

## 소 및 돼지 혈액에서의 혈장단백질 분석 및 이들의 유화능

윤승섭 · 이현규\* · 송은승\* · 최영준\*\* · 전석락  
매일유업(주) 중앙연구소, \*호서대학교 식품영양공학부  
\*\*경상대학교 수산가공학과

### Analysis of the Plasma Proteins from Bovine and Porcine Blood and Their Emulsifying Activity

Sung Seob Yun, Hyeon Gyu Lee\*, Yeung Joon Choi\*\*,  
Eun Seung Song\* and Suk Lak Juhn

Maeil Dairy Industry Co., \*Division of Nutrition & Food Technology, Hoseo University  
\*\*Department of Marine Processing, Kyungsang National University

#### Abstract

Plasma proteins were obtained from bloods of slaughtered bovine and porcine and analyzed by Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC). Serum albumin content decreased in the following order: Porcine Plasma Protein (PPP) > Bovine Plasma Protein (BPP) > Whey Protein Concentrate (WPC). Protein contents of BPP, PPP, and WPC determined by Kjeldahl method were 85.79%, 82.30%, and 84.38%, respectively. Compared to WPC, plasma proteins had higher emulsifying activity index (EAI) below 2% protein concentration and slightly lower EAI above 4% protein concentration. Plasma proteins had higher EAI in the acidic pH range and more dependence on NaCl than WPC. Also, EAI of plasma proteins with NaCl was higher in the acidic range than that of WPC. These results indicated that plasma protein can be utilized as a raw material for emulsifier.

Key words: plasma protein, protein analysis, emulsifying activity

#### 서 론

식품에 이용될 수 있는 단백질 소재로서의 중요 요인들로는 원료 소재로서의 균일성 및 안정성, 최적의 보존성, 특수 기능성의 유의성, 양호한 관능 특성, 높은 영양가 등을 들 수 있다. 도축시 얻어지는 부산물인 혈액은 오래 전부터 식품에 이용되어 왔으나 그 성상, 냄새 또는 보존성 및 안전성의 취약성으로 인하여 극히 제한적으로 식품에 이용되어 왔다. 따라서 상당 부분의 혈액이 버려져 수질오염의 원인 물질로서 문제가 되어 폐수 처리 비용에도 부담이 되고 있다<sup>(1,2)</sup>. 혈액 중에는 혈장단백질 뿐만 아니라 여러 가지 유효성분이 함유되어 있으므로 이러한 성분들의 개발 및 이용을 확대하려는 노력이 절실히 요구된다<sup>(2,3)</sup>. 가축의 혈액은 살코기와 비슷한 17% 정도의 단백질을 함유하며 혈장 단백질에는 많은 blood serum albumin이

존재한다. 혈장 albumin은 유용한 단백질 공급원이며 여러 기능특성을 가지고 있다<sup>(4)</sup>. 또한 혈장 단백질은 우수한 기능 특성을 갖고 있으며, 특히 가열에 의한 gel 형성이 좋아 sausage 등의 가공에 이용 가능성이 높은 것으로 보고되어 있다<sup>(1,5-9)</sup>. 그러나 여전히 국내에서는 혈장 단백질의 기능 특성에 대한 연구 및 그 이용 실태는 지극히 미미한 실정이다. 특히, 현재 유가공 및 여러 식품가공공정에 유화제로 널리 이용되는 유청단백질(WPC; whey protein concentrate)은 가격에 상대적으로 높아 그 대체물 개발이 요구된다. 따라서 본 연구에서는 이용성이 낮은 도축시 부산물로 얻어지는 혈장을 단백질 공급원으로서의 이용가능성을 검토하기 위하여 소, 돼지 혈장 단백질의 분리, 성분 분석, 단백질 함량 및 유화력을 WPC와 비교 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### WPC 제조

매일유업(주) 시범 목장에서 채취한 우유로 skim

Corresponding author: Hyeon Gyu Lee, Division of Nutrition and Food Technology, Hoseo University, 29-1 Sechulri Bae-bang-myun, Asan-si Chungnam 336-795, Korea

milk (미살균 탈지유)를 제조하고, 이 탈지유는 1 N-HCl로 pH 4.6으로 조정하고 40°C에서 10분간 가열 후, 4°C에서 1시간 냉각한 다음 9,000×g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 카제인을 제거하였다. 회수한 상징액을 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 포화시켜 1일간 상온에서 정치후 다시 9,000×g, 4°C 10분간 원심분리후 침전물을 회수하여 4°C 탈이온수로 2일간 투석하고 동결 건조하여 WPC 분말을 얻었다.

**혈장 단백질(plasma protein)의 제조**

도살장에서 소와 돼지를 도살한 직후 채혈하여 항응고제(10% sodium citrate solution)를 혈액 100 mL에 3 mL 비율로 첨가해 1,000×g, 4°C에서 15분간 원심분리하여 혈장을 회수 하였다. 이 혈장을 6,500×g, 4°C에서 15분간 다시 원심분리하여 상징액을 4°C에서 탈이온수에 투석하여 동결건조로 PPP (porcine plasma protein) 및 BPP (bovine plasma protein) 분말을 얻었다.

**WPC 및 혈장 단백질의 성분 분석 및 단백질 함량 조사**

FPLC system을 이용하여 WPC, BPP 및 PPP의 성분을 분석하였다. Column은 음이온 교환 수지인 Mono-Q 5/5를 사용하였으며 용매는 20 mM Tris-HCl, pH 7.0 (10 mM Na<sub>3</sub> 포함), 0-0.35 M NaCl linear gradient를 사용하여 용출시켰다. 조단백질 함량은 Kjeldahl법<sup>(10)</sup>에 의하여 분석하였다.

**WPC 및 혈장 단백질의 유희활성(EAI) 조사**

Pearce와 Kinsella<sup>(11)</sup>의 개량 탁도법에 의해 유희활성을 측정하였다. 각종 단백질 용해액(1%, 2%, 4%, 6%, 8%, w/w) 2 g과 대두유 0.5 g을 시험관(Φ1.35×11 cm)에 넣고 Polytron PTA-7을 사용하여 30°C, 8분간 21,000 rpm으로 유희시켜 emulsion을 만들었다. 이 emulsion을 3분간 탈기하고 시험관의 밑부분에서 100 ML 채취하여, 10% SDS용액에 1:1000의 비율로 희석하고 다시 3분간 탈기하였다. 그 후 500 nm에 대한 흡광도를 측정하고 유희활성지표(EAI: emulsifying activity index)를 아래 식으로 산출하였다. 또한 염농도(0.2 M NaCl) 및 pH (3, 7; 9) 의존성에 관하여도 유희력을 같은 방법으로 조사하였다.

$$EAI = \frac{2T}{\Phi \cdot c} = \frac{2}{\Phi \cdot c} \cdot \frac{2.303A}{l}$$

Where, A: Observed absorbance

l: Path length of the cuvette

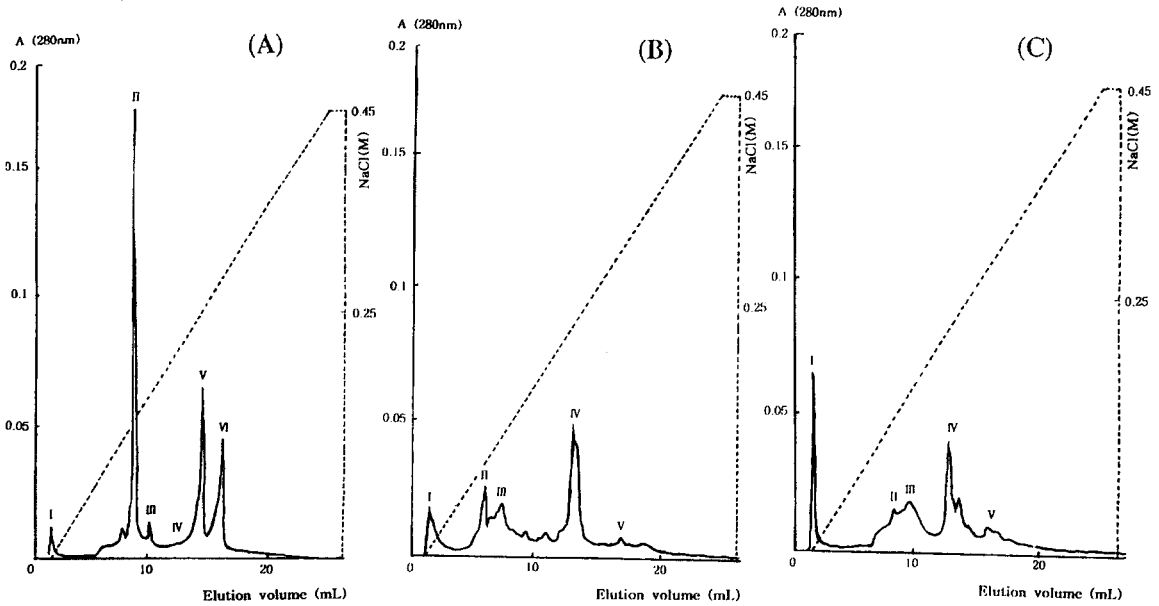
Φ: Oil volume fraction of the emulsion

c: The weight of protein per unit volume of aqueous phase before the emulsion is formed.  
T: 2.303A/l

**결과 및 고찰**

소와 돼지 혈액을 이용하여 각각의 혈장 단백질(plasma protein)을 제조하고, 이들의 기능특성을 비교 검토하기 위하여 skim milk에서 분리정제한 WPC를 사용하였다. 분리정제한 각각의 시료들은 FPLC system을 사용하여 성분분석과 Kjeldahl법을 사용하여 조단백질을 정량하였다. 혈액에는 수백종의 단백질이 존재한다. 이들을 분리하는 방법은 여러 가지가 소개되었다<sup>(12)</sup>. 이중 Chromatography법은 변성이 적어서 많이 이용되고 있다. 여기서는 신속하고 변성을 최소로 하기 위하여 FPLC를 이용하였다. FPLC 및 SDS-PAGE에 의한 성분분석 결과 SA (serum albumin)는 PPP, BPP, WPC의 순서로 많이 함유하고 있었으며 유청단백질유래의 WPC보다 혈장단백질들에서의 함량이 많았다(data not shown). 또한 혈장단백질에는 β-globulin 분획(주로 transferrin)이 다량 포함되어 있으며 그의 미량성분(fibrinogen, immunoglobulin)들이 확인되었다(Fig. 1A, 1B, 1C). 이러한 결과는 Saito 등<sup>(12)</sup>이 보고한 porcine blood plasma의 결과와 유사하였다. 본 연구에서는 FPLC를 사용하여 신속하고 대량생산 가능성을 보였다. 조단백질의 함량은 각각 85.79% (BPP), 84.38% (WPC)와 82.30% (PPP)로 모두 80% 이상 높은 조단백질 함량을 보여 우수한 기능 특성을 가질 수 있으며, 단백질 공급원으로서 식품소재로 이용이 가능할 것으로 판단되었다.

혈장 단백질의 식품 소재로서의 기능성에 관하여서는 유단백질 중의 하나며 기존 유희제로서 활용되는 유청단백질인 WPC와 비교하여 유희력을 비교 검토하였다. 또한 본 연구에서 조제한 PPP, BPP 및 WPC의 유희활성을 단백질의 농도, 염의 첨가 및 pH와 관련시켜 검토하였다. 일반적으로 유희특성을 조사하기 위해서는 유희활성(EA: emulsifying activity), 유희용량(EC: emulsifying capacity), 유희안정성(ES: emulsifying stability) 등의 방법이 이용된다. 본 연구에서는 유희활성의 지표로 EAI를 측정했는데 Table 1에서 나타낸 것과 같이 단백질 농도가 낮아질수록 EAI값이 높아지는 결과를 보였으며, 유희활성이 단백질에 의하여 형성되는 수분층/기름층의 계면면적에 상관관계가 있음을 나타내었다. 또한 혈장단백질은 WPC에 비교하여 단백질 농도 2% 이하에서는 EAI 값이 높았으며 4%



**Fig. 1.** Separation of (A) WPC (whey protein concentrate), (B) PPP (porcine plasma protein) and (C) BPP (bovine plasma protein) by anion exchange chromatography on the Mono Q 5/5 column. Column was run at a flow rate of 0.5 mL/min in 20 mL Tris-HCl pH 7.0 buffer, containing 10 mM NaN<sub>3</sub>, with 0-0.5% NaCl gradient. In (A) I. IgG (immunoglobulin) (?) II.  $\alpha$ -lactalbumin III. IgG IV. BSA (bovine serum albumin) V.  $\gamma$ -lactoglobulin A VI.  $\beta$ -lactoglobulin B; In (B) I.  $\gamma$ -globulin II. transferrin III. --- IV. serum albumin V. ---; In (C) I.  $\gamma$ -globulin II. transferrin III. --- IV. BSA V. ---

**Table 1.** Emulsifying activity index (EAI) values of various proteins as a function of protein concentration

Protein Concentration (%)	EAI (m <sup>2</sup> /g) <sup>1)</sup>		
	WPC	PPP	BPP
1	111.90	126.19	120.95
2	58.10	72.14	64.05
4	35.71	32.14	34.64
6	26.03	22.94	21.59
8	22.92	17.80	16.31

<sup>1)</sup>Emulsion of pH 7.0 contains 20% (w/w) soybean oil.

이상에서는 약간 낮아지는 경향을 보였다. 특히 단백질 농도 2% 이하에서 EAI값은 PPP>BPP>WPC순으로 나타났다. EAI값은 유화 속도, 기기, 기름의 종류 및 농도 등 여러 가지 요인들에 영향을 받기 때문에 다른 자료와의 비교는 어렵다<sup>(7)</sup>. PPP, BPP, WPC를 동시에 측정할 자료가 거의 없고 이와같이 높은 농도별로 측정할 자료가 없으므로 이 결과는 의미가 높을 것으로 사료된다. 또한 1%(w/v) PPP, BPP, WPC 용액에 염첨가 및 pH가 유화력에 미치는 영향을 검토하였다 (Fig. 2). Saito와 Taira<sup>(8)</sup>는 가열시 porcine blood에서의 pH와 NaCl의 유화특성변화를 살펴보았다. 가열시에 pH와 NaCl에 의하여 유화력이 변화가 있다는 보고를 하였으므로, 가열하기 전에 pH와 NaCl의 영향에 대한

자료가 미미하므로 이를 살펴보고자 하였다. pH 영역에 대한 유화활성을 측정할 결과 PPP 및 BPP는 WPC와는 상이하게 산성쪽의 pH에서 알칼리성쪽보다는 더 높은 유화활성을 보였다. 또한 염(NaCl)의 첨가시 유화활성에 미치는 영향을 측정할 결과 PPP 및 BPP는 WPC와 비교하여 pH 의존성이 상당히 높으며 특히 산성쪽에서 높은 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 식품소재로의 적용시에는 보다 많은 요인들에, 예를들면 염종류 및 당의 존재유무, 단백질의 열변성 정도 등, 의하여 변화할 수 있으므로 이 자료를 기초로 더욱 많은 검토를 해야 할 것으로 판단된다. 이상의 결과들을 살펴볼 때 혈장단백질은 WPC에 비교하여 저렴한 가격 및 우수한 유화력을 갖는 식품소재로 확인되었다. 그러므로 식품업계에서는 식품제조 부산물로 얻어지는 혈장단백질을 효과적으로 처리함으로써 부가가치를 높이는 것은 물론 그 기능을 충분히 활용하여 새로운 식품소재의 개발과 환경오염의 방지에 크게 기여할 것으로 사료된다.

**요 약**

소와 돼지 혈액중의 혈장 단백질을 분리하여, 성분 분석과 단백질 함량을 정량했으며 혈장단백질의 식품

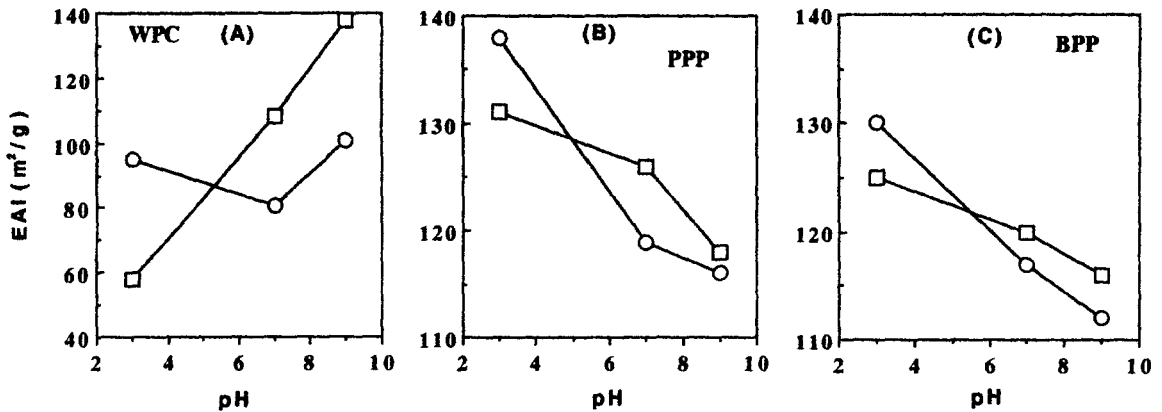


Fig. 2. Effects of pH and NaCl on the emulsifying activity in emulsion (1% w/v) of (A) WPC, (B) PPP and (C) BPP. □—□: In water, ○—○: In 0.2 M NaCl.

가능성에 관하여서는 기존 유화제로서 활용되는 유청 단백질인 WPC와 비교하여 유화능력을 비교 검토하였다. FPLC 및 SDS-PAGE에 의한 성분분석 결과 혈장 알부민(SA)은 돈혈장단백질(PPP), 우혈장단백질(BPP), 유장단백질(WPC)의 순서로 많이 함유되었으며, 혈장 단백질에는  $\beta$ -globulin분획(주로 transferrin)이 다량 포함되어 있고, 그외 미량성분(fibrinogen, immunoglobulin)들이 확인되었다. 단백질 함량은 BPP (85%) 및 PPP (82%) 모두 높은 함량을 보여 우수한 단백질원으로 이용 가능할 것으로 보였다. 유화력도 혈장단백질들이 단백질 농도 2% 이하에서는 WPC보다 높았으며, 4% 이상에서는 WPC보다는 약간 낮았다. 또한 염농도 및 pH 의존성에 관하여 유화력에 미치는 영향을 검토한 결과, PPP 및 BPP의 pH 영역에 대한 유화활성은 WPC와는 상이하게 산성쪽의 pH에서 염기성쪽보다 더 높은 활성을 보였으며, 염(NaCl)첨가로 인한 유화활성의 영향은 WPC와 비교하여 pH 의존성이 상당히 높았으며, 특히 산성쪽에서 높은 활성을 나타냈다. 이상의 결과들을 살펴볼 때 소 및 돼지의 혈액에서 제조한 혈장단백질들은 우수한 유화특성을 갖는 식품소재로 확인되었다.

### 감사의 글

본 연구는 1996년 한국과학재단의 이공계 교수 산업현장근무 프로그램 지원의 일부에 의하여 이루어진 결과이므로 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

1. Kim, Y.B., Kim, K.S., Lee, Y.C. Yoo, I.J. and Lee, S.K.: Studies on the development of protein resources from

animal by-product. I. separation of protein from porcine blood (in Korean). *Korean J. Anim. Sci.*, **32**, 271-277 (1990)

2. Park, E.H., Lee, H.Y. and Song, K.B.: Characterization of plasma proteins from bloods of slaughtered cow and pig and utilization of the proteins as adhesives. *Agri. Chem. and Biotech.*, **39**, 123-126 (1996)

3. Yoo, I.J., Jeon, K.H., Lee, H.A. and Ji, J.R.: Recovery of immunoprotein using ultrafiltration from porcine blood serum (in Korean). *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **16**, 242-248 (1996)

4. Saito, M. and Taira, H.: Heat denaturation and emulsifying properties of plasma protein. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2787-2792 (1987)

5. Tybor, P.T., Dill, C.W. and Landmann, W.A.: Functional properties of proten isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *J. Food Sci.*, **40**, 155-159 (1975)

6. Caldironi, H.A. and Ockerman, H.W.: Incorporation of blood proteins into sausage. *J. Food Sci.*, **47**, 405-408 (1982)

7. Nakamura, R.S., Hayakawa, S., Yasuda, K. and Sato, Y.: Emulsifying properties of bovine blood globin: A comparison with some proteins and their improvement. *J. Food Sci.*, **49**, 102-104 & 113 (1984)

8. Terrell, R.N., Weinblatt, P.J., Smith, G.C., Capenter, Z. L., Dill, C.W. and Morgan, R.G.: Plasma protein isolate effects on physical characteristics of all-meat and extended frankfurters. *J. Food Sci.*, **44**, 1041-1043 & 1048 (1979)

9. Mielinte, J. and Slinde, E.: Sausage color measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry whole blood or blood cured by nitrite is added to sausage. *J. Food Sci.*, **48**, 1723-1725 & 1754 (1983)

10. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., U.S.A. (1995)

11. Pearce, N.K. and Kinsella, J.E.: Emulsifying properties of proteins : Evaluation of a turbidimetric technique *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 716-723 (1978)

12. Saito, M. Ichikawa, N. and Taira, H.: Fractionation and emulsifying properties of plasma proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2831-2836 (1988)