

가축혈액으로부터 면역단백질의 분리연구

전 기 흥

축산물이용연구팀

1. 가축혈액과 식품 소개

식품에서 단백질 수준의 증가는 인체 영양에 있어서 가장 시급한 문제 중의 하나이며 인간의 건강과 어린이의 생존율은 단백질 식품의 양과 질에 의존한다. 개발도상국의 경우 주요 단백질 급원으로 농산물을 이용하고 있으나 곡류에는 필수 아미노산 중에서 lysine, tryptophan, threonine, methionine이 결핍되어 있다. 동물성 단백질은 식물성 단백질의 필수 아미노산 불균형을 해결해 줄 뿐 아니라 인간의 최소 단백질 요구량을 기준으로 식물성 단백질은 동물성 단백질의 1.5~2.0배의 양을 섭취해야 한다(Gorbatov 등, 1971). FAO에 따르면 동물성 단백질의 세계적인 부족량은 현재 생산량의 약 70%로 추정되며 단백질 요구량을 1인당 약 90g/일로 하였을 때 연간 5백만 M/T이 부족한 형편이다. 더구나 세계적으로 폭발적인 인구의 증가와 함께 기존 식량 자원의 개발이 극히 한정적이기 때문에 새로운 단백질자원의 확보가 요구되는 실정이다. 막대한 생산량에도 불구하고 지금까지 대부분 폐기되어 오던 가축혈액을 이용한 식량자원의 회수 및 개발은 이러한 요구를 만

족시킬 수 있는 접근방법 중 하나로서 그 가능성이 주목받고 있다. 혈액은 다른 단백질 식품에 비해 상대적으로 가격이 저렴하고 필수 아미노산을 고루 갖춘 단백질 급원이기 때문에 이러한 요구에 가치 있는 물질로써 평가되며 그 밖에도 가공 식품에서의 혈액단백질의 기능적 특징은 난백 알부민을 비롯하여 대두 단백질 등 식품첨가물 또는 그 대체재로서의 역할을 기대할 수 있다(김 등, 1988). 혈액은 일반적으로 우수한 영양적 가치를 갖는다고 알려져 있으나(Delaney, 1975) 혈액세포에 존재하는 헤모글로빈의 영향으로 인한 붉은 색택과 금속성 냄새에 가까운 이취 발생으로 인해 식용으로서 혈액의 이용이 매우 제한되어 왔다(Howell 와 Lawrie, 1983; 일본특허공개 ㅍ5-344867, 1993). 가축혈액은 특히 유럽지역에서 오래 전부터 사용되고 있어 blood sausage, tung sausage 및 blood pudding 등 혈액을 소재로 하는 식품의 배합원료(Grahm, 1978; Mielnik와 Slinde, 1983; Autio 등, 1984; Oellingrath와 Slinder, 1985)로 이용되며 혈장의 경우 햄, 소시지 및 햄버거 등 육가공제품의 증량 및 결착용도(Tybor 등, 1975; Caldironi와 Okerman, 1982; Naka-

mura 등, 1984), 그리고 biscuit, cookie 등 과자류와 제빵류의 단백질환제 용도로 이용(윤 등, 1992)되어 육가공업계 혹은 제빵업계 등 식품업계에서 첨가물로 활용되거나 사료업계에서 가축의 단백질자원을 공급하기 위한 목적으로 이용되고 있다. 또한 주류에서의 청정제(clarifier), 치즈 제조시 안정제(stabilizer), 버터 제조시 유화제(emulsifier) 및 가금육 가공시의 착색제(coloring agent) 등 그 적용범위가 점차 증가되는 추세이다(Okerman과 Hansen, 1988).

최근 혈액을 이용한 식품의 적용은 원심분리와 같이 혈액의 비중을 이용하여 단순분리를 통해 얻어지는 혈장 및 혈청 등 1차 분획물의 이용보다 혈액내 존재하는 특정성분의 분획을 목적으로 분리 및 정제과정을 거쳐 식품에 적용을 시도하여 특정한 기능성을 함유하는 식품의 개발 및 이용으로 많은 관심이 고조되고 있다(Seilly, 1995). 혈액에는 면역물질, 성장 증진인자, 발암물질 변형인자와 같이 생물학적으로 중요한 역할을 한다고 믿어지는 immunoglobulin, transferrin, fibronectin, fetuin 및 heme과 같은 생물학적 활성인자가 다양하게 포함되었기 때문에 이에 대한 관심 및 이용에 관한 연구가 점차 활발해지고 있는 추세이다(Lee 등, 1987). 특히 가축혈액 내에 함유되어 있는 면역단백질의 이용은 생산량과 생산시기의 조절이 어려운 소의 초유 공급조건에 비해 많은 양의 혈액을 안정적으로 공급할 수 있는 장점이 있을 뿐 아니라 기존 폐기물질의 활용이라는 점에서 가치가 있다.

따라서 가축혈액으로부터 면역단백질의 경제적인 생산방법이 확립될 경우 어린 가축을 대상으로 하는 사료 첨가제로 효과적인 이용이 기대될 뿐만 아니라(McCallum, 1977), 모유의 섭취가 충분하지 못한 유아를 대상으로 조제분유 또는 유아식품 등에 첨가하여 질병예방 효과를 거둘 수 있는 기능성 소재가 될 수 있고(임, 1995), 면역단백질의 순수정제를 통한 의약품 등 특수용도로서의 사용도 가능하다고 하겠다. 또한 면역단백질의 생산과정

중 부산물로 발생하는 혈액세포의 단백질은 동물성 천연색소로 활용이 가능하도록 개발할 경우 새로운 식품소재로의 활용이 기대된다.

2. 가축혈액의 특성 및 이용

2.1 가축혈액의 성분조성

혈액은 적혈구(erythrocyte), 백혈구(leukocyte), 혈소판(plastocyte) 등으로 구성되어 있는 혈액세포와 알부민, 글로불린, 피브리노겐 등 단백질 및 비타민, 무기질 등이 용해되어 있는 혈장으로 구성되어 있다(김 등, 1988). 혈액세포의 대부분을 차지하는 적혈구는 헤모글로빈 색소를 약 30% 함유하고 있어 혈액이 붉은 색을 나타내게 하는데(Pavlovsky와 Palmin, 1975) 혈액세포를 그대로 사용할 때는 헤모글로빈으로부터 오는 철분 특이취 및 색깔 변화로 인해 식품의 적용이 어렵기 때문에 헤모글로빈에서 헴 부분을 제거하고 글로빈 단백질을 제조하여 이용한다(Pavlovsky와 Palmin, 1975; 김 등, 1990; Tybor 등, 1973; Tybor 등, 1975).

혈액에 항응고제를 넣어 응고를 방지한 후 원심 분리하면 약 65%의 부피를 이루는 혈장과 약 35%를 이루는 혈액세포로 나눌 수 있으며 전체 단백질의 80% 정도는 혈액세포에 있으므로 혈액세포를 이용한 단백질의 분리 및 회수는 효율적인 혈액 이용의 중요한 전제가 된다. 혈장은 단백질을 7~8% 정도 함유하는 반투명한 회색 계열의 액체로서 혈액 중 혈액세포를 제거한 후 남은 용액이고 헤모글로빈 색소를 지니고 있는 적혈구를 제거하였기 때문에 적색을 띠지 않으며 일반적으로 수용성인 알부민과 염용성인 글로불린으로 구분되는데 이중 글로불린은 전기영동시 이동도에 의해 α , β , γ 로 나뉘어 진다(김 등, 1988). 혈청은 항응고제를 첨가하지 않은 상태에서 혈액을 원심분리할 때 상등액으로 분리되는 분획물로서 혈장 중 혈액 응고에 관여하는 단백질인 피브리노겐으로부터 형성된

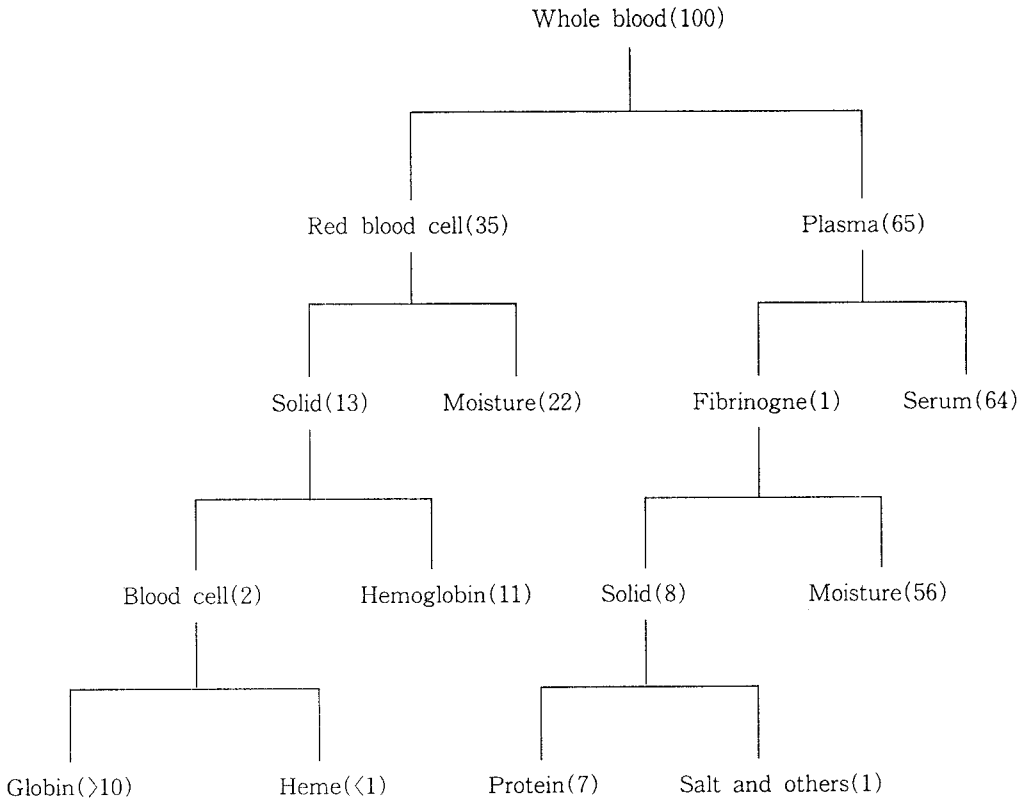


그림 1. Constituent of whole blood(Source : Kim *et al.*, 1988)

피브리린을 제거한 상태로 혈장의 대부분을 구성하고 있는 연분홍색의 투명한 형태의 물질이다(그림 1). 혈청의 색깔은 일반적으로 혈장보다 약간 붉은 색을 띠고 있는데 이는 피브리노겐의 제거과정 중 혈액의 용혈작용(hemolysis)에 의한 것으로 알려져 있다(Düpjohn, 1995).

혈액은 단백질, 철분 및 기타 영양분의 우수한 공급원으로 특히 정육(lean meat)과 비슷한 수준인 17~18%의 단백질을 함유하여 액상육(liquid meat)으로 볼릴 정도로 좋은 영양 공급원이기도 하다(Nilsson, 1975; Wismer-Pederson, 1979). 혈액의 조성은 가축의 종류, 품종, 성 및 연령 등에 따라 차이가 있으나 대체로 77~85%의 수분, 18~23%의 단백질, 0.06~0.09%의 탄수화물 및 0.4~0.8%의 지질로 구성되어 있다(Divakaran, 1982; Sandoval, 1985). 혈장 및 혈청

의 경우 90%정도의 수분함량을 갖고 있으며 구성 성분이 서로 비슷한 구조를 이루고 있으나 혈장 단백질 중에는 혈청내 존재하지 않는 피브리노겐이 함유되어 있는 점이 특징이다(표 1).

혈액은 영양학적으로 우수한 단백질 조성과 풍부한 철분함량을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(Tybor 등, 1973, 1975; Wismer-Pederson, 1979; Neelankatan, 1975; Bates 등, 1974). 혈액은 표 2에서 나타낸 바와 같이 헤모글로빈에서의 isoleucine 결핍을 제외하면 영양학적으로 아미노산 조성이 균형을 잘 이룬 단백질 급원이며(Gorbatov 등, 1971; Ockerman과 Hansen, 1988), 특히 lysine의 좋은 공급원으로써(김 등, 1988; Pearson, 1988) 곡류와 함께 섭취시 영양적으로 좋은 조화를 가져올 수 있다고 하였다(Pearson, 1988; Knipe, 1988).

⌘ 1. Chemical composition of whole blood and blood fractions

Composition	Whole blood	Serum	Plasma	RBC*
Moisture	80.8	91.2	90.8	60.8
Salt	0.9	0.8	0.8	1.1
	0.2	0.1	0.1	0.4
FatProtein	17.0	7.5	7.9	35.1
Albumin	2.2	3.3	3.3	-
Fibrinogen	0.3	-	0.4	-
Globulin	2.8	4.2	4.2	-
Bloodcell protein	1.7	-	-	5.1
Hemoglobin	10.0	-	-	30.0
Others	1.1	0.4	0.4	2.6

*RBC : Red Blood Cell (Source : Kim *et al.*, 1988)

⌘ 2. Amino acid profiles of blood proteins in comparison to myosin from muscle

Amino acid	Content of amino acid in blood proteins(%)				Content of amino acids in myosin (% of meat protein)
	Fibrin	Hemoglobin	Serum globulin	Serum albumin	
Phenylalanine	4.6	9.6	4.7	6.6	3.2
Tryptophan	3.5	2.0	2.8	0.7	0.8
Arginine	6.7	3.5	5.8	5.9	7.0
Histidine	2.3	8.5	2.1	4.0	1.7
Lysine	9.0	10.6	6.3	12.8	10.3
Methionine	2.6	1.2	1.0	0.8	3.4
Threonine	7.9	6.0	7.4	5.8	3.8
Leucine	7.1	14.9	9.5	12.3	15.6
Isoleucine	5.0	0.0	2.0	2.6	-
Valine	3.9	11.0	9.7	5.9	2.6
Aspartic acid	11.9	10.0	9.0	10.9	8.5
Glutamic acid	13.8	7.4	12.5	16.5	21.0
Cystine	1.5	0.9	2.3	5.9	1.4
Tyrosine	6.1	2.9	6.7	5.1	2.2

(Source : Gorbatov *et al.*, 1971)

표 3. Levels of different protein constituents in whole blood

Species	Levels in whole blood(%)				
	Albumin	Globulins	Fibrinogen	Hemoglobin	Total protein
Cattle	3.61	2.90	0.60	10.30	17.41
Sheep	3.83	3.00	0.46	9.30	16.59
Swine	3.83	2.96	0.65	14.20	22.25

(Source : Gorbatov *et al.*, 1971)

전혈의 경우 높은 함량의 lysine과 철분을 함유하고 있는데 철분은 인간의 대사과정 중 여러가지 중요한 생리기능을 수행하고 있으며 주요한 기능은 산소의 운반이라고 할 수 있다(Knipe, 1988). 혈액 중의 철분은 대부분 헤모글로빈에 결합되어 있는 헴 철분으로 400~500mg/l 가량 함유하고 있으며(Sandoval, 1985) 혈액이 함유하고 있는 헴 철분의 경우 다른 무기철분보다 체내에서의 이용도가 높는데 이는 철분이용 촉진인자의 영향 때문이거나(Conrad 등, 1967) 혹은 헴 철분이 섭취된 후 장내의 헴 수용체에 의해 선택적으로 철분 포피린체에 그대로 흡수 및 이용되기 때문(Gräsbeck 등, 1982)인 것으로 알려져 있다.

전 세계적으로 보아 수백만명이 철분의 결핍에서 기인된 빈혈증에 시달리고 있고 특히 임산부와 어린이에게 문제점으로 대두되고 있으며(김 등, 1988) 혈액의 적절한 이용은 이와 같은 철분 부족을 해결할 수 있는 경제적인 방안이 될 수 있다.

혈액의 조성에 있어서 축종별 차이에 따른 단백질 함량간의 뚜렷한 차이는 보이지는 않는다(표 3). 알부민과 글로불린의 경우 소, 양 및 돼지의 혈액내에 유사한 양이 함유되어 있으나 피브리노겐의 경우 소와 돼지에서는 0.60~0.65%, 양의 경우는 0.46% 함유되어 있고 헤모글로빈의 경우에는 돼지에서 14.2%로 소나 양에 비해 높은 함량을 나타내었다. 돼지의 경우 단백질 함량이 22.25%로서 소나 양의 16~17%에 비해 높은 함량을 보인다.

2.2 가축혈액의 수거 및 혈액분획물의 생산

가축혈액의 이용은 수거에서 시작되기 때문에 위생적이고 효과적인 수거는 혈액을 이용한 혈액가공에서 무엇보다 중요한 요인이다(Divakaran, 1982; Sandoval, 1985). 동물 체내의 혈액량은 생체중을 기준으로 소의 경우 약 8%, 돼지 5%, 양 8%, 말 10% 그리고 토끼의 경우는 약 6%이며(Pavlovsky와 Palmin, 1975) 혈액량 중 약 50%의 혈액이 순환에 이용되고 약 16%는 비장, 20%는 간 그리고 약 10%는 피부에 분포되어 있다. 도축시 방혈량은 전체 혈액량의 약 40~60% 수준으로 가축의 품종, 비육 정도, 실신법과 방혈 방법에 의해 좌우되어 생체중을 기준으로 소의 경우 약 3.2%, 돼지의 경우는 3.0%정도이다. 소와 돼지에서 수거 가능한 혈액량은 개체당 10~13.5 l 및 2~2.5 l이며 방혈시간은 6~9분 정도 소요된다. 혈액의 수거는 기존의 중력을 이용하는 방법과 혈액을 진공상태에서 강제 흡수하는 방법으로 나눌 수 있으며 혈액의 강제 수거방법이 기존 방법에 비해 혈액의 수거상태 및 수거량에서 더 우수한 것으로 알려져 있다(Ockerman과 Hansen, 1988).

혈액수거기로 혈액을 수거하면 일반적인 방법에 비해 30~40%의 혈액을 더 수거할 수 있을 뿐 아니라 미생물 오염도 최대한 방지할 수 있는 장점이 있다. 혈액수거기로 수거된 혈액의 미생물 수는 보통 $1 \times 10^1 \sim 9.2 \times 10^3$ CFU/ml 정도로 알려져 있으며(김 등, 1988) 철저하게 위생적으로 수거한 혈액

에서는 $2.0 \times 10^3 \text{CFU/ml}$ 정도의 총균수를 보인다고 하였다(Okerman과 Hansen, 1988). 위생적으로 수거된 혈액의 초기 미생물 수는 소와 돼지의 경우에서 각각 $2 \sim 3 \times 10^2 \text{CFU/ml}$ 와 $2 \sim 3 \times 10^3 \text{CFU/ml}$ 정도이며(Knipe, 1988; Okerman과 Hansen, 1988) $0 \sim 2^\circ\text{C}$ 에서 4~6일 정도 저장이 가능하다고 하였다. 이 때 돼지의 혈액에서 더 많은 미생물이 검출된 이유는 돼지 도축에서 위생적으로 혈액을 수거하기가 소에 비해 어렵기 때문이라고 하였다(Knipe, 1988). 식품의 원료로 사용하는 혈액은 건강한 동물로부터 위생적인 채취과정을 거쳐서 수거되어야 할 뿐 아니라 응고가 쉽게 일어나고 미생물에도 오염이 되기 쉽기 때문에 위생적으로 처리하여야 한다. 혈액은 오랫동안 단백질 식품 및 그 자원으로서 가치를 인정받지 못하고 있는데 그 이유로는 혈액 고유의 색택 및 이취 발생은 물론 도축 중의 오염으로 인한 미생물 수의 증가가 주요 원인인 것으로 생각된다. 하지만 도축장비의 발달로 인해 청결한 혈액의 취급이 이루어진다면 미생물 오염은 더 이상 주요한 문제가 아닐 수도 있으며 혈액을 위생적 측면에서 고려할 때 미생물의 수보다 오히려 형태가 더욱 중요한 관점이 된다고 하였다(Knipe, 1988).

1993년 한 해 동안 우리나라에서 도축된 소 686,760두(도축체중 462kg기준)와 돼지 9,678,544두(도축체중 95kg기준)로부터 회수 가능했던 혈액의 양은 47,614M/T이며 이로부터 생산이 가능한 단백질의 양은 약 8.571M/T 정도로 추정된다(축협조사계보, 1994). 하지만 현재 도축장으로부터 생산되는 가축의 혈액은 그 특성상 혈액 특이취, 색상의 흑변 및 철분과다로 인한 산패의 촉진 등 이용상의 제한 요소가 많아 혈액의 생산량 중 순대 및 선지용으로 소비되고 있는 극소량을 제외하면 대부분 폐기 처분되고 있는 실정이어서(일본 특허공개 평8-173051, 1996) 사용 가능한 단백질 자원을 낭비하게 됨은 물론 폐수 처리시설로 유입될 경우 높은 단백질 함량으로 인해 폐수처리에 필요한 비용이 타 부산물에 비해 월등히 높기 때문에

처리시설과 공정 그리고 폐기비용으로 인한 부담으로 이의 해결은 도축장에서는 가장 큰 문제점중 하나가 되어왔다(Khan 등, 1979; Del Rio de Reys 등, 1980; Hayakawa 등, 1982; Nakamura 등, 1984).

가축혈액을 수거하여 혈장과 혈액세포로 혹은 혈청과 혈청잔유물로 분리하는 작업은 도축작업장에서 혹은 혈액의 운송을 통하여 혈액집하장으로 수집된 후 처리되는데 혈액의 분리는 혈액의 수거 즉시 가능한 빠른 시간에 이루어져야 하며(Halliday, 1973) 혈액의 분리전 적혈구의 용혈작용은 적혈구로부터 헤모글로빈을 유리하는 결과를 가져와 결국 혈액으로부터 혈장의 생산을 불가능하게 할 수도 있기 때문에(Knipe, 1988) 혈액의 운송시 혈액세포 중 적혈구의 용혈작용을 최소화하기 위하여 주의해야 한다.

혈액으로부터 혈장과 혈액세포의 분리는 각 혈액 분획물의 비중차이에 따라 원심분리에 의해 이루어지는데 전혈의 경우 1.042~1.056, 혈장은 1.019~1.029, 혈액세포는 1.084~1.098의 비중을 갖는다(Okerman과 Hansen, 1988). 원심분리 결과 상등액인 혈장은 52~70%, 침전물인 혈액세포는 30~48%의 회수율을 갖는다(김 등, 1990). 혈액의 분리는 혈장의 품질을 결정하는 중요한 요인중 하나로서 일반적으로 1회의 원심분리만으로 분리가 가능하지만 더욱 우수한 혈장단백질을 제조하기 위해서 분리된 혈장을 2차 원심분리하는 경우도 있다(Knipe, 1988). 원심분리의 조건은 연속 처리장치의 경우 약 14,000rpm 그리고 비연속식 처리장치의 경우 58,000rpm에서 10분간 처리하며 혈액의 분획에 따른 원심분리기의 종류별 특성은 판막형 원심분리기의 경우 500~1,000 l/hr의 혈액을 처리하고 정기적인 세척작업이 필요한 단점에 비해 실린더형 원심분리기의 경우 2,000~5,000 l/hr의 혈액을 처리할 수 있을 뿐 아니라 세척에 필요한 시간을 줄일 수 있는 장점이 있다(Halliday, 1973).

한편 혈액을 혈장 및 혈액세포로 분리하는 방법

중 하나로 한외여과법이 사용되기도 하는데 이는 용혈작용이 거의 일어나지 않을 뿐 아니라 여러 종류의 필터를 사용하여 혈장을 농축시키는 것이 가능하며 이 원료로 생산한 혈장의 건조분말은 일반적인 처리방법에 비해 단백질함량이 높다고 하였다 (Porter와 Michaels, 1971).

혈액의 수거시 혈장의 선택적 사용을 위해서 또는 가공적 편이성 등의 목적으로 혈액의 응고를 막아 주는데 보통 혈액의 응고에 관여하는 칼슘이온을 제거 또는 봉쇄할 수 있는 물질을 첨가하게 된다. 항응고제로 많이 사용되는 sodium citrate나 oxalate는 칼슘이온을 비 용해성 염으로 침전시키므로써 응고를 억제하는 역할을 수행하며 인산염이나 disodium EDTA는 칼슘이온을 봉쇄하므로써 혈액응고를 막게 된다(Ockerman과 Hansen, 1988). 항응고제를 사용하지 않고 혈액의 응고를 방지하는 방법으로 혈액의 수거 후 1~2℃로 급속 냉각하는 법이 있으나 온도가 올라가면 혈액은 다시 응고하기 때문에 혈액수거 후 바로 막대 혹은 패들 등으로 혈액을 격렬하게 저어 주어 피브리노겐으로부터 생성된 실과 같이 생긴 fibrin을 회전축에 달라붙게 하게 하여 제거하지만 경우 혈액세포의 손상을 가져올 수 있는 단점이 있다(김 등, 1988;Ockerman과 Hansen, 1988). 그 밖에 ozone을 혈액에 불어넣어 혈액의 응고를 막고 미생물의 오염도 억제하는 방법 및 응고된 혈액을 균질기를 통과시켜 피브리노를 끊어주는 방법 등도 있다(김 등, 1988). 항응고제의 사용시기는 혈액이 도축으로부터 분리되는 순간 투입되기 시작하여 혈액과 잘 섞이도록 처리하여야 하며 사용방법으로 수거용기에 수동 혹은 자동으로 투입되는 방법이 있다. 만일 혈액이 연결관을 통해서 도축과 일정거리 있는 수거용기로 운반되어야 한다면 혈액이 연결관내에서 막히는 일이 없도록 연결관에서 이어진 칼날 끝으로 항응고제가 이동되어 분사되도록 하는 것이 가장 바람직하다(Düpjohann, 1995). 항응고제의 사용은 sodium citrate의 경우 40% 용액을 혈액 1 l 당 10ml 정도 첨가하는 것이 일반

적인 사용량으로 알려져 있으나 보다 효율적인 혈액의 응고방지를 위해서 더 많은 양의 sodium citrate가 사용되기도 한다. 또한 혈액은 수거 후 미생물의 증식을 억제하기 위하여 가능한 빨리 냉각시켜야 하는데 이 때 온도는 2~5℃ 정도가 적당하다. 혈액에서 보다 우수한 품질의 혈장을 생산하기 위해서는 냉각전에 미리 혈액세포를 분리하는 방법이 사용되고 있으며 한편, 과도한 냉각의 경우 혈액세포의 용혈작용을 일으켜 혈장의 분리가 더욱 어렵게 되고 결국 혈장이 붉은 색을 띠고 좋지 않은 냄새를 발생하게 된다(Knipe, 1988).

생체내에서는 자연적으로 존재하는 항응고 물질에 의해 혈액이 응고되지 않으나 도축 후 혈액의 방출로 인해 혈액의 응고가 시작된다. 혈액의 응고는 방혈 후 주위 온도에 따라 3~10분 정도 안에 형성되는데 이것은 트롬빈 혹은 프로트롬빈에 의한 영향이며 이 효소는 혈액내의 가용성 피브리노겐을 불용성 피브린으로 전환시키는 역할을 하게 된다(Düpjohann, 1995;Ockerman과 Hansen, 1988).

2.3 가축혈액으로부터 단백질의 생산

일반적으로 혈장은 단백질 농도가 낮고 염의 함량이 높기 때문에 이를 농축하여 분무건조하거나 동결건조하여 사용하게 되며, 혈액에서 분리된 분말 상태의 단백질은 건물 함량에서 1% 이하로 염 농도를 줄이기 위해 한외여과법(ultrafiltration, UF)을 사용한다(Tybor 등, 1973;Ockerman과 Hansen, 1988). 한외여과법은 막기술을 이용하는 단백질 분리방법의 하나로서 원료의 품질을 손상시키지 않고 에너지 소비를 줄이면서 목적하는 성분을 분리하는 것으로서 높은 온도와 넓은 pH 범위에서도 사용이 가능하고 목적물의 변성이나 변질을 최소화하면서 단백질 등 고분자 물질의 분리 및 정제가 가능하기 때문에 각종 효소의 정제, cheese whey protein의 농축, 청주나 간장의 정제 및 육가공업계에서 혈액으로부터 단백질 등 유효성분의

분리는 물론 육가공제품 생산 중 발생하는 폐수로부터 단백질 회수 등에도 이용되고 있다 (Cheryan, 1988). 한외여과의 분리기작은 분자량 크기에 따른 목적물의 분획(Molecular sieve mechanism)으로서 여과막의 크기에 따라 목적물이 농축 및 분리되는데 여과막보다 작은 분자는 통과하고 큰 분자는 남게 되는 원리이다. 한외여과막을 이용한 분리는 0.002~0.2 μ m의 범위에서 수행할 수 있으며 이것을 차단분자량(molecular weight cut-off, MWCO)으로 나타내면 분자량 500에서 30만 정도의 범위이다. 한외여과막의 크기는 15~1,000 Å이며 작동 가능 압력은 10~100psi이다(김, 1988).

Porter와 Michaels(1971)은 한외여과법에 의해서 전혈과 혈장 등을 농축시켰으며, Delaney 등(1975a)도 돼지 혈장의 농축에 한외여과법을 사용하였다. Delaney(1975b)는 원심분리와 한외여과법에 의하여 준비된 돼지의 혈장단백질 농축액을 air inlet 온도를 각각 154.0, 170.3, 225.0 및 243.2°C에서 직접 분무건조하여 그 영양적 가치를 평가하였는데, 각기 다른 온도에서 분무건조된 농축물은 대체로 단백질 86~90%, 수분 2~7%, 광물질 5%의 조성을 나타내었다고 보고하였다.

Polyelectrolytes는 soya, casein, edestin, yeast protein, sunflower seed albumin 등을 함유하는 용액내의 단백질을 분획하는데 주로 이용되어 왔고(Smith 등, 1962) 혈액단백질의 경우에는 적용된 예가 많지 않았으나 Imeson 등(1978)은 bovine serum albumin(BSA)과 혈장을 적정 pH 조건 하에서 sodium alginate, sodium pectate, CMC를 함유한 불용성 복합물로 제조하여 단백질 회수율을 측정하였는데 BSA의 90% 이상이 적정 pH 조건하에서 이온강도 0.001 이하, 약 5:1의 단백질:다당류의 비율하에서 회수되었다고 하였다. 이 실험에서 얻어진 자료를 기초로 하여 혈장의 단백질 분획에 적용해 본 결과 소의 혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA)에서 얻어진 것과 유사한 결과를 얻었다. Etheridge 등

(1981)은 metaphosphate complex 방법과 한외여과에 의해 분리된 혈장단백질의 기능적, 화학적 성질을 각각 비교하였는데 혈장단백질은 82%의 단백질을 함유하였으며, 한외여과에 의해 생산된 혈장단백질에 비해서 염과 chlorine 농도가 더 높게 나타났으며 염의 함량이 높게 나타난 것은 재용해할 때 사용된 sodium hexametaphosphate와 NaOH의 잔량 때문이며 분획시 HCl 사용이 chlorine의 함량을 높게 하였다고 하였다. 전기영동 결과에서는 뚜렷한 차이를 나타내지 않았고, 아미노산 분석에서는 두 혈장단백질 사이에 중요한 차이를 보이지 않았으나 metaphosphate complex 방법에 의해 생산된 단백질에서는 tryptophan 함량의 감소를 보였다고 하였다.

혈액 또는 혈액분획물을 생산하기 위한 건조방법으로는 여러가지가 있으나 공정 중 용해도나 겔화능을 감소시키는 부분적인 단백질의 변성을 가져올 수 있기 때문에 향미성분, 색깔 및 용해성과 같은 특성의 변화를 최소화할 수 있는 방법을 선택하는 것이 무엇보다 중요하다. 혈액 또는 혈액분획물은 분무건조, 동결건조, 블드라이닝 혹은 롤드라이닝 등의 방법으로 건조할 수 있으나 기능적 특성을 유지하기 위해서 80°C이상의 온도에 노출되어서는 안되며 또한 건조된 혈액 또는 혈액분획물의 최종제품은 수분을 함유하려는 성질이 강하기 때문에 외부의 수분과 차단이 가능한 처리를 하여야 한다. 분무건조의 경우 액상상태의 혈액분획물을 건조탱크 상단에 위치하는 노즐로 강제적으로 통과시켜 분사하는 것으로서 이때의 노즐압력은 1,500~5,000psi정도이며 노즐을 통과한 아주 미세한 입자가 65~93°C의 더운 공기에 의해 건조 및 낙하하면서 입자형태의 제품이 생산된다. 이 때 건조된 혈액분획물 입자는 변성을 최소화하기 위하여 뜨거운 공기에 2 내지 3초 이상 노출되어서는 곤란하며 건조된 혈액은 80°C이내로 냉각된 후 포장된다. 분무건조는 혈액분획물의 건조에 사용되는 가장 일반적인 방법이나 향미성분이나 기능성의 손실 등이 그 문제점으로 지적된다. 동결건조는 진공으로 수

분을 승화시키는 작업 이전에 냉동을 우선적으로 실시한다. 냉동건조는 낮은 온도에서 적용하기 때문에 고급품질의 제품생산에는 적합하지만 혈액분획물과 같이 경제적으로 값싼 제품의 생산을 위해서는 경비가 많이 소요되는 것이 단점이다. 볼드라잉의 경우는 직경 5~6mm의 플라스틱볼에 혈액분획물을 얇게 도포하여 건조실로 운반한 후 건조하는 방법으로 이 방법의 장점은 건조온도가 60℃ 혹은 그보다 낮은 온도에서 실시하므로써 변성의 위험성이 적다는 것이다. 롤러드라이잉 혹은 드럼드라이잉의 경우는 서로 인접한 두개의 회전축이 스템으로 가열된 상태에서 서로 반대방향으로 회전하면서 이 사이를 통과하는 액체상태의 혈액분획물을 건조시키고 회전축의 표면을 긁어 주는 기계에 의해 플레이크 상태로 형성된 혈액분획물을 다시 분쇄기에 의해 가는 입자형태의 제품으로 생산하게 된다. 롤러드라이잉의 경우 낮은 온도에서 건조를 실시하므로써 우수한 품질의 제품을 생산할 수 있는 장점이 있다. 결과적으로 건조방법에 따른 혈액단백질의 생산은 동결건조 및 분무건조 등의 적용이 모두 가능하나 동결건조는 처리비용이 높고 많은 시간이 소요될 뿐 아니라 기계조건상 한번에 다량의 시료를 처리하기 곤란한 어려움이 있어 가격상승의 원인이 되므로 처리비용이 비교적 저렴하고 다량의 시료를 처리할 수 있으면서 건조 중 품질저하가 크게 발생하지 않는 분무건조방법이 혈액단백질을 생산하는 적합한 건조방법으로 판단된다.

2.4 혈액단백질의 가공적성 및 이용

식품 중 단백질 대체제나 증량제로서 혈액단백질의 적용 가능성에 대한 연구는 오랜 기간 계속되어 왔으며, 그 영양적 가치에 대한 평가도 꾸준히 되어 오고 있다(Ockerman과 Hansen, 1988). 식품 적용에 있어서 단백질의 기능 중 가장 중요한 것은 용해도로써 일반적으로 혈액단백질은 pH 3~9 사이에서 80~100%가 용해된다. 건조 온도와 유당의 결합이 단백질의 용해도에 미치는 영향

을 알아보기 위해 160℃와 193℃에서 유당의 첨가 유무에 따라 분무 건조하여 continuous pilot process에 의해 생산된 소의 혈액단백질 용해도를 측정하였다(Tybor 등, 1975). 이 실험 결과에 의하면 pH 4 이하와 pH 6 이상에서 혈액단백질의 90% 이상이 용해되었고, 분무건조의 온도가 높을수록 용해도가 낮았으며 유당 결합시에는 같은 온도에서 유당 결합이 안된 것에 비해 용해도가 높게 나타났으나 유화력은 건조 온도 및 유당 첨가에 의해 영향을 받지 않았다고 하였다. Etheridge 등(1981)은 인산화된 혈장단백질과 환외여과한 혈장단백질, 계란 알부민간의 기포력을 비교하였는데, 인산화된 혈장단백질의 기포력이 가장 우수하게 나타났으며 그 이유는 염과 chloride 이온 때문이라 추정되며 기포력은 단백질 농도가 가장 높은 때에 가장 크게 나타난다고 하였다. 혈액단백질의 가공적성 중 식품 이용에 유리한 점은 열에 의해 탄력 있는 겔을 형성하는 성질이라 할 수 있으며 겔은 단백질과 단백질, 단백질과 용매간의 상호 작용에 있어서 올바른 균형을 이루는 용액과 분획물 간의 중간 단계라고 표현할 수 있다. 혈장 겔에서 겔 강도, 조직감, 보수력을 측정하기 위해 온도, pH, 단백질, 염 농도를 달리한 Hermansson(1982)의 실험에서 일반적으로 단백질 겔 결합이 증가함에 따라 신장력과 보수력은 감소되었으며, 단백질과 염 농도는 증가되었으나 pH 9에서 pH 6으로의 감소됨에 따라 결합 정도는 증가하였다. 또한 겔의 강도는 77~92℃로 가열 온도가 증가함에 따라 증가되었으나 보수력은 77℃ 이후에서는 낮아졌고 가장 높은 보수력을 나타내는 온도 범위는 75~77℃였다고 하였다. Siegel 등(1979)은 nonmeat protein(wheat gluten, egg white, calcium reduced dried skim milk, bovine blood plasma, soy protein, sodium caseinate, corn gluten)의 겔 구조와 육과의 결합력을 연구하였는데 bovine blood plasma는 8% 염과 2% 인산의 첨가시에는 71.9로 wheat gluten의 175.4와 비교해서 현저히 낮은 값을 나타내었으나 무 첨가시

에는 24.1로 다른 nonmeat protein 중에서 가장 우수한 결합력을 나타내었다고 하였다. 혈장을 소시지 제품에 사용할 경우 최종 제품의 감량이 줄어서 수율은 약 4~5% 가량 증가시킬 수 있을 뿐 아니라 혈장의 gelling properties로 인해 견고한 조직감을 갖는 제품을 얻을 수 있었다. Terrell 등 (1979)은 프랑크푸르트 소시지에 plasma protein isolate(PPI)를 각각 1%와 5%로 첨가 수준을 달리하여 강도, 조직감, 형태 및 신장력의 차이를 알아본 결과 5% 첨가시에 소시지 표면의 조직감, 강도 및 형태가 더 좋아진다고 하였으나 육제품에 PPI의 첨가 수준을 더 높게 되면 소시지의 조직감이 나빠질 것이라고 보고하였다. 또한 Caldironi와 Ockerman(1982)도 소시지 제조시에 혈장 단백질과 글로빈을 첨가하여 유화 용적을 측정하였는데 총 단백질 수준의 20%까지 혈장단백질과 글로빈을 대치하였을 때 만족할 만한 유화 용적을 얻었으며, Seideman 등(1979)은 쇠고기 패티에 textured soy bean protein과 PPI의 첨가 수준

을 달리한 실험에서는 PPI 1% 첨가시에 조직감, 향미, 기호성이 향상되었다고 하였다. Suter 등 (1976)도 소 혈장단백질 농축물을 첨가하여 제조한 쇠고기 패티의 결합력을 측정하였는데 1% 첨가 제조된 쇠고기 패티에서는 결합력이 증가하였으나 그 이상의 첨가는 유의적인 영향이 없었다고 하였다. 가축 혈액은 식품을 비롯하여 사료, 의학, 실험용, 산업 등 여러 분야에 이용될 수 있으며 그 적용 예는 다음 표 4와 같다.

한편 국내에서도 1970년도 이 후 도축부산물 중 혈액의 활용가치를 높이기 위한 시도로서 도축 후 혈액에서 단백질 등 유효성분을 추출하고 이러한 단백질자원을 식품에 첨가하여 성상 및 관능적 변화를 검토하는 형태로 연구가 진행되어 왔다. 혈액으로부터 단백질 등 유효성분의 추출을 시도한 연구로 김 등(1990)은 혈장단백질과 혈액세포를 원심분리 조건별로 분리한 후 혈액세포로부터 글로빈 단백질을 분리하기 위해 첨가되는 가수량 및 carboxymethyl cellulose(CMC) 첨가량 결정시

표 4. Uses of animal blood

Food	Emulsifier, stabilizer, clarifier, colour additive, nutritional component.
Feed	Lysine supplement, vitamin stabilizer, milk substitute, nutritional components.
Fertilizer	Seed coating, soil pH stabilizer, mineral components.
Laboratory	Tissue-culture media, tannin analysis, active carbon, hemin, blood agar, peptones, glycerophosphates, albumins, globulins, sphingomyelins, catalase.
Medicine	Agglutination tests, immunoglobulins, fractionation techniques, blood clotting factors, sutures, fibrinogen, fibrinolysin, fibrin products, serotonin, kalikrenins, plasminogen, plasma extenders.
Industry	Adhesive, resin extender, finishes for leather and textiles, insecticide spray dajuvants, eff albumin substitute, foam fire extinguisher, porous concrete, ceramic and plastic manufacturer, plastic and cosmetic base formulations.

(Source : Ockerman and Hansen, 1988)

험 등을 실시하여 수율, 색깔 및 단백질 함량 등을 조사하였으며 또한 김 등(1988)은 원심분리기를 사용하여 혈액 중 혈장과 혈액세포의 일반성분분석, 글로빈 단백질의 제조, 건조된 혈액단백질과 탈색건조된 혈액세포 분말의 특성 등을 조사하였다. 한편 윤 등(1992)의 연구에서는 원심분리를 이용하여 돈혈을 혈장과 혈액세포로 분리하고 분무건조하여 성분분석, 미생물, 용해성, 유화력, 포집성 및 색도 등을 측정하였으며 전혈을 초음파처리하여 세포 파괴 후 단백질이 용해된 상태에서 추출을 시도하였으며 생산된 글로빈 단백질을 과자에 첨가하여 일반성분 등을 조사하였다. 또한 송(1982)은 도축부산물을 이용한 단백질 자원 개발에 관한 연구에서 돈혈을 원심분리로 혈액단백질과 적혈구로 분리하여 혈액단백질을 10%와 20%의 함량별로 소시지에 첨가했을 때 제품의 색도, 조직감 등을 측정하였으며 강(1988)은 염지혈액을 이용한 예비유화물의 첨가로 계육 sausage의 품질에 미치는 영향을 관찰하였다. 김 등(1990)은 혈액에서 단백질을 추출한 후 육제품에 첨가하여 그 품질의 변화를 조사하였으며 혈장 및 혈액세포 단백질 분말을 제조하여 소시지에 첨가한 후 소시지 유화물기능성, 색택, 조직감, 유화안정도 등을 조사하였다. 이는 기존의 단백질원으로 널리 사용되는 sodium caseinate의 대체가능성을 파악하여 혈액단백질 특히 혈액세포 단백질의 이용도를 증진시키고자 하였으며 그 결과 혈액단백질을 첨가한 소시지의 유화물과 pH는 sodium caseinate로 처리한 대조구에 비해 높았지만 오히려 혈액세포 첨가구는 낮게 나타났으며 수분함량도 2~3% 정도 낮은 것으로 알려졌다. 유화물의 보수력과 유화안정도는 혈액세포 단백질처리구가 혈장단백질 처리구나 대조구보다 낮았으나 색도에서 적색도는 대조구보다 높게 나타났다.

가축혈액을 이용한 사료첨가용 단백질의 생산이 이미 상업적으로 운용되고 있는 외국의 경우 식품첨가물이나 사료용으로 전혈을 그대로 분무건조하거나 혈장이나 글로빈 등에서 단백질을 분리하여 제조하

고 있다. 이들 제조회사로는 미국의 American Protein Co.와 California Spray Dry Co., 네덜란드의 Harimax, 덴마크의 DAKA 및 아르헨티나의 Wilmor 사가 있다. 국내의 경우 혈액으로부터 유효성분의 회수를 위한 노력은 이미 시도되었으나 국내 도축장 시설이 대부분 낙후되어 단위 도축장당 일일 혈액 수거량이 적고 위생적인 혈액수거가 곤란하여 원활한 혈액의 공급이 어려울 뿐 아니라 혈액을 이용한 제품의 수요창출이 미흡하여 현실적으로 제품 생산시 경제성이 떨어진다. 그러나 대규모 도축장으로부터 위생적으로 혈액을 수거하고 고부가가치의 제품을 생산한다면 혈액을 이용한 단백질 등 유효성분의 생산은 경제성 있는 산업이 될 수 있을 것으로 사료된다.

3. 면역단백질의 특성 및 이용

3.1 면역단백질의 연구현황

혈액에는 수동면역물질, 성장 증진인자, 발암물질 변형인자와 같이 생물체 내에서 중요한 역할을 한다고 믿어지는 면역글로불린(immunoglobulins, Igs) 등 생물학적 활성인자가 다양하게 포함되어 있기 때문에(Lee 등, 1988) 이에 대한 관심 및 이용에 관한 연구가 점차 활발해지고 있는 추세이다. 최근 새로운 세포 배양기술(monoclonal immunoglobulins)의 개발에 의해 면역물질의 생산이 가능하지만 기존의 ammonium sulfate 침전 방법으로 혈액으로부터 면역물질의 분리를 통해 생산하는 비용(U\$180/kg)에 비해 그 생산비(U\$4,000/kg)이 월등히 비싸기 때문에(Lee 등, 1987) 특수한 질병의 치료법외에는 사용이 제한적이며 식품 및 사료의 용도로 사용되는 면역단백질의 생산은 아직까지 혈액이나 초유 같은 자연물질에서 생산하는 것이 더욱 경제적이다.

현재까지 혈액단백질의 생산(Imeson 등, 1978; 김 등, 1990) 및 이용(Akers, 1973; Caldironi와 Ockerman, 1982)에 관한 연구, 혈액 및 초유

를 이용한 면역단백질의 분리에 관한 연구(Fey 등, 1976; 김 등, 1986) 등이 활발하게 진행되었으나 이를 산업적으로 생산할 수 있을 효율적인 생산공정에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 특히 소의 초유를 이용한 면역단백질의 분리 및 이용은 원재료의 높은 면역단백질 함량(Butler, 1969)으로 많은 연구와 함께 실용화단계에 접어들고 있으나 도축부산물 중 혈액을 이용한 면역단백질의 생산은 산업화를 목적으로 한 효율적 분리 및 경제적인 회수방법에 대한 연구가 부족한 형편이다.

3.2 면역단백질의 정의 및 분류

도축의 최초단계에서 생산되는 부산물인 혈액은 결합조직의 한 형태로서 동물 체조직과 세포의 신진대사를 가능하게 하는 중간 매체이며, 세포에 산소와 영양분을 공급하는 역할 뿐 아니라 유기체의 생명을 유지하게 하고 면역기능을 강화시키는 생물학적인 활성 물질을 함유하고 있다. 면역단백질 G(Immunoglobulin G, IgG)는 병원성 미생물로부터 질병의 감염을 수동적으로 억제하는 항체를 제공하는 역할을 하는 고분자 당단백질로서(Butler, 1969) 동물체에서는 주로 분만 직후의 초유나 혈액 등에 많이 존재하게 되는데 초유에서는 115mg/ml의 면역단백질을 함유하는 반면 정상우유의 경우는 0.5mg/ml의 함유량을 보여 200배 이상의 농도를 갖지만(Muller와 Ellinger, 1981) 초유를 이용한 면역단백질의 생산에는 몇 가지 문제점이 따른다. 초유를 확보할 수 있는 경우는 품종, 성별, 나이 등에 제한을 받을 뿐 아니라 분만 후 초유의 생산 시에도 새끼 개체에게 우선적으로 공급하고 남은 물량을 이용해야 하며 개체당 비유량이 한정되어 있고 또한 비유시기도 분만 후 48시간 이내로 제한되어 초유의 선택적 수거 및 이용을 위한 처리 및 보관까지 걸리는 시간을 고려할 때 실질적으로 초유를 이용한 면역단백질의 산업적 생산은 용이하지 않은 실정이다. 혈액을 이용한 면역단백질의 생산은 비록 정상혈청내에 함유되어 있는

면역단백질의 양이 20mg/ml 정도로 초유에 비하면 10~20% 정도의 함량에 불과하지만(Lee 등, 1987; Lee 등, 1988) 혈액의 생산시기 및 생산량이 조절이 초유에 비해 안정적이고 원료가격도 경쟁력이 있을 뿐 아니라 폐기에 필요한 처리비용을 별도로 지출하지 않아도 된다는 장점이 있다. 하지만 도축 부산물인 혈액이 갖는 이취, 변패 등 특효인의 제거는 실용화의 중요한 큰 장애물로서 이의 극복과 더불어 효율적이고 간단한 분리방법의 모색과 식품에의 적용에 관한 응용 예가 필요할 것으로 전망된다. Klaus 등(1969)은 면역단백질은 구조적 특징 및 항원결정요인 등에 의해 주로 면역단백질 G, 면역단백질 A(immunoglobulin A, IgA) 그리고 면역단백질 M(immunoglobulin M, IgM)의 3가지 물질로 구분되고 이러한 분류 중에서 IgG 분류가 혈청 및 초유의 유형에 존재하는 면역단백질 중 80~90% 정도를 차지하고 있다고 보고하였으며 Butler(1973)와 Kehoe(1971)는 다시 전기영동상의 구분에 의해 IgG가 IgG₁과 IgG₂의 두개의 하부구조를 갖게 된다고 보고하였다. 특히 IgG₁의 경우 모체의 분만전 혈청에서부터 유선기관으로 선택적으로 이동되는데 이러한 운송기작의 조절은 estrogen과 progesterone의 수준에 의해 결정된다(Butler 등, 1971). 반추동물의 우유와 혈청 중 면역물질의 농도는 품종, 비유기간, 비유횟수 그리고 생리적 및 병원성물질 등에 의한 요소에 영향을 받는 것으로 Muller와 Ellinger(1981)에 의해 보고되었다. 면역단백질의 class중 IgG는 세균, 바이러스 등의 항원에 대한 면역반응이 비교적 활발하여 소의 경우 IgG₁과 IgG₂의 2가지 subclass가 공인되며 특히 IgG₁은 초유 및 우유 중 함량이 각각 전체 면역글로불린의 81%, 73%로 혈청 중에는 전체 50% 이상을 차지하고 있다고 하였다(Klaus 등, 1969; Butler 등, 1971). 표 5는 사람, 돼지 그리고 소에서 혈청과 초유 및 정상유 등 유선 분비물에서 존재하는 면역글로불린의 종류별 농도 및 상대적인 백분율을 나타낸 표로서 사람을 제외한 가축의 혈액 중 면역글

표 5. Concentration and relative percentage of immunoglobulins in the serum and mammary secretions of three representative species

Species	Type	Concentration(mg/ml)			% of total Igs		
		Serum	Col.*	Milk	Serum	Col.*	Milk
Human	IgG	12.1	0.43	0.04	78	2	3
	IgA	2.5	17.35	1.00	16	90	87
	IgM	0.9	1.59	0.1	6	8	10
Porcine	IgG	21.5	58.7	3.00	89	80	29
	IgA	1.8	10.7	7.70	7	14	70
	IgM	1.1	3.2	0.30	4	6	1
Bovine	IgG ₁	11.04	7.6	0.59	50	81	73
	IgG ₂	7.9	2.9	0.02	36	5	2.5
	IgA	0.5	3.9	0.14	2	7	18
	IgM	2.6	4.2	0.05	12	7	6.5

* Col. : colostrum (Source : Butler, 1973)

로블린은 대부분이 IgG이며 IgA 및 IgM은 상대적으로 적은 함량을 보인다.

3.3 면역단백질의 분리 및 정제

혈액은 매우 다양한 종류의 분자량을 갖는 단백질을 함유하는 물질로서 혈장내에 포함되어 있는 단백질의 종류별로 각기 다른 물리화학적인 특성을 갖는다. 혈장으로부터 단백질을 분리하기 위하여 많은 방법들이 시도되었으며 혈장단백의 분리방법은 ammonium sulfate 혹은 ethanol을 이용한 침전방법이 가장 일반적이다(Lee 등, 1987). 1942년 사람 혈액에서 혈청단백질의 cold ethanol 침전이 첫번째로 시도된 이래 혈장의 분획은 생화학 산업 구조의 기초가 되어 왔으며 막대한 양의 ethanol을 사용하는 점과 10℃이상의 온도에서 면역물질이 매우 쉽게 변성되고 침전과정 이후 용매 처리 등의 단점에도 불구하고 간단한 공정 및 방법을 장점으로 지금까지 널리 사용되고 있다. Ammonium sulfate와 sodium sulfate는 혈장 분획을 분리하고 정제하는데 사용된 초기의 물질로

서 이 침전방법은 높은 농도를 필요로 하거나 변성을 피하기 위해 냉각해야 할 뿐 아니라 고농도 염의 제거, 단백질내 이물질의 혼입 등의 문제점을 갖는다. 또한 면역물질이 비교적 낮은 농도(20%)의 ammonium sulfate에서 침전되는 반면 알부민은 더 높은 농도(36%)에서 침전되고 0℃ 온도에서의 높은 용해율 (41%) 때문에 냉각과정 중 결정화에 의한 ammonium sulfate의 회수가 매우 어렵다는 단점을 갖고 있다(Lee 등, 1988).

단백질 침전제로 사용된 polyethylene glycol은 무독성일 뿐 아니라 water soluble polymer로서 ethanol보다 거품이 덜 나고 상대적으로 저렴하며 비화염성이고 변성의 위험이 거의 없어 0℃ 이상에서 사용할 수 있는 장점을 가질 뿐 아니라 factor III, albumin, 2-macroglobulin의 대규모 분획에서도 사용이 가능하다. 소의 혈장단백질에서 면역단백질, 알부민 그리고 피브리노겐을 분획하기 위한 침전제로서 polyethylene glycol(PEG-4000)을 사용한 Lee 등(1987)의 실험에서 각각 90, 92, 91%의 우수한 회수율을 얻을 수 있었지만 면역단백질의 50% 미만의 낮은 회수율 및 복잡

한 공정을 거치는 침전과정, 최종제품에서 PEG 제거의 어려움, 또한 식품첨가물로의 사용이 적합하지 않은 특징이 그 단점으로 지적되었다. 다른 분획의 혈장단백질을 침전시킴으로써 혈장으로부터 면역단백질의 분리를 시도하는데 사용된 polyphosphate는 공인된 식품첨가물로서 식품의 가공시 저염도 육가공제품의 품질향상 및 미생물의 억제력을 위한 첨가제 또는 항응고제의 역할을 하는 첨가물로 광범위하게 사용되어져 왔다(Sofas, 1986). Polyphosphate 침전법에 의해 소 혈장으로부터 면역단백질을 분리한 Lee 등(1988)은 분리 조건을 pH 3.95, NaCl 0.132M, polyphosphate 1.04%, 온도 12.7°C로 처리하였을 때 원심 분리 후 상등액에서 순도 50% 면역단백질 생산이 가능한 것으로 보고하였다. 혈액내에 존재하는 면역단백질의 분리 및 정제는 기본적으로 염 혹은 알콜을 이용한 화학적인 분리방법이 대표적이나 침전제 등을 이용한 전통적인 침전방법의 경우 분리 효율이 저하되고 사용된 염의 회수가 어려운 단점이 있기 때문에 한외여과막 등을 이용한 분리방법의 산업적 적용이 시도되고 있으며 이는 최종제품의 순도가 더 높고 효율적인 방법이기 때문인 것으로 알려져 있다.

물리적인 방법으로 혈액분획물을 농축하므로써 면역단백질을 분리하는 한외여과법은 막사이에 삼투압 이상의 압력을 이용하여 목적물을 분리하는 방법이다. 한외여과막의 구조는 역삼투막과 유사한 구조를 형성하고 있으나 역삼투막 만큼 치밀하지 않고 정밀 여과막처럼 막의 기공을 현미경으로 볼 수도 없다. 차단분자량의 범위는 수백~수백만에 이르기까지 처리대상 물질의 특성에 따라 저, 중, 고분자 물질을 분리할 수 있는 특징을 지니고 있으며 비가열 방법이므로 물리 화학적 성질의 변화를 최소화할 수 있고 조작이 간편하고 energy의 소비가 적어 낮은 운영비용으로도 이용이 가능하며 batch 처리 뿐 아니라 연속 조작도 용이한 특징을 갖는다. 또한 공장 단위로의 확장성이 뛰어나고 농축과 동시에 분리, 정제의 효과가 있어서 단백질,

효소, 다당류 등의 분리 및 농축에 널리 이용되어 왔다. 한외여과법을 이용하여 Delaney(1975)는 돼지의 혈장을 농축, 정제하고 그의 영양적 특성을 살펴보았는데 한외여과법을 실시하지 않은 혈장과 비교할 때 회분의 양은 감소하였으나 단백질 함량은 높게 나타났고 Nakamura 등(1984)은 한외여과법으로 농축한 혈장을 식육 제품의 원료 대체제로의 이용을 시도하기도 하였다.

현재 한외여과를 이용한 혈액 및 혈액분획물의 처리는 주로 사료의 생산을 목적으로 분무건조 전 단계에서 농축하는 단계로 연구가 시작되어 (Delaney, 1974) 북유럽 및 미국을 중심으로 상업적으로 생산에 이용되고 있으나 한외여과를 가축 혈액에 이용하여 식품의 용도를 목적으로 생산한 경우는 아직 실용화단계에 이르지 못하고 있는 실정이며 면역단백질의 선택적 분리를 위해 적용한 경우는 아직 없는 것으로 알려져 있다.

단백질의 분리방법 중 하나인 겔 크로마토그래피 방법은 작은 규모의 분리에서는 적합하나 공장규모 적용시 분리 과정에서 너무 오랜 시간이 소요되는 단점이 있어(Donnelly and Delaney, 1977) 대규모의 생산공정도 적용이 가능한 음이온 교환수지를 이용한 단백질의 선택적 분리와는 달리 현실적으로 사용이 제한적이다(Howell and Lawrie, 1983). Lee 등(1988)은 소의 혈장에서 분리한 면역단백질의 최적 분리 및 면역농도의 증가를 위한 조건을 설정하기 위해서 염침전법에 의해 분리한 면역단백질을 DEAE-Sephacel 이온교환 크로마토그래피(DEAE-Sephacel ion exchange chromatography) 및 immobilized metal affinity chromatography(IMAC)에 의해 정제하는 방법을 연구하였다. 이 결과 polyphosphate에 의한 침전방법으로 분리한 조면역단백질(IgG rich fraction)에서 분획내에 잔류하는 polyphosphate를 제거하기 위한 목적으로 음이온 교환수지(anion exchanger, Amberlite IRA-68)를 사용하고 여기에서 얻어진 물질을 iminodiacetic acid-1, 4-butanediol digly-

cidyl etherified(IDA-BGE) Sepharose 6B 컬럼으로 정제하였다. 또한 크로마토그래피의 효율을 높이기 위해 IMAC 이전에 조면역단백 분획으로부터 polyphosphate의 제거를 시도하였으며 순수한 면역단백질의 생산을 위해 조면역단백 분획을 DEAE-Sephacel 이온교환 크로마토그래피를 사용하여 통과시키면서 NaCl gradient 농도에 따라 용출하였다. 그 밖에 Kanamura 등(1993)은 우유에서 면역글로불린을 분리하기 위해 차단분자량 30만 여과막을 사용하여 중성유청을 한외여과에 의해 농축하고 그 결과 한외여과의 1차 통과 후 IgM 및 IgA의 농도가 증가한 것을 확인하였으며 Sepharose 6B를 이용한 gel filtration에 의해 정제하여 IgG, IgM 및 IgA의 peak를 분리하였다.

의학계에서는 자가면역질환 및 각종 전염성 질환의 발생기전에 대한 연구가 괄목할 만한 진전을 가져왔으며 면역화학 분야의 활발한 연구로 각종 면역단백질의 효율적인 분리 및 정제방법 등이 급진적으로 발전하였다(김 등, 1986). Köhler와 Milstein(1975)에 의하여 세포융합 기법이 면역학 연구에 도입된 이래 한 항원결합 chain을 사용하여 단 clone성 항체를 생산하므로써 소의 혈액과 젖에서 IgG₁의 질적 양적측정과 특정질병에 대한 진료 및 예방치료제의 개발에 응용할 수 있는 연구가 실시되었으며 또한 recombinant DNA가 삽입된 미생물을 배양하여 면역글로불린 G와 같은 특이성을 갖는 단백질을 분리하는 생산방법 등이 연구 중이다(일본특허공개 平8-205875, 1996). 국내의 경우 소의 IgG₁에 대해 특이성이 높은 단 clone성 항체의 생산을 위한 연구에서 김 등(1986)은 소의 초유에서 면역단백질인 IgG₁을 순수분리하기 위한 목적으로 ammonium sulfate를 이용한 염석법으로 글로불린을 분리한 후 DEAE-cellulose anion exchange chromatography column을 통하여 crude IgG₁을 분획하였으며 이를 다시 preparative zone electrophoresis (Fey 등, 1976)에 의해 순도 높은 IgG₁의 분리를 시도하였다(그림 2). 분리한 IgG₁의 순도는 RID

법을 사용하여 면역단백질의 농도를 측정하였으며 그 결과 IgA, IgM 및 IgG₂의 혼합이 없음을 확인하였다.

IgG₁의 분리에는 일반적으로 IgG₁이 다량 함유되어 있는 초유를 이용하였으며(Butler 등, 1971) 기존의 IgG의 정제방법으로는 주로 이온교환 크로마토그래피법과 겔 여과법 등을 반복 또는 병행하여 사용하고 이를 다시 DEAE Sephadex A 50으로 분류하여 IgGs를 분리하였으나 순수한 IgG₁을 분리하는데 어려움이 있었다(Butler 등, 1971; Mach와 Pahud, 1971; Porter, 1972)고 보고되었다. 또한 김 등(1986)은 소에서의 면역학적인 연구를 위해서는 각종 면역글로불린의 class 및 subclass의 분리가 필수적이나 IgG₁과 IgG₂간의 공통 항원결정기로 인하여 Ig와 그 항원결정 사이에 교호작용(interaction)이 일어나므로 이들 면역단백질의 질적, 양적 측정을 위한 순도 높은 특이 항원결정기의 생산은 어려움이 많다고 보고한 바 있다.

2.4 면역단백질의 농도측정 방법

면역단백질 함량과 초유비중간의 일정한 상관관계를 이용하여 초유비중을 측정하므로써 초유내의 면역단백질 함량을 측정하는 방법(Fleenor와 Stott, 1980)인 초유비중법은 간편한 액체 비중계를 사용하므로써 측정장소의 제한없이 적용이 가능할 뿐 아니라 간단하고 신속하며 분석에 따른 비용이 거의 필요 없기 때문에 실질적으로 현장에서 적용이 용이한 방법이지만 시료의 농도범위별 차이에 따른 측정의 정확도 및 시료별 차이에 따른 적용성에서는 높은 신뢰성을 보이지 않는 단점이 있다.

면역농도 확산법(Radial immunodiffusion, RID)법은 Mancini 등(1965)에 의해 개발된 이래 혈청이나 초유에서 면역단백질의 농도를 측정하기 위해 광범위하게 사용되는 방법으로 항체를 함유한 겔에서 시료항원의 농도에 비례하여 확산정도에 따라 형성되는 원의 직경과 항원농도와와의 상관관계에 의해 측정하는 원리를 이용하며 단일 원에 의해 확

산정도를 측정하는 방법(single RID test)과 2개의
원에 의해 확산정도를 측정하는 방법(double RID

test) 등이 있다. RID법은 한번의 처리로 많은 시
료의 시험이 가능하고 그 결과도 비교적 정확한 장

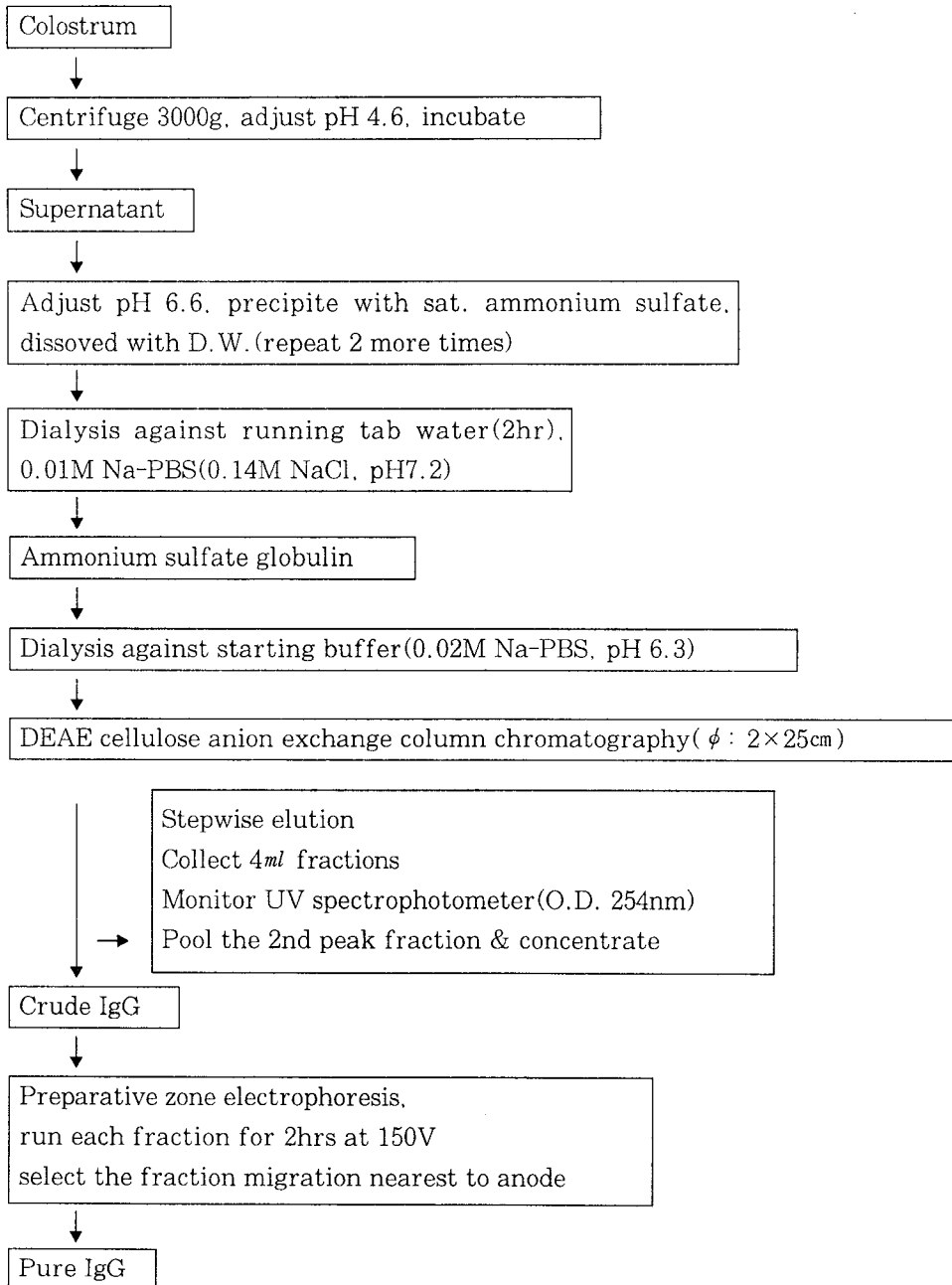


그림 2. Flow chart for purification of IgG from colostrum (Source : Kim *et al.*, 1994)

점이 있으나 시료 및 처리에 따른 변이가 다양하여 시험방법에 따른 시료내의 면역단백질의 농도간 차이가 발생하며(표 6) 겔에서 염농도나 단백질의 농도가 증가함에 따라 원의 확산이 급격히 커지거나 혹은 확산정도에 따라 원의 직경에 차이가 생길 수 있어 결국 부정확한 농도 측정의 원인이 되기도 하였다(Fleenor와 Stott, 1981). 또한 single RID법은 특히 낮은 수준의 면역단백질 G 농도에서는 측정의 정확도가 저하되며 측정에 많은 시간과 항체인 면역혈청이 다량으로 소요되는 것이 문제점으로 지적된다. 그러나 RID법의 적용시 표준물질을 농도별로 희석하여 시료와 같은 조건에서 처리하고 항원항체 반응에 의해 확산된 원의 직경과 표준물질 농도와의 관계를 회귀방정식에 따라 표준곡선으로 작성한 뒤 시료의 확산정도를 대입하여 면역단백질 함량을 구하게 되면 비교적 정확한 농도측정이 가능하고 높은 재현성을 보인다고 하였다.

한편 효소면역측정법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)의 경우 RID법에 비해 저농도의 수준에서도 측정이 가능하고 소요시간도 단축된 것이 특징이며, 측정에 소요되는 항체의 양이 극소량이므로 다량의 시료 측정시 경제적으로

활용할 수 있는 장점이 있다.

김 등(1994)은 혈청 면역단백질 농도측정시 RID법과 ELISA법 등 위에서 언급된 두 가지 측정방법을 비교하여 각 농도수준의 면역단백질을 측정하였는데(표 7) ELISA법으로 측정한 농도와 표준농도간의 상관계수는 0.997로서 RID법으로 측정한 농도인 $r=0.985$ 보다 높은 상관관계가 나타났다. 0.1mg/ml의 면역단백질을 측정한 결과 ELISA법의 경우 $0.12 \pm 0.10 \text{mg/ml}$ 의 결과를 보인데 비하여 RID법은 $0.01 \pm 0.10 \text{mg/ml}$ 로 측정되어 표준물질의 농도에 비해 90% 수준의 오차를 보여 특히 면역단백질의 농도가 1mg/ml이하인 경우 ELISA법에서는 RID법에 비해 측정의 정확도가 높았으나 RID법에서는 측정이 불안정함을 보였다. 일반적으로 1mg/ml 이하의 면역단백질의 경우 ELISA법과 RID법에 의한 측정방법간의 차이가 컸으나 1mg/ml 이상에서는 두 방법간의 차이는 인정할 수 없었다고 하였다.

Stott 등(1981)은 초유내 면역단백질 함량을 측정하기 위하여 RID법을 실시하였으며, Fleenor와 Stott(1981)도 초유내 면역단백질 농도의 양적 측정을 위한 방법으로 sRID법을 실시하였다. RID법

표 6. Comparison of ELISA and RID test for quantitative analysis of porcine IgG

Procine IgG (mg/ml)	No. of duplication	IgG concentration(mg/ml)	
		ELISA	RID
50	5	49.00 ± 1.86	48.76 ± 8.75
25	5	27.62 ± 0.94	25.58 ± 0.10
10	5	8.90 ± 0.76	10.90 ± 0.51
5	5	4.70 ± 0.17	6.01 ± 1.20
1	5	0.90 ± 0.43	0.89 ± 0.08
0.1	5	0.12 ± 0.10	0.01 ± 0.01
		($r^*=0.997$)	($r^*=0.985$)

r^* : Correlation coefficients between know concentration of pig IgG and those determined by ELISA and RID method.

(Source : Kim, 1994)

표 7. Comparison of bovine colostrum preparation techniques and resulting immunoglobulin concentrations

(Unit : mg/ml)

Researcher	Colostrum preparation technique	IgG ₁	IgG ₂	IgM	IgA	Total
Klaus <i>et al.</i>	1. centrifugation 2. fat removal 3. casein precipitated with acid 4. reneutralization	43.4±14.0		3.2±1.7	NA	46.5
Penhale and Christie	1. high speed centrifugation 2. fat removal	34.1±2.1		4.9±0.4	NA	39.0
Mach and Pahud	1. centrifugation 2. fat removal 3. casein precipitated with acid or rennin	75.0	1.9	4.9	4.4	85.2
Burtler	not indicated	33.8	3.6	NA	2.0	39.4
Brandon, Watson and Lascelles	1. centrifugation 2. fat removal 3. casein precipitated with rennet	79.2±6.5	5.2±0.	10.7±1.3	6.5±1.1	102.0
Penhale <i>et al.</i>	1. high speed centrifugation 2. fat removal	36.0		5.1	6.9	48.0
McGuire <i>et al.</i>	1. centrifugation 2. fat removal	139.5±53.7		8.1±3.3	NA	147.6
Proter	1. casein precipitated using ultracentrifugation 2. fat removal	88.2	2.5	9.2	3.4	103.3
Wilson <i>et al.</i>	1. casein precipitated using ultracentrifugation 2. fat removal	34.0±11.4	3.5±1.2	3.9±1.1	1.5±0.6	42.9

(Source : Fleenor and Scott, 1981)

은 이외에도 많은 연구자들에 의해 실시되었는데, 이 방법이 널리 쓰이는 이유는 실험방법이 비교적 간단하고 경제적이기 때문이라고 하였다(Stott 등, 1979; Wilson 등, 1972; Ivan과 Renshaw,

1975; Klaus 등, 1969; Oyeniyi와 Hunter, 1978). ELISA법은 비교적 최근부터 쓰이기 시작한 면역단백질 농도 측정방법 중 하나로서 돈혈장의 면역단백질 농도 측정에 적용한(Varley 등,

1985) 실험의 경우에는 이 측정 방법이 정확한 결과를 가져오고 신속하며 실험 비용이 저렴하다고 하였다. 아직까지는 ELISA법이 돈혈장이나 돈혈청에 적용된 예가 많지 않고 RID법과 비교시 별도의 측정장비 및 측정 기술이 요구되기 때문에 실험실 규모이상의 상업적인 생산을 목적으로 하는 측정방법으로 RID법에 의한 면역단백질의 농도측정이 많이 사용되고 있다.

3.5 면역단백질의 역할 및 이용

소의 혈액에는 약 18%의 단백질이 혈장에는 약 7~8%의 단백질이 함유되어 있으며 혈청, 초유 그리고 정상유에 함유되어 있는 면역단백질의 농도는 각각 20, 58.8 및 0.5mg/ml이다(Butler, 1973). 혈액에서 분리한 면역단백질의 이용을 연구한 결과, 소의 혈액으로부터 생산된 면역단백질을 유아용 조제분유의 첨가물로 사용할 경우 위장염의 치료에 75%의 상승효과가 있다는 것이 인정되었으며 (Lee 등, 1988) Kennelly 등(1979)은 신생자돈의 시험구를 무작위로 구분하여 대조구 및 면역단백질 처리구로 나눈 뒤 병원성 대장균을 위장으로

투입한 결과 면역단백질 처리구는 자돈에게 수동 면역기능을 전이하는 효과를 보여 대조구에 비해 증체량의 증가, 설사감소 및 도태율 감소 등에 영향을 미치는 것으로 보고하였다(표 8). Mc-Callum 등(1977)은 돼지 및 소의 혈액에서 추출한 감마글로불린을 신생자돈에게 모유 대체물질로서 공급시 자돈에게 미치는 영향 및 그 투여량을 결정하는 시험을 실시한 결과 출생초기에 적절한 면역단백질의 공급을 통해서 약 20% 정도의 신생자돈 치사율 감소가 가능하다고 하였으며 체중 3.8 kg의 이유자돈을 대상으로 분무건조한 돼지의 혈장 단백을 급여하여 탈지분유의 대체효과를 검토한 Richert(1992)는 자돈의 증체량 및 사료섭취량에서 우수한 결과(P<.01)를 얻을 수 있었다고 보고하였다.

면역단백질의 공급원으로서 분무건조한 돈혈장을 초유를 공급하지 않은 신생자돈에게 공급하였을 때 체내이전 여부 및 활용가능성을 확인하기 위한 Gatnau 등(1989)의 시험에서 환경에 따른 변이요인을 제거한 상태로 격리 수용한 신생자돈에게 분무건조 돈혈장을 공급하고 생후 24시간째에 채혈하여 면역단백질의 체내 이전효과를 검토한 결과,

표 8. Mortality, average daily gain, scour scores and rectal temperatures of control and immunoglobulin treated pig.

Treatment	Control	IgG treatment
No. of pigs	10	10
Age at weaning(days)	13	13
Initial wt(kg)	3.6	3.7
Final wt(kg)	4.8 ^a	5.4 ^b
Mortality(%)	50.0	10.0
Daily gain(g)	85.8 ^a	121.4 ^b
Scour scores*	5.9 ^a	2.1 ^b
Rectal temperature(°C)	39.2	39.4

* range : 1~10

^{a-b} means in the same row with different letters are significantly different(P<0.05).

(Source : Kennelly *et al.*, 1979)

면역단백질이 함유되지 않은 사료를 급여한 대조구에서는 혈액내에 면역글로블린 G가 존재하지 않았으나 분무건조 돈혈장을 공급한 처리구의 신생자돈의 혈청내에는 면역단백질이 존재하는 결과를 보여 사료로 섭취한 분무건조 혈장내의 면역단백질이 장에서 흡수되어 체내의 혈액으로 이전한다고 보고하였으며 Ouchterlony test를 통해 면역글로블린 G의 존재를 확인하였다. Gatnau와 Zimmerman(1990a)는 자돈에게 돈혈장을 사료로 급여하였을 때 옥수수나 대두 등으로 제조한 일반 자돈사료에 비해 일당증체량이 증가하였다고 하였으며 또한 Gatnau와 Zimmerman(1990b)에서도 돈혈장사료의 급여시 케이션, 고기추출물 및 대두단백분리물보다 사료섭취율 및 일당증체율이 증가하였다고 하였다. 조기 이유자돈 사료의 동물성 단백질 공급원 효과를 비교한 Hansen 등(1993)의 시험에서는 돈혈장 첨가구가 탈지유 등 다른 처리구에 비해 우수한 성적을 보였으며 이유자돈의 성장율에도 영향을 미친다고 하였다. 면역글로블린이 함유된 사료급여원을 공급하였을 때 신생자돈에 미치는 면역단백질의 효과를 검토한 DeGregorio(1989) 등의 시험에서 생후 12시간 이내에 자돈을 모돈으로부터 격리시키고 병원성 미생물 *E. Coli*(K99 strain) 1×10^9 CFU를 자돈에게 투여하였을 때 일반적인 자돈사료를 공급한 대조구의 경우 82.4%의 치사율을 보였으나 소의 면역글로블린 공급원 및 소의 초유를 10%와 20%를 함유한 시료를 공급한 처리구의 경우 각각 35.5, 29.9 및 43.6%의 치사율을 보여 대조구에 비해 높은 생존율($P < .05$)을 보였다.

현재 인간이 혈액으로부터 분리한 단백질을 직접적으로 소비하는 양은 미비하나 육가공 제품에서의 단백질 공급원, 가축의 사료 또는 비료 등으로써 일부 사용되고 있다. 국내의 경우 혈액 등 도축부산물의 유효성분을 이용한 연구는 여러 분야에서 상당 부분 활용되어 왔으며 주로 단백질 등의 회수(김 등, 1990; 송, 1982; 송 등, 1984) 및 이용(김 등, 1990; 강, 1990) 그리고 이화학적 성질을

분석한 연구(김 등, 1988; 송, 1982; 송 등, 1984) 등이 보고되어 왔다.

혈액을 비롯한 도축부산물에 알칼리추출법 등 처리(송 등, 1982; 송 등, 1984)를 하거나 혈액을 원심분리 및 분무건조 등의 처리(김 등, 1990)를 거친 후 육가공제품 등 식품에 첨가하였을 때 나타나는 효과 및 그 이용에 관한 연구(김 등, 1990; 강, 1988) 및 사료로서 자돈 급여효과(김 등, 1996)가 보고되었다. 한국재래 산양의 초유와 정상유 및 혈청 중의 면역단백질 함량변화에 대해 관찰한 하 등(1986)은 분만 직후 착유한 초유 중의 면역단백질 함량은 초산 및 경산양에 따라 최고 48 시간 동안 유의적으로 감소하였으나 그 중 혈액 중 면역단백질의 함량은 유의적으로 증가하여 분만 후 산양유와 혈액중의 면역단백질의 함량간에 고도의 부의 상관관계가 있음을 보고하였다. 또한 김 등(1986)은 가축질병의 발생에 관여하는 제반 면역생리적 요인들 중 혈중 IgG₁과 IgG₂ 등 IgG class의 농도변화가 질병발생 여부 및 그 상태를 예시하여 주는 중요한 척도가 되고 있음을 보고하였다.

가축혈액에서 추출한 면역단백질은 특히 신생체에 대한 그 효과가 인정되는 바 향후 면역단백질의 경제적인 생산방법이 확립될 경우 초유를 완전히 공급받지 못한 어린 가축 및 유아에게 공급을 통해 조제분유 또는 이유식에 첨가하여 질병 예방효과를 거둘 수 있는 기능성 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다.

4. 가축혈액의 활용방향

면역단백질의 산업적 응용은 어린 가축의 사료 첨가제를 비롯하여 특정성분을 강화시키는 고부가가치의 기능성 식품 및 순수정제를 통한 의약품으로 활용이 기대된다. 가축 혈액으로부터 생산된 면역단백질은 가열처리에 의하여 변성되는 경우 인체에 섭취될 경우에는 면역 증강효과를 충분히 발휘하지 못할 수 있기 때문에 면역단백질의 식품에서의 적용은 처리온도가 낮은 일부 식품에 우선 적용하는 것이

보다 효율적일 것으로 판단된다. 비가열처리 식품으로 분류되는 발효소시지와 낮은 열처리를 이용한 유제품의 경우, 면역단백질의 첨가는 가열처리로 인한 단백질의 변성을 최소화하므로써 면역기능의 효과를 기대할 수 있는 식품으로 사료된다.

면역단백질을 이용한 산업의 이용은 어린 가축의 면역성을 증가시키는 사료 첨가물로서의 용도는 물론 특정성분 강화 분유와 같은 기능성 식품에서의 활용뿐만 아니라 정제를 통한 순도의 증가로 식품뿐 아니라 의약품 및 특수 용도로서의 사용가능성도 기대된다. 또한 혈액 내에는 면역단백질을 비롯한 알부민, 헤모글로빈 등 성장촉진 및 발암억제 유전자 등 많은 생물학적 활성물질을 함유하고 있어 이에 대한 연구도 활발할 것으로 판단되며 특히 환경문제의 심각성이 날로 강조되는 추세에서 이러한 폐기물 처리 시설 및 비용의 절감, 폐기물로 야기되는 공해 원인물질의 감소 및 식품 및 의약품으로서의 부가가치 향상을 함께 추구하는 산업의 개발은 향후 더욱 발전될 것으로 전망된다. 면역단백질의 분리기술은 외국의 경우 초유를 중심으로 생산하여 상품화에 이르고 있는 반면 가축혈액을 이용한 분리기술의 경우 현재 기초연구를 바탕으로 노력 중이나 혈액의 효율적 성분 분리를 통한 상품화에 성공하여 상업적으로 실용화시키는 기술은 아직 미비한 실정이다. 외국에서는 이미 1950년대부터 도축부산물에 관한 관심으로 이에 대한 활용 및 이용방법에 대한 연구가 활발히 진행되었고 현재 이에 대한 기초적 연구는 상당히 진행된 것으로 판단된다. 하지만 면역단백질의 생산에 있어서는 주로 초유를 원료로 하는 기술개발이 지금까지 보편적이었고 면역단백질의 함량이 매우 높은 장점이 있으나 사용 가능한 원재료의 양이 대단히 제한적이고 값도 비싼 단점이 있었다. 그러나 혈액으로부터 면역단백질의 분리를 통한 식품의 적용은 원재료의 공급물량 및 가격이 초유에 비해 월등히 우수한 장점이 있음에도 불구하고 산업적으로 활용할 만한 충분한 기술의 개발이 불완전한 형편이다.

따라서 도축부산물의 면역단백질 등 유효성분의

분리 및 상업적 생산의 개발은 향후 환경오염의 방지와 기능성 식품 및 의약품 소재 생산 효과가 기대되는 만큼 집중적인 연구개발이 이루어져야 할 것으로 기대된다.

참고 문헌

- 강종천. 염지혈액을 이용한 예비유화물의 첨가가 계육 sausage의 품질에 미치는 영향. 서울대학교 석사학위 논문(1988).
- 김기성. 막분리기술을 이용한 유제품 생산. 식품산업에서의 막분리기술. 한국식품개발연구원.(1988)
- 김대환. 염재상, 남두석, 백인기. 자돈에 있어서 혈장단백 대용제(Procline®)의 급여효과. 한국축산학회지, 38(4): 375(1996).
- 김동훈. 식품화학. 탐구당(1994).
- 김영봉, 김기성, 이영철, 유익중, 이성기. 도축 부산물로부터 단백질 개발에 관한 연구. 돈혈로부터 단백질의 분리. 한국축산학회지, 32(5): 271.(1990)
- 김영봉, 김기성, 유익중, 이성기, 김수민. 혈액단백질을 첨가한 육제품의 품질에 관한 연구. 한국축산식품학회지, 32(7):428.(1990)
- 김정우, 고승연, 조석현. ELISA법을 이용한 돼지의 혈청 IgG 농도 측정. 한국축산학회지, 36(5): 453(1994).
- 김정우, 여상건, 이효중. 소의 Immunoglobulin G₁에 대한 단 Clone 성 항체의 생산에 관한 연구. I. 소의 Immunoglobulin G₁의 순수분리. 한국축산학회지, 28(12): 747(1986).
- 김현욱, 강통삼, 성삼경, 송인상, 이무하. 식육과학 : 이론과 응용. 선진문화사.(1988).
- 송인상. 도축부산물을 이용한 단백질 자원 개발에 관한 연구. 서울대학교 박사학위 논문.(1982)
- 송인상, 유익중, 민병용, 송계원. 도축 부산물로부터

- 터 단백질회수에 관한 연구. 한국축산학회지, 26(3): 296(1984).
- 윤철석, 최신양, 한찬규, 이남형, 성기승, 김은하, 윤미경. 도축혈액의 활용도 증진에 관한 연구. 한국식품개발연구원 연구보고서, E1169-0335.(1992)
- 임종우. Enzyme Linked Immunosorbent Assay에 의한 한국 모유의 Immunoglobulins 농도에 관한 연구. 한국낙농학회지, 17(3): 195.(1995)
- 축협조사계보. 축산업협동조합.(1994)
- 펠토 미카엘 굿. 면역글로불린 결합성 단백질의 생산방법. 日本特許公開, 平8-205875(1996).
- 하월규, 임종우, 최충국. 한국 재래 산양유 및 혈청 중의 Immunoglobulin G의 함량에 관한 연구. I. 비유기간에 따른 IgG의 함량변화. 한국축산학회지, 28(10): 679(1986).
- 白根正志, 比嘉正雄, 安里繁雄. 폐혈의 처리방법 및 혈분의 제조방법. 日本特許公開, 平8-173051.(1996)
- 立石雅地, 羽木貴志, 草川一樹. 혈장분말의 탈취법. 日本特許公開, 平5-344867(1993).
- Akers, J.M. Utilization of blood. Food Manufacture, 48(4): 31(1973).
- Autio, K., M. Kiesvaars, Y. Malkki and S. Kanko. Chemical and functional properties of blood globin prepared by a new method. *J. Food Sci.*, 49: 859(1984).
- Bates, R.P., L.C. Wu and B. Murphy. Use of animal blood and cheese whey in bread : Nutritive value and acceptance. *J. Food Sci.*, 39: 585.(1974)
- Butler, J.E. Bovine immunoglobulins. A Review. *J. Dairy Sci.*, 52: 1896(1960).
- Butler, J.E. Synthesis and Distribution of Immunoglobulins. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 163: 795(1973).
- Butler, J.E., A.J. Winter and G.G. Wagner. Symposium : Bovine immune system. *J. Dairy Sci.*, 54: 1309(1971).
- Caldironi, H.A. and H.W. Ockerman. Incorporation of blood proteins into sausage. *J. Food Sci.*, 47: 405.(1982)
- Cheryan, M. Ultrafiltration handbook. Technomic Publishing Company. Inc. USA.(1986)
- Conrad, M.E., B.J. Benjamin, R.L. Williams and A.L. Foy. Human absorption of hemoglobin-iron. *Gastroenterology*, 53:5.(1967)
- DeGregorio, R.M. and G.W. Barr. Effect of bovine immunoglobulins in pig milk replacers on pig challenged with Colibacillosis. *J. Anim. Sci.*, 67(Suppl. 1): 244(Abstr.).(1989)
- Del Rio de Reys, M.T.E., S.M. Constantinides, V.C. Sgarbibieri and A.A. El-Dash. Chicken blood plasma proteins : Physicochemical, nutritional and functional properties. *J. Food Sci.*, 45: 17.(1980)
- Delaney, R.A.M. The Nutritive value of porcine blood plasma concentrates prepared by ultrafiltration and spray drying. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 303(1975).
- Delaney, R.A.M. Protein concentrates from slaughter animal blood. *J. Food Technol.*, 12: 339.(1977)
- Divakaran, S. Animal blood processing and utilization. FAO Agricultural Service Bulletin. Rome. Italy.(1982)
- Donnelly, R.B. and R.A.M. Delaney. The fractionation of porcine plasma by potential food industrial techniques. *J. Food Technol.*, 12: 493(1997).
- Düppjohann, I.J. A technique for processing

- animal blood with particular emphasis on blood plasma recovery. Westfalia separator AG. Oelde. Germany. (1995)
- Etheridge, P.A., D.W. Hickson, C.R. Young, W.A. Landmann and C.W. Dill. Functional and chemical characteristics of bovine plasma proteins isolated as a metaphosphate complex. *J. Food Sci.*, 46: 1732. (1981)
- Fey, H., H. Pfister and J. Messerli. Methods of isolation, purification and quantitation of bovine immunoglobulins: A technical review. *Zentralbl. Veterinaer med(B)*, 23: 269(1976).
- Fleenor, W.A. and G.H. Stott. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.*, 63: 973(1980).
- Fleenor, W.A. and G.H. Stott. Single radial immunodiffusion analysis for quantitation colostrum immunoglobulin concentration. *J. Dairy. Sci.*, 64: 740 (1981).
- Gatnau, R., P.S. Paul and D.R. Zimmerman. Spray dried porcine plasma as a source of immunoglobulins for new born piglet. *J. Anim. Sci.*, 67: 24(1989).
- Gatnau, R. and D.R. Zimmerman. Evaluation of different sources of protein for weanling pigs. Coop. Ext. Serv. Publ. No. AS-615. Iowa state Univ., Ames. (1990a)
- Gatnau, R. and D.R. Zimmerman. Spray-dried porcine plasma(SDPP) as a source of protein for weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 68: 372(1990b).
- Gorbatov, V.M. Collection and utilization of blood and blood proteins for edible purposes in the USSR. Edible meat by-product. Advances in meat research vol 5. Elsevier science publisher. New York. USA. (1988).
- Gr sbeck, R., J. Majuri, I. Kouvomen and R. Tehohunen. Spectral and other studies on the intestinal receptor of the pig. *Biochem. Biophys. Acta*, 700: 137. (1982)
- Grahm, A. The collection and processing of edible blood. *CSIRO Food Res. Q.*, 36: 16(1978).
- Hansen, J.A., J.L. Nelssen, R.D. Goodband and T.L. Weeden. Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 71: 1853(1993).
- Halliday, D.A. 1973. Blood-A source of proteins. *Proc. Biochem.*, 8: 15. (1973)
- Hayakawa, S., T. Ogawe and Y. Sto. Some functional properties under heating or the globin prepared by carboxymethyl cellulose procedure. *J. Food Sci.*, 47: 1415. (1982)
- Hermansson, A.M. Gel characteristics-structure as related to texture and waterbinding of blood plasma gels. *J. Food Sci.*, 47: 1995. (1982)
- Howell, N.K. and R.A. Lawrie. Functional aspects of blood plasma proteins. I. Separation and Characterization. *J. Food Technol.*, 18: 747(1983).
- Imeson, A.P., P.R. Watson, J.R. Mitchell and K.A. Ledward. Protein recovery from blood plasma by precipitation with polyuronates. *J. Food Technol.*, 13: 329. (1978)

- Ivan, M.R. and H.W. Renshaw. Weak calf syndrome: Serum immunoglobulin concentrations in precolostral calves. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 1129(1975).
- Kanamaru, Y., M. Ozeki, S. Nagaoka, Y. Kuzuya and R. Niki. Ultrafiltration and gel filtration methods for separation of immunoglobulins with secretory component from bovine milk. *Milchwissenschaft*, 48(5): 247(1993).
- Kehoe, J.M. Subclass of bovine IgG. *J. Dairy Sci.*, 54: 1317(1971).
- Kennelly, J.J., R.O. Ball and F.X. Aherne. Influence of porcine immunoglobulin administration on survival and growth of pigs weaned at two and three weeks of age. *Can. J. Anim. Sci.*, 59: 693(1979).
- Khan, M.N., L.W. Rooney and C.W. Dill. Baking properties of plasma protein isolate. *J. Food Sci.*, 44: 274.(1979)
- Klaus, G.C., H.A. Bennet and E.W. Jones. A quantitative study of the transfer of colostral immunoglobulins to the newborn calf. *Immunology*, 16: 293(1969).
- Knipe, C.L. Production and use of animal blood and blood proteins for human food. Edible meat by-product. Advances in meat research vol 5. Elsevier science publisher. New York. USA.(1988)
- Köhler, G. and C. Milstein. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of a predefined specificity. *Nature*, 256: 495(1975).
- Lee, Y.Z., T. Aishima, S. Nakai and J.S. Sim. Optimization for selective fraction of bovine blood plasma proteins using polyethylene glycol. *J. Agric. Food Chem.*, 35: 958.(1987)
- Lee Y.Z., J.S. Sim, S.A. Mashikhi and S. Nakai. Separation of immunoglobulins from bovine blood by polyphosphate precipitation and chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 36: 922(1988).
- Mach, J.P. and J.J. Pahud. Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions. *J. Immunology*, 106: 552(1971).
- Mancini, G., A.O. Carbonara and J.F. Heremans. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, 2: 235(1965).
- McCallum, I.M., J.I Elliot and B.D. Owen. Survival colostrum deprived neonatal piglets fed gamma-globulins. *Can. J. Anim. Sci.*, 57: 151.(1977)
- Mielnik, J. and E. Slinde. Sausage color measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry when whole blood or blood cured by nitrite is added to sausage. *J. Food Sci.*, 48: 1723(1983).
- Millipore. A scale-up methodology for ultrafiltration processes. Millipore. USA.(1995)
- Muller, L.D. and D.K. Ellinger. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 64: 1727(1981).
- Nakamura, R., S. Hayakawa, K. Yasuda and Y. Sate. Emulsifying properties of bovine blood globin : A comparison with some proteins and their improvement. *J. Food Sci.*, 49: 102.(1984)
- Neelankatan, S. Preparation and nutritive

- value of serum and whole blood protein meals from slaughterhouse blood. *J. Food Sci. Technol.*, 12(6): 229.(1975)
- Nilsson, R. The utilization and processing of blood. Symposium on the prospects for industrial meat processing in developing countries. Vienna: October 13-17.(1975)
- Oellingrath, I.M. and E. Slinde. Color, pigment and Iron content of meat loaves with blood, blood emulsion, or mechanically deboned meat added. *J. Food Sci.*, 50: 1551(1985).
- Ockerman, H.W. and C.L. Hansen. Animal By-Product Processing. Ellis Horwood Ltd. USA.(1988)
- Oyeniyi O.O. and A.G. Hunter. Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milking postpartum. *J. Dairy Sci.* 61: 44(1978).
- Pavlovsky, P.E. and V.V Palmin. *Meat Biochemistry*. Ed. Pishtchevaya promyshlennost. M, p85
- Porter, P. Immunoglobulins in bovine mammary secretions. Quantitative changes in early lactation and absorption by the neonatal calf. *J. Immunology*, 23: 225(1972).
- Porter, M.C. and A.S. Michaels. Membrane ultrafiltration. *Chem. Tech.*, 5 July. p440.(1971)
- Richert, B.T., J.D. Hancock, R.H. Hines and K.S. Burton. Use of whey protein concentrate, dried butter milk and porcine plasma protein to replace dried skim milk in diets for weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 70: 231(1992).
- Sandoval, A.E. Effect of dried blood protein fractions on characteristics of emulsion type meat products (A thesis of master of science). Iowa State University.(1985)
- Seideman, S.C., G.C. Smith, S.L. Carpenter and C.W. Dill. Plasma protein isolate and textured soy protein in ground beef formulations. *J. Food Sci.*, 44: 1032.(1979)
- Seilly A. Blood application guide. Millipore.(1995)
- Siegel, D.G., K.E. Church and G.R. Schmidt. Gel structure of nonmeat proteins as related to their ability to bind meat pieces. *J. Food Sci.*, 44: 1276.(1979)
- Smith, A.K., A.M. Nash, A.C. Eldridge and W.J. Wolf. Recovery of soybean whey protein with edible gums and detergents. *Agric. Food Chem.*, 10: 302.(1962)
- Sofas, J.N. and F.W. Putnam. Use of the phosphate in low-sodium meat products. *Food Technol.*, 9: 52(1986).
- Stott, G.H., W.A. Fleenor and W.C. Kleese. Colostrum immunoglobulin concentration in two fractions of first milking postpartum and five additional milkings. *J. Dairy Sci.*, 64: 459(1981).
- Suter, D.A., E. Sustek, C.W. Dill, W.H. Marshall and Z.L. Carpenter. A method for measurement of the effect of blood protein concentrates on the binding forces in cooked ground beef patties. *J. Food Sci.* 41: 1428.(1976)
- Terrell, R.N., P.J. Weinblatt, G.C. Smith, Z.L. Carpenter, C.W. Dill and R.G. Morgan. Plasma protein isolate

- effects on physical characteristics of all-meat and extended frankfurters. *J. Food Sci.*, 44: 1041.(1979)
- Tybor, P.T., C.W. Dill and W.A. Landmann. Effect of decolorization and lactose incorporation on the emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. *J. Food Sci.*, 38: 4.(1973)
- Tybor, P.T., C.W. Dill and W.A. Landmann. Functional properties of protein isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *J. Food Sci.*, 40: 155(1975).
- Varley, M.A., G.J. Rucklidge, R.J. Wilkinson and M. Maitland. Enzyme linked immunosorbent assay for the measurement of immunoglobulin G concentrations in porcine plasma and colostrum. Research Institute, Buckburn, Aberden, AB2 9SB, *Res. Vet. Sci.*, 38: 279(1985).
- Wisner-Pedersen, J. Utilization of animal blood in meat products. *Food Technol.*, 33(8): 76.(1979)
- Wilson, M.R., J.R. Duncan, F. Heistand and P. Brown. The influence of preparturient intramammary vaccination on immunoglobulin levels in bovine mammary secretions. *Immunology*, 23: 313(1972).
-
-