동안 초기 균수를 거의 유지하는 것으로 확인되었다. 이외의 균주들로 발효시킨 요구르트 내 생균수는 담즙액 내에서 배양시간이 경과할수록 초기 균수로부터 서서히 감소되는 경향을 나타내었으나, 240분 배양 후에도 *L. brevis* BK11과 *P. pentosaceus* BK34는 5 log cycle 이상의 균수가 유지되었고, *L. plantarum* BK10, *L. acidophilus* BK13 및 *L. lactis* BK65는 4 log cycle 이상의 생균수가 잔존하여 이들 균주들은 담즙액에 대해 비교적 높은 저항성을 나타내었다.

프로바이오틱 균주는 숙주의 입을 통해 장내에 유입된 후 다양한 환경에 노출되게 되는데, 우선 이들 미생물은 위장 내의 가혹한 환경에서 생존해야 한다. 인간의 위장은 매일 약 2.5 L의 위액을 분비하고, pH 1.5까지 낮은 상태에서 음식물이 들어오게 되면 pH 3.0-5.0까지 증가하여, 이러한 음식물이 위장을 통과하는 시간은 대략 90분 정도인 것으로 알려져 있다(Begley et al., 2005). *L. acidophilus*는 높은 세포질 완충능(pH 3.72-7.74)을 가지고 있는데, 이는 세포질 pH의 변화에 대한 저항성과 산성 조건 하에서 안정성을 주므로 *Bifidobacterium* spp. 보다 저항성을 나타내게 된다. 이러한 산에 대한 내성은 배양조건 및 균종에 따라 다양하게 보고되고 있다(Vasiljevic and Shah, 2008). 일부 유산균들은 산성 하에서 pH 스트레스를 중화할 수 있는 것으로 보고되는데 이는 세포 내 pH를 유지하는 것을 돕는 대사적 반응에 의한 것으로 알려져 있다. 산성 조건에서 유산균이 저항할 수 있는 메커니즘으로는 ATPase에 의한 양성자 펌프 가동, 암모늄을 생성하는 탈아미노 혹은 아미드화, 바이오제닉 아민 생성을 유도하는 탈탄산반응, 글루타민으로부터 글루타메이트로의 전환, 말로락틱 발효 혹은 C-4 화합물에 대하여 피루베이트 대사 산물의 생성 등에 기인한다. 또한 산 스트레스 환경에 대한 저항성은 glutamate decarboxylase (GAD) 효소로부터 비롯된다(Serrazanetti et al., 2009).

Schillinger 등(2005)에 의하면 *in vitro* 시스템에서 펩신을 첨

가하여 pH 2.0으로 조정된 *L. acidophilus*는 *L. paracasei*와 *L. rhamnosus* 보다 저항성이 더 강하다고 하였다. Lee 등(2014)은 김치로부터 분리한 *Lactobacillus* 25종 중에서 *L. plantarum* SY11과 SY12의 저항성이 가장 높게 나타났는데, 인공 위액(pH 2.5, 1% pepsin)에서 각각 98.5%와 99.0%의 생존율을 나타내었다고 보고한 바 있어 *L. plantarum* BK10 균주의 저항성은 이들 균주 보다는 다소 낮게 나타났다. Vinderola와 Reinheimer (2003)의 보고에 따르면, pH 2.0의 인공 위액 하에서 3시간 동안 배양한 결과 *L. lactis* 13-3은 > 6.0 log CFU/ml를 유지하였으므로 *L. lactis* BK65는 이보다 저항성이 약한 반면, *L. acidophilus* 5와 CNRZ1923은 각각 3.4 및 5.6 log CFU/ml의 균수를 나타내었는데 *L. acidophilus* BK13는 이보다 저항성이 강한 것으로 나타났다. 이와 같은 세균의 산에 대한 저항성은 FoF<sub>1</sub>-ATPase에 의해 세포 외와 세포질 pH 사이에 일정한 구배의 존재에 의해 나타난다고 하였다(Corcoran et al., 2005).

담즙에 대한 내성도 프로바이오틱 균주의 필수 요건 중에 하나이다. 담즙산은 간에서 콜레스테롤로부터 합성되고 십이지장 안에서 담낭으로부터 분비된다. 담즙산은 글리신이나 타우린 포합형으로 담즙은 지방의 유화에 중요하다. 담즙산은 강력한 항균 활성을 가지는 양친매성 분자이며 생물학적 막을 파괴하는 계면활성제로서 작용한다. 이것은 세포막의 단백질과 인지질에 영향을 미치는 능력을 가지고 있고, 세포의 항상성을 파괴시킨다(Begley et al., 2005). 담즙산에 대한 내성은 bile salt hydrolase (BSH)의 분비에서 비롯되며 유산균의 BSH는 혈청 콜레스테롤 함량을 낮춰주는 효과가 있다. *L. acidophilus*와 *L. johnsonii*의 경우 BSH 효소에 의해 담즙산을 분해할 수 있었으나, *L. casei*의 경우는 BSH를 생성하지 않았다(Guo et al., 2009). 0.5%의 bile 존재 하에서 72시간 배양한 결과, *L. lactis* 균주들의 생존율은 16.5-72.8%이고, *L. acidophilus*는 75.1-98.7% 정도로 나타나 균종에 따라 담즙 하에서의 생존율은 큰 차이를 보였으나(Vinderola and Reinheimer, 2003), *L. acidophilus* BK13과 *L. lactis* BK65

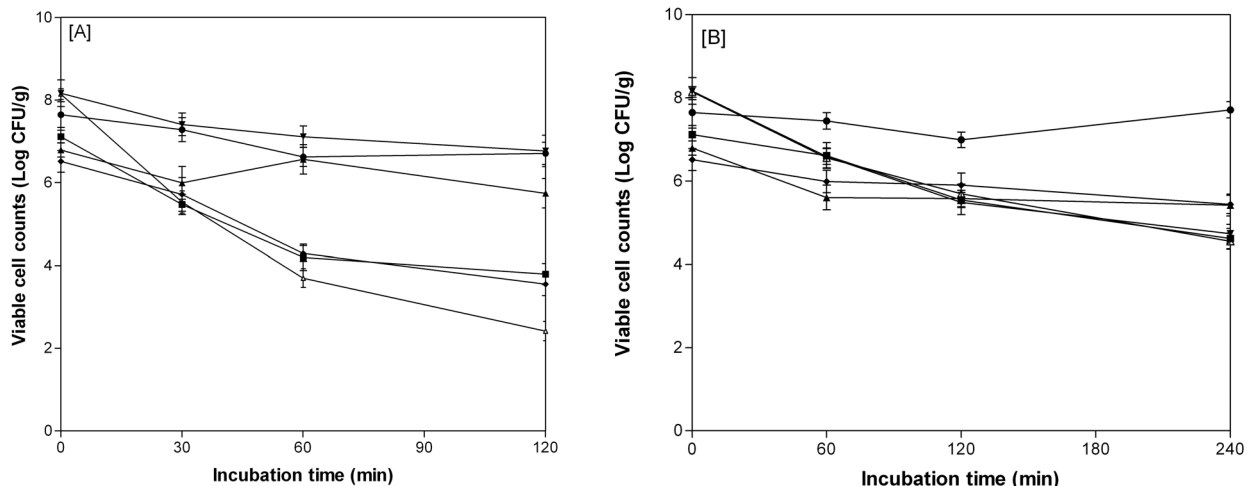


Fig. 1. The viability of lactic acid bacteria in yogurt during exposure to simulated gastric juices (A) and intestinal juice (B). (■) *L. plantarum* BK10, (▲) *L. brevis* BK11, (▼) *L. acidophilus* BK13, (◆) *P. pentosaceus* BK34, (●) *L. paracasei* BK57, (△) *L. lactis* BK65.

**Table 2.** Changes in lactic acid and hydrogen peroxide contents of yogurt fermented with lactic acid bacteria isolated from baikkimchi during storage at 4°C

Antimicrobial substances	Yogurt starter	Storage period (days)				
		0	1	3	5	7
Lactic acid (mM)	<i>L. plantarum</i> BK10	52.7±8.5	54.5±7.6	49.5±9.1	47.8±5.6	56.0±10.7
	<i>L. brevis</i> BK11	102.4±17.2	99.6±9.8	97.1±11.6	107.4±8.4	91.6±5.7
	<i>L. acidophilus</i> BK13	93.4±10.4	88.7±6.2	96.4±5.0	100.6±12.7	95.1±13.1
	<i>P. pentosaceus</i> BK34	79.6±8.3	86.2±7.9	77.6±10.0	82.5±8.4	80.9±9.3
	<i>L. paracasei</i> BK57	127.4±9.6	131.5±6.1	120.6±17.6	130.7±13.4	119.8±9.6
	<i>L. lactis</i> BK65	76.4±6.0	74.3±8.9	70.6±14.2	68.5±19.1	73.1±7.6
Hydrogen peroxide (µg/ml)	<i>L. plantarum</i> BK10	12.9±0.7	12.7±0.2	10.8±0.3	10.9±0.2	9.8±0.5
	<i>L. brevis</i> BK11	5.7±0.5	5.5±0.2	5.6±0.5	5.7±0.3	5.8±0.2
	<i>L. acidophilus</i> BK13	11.4±0.3	11.3±0.2	10.1±0.2	6.5±0.3	4.2±0.2
	<i>P. pentosaceus</i> BK34	6.0±0.2	6.2±0.3	3.9±0.3	0.8±0.3	0.9±0.2
	<i>L. paracasei</i> BK57	1.2±0.2	1.3±0.4	1.4±0.2	1.6±0.2	1.5±0.1
	<i>L. lactis</i> BK65	9.6±0.1	8.7±0.3	5.9±0.4	3.6±0.2	1.2±0.2

Data are means±SD from triplicate determinations.

의 답즙에 대한 저항성은 이들 보다는 낮은 수준으로 나타났다.

요구르트 내에 함유된 유산균은 장내에서 높은 생존율을 보이고, *L. rhamnosus* GG와 LC705의 발효 종료직전까지도 많은 균수를 유지한다고 하였다(Saxelin et al., 2010). 또한 우유 자체가 위액의 강산에 대한 완충능을 가지는 것으로 보고되었다(Petschow and Talbott, 1990). 프로바이오틱 균주의 기능성을 발휘하기 위해선 살아있는 상태로 소화 기관을 통과해야 할 뿐만 아니라 제품을 제조하거나 저장하는 동안에도 일정한 수준(10<sup>6</sup> CFU/ml) 이상을 유지해야 한다고 알려져 있다(Ouwehand et al., 1999). 일반적으로 프로바이오틱 균주는 수분활성도, 산화환원전위, 온도 및 산도와 같은 환경적 조건에 대해 민감하다(Siuta-Cruce and Goulet, 2001). 또한 식품 매트릭스 내에서 프로바이오틱스의 활성은 선발된 균종, 미생물 종들 간의 상호작용, 세균의 대사산물인 과산화수소의 생산 및 제품의 최종 산도에 의존하며, 식품 내 영양분의 이용성, 생육 촉진제 혹은 저해제, 당 농도, 용존산소 및 포장재 내부로의 산소 투과력, 균 접종량 및 발효시간에 영향을 받는다고 보고된 바 있다(Shah, 2000).

**요구르트 내 항균물질 함량**

6종의 균주로 제조한 요구르트를 발효 직후부터 4°C에서 7일간 저장하는 동안 요구르트 내에 함유된 유산과 과산화수소 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. *L. paracasei* BK57로 발효시킨 요구르트의 유산의 함량은 127.4 ± 9.6 mM으로 나타나 다른 균주들에 비해 유의하게 높은 값으로 나타난 반면, *L. plantarum* BK10에 의해 발효시킨 요구르트 내 유산 함량은 가장 낮은 값(52.7 ± 8.5 mM)으로 측정되었다. 요구르트 시료 내 유산 함량은 저장기간 동안 유의적인 차이 없이 거의 일정하게 유지되었다. 한편, *L. plantarum* BK10에 의해 발효된 요구르트 내 과산화수소 함량(12.9 ± 0.7 µg/ml)은 다른 요구르트 보다 월등히 높게 나타났으며, 그 다음으로는 *L. acidophilus* BK13과 *L. paracasei* BK65에 의해 발효된 요구르트 내에서 각각 11.4 ± 0.3과 9.6 ± 0.1 µg/ml로 나타났다. 이에 반해, *L. brevis* BK11,

*P. pentosaceus* BK34 및 *L. paracasei* BK57에 의해 발효된 6.0 µg/ml 이하의 낮은 과산화수소 양이 측정되었다. 하지만 유산 함량과는 달리 일부 요구르트의 과산화수소 함량은 저장하는 동안 감소하는 경향을 나타내었다. *P. pentosaceus* BK34와 *L. lactis* BK65에 의한 요구르트는 저장 3일만에 급격하게 감소되었고, *L. plantarum* BK10에 의해 발효된 요구르트는 저장 7일 후에 초기 함량에 비해 약 3.0 µg/ml 감소되었으며, *L. acidophilus* BK13에 의한 요구르트의 과산화수소 함량은 5일 후에 초기값에 비해 약 50% 정도 감소되었다. 하지만 *L. brevis* BK11과 *L. paracasei* BK57에 의해 발효된 요구르트의 과산화수소 함량은 7일간 저장하는 동안 유의한 변화가 없었다.

요구르트 내 유산균이 생성한 각종 유기산에 의해 식중독균이나 부패균의 증식이 억제되어 저장성을 부여한다. 유기산은 세포막 전위 유지를 방해하고 능동수송을 저해하며 세포 내 pH를 감소시키고 대사적 기능을 저해시킴으로써 항균 활성을 발휘한다(Ross et al., 2002). Midolo 등(1995)은 병원성 세균에 대한 항균 활성은 유산균이 생산한 유기산의 양에 의한 것이 아니라, 유기산의 종류와 해리형에 따라 달라진다고 하였다. 산성 pH에서 우세한 유산의 비해리형이 미생물 세포에 대해 독성이 더 강하므로 병원균의 증식을 억제할 수 있다. 즉, 유산은 친유성 약산이므로 세포막을 쉽게 통과하여 세포질 pH에 직접적으로 작용하여 결국 세포를 죽게 한다(Guetarni et al., 2012). 유산의 생성량과 항균 활성 사이에는 상관관계가 크고 5% 유의 수준 하에서 이들의 관계는 유의하다고 보고하였다. 따라서 유산을 생성하는 *Lactobacillus*와 *Streptococcus* 속은 대표적인 프로바이오틱 균주로서 감염성 장 질환 치료에 효과적이며, 특히 *H. pylori*의 감염력을 낮출 수 있는 효과가 있다(Aslim et al., 2011).

유산은 유산균의 주요한 발효산물로서 식품이나 의약품 산업에서 적용할 수 있는 가치 있는 산물이다. 대표적인 요구르트 발효 스타터인 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*가 생산한 유산의 양은 13.4-18.6 mg/ml이고, *S. thermophilus*는 0.6-11.5 mg/ml로 균종에 따라 생성량에 차이가 있었다(Aslim et al., 2011). 본



**Table 3.** Live cell counts of *Helicobacter pylori* ATCC 43504 in the co-culture with yogurt fermented with lactic acid bacteria isolated from baikkimchi

Yogurt starter	Viable cell counts (Log CFU/g)											
	Concentration (%)											
	Control			5			10			20		
	Incubation time (h)											
	0	12	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48
<i>L. plantarum</i> BK10				5.16±0.29	5.78±0.42	7.03±0.22*	5.20±0.18	5.00±0.27*	5.13±0.33*	5.46±0.43	4.56±0.21*	3.98±0.36*
<i>L. brevis</i> BK11				5.39±0.36	5.82±0.24	7.34±0.41*	5.61±0.15	5.23±0.18*	5.67±0.11*	5.24±0.20	4.99±0.19*	5.15±0.41*
<i>L. acidophilus</i> BK13				5.45±0.49	5.91±0.30	6.59±0.50*	5.78±0.50	4.82±0.27*	4.14±0.41*	5.82±0.32	4.29±0.22*	3.72±0.51*
<i>P. pentosaceus</i> BK34	5.67±0.42	6.25±0.29	8.13±0.16	5.28±0.27	6.01±0.42	7.09±0.28*	5.40±0.15	5.14±0.39*	6.26±0.24*	5.06±.18	4.84±0.27*	5.67±0.40*
<i>L. paracasei</i> BK57				5.34±0.30	5.00±0.47*	6.19±0.36*	5.51±0.09	4.76±0.31*	5.26±0.34*	5.11±0.13	4.14±0.41*	3.81±0.45*
<i>L. lactis</i> BK65				5.46±0.21	5.95±0.60	6.92±0.37*	5.62±0.08	5.53±0.30*	5.66±0.55*	5.86±0.17	5.03±0.30*	4.82±0.46*

Data are means±SD from triplicate determinations.

\*Significantly different from the control ( $p < 0.05$ ).

연구에 사용된 6종의 유산균이 생산한 유산의 양은 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*에 비해 다소 적었다. *L. casei*와 *L. acidophilus* 보다도 *L. salivarius*는 많은 양의 유산을 생산함으로써 *H. pylori*의 성장을 상당히 억제할 수 있었고, 위장 상피세포에 부착을 억제하여 *H. pylori* 제균에 효과적인 프로바이오틱 균주로 보고되고 있다(Aiba et al., 1998). Midolo 등(1995)에 의하면, *L. acidophilus*의 6균주와 *L. casei* subsp. *rhamnosus*는 *H. pylori* 성장을 억제할 수 있었지만, *B. bifidus*, *P. pentosaceus* 및 *L. bulgaricus*는 항균효과를 나타내지 않았다고 보고하였다. 유산균에 의해 생성된 유기산은 발효식품뿐만 아니라 환경 내에서 병원성 미생물에 대한 길항 작용에 있어 중요한 역할을 한다. 유산과 초산이 전체 생성된 유기산 중 90% 이상을 차지하며, 그 외 기타 유기산으로는 구연산, 마노산, 오르트산 및 요산 등이 소량 생산된다(Kim et al., 2003). Midolo 등(1996)의 보고에 의하면, 구연산, 초산 및 염산은 농도의존적으로 *H. pylori*의 성장을 저해하며, 이 중에서도 특히 유산이 가장 높은 저해율을 나타내었다고 하였다. 한편, Dave와 Shah (1997)는 우유 내 유산 함량은 약 0.05 mg/g 정도였으나, 요구르트 발효 직후 2.8-3.9 mg/g이었고, 저장하는 동안에도 냉장온도에서 5일간 유의하게 증가하였으며 그 이후로도 서서히 증가하는 경향을 나타내었다고 밝힌 바 있다.

*S. thermophiles*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. acidophilus* 및 bifidobacteria에 의해 발효시켜 만든 요구르트 내 과산화수소 농도를 조사한 결과, 3.78-16.80 µg/ml로 측정되었는데(Dave and Shah, 1997), 본 연구에 사용된 유산균 중 *L. paracasei* BK57를 제외한 균주들은 이들과 비슷한 수준의 과산화수소를 생성하였다. 유산균이 생산한 과산화수소의 양은 발효 스타터의 종류, 스타터 배양액 접종량 및 발효 온도에 따라 다소 차이가 있었다고 하였다. 한편, 요구르트의 과산화수소 함량은 저장 5일만에 급격하게 감소되었는데 이는 우유 지방과 같은 유기성분에 의해 영향을 받아 분해됨으로써 저장기간이 경과할수록 요구르트 내 이들의 함량은 감소되는 것으로 보고된 바 있다(Dave and Shah, 1997). 과산화수소는 세포막 지질과 세포의 단백질에 대한 강력한 산화작용을 나타내며 protein oxidoreductase, NADH peroxidase,

NADH oxidase 및 α-glycerophosphate oxidase와 같은 효소를 사용하여 생산된다(Condon, 1987). 하지만 *H. pylori*는 catalase을 생성하므로 활성화된 백혈구로부터 생성된 자유 라디칼에 대한 세균을 보호에 중요한 역할을 할 수 있어서 과산화수소에 의한 항균 효과는 기대하기 어렵다고 한다(Adolfsson et al., 2004).

#### *H. pylori* ATCC 43504에 대한 요구르트의 항균활성

*H. pylori* ATCC 43504와 요구르트를 농도별로 혼합 배양하는 동안 *H. pylori*의 균수 변화를 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 요구르트 시료를 첨가하지 않고 Brucella broth 내에서 24시간 배양하는 동안 *H. pylori* 균수는 약 6.25±0.29 log CFU/ml이었고, 48시간 후에는 8.13±0.16 log CFU/ml을 나타내었다. *L. plantarum* BK10, *L. brevis* BK11, *L. acidophilus* BK13, *P. pentosaceus* BK34 및 *L. lactis* BK65로 제조한 요구르트를 5% 첨가하여 24시간 배양했을 때 *H. pylori*의 균수는 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았지만, 48시간 배양 후에는 대조구에 비해 약 0.8-1.5 log cycle 낮은 균수를 나타내었다. 반면, *L. paracasei* BK57로 발효시킨 요구르트 5% 첨가 후 24시간 만에 *H. pylori*는 대조구보다 유의하게 낮은 균수를 유지하였다( $P < 0.05$ ). 한편, 요구르트 10% 이상 첨가에 의해서 *H. pylori*에 대해 효과적인 항균 효과를 나타내었다. 즉, *H. pylori* 세포를 *L. acidophilus* BK13에 의해 발효된 요구르트 10%와 혼합 배양한 경우 48시간 만에 대조구보다 약 4 log cycle 낮은 균수만이 검출되었고, *L. plantarum* BK10, *L. acidophilus* BK13 및 *L. paracasei* BK57 균주에 의한 요구르트 20%에 의해서도 탁월한 항균 활성을 보여주었는데, 이는 *L. brevis* BK11, *P. pentosaceus* BK34 및 *L. lactis* BK65 보다 *H. pylori*를 제거하는데 더 효과적인 것으로 나타났다.

탈지유 내에서 배양시킨 유제품 발효 스타터 63종 중에서 *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. acidophilus* 및 *L. lactis* 등 총 25종의 유산균에 의해 anti-*Helicobacter* 활성이 나타났다고 보고된 바 있다. 또한 탈지유 내에서 배양된 세포가 배지에서 증식된 세포보다 *H. pylori*의 증식을 억제시키는 효과가 더 강하다고 하였다. 이는 유제품 내에 함유된 유산이 *H. pylori*의 증식

**Table 4.** Effect of yogurt on adhesion of *H. pylori* cell after 2 h exposure to AGS cells

Yogurt starter	Control	Relative adhesion (%)														
		Storage period (days)														
		0			1			3			5			7		
		Concentration (%)														
		5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20
<i>L. plantarum</i> BK10		90.23±6.05	79.37±8.00*	70.33±5.21*	91.52±3.85	81.25±6.02*	74.56±7.89*	89.68±2.67	77.52±6.30*	70.24±4.35*	92.56±4.85	79.56±6.32*	68.55±5.52*	91.69±3.94	75.18±5.46*	71.45±6.87*
		75.13±7.00*	66.47±6.11*	51.33±8.20*	76.35±4.05*	70.25±2.89*	55.62±2.45*	75.48±3.85*	69.23±4.80*	58.74±5.12*	73.56±5.02*	71.46±6.03*	55.69±8.94*	70.56±7.45*	69.74±4.97*	57.84±6.21*
<i>L. brevis</i> BK11		61.27±3.10*	55.50±5.35*	38.33±4.45*	63.36±6.35*	57.41±6.03*	42.58±5.61*	65.42±4.55*	59.63±5.13*	40.15±3.71*	66.85±5.12*	61.85±4.52*	38.54±5.63*	62.85±1.96*	57.99±7.02*	41.25±5.35*
		80.57±5.55*	71.03±4.64*	63.57±5.56*	76.35±4.84*	68.52±5.12*	59.86±3.16*	79.06±8.21*	70.52±2.87*	54.25±2.99*	80.25±2.88*	67.84±3.96*	52.16±3.06*	77.69±3.05*	70.24±5.62*	49.85±2.71*
<i>L. acidophilus</i> BK13	100.47±3.00	71.37±2.90*	62.43±3.30*	55.40±2.66*	68.52±5.12*	65.89±4.75*	58.15±3.03*	65.23±5.61*	66.39±5.28*	61.28±4.11*	68.54±4.26*	64.75±4.12*	57.84±2.64*	71.54±5.06*	65.39±6.00*	59.01±6.07*
		66.33±9.75*	54.47±4.05*	45.73±6.90*	69.58±8.41*	51.25±5.69*	41.25±4.05*	70.85±5.57*	54.28±7.52*	37.58±5.06*	67.81±5.97*	52.33±7.14*	35.46±9.02*	70.55±8.91*	55.42±1.98*	37.41±8.06*
<i>P. pentosaceus</i> BK34		71.37±2.90*	62.43±3.30*	55.40±2.66*	68.52±5.12*	65.89±4.75*	58.15±3.03*	65.23±5.61*	66.39±5.28*	61.28±4.11*	68.54±4.26*	64.75±4.12*	57.84±2.64*	71.54±5.06*	65.39±6.00*	59.01±6.07*
<i>L. paracasei</i> BK57		66.33±9.75*	54.47±4.05*	45.73±6.90*	69.58±8.41*	51.25±5.69*	41.25±4.05*	70.85±5.57*	54.28±7.52*	37.58±5.06*	67.81±5.97*	52.33±7.14*	35.46±9.02*	70.55±8.91*	55.42±1.98*	37.41±8.06*
<i>L. lactis</i> BK65																

Data are means±SD from triplicate determinations.  
\*Significantly different from the control ( $P<0.05$ ).

을 억제하는 것으로 간주된다(Mercenier *et al.*, 2002). 하지만, Mercenier 등(2002)에 의하면, *L. casei* Shirota는 pH 7.0에서 *H. pylori* NCTC 11637의 성장을 억제하였으므로 유산 생성과는 무관하다고 보고한 바 있다. 본 연구에 사용된 유산균의 anti-*H. pylori* 활성은 혼합 배양 시 48시간 만에 생균을 모두 사멸시킨 *L. acidophilus* CRL 639 및 배양 4시간 만에 *H. pylori* 균수를 4-5 log cycle 감소시킨 *Enterococcus faecium* TM39에 비해 비교적 낮게 나타났다(Lorca *et al.*, 2001; Tsai *et al.*, 2004).

유산균에 의해 *H. pylori*의 균수 감소 및 사람이나 동물 모델을 대상으로 적용한 실험에서 위장 점막의 염증을 완화시키는 효과가 있는 것으로 보고되는데 이러한 억제 효과는 균종에 따라 상이하다고 알려져 있다(Sgouras *et al.*, 2005). *L. johnsonii* La1과 *L. gasseri* OLL2716는 *H. pylori*의 집락 형성과 염증을 감소시키는데 효과적이고(Felley *et al.*, 2001), *L. acidophilus*도 *H. pylori*의 성장을 저해할 수 있으며, 특히 *H. pylori*에 감염된 14명의 환자를 대상으로 6주간 *L. casei* Shirota ( $2 \times 10^{10}$  CFU/day)로 발효시킨 발효유를 섭취했을 때 64%의 환자에서 urease 활성이 감소됨을 확인하였다(Cats *et al.*, 2003). *B. animalis* Bb12와 *L. acidophilus* La5를 함유한 요구르트의 섭취에 의해 *H. pylori* 감염을 효과적으로 억제하였는데(Wang *et al.*, 2004), *H. pylori* 제균을 위해 프로바이오틱 단독 투여보다는 *H. pylori* 감염 치료를 위해 사용되는 항생제와의 병용처리에 의해 더 높은 제균 효과를 얻을 수 있다고 알려져 있다(Vasiljevic and Shah, 2008).

**요구르트가 AGS 상피세포에 대한 *H. pylori*의 부착에 미치는 영향**

AGS 상피세포에 대한 *H. pylori*의 부착에 대한 요구르트의 영향을 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 요구르트를 첨가하지 않은 상태에서 *H. pylori*가 AGS 상피세포에 부착된 정도를 100%로 볼 때, *L. plantarum* BK10으로 발효시킨 요구르트 5% 첨가

시에는 대조구와 유의적인 차이가 없었으나, *L. brevis* BK11, *L. acidophilus* BK13, *P. pentosaceus* BK34, *L. paracasei* BK57 및 *L. lactis* BK65로 발효시킨 요구르트 5%에 의해서 유의한 수준으로 부착을 억제하였다( $P<0.05$ ). 요구르트를 10% 이상 첨가한 경우에는 유산균종에 관계없이 모든 요구르트에 의해서 *H. pylori* 부착을 유의하게 감소시켰다( $P<0.05$ ). 특히, *L. acidophilus* BK13과 *L. lactis* BK65에 의해 발효시킨 요구르트는 다른 균종에 비해 *H. pylori* 부착 억제율이 높아 이들 각각의 균주로 발효시킨 요구르트 10% 첨가에 의해서 약 45% 정도의 부착율이 감소되었고, 20% 요구르트 처리구에 의해서 55-60% 정도의 감소 효과를 얻을 수 있었다. 게다가 AGS 세포에 대한 *H. pylori* 부착 억제 효과는 요구르트의 저장 기간에 관계없이 일정한 값을 유지하였다.

점액이나 침투력 같은 물리적 및 점막의 면역력 같은 기능적 구성성분을 포함하는 위장장벽은 병원균에 대한 첫 번째 방어선이다. *H. pylori*는 사람의 위장 상피세포 내에서 MUC1과 MUC5A 유전자 발현을 억제한다. *H. pylori*는 분비하는 성분을 통해 상피세포와 서로 상호작용하여 위장 점막에 부착된다. 상피세포에 *H. pylori*가 부착하게 되면 점액 분비가 감소되면서 *H. pylori*와 관련된 위염과 같은 질병이 발생할 수 있다. 하지만 *L. rhamnosus*와 *L. plantarum* 같은 유산균은 MUC2와 MUC3 유전자 발현을 증가시키고, 대장세포에 의해 세포 외 무신 분비를 증가시킨다(Byrd *et al.*, 2000). 이들 유산균은 위장 점막의 점막 투과성을 회복시키고 *H. pylori*를 포함한 여러 병원성균의 부착을 억제한다. *L. johnsonii*, *L. salivarius* 및 *L. acidophilus*는 대장 상피세포 HT-29 혹은 위장 상피세포인 MKN45에 대한 *H. pylori*의 부착을 저해시킨다고 알려져 있다(Jack *et al.*, 1995; Nam *et al.*, 2002). 요구르트로부터 분리된 *L. acidophilus* LGG의 배양 상등액 10% 처리 시 AGS 상피세포에 대한 *H. pylori*의 부착율은 32.4% 감소되었으며, *L. acidophilus* BK13으로 발효



**Table 5.** *In vitro* effect of yogurt on urease activity of *H. pylori* adhered to AGS cells

Yogurt starter	Control	Urease activity														
		Storage period (days)														
		0			1			3			5			7		
		Concentration (%)														
		5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20
<i>L. plantarum</i> BK10		0.29±0.02	0.30±0.02	0.27±0.03	0.30±0.02	0.29±0.03	0.28±0.03	0.29±0.03	0.28±0.02	0.27±0.03	0.30±0.03	0.29±0.03	0.26±0.02	0.28±0.03	0.27±0.04	0.27±0.01
<i>L. brevis</i> BK11		0.28±0.03	0.27±0.01	0.24±0.02*	0.29±0.02	0.26±0.03	0.22±0.04*	0.28±0.03	0.28±0.01	0.23±0.03*	0.27±0.04	0.27±0.02	0.25±0.01	0.28±0.02	0.26±0.03	0.22±0.02*
<i>L. acidophilus</i> BK13	0.31±0.03	0.26±0.04	0.26±0.02	0.22±0.03*	0.25±0.05	0.25±0.02	0.21±0.04*	0.27±0.04	0.26±0.03	0.24±0.03*	0.26±0.04	0.25±0.01	0.23±0.02*	0.27±0.03	0.26±0.03	0.23±0.03*
<i>P. pentosaceus</i> BK34		0.31±0.03	0.28±0.03	0.25±0.02	0.30±0.04	0.29±0.02	0.26±0.03	0.29±0.03	0.27±0.04	0.27±0.04	0.30±0.01	0.25±0.02	0.26±0.02	0.29±0.02	0.26±0.01	0.28±0.01
<i>L. paracasei</i> BK57		0.28±0.05	0.27±0.03	0.27±0.01	0.29±0.02	0.25±0.04	0.28±0.02	0.27±0.03	0.28±0.03	0.29±0.01	0.28±0.02	0.29±0.03	0.29±0.02	0.27±0.03	0.28±0.02	0.27±0.02
<i>L. lactis</i> BK65		0.27±0.03	0.26±0.02	0.24±0.02*	0.28±0.02	0.27±0.02	0.22±0.04*	0.29±0.03	0.26±0.03	0.23±0.02*	0.28±0.02	0.27±0.02	0.21±0.03*	0.27±0.03	0.29±0.02	0.24±0.02*

Data are means±SD from triplicate determinations.

\* Significantly different from the control ( $P<0.05$ ).

시킨 요구르트 5% 첨가에 의한 *H. pylori* 부착 억제율은 이보다 다소 높았다. 유아 분변으로부터 분리된 *L. plantarum* R1의 부착 억제율(27.9%)은 *L. plantarum* BK13에 의해 제조된 요구르트 20% 처리의 경우와 비슷한 수준을 나타내었다(Lin et al., 2009).

El-Adawi 등(2013)은 숙주 장내 세포 Hep-G2에 대한 *H. pylori*의 부착력에 유산균이 미치는 영향을 살펴본 결과, 부착 위치를 두고 이들 사이의 경쟁에 의해 유산균이 *H. pylori*의 부착을 억제한다는 메커니즘과 비특이적 면역 반응을 증대시키고, 세균의 집락 형성을 촉진하는 *H. pylori*의 Bab A (adherence factor blood group Ag-binding adhesion) 유전자 발현의 on/off switching을 통해 나타난다고 추정하였다. 또한 *H. pylori*의 부착을 억제하는 숙주세포의 정상화를 위한 유산균의 보호 효과를 들 수 있다. *L. salivarius* WB1004는 마우스와 사람 위장 상피세포에 대한 *H. pylori*의 부착을 억제할 뿐만 아니라, IL-8의 분비를 감소시켰다고 하였고, *L. reuteri*는 *H. pylori*와 표면 glycolipid 결합 단백질과의 결합 부위를 두고 경쟁함으로써 숙주 상피세포 내 병원성 세균이 결합하지 못하도록 막는다(Mukai et al., 2002). *In vivo* 상에서 프로바이오틱 균주를 처리한 경우 위장 염증의 감소를 초래하는 pro-inflammatory와 anti-inflammatory cytokine의 균형을 조절하고 점막 안정 효과를 유도하는 IgA 반응에 의한 위장벽을 강화시키는 것으로 알려졌다(Vitini et al., 2000).

#### 요구르트가 AGS 상피세포에 부착된 *H. pylori*의 urease 활성에 미치는 영향

AGS 상피세포에 부착된 *H. pylori*의 urease 활성에 대한 요구르트의 영향을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 요구르트 5% 및 10% 처리에 의해서 *H. pylori*의 urease 활성에 유의적인 감소 효과는 전혀 나타나지 않았으며, 특히 *L. plantarum* BK10, *P. pentosaceus* BK34 및 *L. paracasei* BK57의 균주로 발효시킨 요

구르트는 20% 첨가에 의해서도 *H. pylori*의 urease 활성이 대조구와 비교했을 때 유의한 차이가 없었다. 하지만, *L. brevis* BK11, *L. acidophilus* BK13 및 *L. lactis* BK65에 의해 발효시킨 요구르트 20% 처리에 의해서 *H. pylori*의 urease 활성이 대조구보다 유의하게 감소되었다( $P<0.05$ ). 이와 같이 *H. pylori*의 urease 활성은 요구르트 제조용 스타터에 따라 유의한 차이가 있었지만, 요구르트에 의한 효소 활성 억제 효과는 발효 직후부터 저장하는 동안에는 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

*Helicobacter* 속 세균은 표면 단백질 성분인 urease를 가지고 있어 숙주 내 요소로부터 암모니아를 생산함으로써 위액의 강산을 중화하여 위장관 내에서 증식할 수 있다(Dunn et al., 1997). 요소는 주로 간에서 합성되어 혈류를 따라 순환하며 위장 상피세포 아래 모세혈관을 통해 위장 루멘으로 분산된다(Stuart-Tilley et al., 1994). *H. pylori*의 감염 치료는 1종 혹은 2종의 항생제와 proton pump inhibitor를 혼용하는데 이때 정상적인 구강 인두와 정상 장내 균총의 억제 및 항생제 내성 균주 출현 등 장내 환경 장애를 발생시킬 수 있다. 이와 같은 부작용 발생을 줄이기 위해 프로바이오틱 균주를 활용한 치료법이 고안되어 *in vitro*와 *in vivo* 상에서 활발하게 연구가 진행되고 있다. 임상실험에서 *L. gasseri* OLL2716 (LG21)과 *L. acidophilus* (*johnsonii*) La1를 적용했을 때  $^{13}\text{C}$  urea breath test 값이 감소되었음을 확인하였다(Sullivan and Nord, 2002). Tsai 등(2004)에 따르면, *H. pylori* 증식 억제 및 urease 활성 감소는 *E. faecium* TM39가 생산한 항균 물질에 기인하는 것으로 보고하였다. 하지만 *L. casei*로 제조한 발효유를 섭취한 경우 *H. pylori*의 집락 형성을 다소 감소시켰으나, urease 활성은 유의할 만한 정도로 감소되지 않았다고 하였다(Cats et al., 2003).

이상의 결과를 요약하면, 숙성된 백김치로부터 분리된 총 6종의 균주를 이용하여 요구르트를 제조한 후 이에 함유된 유산균 수 및 물리화학적 특성은 균주에 따라 다소 차이가 있었으며, 인

공 위액과 담즙액 내에서도 강한 저항성을 보인 균주는 *L. brevis* BK11과 *L. paracasei* BK57로서 프로바이오틱 균주로서의 기본적인 선발 조건을 충족하였다. 이들 균주로 발효된 요구르트는 다른 균주들보다 유산 생성량이 높았으며, 이러한 항균 물질로 인하여 *H. pylori*에 대한 항균 활성을 나타내는 것으로 추정된다. 게다가 사용된 유산균들은 과산화수소를 생성하는 것으로 확인되었는데 비록 *H. pylori*는 catalase를 생성하므로 이러한 항균물질에 의해 항균 효과를 얻기는 어려우나, 과산화수소에 민감한 부패균이나 식중독균의 증식 억제에는 효과가 있을 것으로 사료된다. 산업적으로 프로바이오틱 균주의 운반을 위해 요구르트를 많이 이용하는데 위산이나 담즙산에 대한 내성을 가지는 *L. brevis* BK11과 *L. paracasei* BK57로 제조한 요구르트와 *H. pylori*를 혼합 배양하는 동안에도 대조구에 비해 유의적인 항균 효과를 얻을 수 있었다. 특히, *L. brevis* BK11에 의해 발효시킨 요구르트에 의해선 AGS 세포에 대한 *H. pylori*의 부착을 억제할 수 있었고, 이들이 생산하는 urease의 활성을 낮추는 데도 효과적이라는 것을 확인하였다. 향후에는 저장기간에 따른 요구르트의 관능학적 특성 변화 및 *in vivo* 상에서 *H. pylori* 제균을 위한 요구르트의 활성을 측정하여 위장 질환을 예방하고 치료하는데 유용한 식품으로 개발함으로써 건강을 향상시키는데 기여하고자 한다.

적 요

백김치로부터 분리된 유산균으로 제조된 요구르트를 냉장 보관하는 동안 미생물학적 및 물리화학적 특성 및 *Helicobacter pylori* ATCC 43504에 대한 항균 활성을 조사하였다. 요구르트의 유산균수, 적정산도, 점도 및 총 고형물 함량은 사용된 균주에 따라 유의적인 차이가 있었으나, 발효 직후부터 7일간 저장하는 동안 유의할만한 차이 없이 일정하게 유지되었다. *Lactobacillus brevis* BK11과 *Lactobacillus paracasei* BK57 균주로 발효시킨 요구르트는 인공 위액과 담즙액에 대해 다른 균주들 보다 강한 저항성을 보였다. 한편, 이들 유산균으로 제조한 요구르트 내에 존재하는 유산 생성량은 상대적으로 높았으므로 *H. pylori*와 혼합 배양한 결과 대조구에 비해 유의적인 항균 효과를 나타낸 것으로 추정되었다. 특히, *L. brevis* BK11에 의해 발효시킨 요구르트에 의해선 AGS 세포에 대한 *H. pylori*의 부착을 억제할 수 있었고, 이들이 생산하는 urease의 활성을 낮추는 데도 효과적이라는 것을 확인하였다.

References

Adolfsson, O., Meydani, S.N., and Russell, R.M. 2004. Yogurt and gut function. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 245-256.  
 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.  
 Aslim, B., Onbasili, D., and Yuksekdog, Z.N. 2011. Determination of lactic acid production and antagonistic activity against *Helicobacter*

*pylori* of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *S. thermophilus* strains. *Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg.* **17**, 609-614.  
 Begley, M., Gahan, C.G., and Hill, C. 2005. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol. Rev.* **4**, 625-651.  
 Boyanova, L., Stephanova-Kondratenko, M., and Mitov, I. 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains: Preliminary report. *Lett. Appl. Microbiol.* **48**, 579-584.  
 Byrd, J.C., Yunker, C.K., Xu, Q.S., Sternberg, L.R., and Bresalier, R.S. 2000. Inhibition of gastric mucin synthesis by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* **118**, 1072-1079.  
 Cats, A., Kuipers, E.J., Bosschaert, A.R., Pot, R.G.J., Vandenbroucke-Grauls, M.J.E., and Kusters, J.G. 2003. Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Aliment. Pharm. Therap.* **17**, 429-435.  
 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.  
 Condon, S. 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiol. Lett.* **46**, 269-280.  
 Corcoran, B.M., Santon, C., Fitzgerald, G.F., and Ross, R.P. 2005. Survival of probiotic Lactobacilli in acidic environments if enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 3060-3067.  
 Dave, R.I. and Shah, N.P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *Int. Dairy J.* **7**, 31-41.  
 Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J. 1997. *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 720-741.  
 El-Adawi, H., El-Sheekh, M., Khalil, M., El-Deeb, N., and Hussein, M. 2013. Lactic acid bacterial extracts as anti-*Helicobacter pylori*: A molecular approach. *Ir. J. Med. Sci.* **182**, 439-452.  
 Felley, C.P., Cortesy-Theulaz, I., Rivero, J.L., Sipponen, P., Kaufmann, M., Bauerfeind, P., Wiesel, P.H., Brassart, D., Pfeifer, A., Blum, A.L., and et al. 2001. Favorable effect of an acidified milk (LC-1) on *Helicobacter pylori* gastritis in man. *Eur. J. Gastroen. Hepat.* **13**, 25-29.  
 Fuller, R. 1991. Probiotics in human medicine. *Gut* **32**, 439-442.  
 Gill, H.S. and Guamer, F. 2004. Probiotics and human health: A clinical perspective. *Postgrad. Med. J.* **80**, 516-526.  
 Gilliland, S.E. 1969. Enzymatic determination of residual hydrogen peroxide in milk. *J. Dairy Sci.* **52**, 321-324.  
 Guetami, H., Bensaid, A., and Bensoltane, A. 2012. Analysis of lactic acid responsible for inhibition *in vitro* of *Helicobacter pylori* by high performance chromatography (HPLC). *J. Biotechnol. Lett.* **3**, 34-36.  
 Guo, Z., Wang, J., Yan, L., Chen, W., Liu, X.M., and Zhang, H.P. 2009. *In vitro* comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* Zhang, a potential new probiotic, with selected probiotic strains. *LWT-Food Sci. Technol.* **42**, 1640-1646.  
 Huang, Y. and Adams, M.C. 2004. *In vitro* assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **91**, 253-260.  
 Jack, R.W., Tagg, J.R., and Ray, B. 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **59**, 171-200.  
 Kim, T.S., Hur, J.W., Yu, M.A., Cheigh, C.I., Kim, K.N., Hwang, J.K., and Pyun, Y.R. 2003. Antagonism of *Helicobacter pylori* by bacteriocins of lactic acid bacteria. *J. Food Prot.* **66**, 3-12.  
 Lee, N.K., Kim, S.Y., Han, K.J., Eom, S.J., and Paik, H.D. 2014. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from

- kimchi for yogurt starters. *LWT-Food Sci. Technol.* **58**, 130-134.
- Lim, S.M.** 2014. Anti-*Helicobacter pylori* activity of antimicrobial substances produced by lactic acid bacteria isolated from Baikkimchi. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **57**, 621-630.
- Lin, W.H., Lin, C.K., Sheu, S.J., Hwang, C.F., Ye, W.T., Hwang, W.Z., and Tsen, H.Y.** 2009. Antagonistic activity of spent culture supernatants of lactic acid bacteria against *Helicobacter pylori* growth and infection in human gastric epithelial AGS cells. *J. Food Sci.* **74**, M225-30.
- Lorca, G.L., Wadstrom, T., Valdez, G.F., and Ljungh, A.** 2001. *Lactobacillus acidophilus* autolysins inhibit *Helicobacter pylori* in vitro. *Curr. Microbiol.* **42**, 39-44.
- Mercenier, A., Pavan, S., and Pot, B.** 2002. Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. *Curr. Pharm. Design* **8**, 99-110.
- Michetti, P., Dorta, G., Wiesel, P.H., Brassart, D., Verdu, E., Herranz, M., Felley, C., Porta, N., Rouvet, M., and Blum, A.L.** Cortésy-Theulaz I. 1999. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion* **60**, 203-209.
- Midolo, P.D., Lambert, J.R., Hull, R., Luo, F., and Grayson, M.L.** 1995. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acid and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 475-479.
- Mukai, T., Asasaka, T., Sato, E., Mori, K., Matsumoto, M., and Ohori, H.** 2002. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **32**, 105-110.
- Nam, H.H.M., Bae, O., and Lee, Y.** 2002. Effect of *Weissella confusa* strain PL9001 on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4642-4645.
- Ouweland, A.C., Kirjavainen, P.V., Shortt, C., and Salminen, S.** 1999. Probiotics: Mechanisms and established effects. *Int. Dairy J.* **9**, 43-52.
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah, K.S., and Kim, H.Y.** 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.* **100**, 1171-1185.
- Perri, F., Qasim, A., Marras, L., and O'Morain, C.** 2003. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **8**, 53-60.
- Petschow, B.W. and Talbott, R.D.** 1990. Growth promotion of *Bifidobacterium* species by whey and casein fractions from human and bovine milk. *J. Clin. Microbiol.* **28**, 287-292.
- Prasanthi, C.H., Prasanthi, N.L., Manikiran, S.S., and Rao, N.R.** 2011. Focus on current trends in the treatment of *Helicobacter pylori* infection: An update. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **9**, 42-51.
- Ross, R.P., Morgan, S., and Hill, C.** 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *Int. J. Food Microbiol.* **79**, 3-16.
- Salvador, A. and Fiszman, S.M.** 2004. Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *J. Dairy Sci.* **87**, 4033-4041.
- Saxelin, M., Lassig, A., Karjalainen, H., Tynkkynen, S., Surakka, A., Vapaatalo, H., Järvenpää, S., Korpela, R., Mutanen, M., and Hatakka, K.** 2010. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **144**, 293-300.
- Schillinger, U., Guigas, C., and Holzapfel, W.H.** 2005. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. *Int. Dairy J.* **15**, 1289-1297.
- Serrazanetti, D.I., Guerzoni, M.E., Corsetti, A., and Vogel, R.** 2009. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. *Food Microbiol.* **26**, 700-711.
- Sgouras, D.N., Panayotopoulou, E.G., Martínez-González, B., Petraki, K., Michopoulos, S., and Mentis, A.** 2005. *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduced levels of pro-inflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* **12**, 1378-1386.
- Shah, N.P.** 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.* **83**, 894-907.
- Shah, N.P. and Ravula, R.R.** 2002. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yoghurt and probiotic bacteria. *Aust. J. Dairy Technol.* **55**, 127-131.
- Sheu, B.S., Wu, J.J., and Lo, C.Y.** 2002. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment. Pharm. Therap.* **16**, 1669-1675.
- Siuta-Cruce, P. and Goulet, J.** 2001. Improving probiotic survival rates. *Food Technol.* **55**, 38-42.
- Stuart-Tilley, A., Sardet, C., Pouyssegur, J., Schwartz, M.A., Brown, D., and Alpher, S.L.** 1994. Immunolocalization of anion exchanger AE2 and cation exchanger NHE-1 in distinct adjacent cells of gastric mucosa. *Am. J. Physiol.* **266**, C559-C568.
- Sullivan, A. and Nord, C.E.** 2002. The place of probiotics in human intestinal infections. *Int. J. Antimicrob. Agents* **20**, 313-319.
- Tsai, C.C., Huang, L.F., Lin, C.C., and Tsen, H.Y.** 2004. Antagonistic activity against *Helicobacter pylori* infection in vitro by a strain of *Enterococcus faecium* TM39. *Int. J. Food Microbiol.* **96**, 1-12.
- Vasiljevic, T. and Shah, N.P.** 2008. Probiotics-from Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy J.* **18**, 714-728.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A.** 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res. Int.* **36**, 895-904.
- Vitini, E., Alvarez, S., Medina M., Medici, M., de Budeguer, M.V., and Perdigon, G.** 2000. Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. *Biocell.* **24**, 223-232.
- Wang, K.Y., Li, S.N., Liu, C.S., Perng, D.S., Su, Y.C., Wu, D.C., Jan, C.M., Lai, C.H., Wang, T.N., and Wang, W.M.** 2004. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 737-741.
- Watanabe, T., Tada, M., Nagi, H., Sasaki, S., and Nakao, M.** 1998. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* **115**, 642-648.