Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 25, No. 2, 218-223 (1997)

도축 폐혈액 단백질을 이용한 유산균체의 생산

현창기* · 신현길
한동대학교 생물식품공학부

Utilization of Animal Blood Proteins as Nitrogen Sources for the Cultivation of Lactic Acid Bacteria. Chang-Kee Hyun* and Heuyn-Kil Shin. *School of Bioscience and Food Technology, Handong University, Pohang 791-940, Korea* – For the utilization of animal blood produced in slaughter for the cultivation of lactic acid bacteria, the nitrogen sources in a complex(MRS) medium were replaced by blood plasma proteins. Focusing the purpose on the industrial production of a probiotics, the hydrolytic activities of three industrially applicable proteases were compared for the effective digestion of the proteins, and Alcalase(the product of Novo Nordisk) was selected with comparatively high activity. The growth of *Streptococcus thermophilus* KCCM12020 was best among the four strains of lactic acid bacteria tested. With Alcalase-digested proteins in the medium, the growth rates and the final cell concentrations were higher than those with non-digested proteins. The cell mass produced in the medium containing blood proteins as nitrogen sources, 2.5×10^9 CFU/ml, was significantly high and about 70% of that in MRS medium, showing a great possibility for the utilization of animal blood proteins as economic nitrogen sources in the production of cell mass of lactic acid bacteria.

가축혈액은 도축장으로부터 생산되는 축산 부산물로서 albumin, globulin, globin 등 각종 단백질이 풍부하게 함유되어 있어 유용가치가 높은 원료자원으로 알려져 있다(1). 하지만 우리나라의 경우에는 연간 약 55,000톤 이상의 가축혈액이 도축에 의해 생산되어지는데 이 가축혈액이 자원으로 이용되는 것이 아니라 거의 대부분 폐기되고 있기 때문에 자원의 낭비는 물론 환경의 주요 오염원으로 사회문제가 되고 있다. 이러한 도축혈액의 폐기는 1970년을 기준하여 볼 때 1980년에는 10년간 1.5 배 정도밖에 늘지 않았으나 1985년에는 2.5배, 1990년에는 4.0배, 1992년에는 4.8배로 늘어나 그 증가율이 급격히 상승하고 있다(2). 한편 선진국에서는 이 가축혈액을 이용하여 각종 유용물질을 생산하는 연구를 계속하여 왔고(3-12) 또한 몇가지는 상품화되어 제품으로 공급되고 있으나, 우리나라에서는 오히려 이들을 다량 수입하고 있는 실정이다(13, 14). 현재 가축혈액이 주로 이용되고 있는 것은 동물성 단백질 농후사료로서, 도축장의 가축의 피를 모아 건조, 분말화한 혈분(blood meal)으로 공급되고 있으며, 소량이기는 하나 식품공업에서의 유화제, 안정제, 착색제로 이용되거나 의약품 소재 또는 실험용 시약원료 등 제한적으로 응용되고 있다. 그러나 가축혈액의 주된 이용방법인 혈분도 혈액 자체를 간단한 처리하여 사료첨가제로 사용하는 것이며 이 또한 혈분 자체의 이취와 비교적 높은 염농도 및 소량의 첨가에 의해서도 발생되는 색깔에 의한 악영향 등으로 인해 그 사용량은 감소추세에 있는 형편이다. 따라서 엄청난 양으로 끊임없이 생산되어 버려지고 있는 가축혈액을 이용하여 여러가지 고부가가치의 유용물질을 생산해 냄으로써 그 이용분야를 넓히는 연구가 시급하며, 이는 곧 유용자원의 낭비를 차단하는 것은 물론 환경오염의 방지에 이르기까지 다방면의 기대효과를 낳게 되는 것이어서 그 필요성이 절실하다. 그동안 국내에서는 도축 폐기물인 가축혈액의 이용에 관한 연구가 없었으나, 최근에 이르러 관심이 모아지면서 혈액 단백질로부터 항고혈압 펩타이드를 얻어내거나(15), 특정 단백질만을 효율적으로 분리하는 기술을 개발하는 등(16) 관련 연구가 활성화되고 있다.

혈분이 동물성 단백질의 공급원으로 사료에 첨가되는 한편, 유산균 제제 즉 probiotics 또한 가축의 장내 세균총의 개선을 통해 장내의 건강을 유지하고 항생제 사용을 줄이기 위하여 첨가하는 중요한 첨가제이다(17, 18). 따라서 본 연구에서는 기존의 두가지 사료첨가제로 이용되고 있는 혈분 및 유산균 제제의 기능을 함께 갖춘 새로운 사료첨가제를 생산하기 위한 목적으로, 가축혈액을 배지성분으로 한 유산균의 발효를 시도하였다. 이러한 조합에 의해 혈분은 유산균 발효에 의한 탈취 등으로 질이 개선되고, 유산균 제제 역시 혈분중의 단백질 또는 펩타이드에 의한 안정화로 제제화 공정에서 생존 생균수가 증가하는 등의 효과가 예상되므로 고급의 사료첨가제를 경제적으로 생산할 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서는 채혈된 혈액으로부터 간단한 원심분리만으로 얻을

*Corresponding author
Tel. 82-562-60-1361, Fax. 82-562-61-4603
E-mail: ckhyun@light.han.ac.kr
Key words: Animal blood, Slaughterhouse, Plasma proteins, Lactic acid bacteria, *Streptococcus thermophilus*

수 있는 혈장 부분을 배지 성분으로 이용함과 동시에, 간단한 열처리에 의한 멸균, 배양조건의 단순화 등 probiotics의 산업적인 생산에 초점을 맞추어 실제 생산공정의 경제성과 용이성을 높일 수 있는 배지제조, 멸균, 발효의 최적 조건을 정립하는데 주력하였다.

재료 및 방법

혈액시료 채취 및 혈장의 분리

경북 포항시 소재 (주)명신산업 도축장으로부터 도축 즉시 위생적으로 채취한 소 혈액 3 L에 40% trisodium citrate용액 48 m*l*를 첨가하여 잘 혼합함으로써 혈액의 응고를 억제시킨 상태의 혈액시료를 얻었다. 혈액시료는 6000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액인 혈장을 분리해내었다.

균주 및 종배양

유산균은 4종류의 균주(*Lactobacillus acidophilus* KCCM32820, *L. plantarum* KCCM11322, *Streptococcus thermophilus* KCCM12020, *S. lactis* KCCM32406)를 한국종균협회(KCCM)로부터 분양받아 사용하였다. 균주들은 MRS 액체배지(Difco)에 agar를 넣어 제조한 MRS-agar plate를 이용하여 계대하며 보관하였고, 종배양은 250 m*l* flask에 150 m*l*의 MRS 액체배지를 넣고 멸균한 후 균주를 agar plate로부터 접종하여 37℃에서 24시간 동안 정치배양하였다. 이 중 *L. acidophilus* KCCM32820과 *S. lactis* KCCM32406은 MRS 배지에서 잘 자라지 않았기 때문에 yeast extract-milk 배지(skim milk 10%, yeast extract 0.5%)에 동일한 조건으로 종배양하였다.

배지 제조

위의 4 균주 중 가장 생육도가 높은 균주를 선발하기 위하여 각각의 균주를 rich medium(MRS 및 yeast extract-milk 배지)과 rich medium의 질소원을 혈장 단백질로 대체한 modified rich medium (modified MRS 및 modified yeast extract-milk배지)으로 나누어 37℃에서 rich medium은 24시간, modified rich medium은 48시간 동안 배양하고 생균수 측정을 통하여 생육정도를 비교하였다. Modified MRS 배지는 MRS 배지의 질소원인 peptone(1%, w/v), beef extract(1%), yeast extract(0.5%)를 제외한 나머지 성분들, 즉 glucose(2%), Tween 80 (0.1%), K_2HPO_4(0.2%), sodium acetate(0.5%), triammonium citrate(0.2%), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$(0.02%), $MnSO_4 \cdot 4H_2O$(0.005%)을 2배의 농도로 용해시켜 얻은 용액에 동일 부피의 혈장액을 첨가하고 pH 6.4로 맞추어 제조하였다. 이 때 혈장액은 혈장 원액에 단백분해효소인 Alcalase® (Novo Nordisk, Denmark)을 0.1%(v/v)의 농도로 처리하여 55℃에서 2시간 동안 반응시킨 반응액을 단백질 함량으로 총 3%가 되도록 첨가하였다. 한편 단백분해효소의 선발을 위하여 Alcalase® (Novo Nordisk, Denmark), Neutrase® (Novo Nordisk, Denmark), Complex-2000® ((주)태평양화학) 등을 사용하여 단백분해역가를 비교실험 하였으며, 이 중 Alcalase와 Neutrase는 국내 식품회사에서 사용 중인 공업용 효소로서 (주)삼양제넥스로부터 제공받아 실험에 이용하였다. Modified yeast extract-milk 배지는 단백분해효소를 처리한 혈장 원액에 4%가 되도록 lactose를 첨가하여 제조하였다.

생균수 측정

배양액 시료를 0.85% saline용액을 이용하여 연속희석하고 MRS-agar plate에 적정한 희석액을 20 μ*l*씩 smearing하였다. 각 plate를 37℃에서 30시간 배양한 후 형성된 colony의 수를 세어 생균수를 측정하였다. 각 시료에 대해서는 triplicate로 하여 결과값의 평균으로 생균수를 결정하였다.

결과 및 고찰

균주의 선발

본 연구에서 사용한 4 균주 중 가장 생육도가 높은 균주를 선발하기 위하여 각각의 균주를 rich medium(MRS 및 yeast extract-milk 배지)과 rich medium의 질소원을 혈장 단백질로 대체한 modified rich medium (modified MRS 및 modified yeast extract-milk 배지)으로 배지의 종류를 구분하여 배양한 결과, *S. thermophilus*와 *L. plantarum*는 MRS 배지에서 좋은 생육도를 보였고 modified MRS 배지에서는 비교적 좋은 생육도를 나타내었으며, *L. acidophilus*와 *S. lactis*는 yeast extract-milk 배지에서 비교적 좋은 생육을 하였으나 MRS 배지와 modified MRS 배지 및 modified yeast extract-milk 배지에서는 잘 자라지 않았다(Table 1).

이상과 같은 결과로부터 *S. thermophilus*와 *L. plantarum* 균주가 MRS 배지에서의 생육도가 높으며 또한 혈장 단백질을 비교적 잘 이용하는 것을 확인하고, 이 두 균주를 대상으로 MRS 배지의 질소원을 혈장 단백질로 대체한 modified MRS 배지에 대한 배지 최적화 실험을 실시함과 동시에 보다 우수한 균주를 선발하는 실험을 진행하였다.

배지의 멸균조건

유산균 배양에서는 여타의 발효에 비하여 오염의 위험이 비교적 적고 발효가 진행되면서 초기에 오염된 균들이 점차 사멸되는 현상을 보이나, 본 연구에서 이용하고 있는 혈액 원료는 도축장 등에서 여러 종류의 잡균에 의한 오염의 정도가 높은 원료이기 때문에 멸균과정은 반

Table 1. Cell growth of 4 strains of lactic acid bacteria

Lactic acid bacteria	Cell growth (CFU/m*l*)			
	MRS	modified MRS	yeast ext.-milk	modified y.e.-milk
L. acidophilus KCCM32820	1.5×10^{5}	1.3×10^{5}	1.2×10^{8}	9.7×10^{5}
L. plantarum KCCM11322	7.9×10^{8}	6.6×10^{7}	3.1×10^{7}	5.4×10^{6}
S. thermophilus KCCM12020	4.7×10^{9}	3.9×10^{8}	7.2×10^{8}	7.0×10^{7}
S. lactis KCCM32406	3.3×10^{5}	4.0×10^{5}	6.2×10^{7}	2.6×10^{5}

드시 필요하다고 판단되었다. 여기서는 혈장이 높은 단백질 농도에 의해 가열시 응고 응집현상이 일어날 수 있다는 점과 산업적 공정에서의 적용 용이성 등을 고려하였다. 배지의 멸균조건을 찾기 위해 modified MRS 배지를 온도별로 각각 60℃, 70℃, 80℃, 90℃, 100℃까지 도달하도록 응고 단백질이 응집되지 않도록 교반하면서 가열처리한 후 plate count agar(Difco)에 20 μ*l*씩 smearing하여 37℃에서 48시간 배양하였다. 배양 후 plate에 미생물 colony의 생성을 확인하여 오염균의 생존 여부를 조사한 결과, 90℃까지 가열처리했을 때 오염균이 사멸됨을 확인할 수 있었으므로 90℃ 열처리를 멸균조건으로 결정하였다. 또한 멸균시에는 반드시 교반하면서 가열처리하여야 단백질의 응집을 최대한 막을 수 있어서 유산균 배양이 용이하게 됨을 알 수 있었다.

혈장 단백질의 효소적 가수분해조건

MRS 배지의 질소원인 peptone, beef extract, yeast extract를 대체할 혈장 단백질을 유산균에 의해 잘 이용될 수 있도록 분해시켜 주기 위해, 단백분해효소에 의한 혈장 단백질의 분해 정도를 조사하였다. 우선 단백분해효소는 산업적으로 응용 가능한 Alcalase® (Novo Nordisk, Denmark), Neutrase® (Novo Nordisk, Denmark), Complex-2000® ((주)태평양화학) 등 세가지에 대하여 단백분해 정도를 비교하였다. 이를 위하여 동일한 혈장 시료를 3개의 250 m*l* flask에 나누어 각각의 pH를 7.5, 6.0, 6.2(각 효소의 반응 최적 pH)로 맞추고 1.8%(w/v)의 agar를 넣고 교반하면서 끓여 준 후 굳기 전에 Petri dish에 옮겨 부어 agar plate를 제조하였다. 각각의 plate에 paper disc를 3개씩 배열해 놓고 효소액을 1, 3, 10 μ*l*씩 적셔준 후 각각을 55℃, 45℃, 50℃(각 효소의 반응 최적온도) 항온기에서 5시간씩 두어 효소반응이 일어나도록 하였다. 이 때 효소액은 효소원액을 증류수로 100배 희석한 효소액을 제조하여 사용하였다. 효소반응 후의 plate는 disc 주변에 형성된 환형의 직경을 비교하여 효소의 단백질 분해역가를 비교하였다. 그 결과 Alcalase의 역가가 가장 우수한 것으로 나타났다(Fig. 1). Alcalase는 현재 국내 식품회사에 저렴한 가격(약 6500원/Kg)으로 공급되어 대량으로 사용되고 있는 공업용 효소이기 때문에 본 연구에서 의도하는 바 유산균체 생산의 경제성 확보에 적합한 효소로 판단되었다.

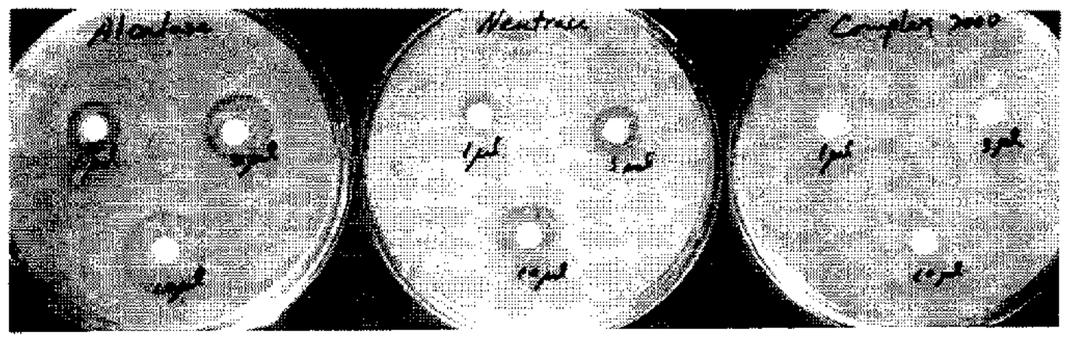

Fig. 1. Comparison of proteolytic activities of 3 industrially applicable proteases on plasma proteins.

따라서 Alcalase를 단백분해효소로 선정하고 Alcalase의 농도를 0.01, 0.05, 0.1, 0.5%(v/v) 등으로 높이면서 처리하여 얻어진 반응액으로 각각에 대한 modified MRS 배지를 제조하여 *S. thermophilus*와 *L. plantarum*의 생육도를 비교 관찰하였을 때, *S. thermophilus*와 *L. plantarum* 모두 단백질 가수분해가 많이 일어난 경우에서 생육속도가 빨랐으며, 한편 *L. plantarum*은 lag time이 길게 나타나고 *S. thermophilus*에 비하여 생육정도도 낮아서 상대적으로 혈장 단백질을 이용하는 능력이 떨어짐을 알 수 있었다(Fig. 2). 생육정도와 생육속도를 비교할 때 Alcalase의 처리농도가 높아짐에 따라 점차 증가하다가 0.1% 이상이면 유사한 결과를 나타내었으므로 혈장 단백질의 가수분해 최적조건을 Alcalase 0.1% 처리로 정하고 이후부터는 조건을 고정 실험하였다. 또한 위의 결과로부터 혈장 단백질을 이용한 유산균 배양에 가장 적합한 균주로서 *S. thermophilus*를 선정하고 이 균주에 대하여 배지 최적화 및 배양조건 실험을 계속 진행하였다.

혈장 단백질의 첨가농도의 영향

Modified MRS 배지에 첨가하는 혈장 단백질의 농도에 따른 생육 상태를 비교하기 위하여, MRS 배지의 비질소원 성분들을 용해시킨 용액과 혈장액을 1:1로 혼합하여 제조된 배지를 기준으로(1 plasma), 혈장 단백질 혼합비율을 1/2, 1/10로 낮춘 배지(0.5 plasma, 0.1 plasma)와 혈장에 직접 비질소원 성분들을 용해시켜 제조한 배지(2 plasma)에 대하여 *S. thermophilus*의 생육정도를 비교하였다. 혈장 단백질의 농도를 낮춘 배지(0.5 plasma, 0.1 plasma)의 경우는 효소반응을 거친 혈장액을 증류수로 각각 2배, 10배 희석한 후 첨가하여 제조하였다.

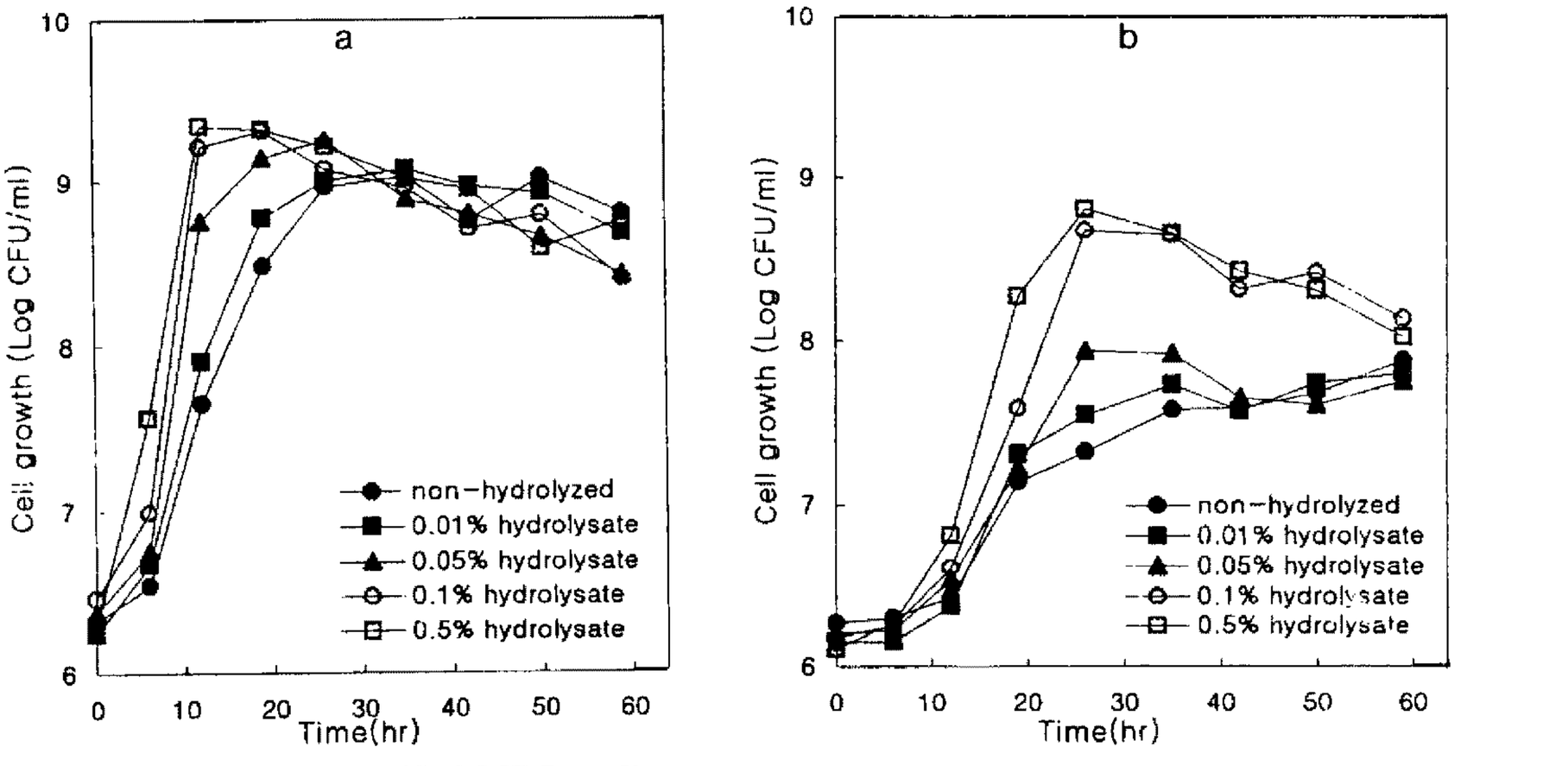

Fig. 2. Comparison of cell growth in modified MRS medium.
(a) *S. thermophilus* KCCM12020, 0.5% inoculation, (b) *L. plantarum* KCCM11322, 0.5% inocuation.

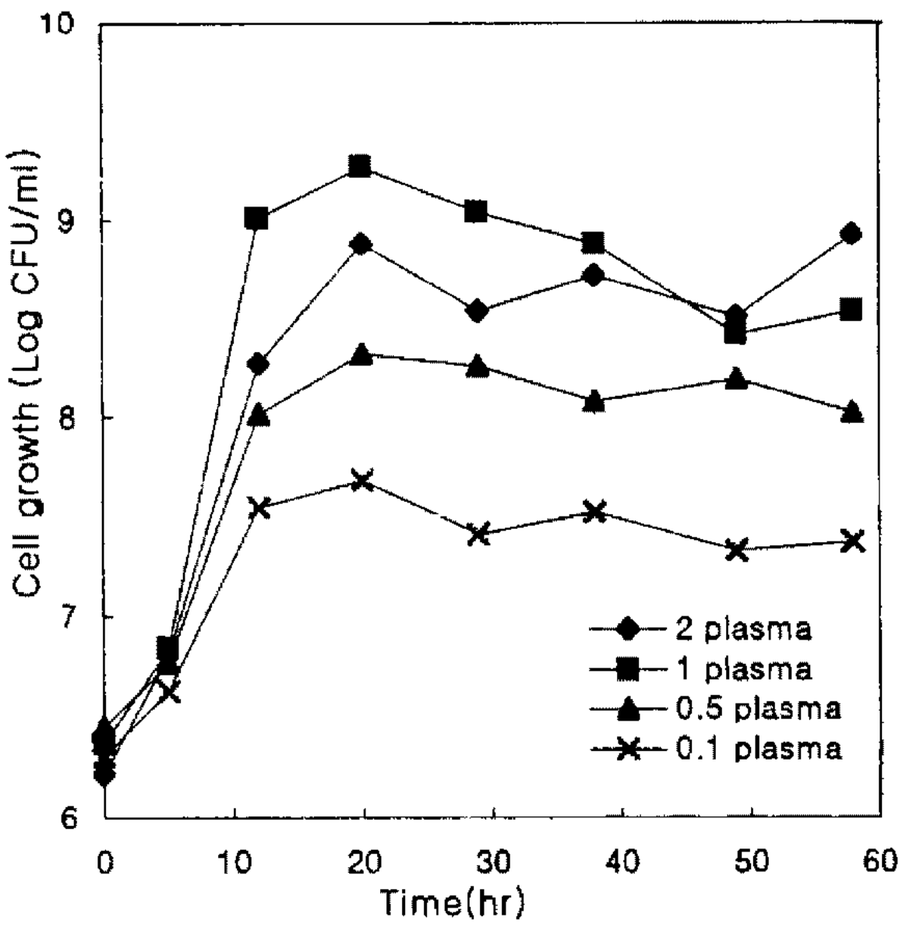

Fig. 3. Effects of the concentration of plasma protein in modified MRS medium on cell growth.
(*S. thermophilus* KCCM12020 0.5% inoculation, 0.1% Alcalase-hydrolysate used).

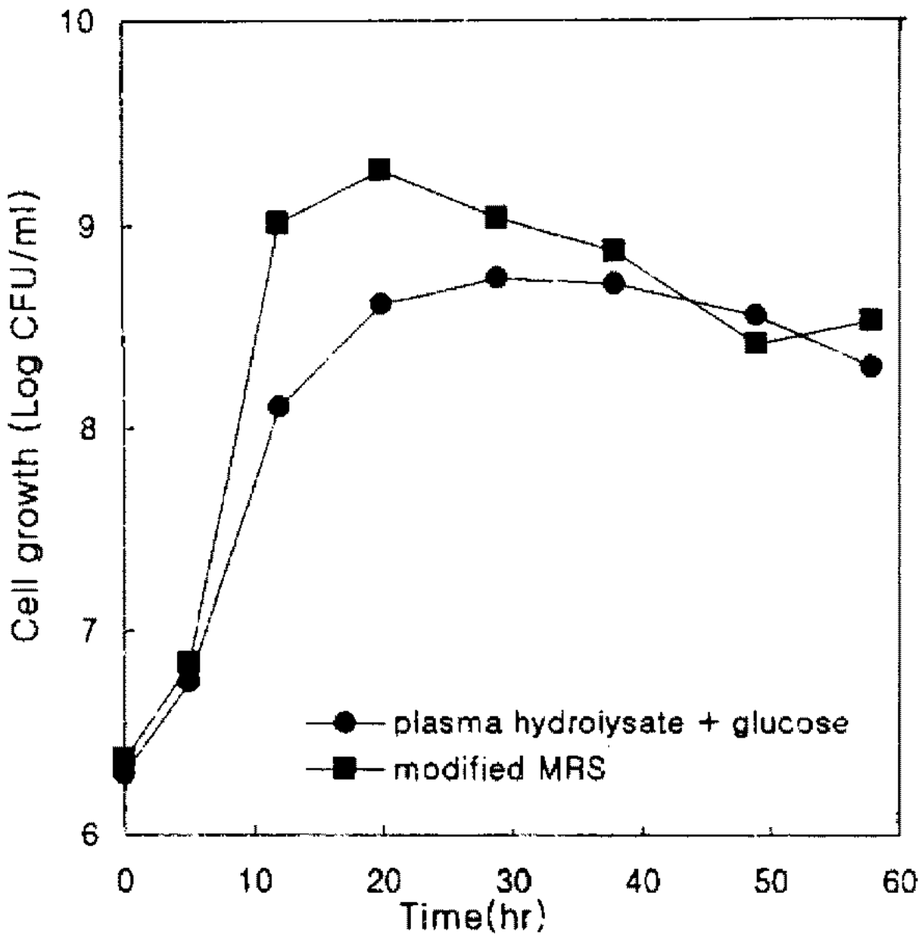

Fig. 4. Effect of non-nitrogen components in modified MRS medium on cell growth.
(*S. thermophilus* KCCM12020 0.5% inoculation, 0.1% Alcalase-hydrolysate used).

배양 결과 0.1 plasma에서 1 plasma 까지 혈장 단백질의 첨가농도가 증가함에 따라 *S. thermophilus*의 생육도도 증가하였으나 2 plasma의 경우에는 단백질의 농도가 높음으로 인하여 배지의 멸균에 의해 응고된 단백질의 응집현상이 특히 심하였기 때문에 오히려 생육이 저하되는 결과를 보여주었다(Fig. 3). 따라서 혈장 단백질의 첨가조건은 1 plasma, 즉 혈장 원액이 비질소원 용액과의 동량 혼합에 의해 2배 희석된 농도로 확정하였다.

비질소원 성분들의 영향

Modified MRS 배지에 있어서 비질소원 성분들의 유산균 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 modified MRS 배지 제조시 MRS 배지의 비질소원 성분들 중 glucose 이외의 모든 성분들을 첨가하지 아니하고 2% glucose 용액에 단백분해시킨 혈장액을 혼합하여 배지를 제조하고 *S. thermophilus*를 배양한 결과, 생육도가 상당히 저하됨을 보여줌으로써(Fig. 4) 비질소원 성분들이생육에 매우 중요한 영양원으로 이용되고 있어 산업적 배양을 위해서도 첨가하지 않으면 안될 것으로 판단되었다.

접종량의 영향

유산균의 접종량이 배양시간과 생육도에 미치는 영향

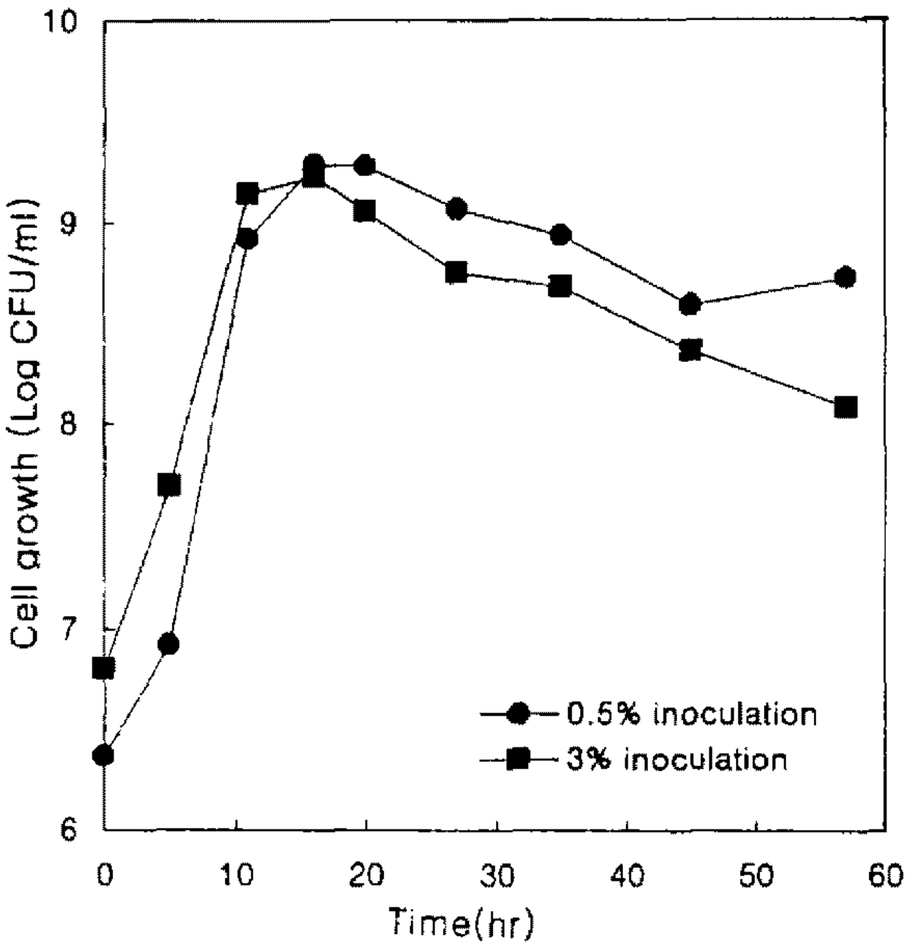

Fig. 5. Effects of the concentration of inoculum on cell growth.
(*S. thermophilus* KCCM12020, 0.1% Alcalase-hydrolysate used).

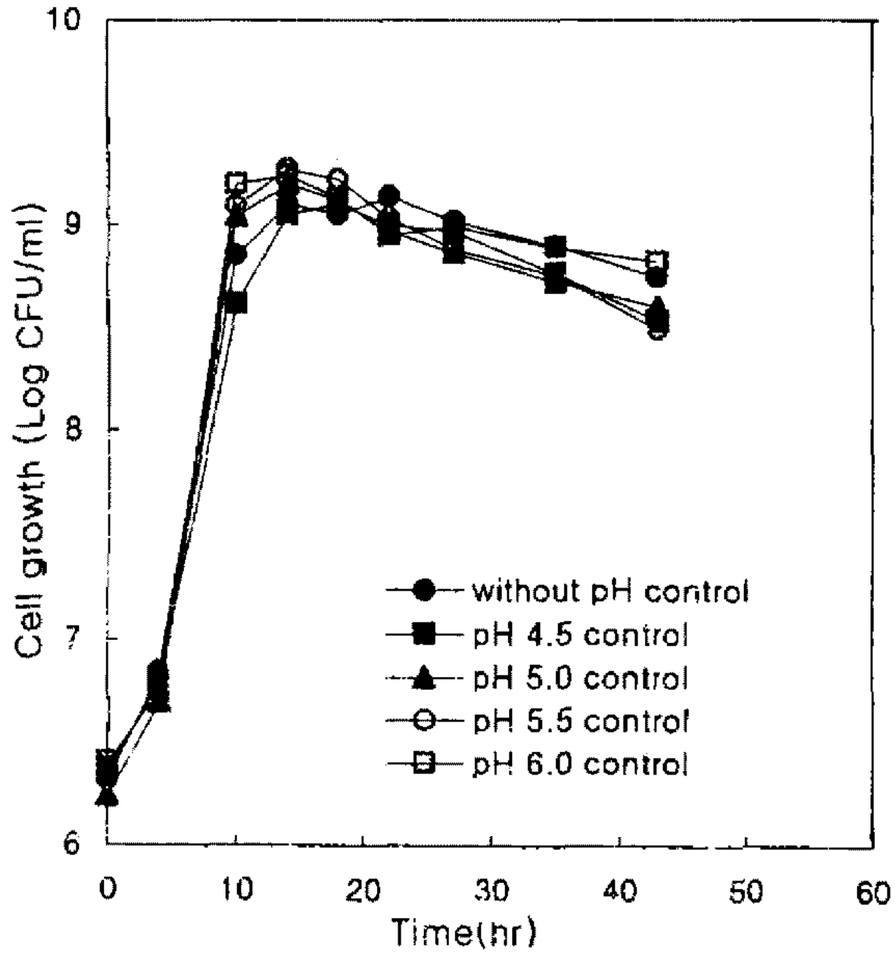

Fig. 6. Effects of pH control on cell growth.
(*S. thermophilus* 0.5% inoculation, 0.1% Alcalase-hydrolysate used).

을 조사하기 위하여 보통 수준(0.5%)과 높은 수준(3%)으로 종배양액을 접종한 후 배양하였다. 접종방법은 MRS 배지에 배양한 종배양액 일정량을 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 침전된 균체는 상등액과 동일 부피의 멸균한 0.85% saline용액을 넣어 현탁시킨 균현탁액으로 접종하였다.

배양 결과, 접종량에 따른 생육정도의 큰 차이는 나타나지 않았으며(Fig. 5), 오히려 (최대생육 생균수-초기 생균수)/(최대 생육도까지의 배양시간)으로 계산한 productivity는 0.5% 접종시 1.22×10^8 cells/m*l* · hr이고 3% 접종시에는 1.06×10^8 cells/m*l* · hr로서 접종량을 높였을 때가 더 낮음을 알 수 있었다.

발효조 배양(교반배양 및 pH 조절의 영향)

유산균 배양시 교반의 영향과 pH 조절의 영향을 조사하기 위하여 5 L 발효조(한국발효기)를 이용하여 37℃에서 통기 없이 20 rpm으로 교반하면서 배양하였다. pH 6.4에서 배양을 시작하여 pH가 각각 6.0, 5.5, 5.0, 4.5에 이르면 해당 pH를 유지하도록 4N NaOH 용액으로 조절하면서 생육상태를 관찰하였고 대조구로는 pH 조절없이 교반하면서 배양한 결과를 비교하였다(Fig. 6). 6.0, 5.5 등 비교적 높은 pH에서 조절해 줄 경우 최대생육 생균수가 약간 높게 나왔으나 전체적으로 pH 조절에 의해서는 생육도가 큰 차이를 보이지 않음을 알 수 있었다.

Rich medium(MRS 배지)과의 생육도 비교

지금까지의 연구결과에서 얻어진 배지 및 배양방법의 최적조건을 이용하여 최종적으로 MRS 배지와의 생육도 비교를 통해 혈장 단백질을 이용한 유산균 배양 가능성을 알아보기 위하여, 0.1%(v/v)의 Alcalase를 처리하여 단백질을 분해시킨 혈장액을 1 plasma의 농도로 첨가하여 제조한 modified MRS 배지와 대조구인 MRS 배지에서 *S. thermophilus* KCCM12020 균주의 종배양액을 0.5%(v/v)의 농도로 접종하여 배양한 결과를 비교하였다. 배양 결과 modified MRS 배지에서의 최대생육 생균수는 2.5×10^9 cells/m*l*로서 3.6×10^9 cells/m*l*가 자란 MRS 배지에 대하여 70% 수준의 생육도를 보임과 동시에 1×10^9 cells/m*l*이상의 높은 생균수를 나타냄으로써 혈장 단백질 이용에 대한 큰 가능성을 보여 주었다(Fig. 7). MRS

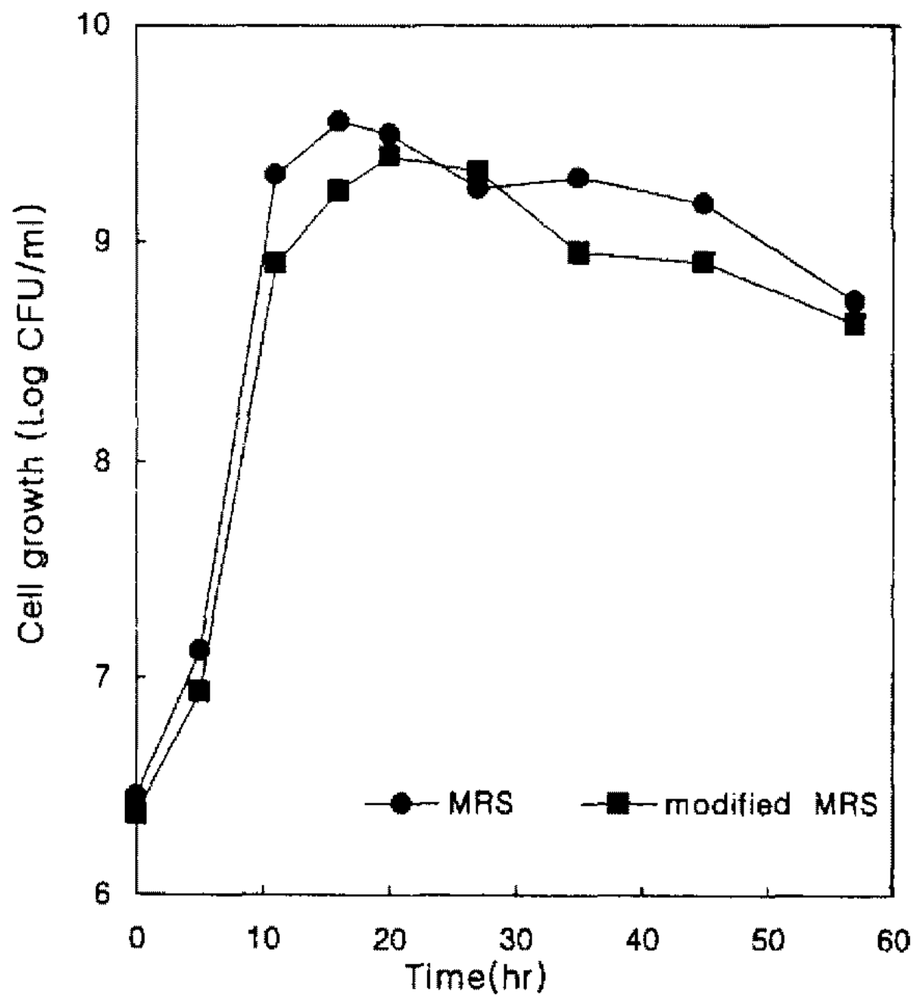

Fig. 7. Comparison of the cell growth of *S. thermophilus* KCCM12020 in MRS and modified MRS medium.

배지를 사용하면 공업용 peptone(90,000원/Kg), 공업용 yeast extract(17,000원/Kg), beef extract 등을 사용하여야 하므로 비교할 수 없을 정도의 배지 비용이 소요됨을 감안할 때, 혈장 단백질을 성분 배지에 의한 유산균체의 생산은 경제성 측면에서 상당한 경쟁력을 가질 수 있을 것으로 판단되었다.

이상과 같이 본 연구에서는 도축 폐기물인 가축혈액을 이용하여 유용물질을 생산하기 위한 한 방법으로서 혈분과 유산균 제제가 조화된 새로운 사료첨가제를 개발하고자 하였다. 유산균 발효에 의해 혈분의 질을 높이고 혈액 중의 각종 성분에 의해 유산균 제제를 안정화하는 상호보완효과를 살리기 위해, 혈장 단백질을 유산균 배양 배지의 질소원으로 이용함으로써 혈분성분이 함유된 유산균 생균제제를 생산하기 위한 균주선발, 배지조성, 배양조건 등을 조사하였다. 실험 결과 얻어진 최적 조건에 따라 배양한 결과, 고가의 질소원을 폐기되는 혈장 단백질로 대체할 수 있는 가능성이 높음을 알게 되었으며 따라서 이러한 배양결과와 본 연구에서 계속 진행 중인 생균제제화 관련 연구결과를 토대로 경제성 평가를 실시하여 시판중인 생균제제와의 경쟁력을 검토 확증하는 과정을 남겨두고 있다 하겠다.

요 약

본 연구에서는 도축 폐기물인 가축혈액의 이용을 위해 혈분 성분이 함유된 유산균 probiotics의 생산을 목적으로 하여, 유산균 배양에 있어서 MRS 배지의 질소원인 peptone, beef extract, yeast extract 등을 혈장 단백질로 대체하고자 하였다. 혈장 단백질은 유산균에 의한 이용이 용이하도록 우선 단백분해효소에 의해 분해시켰는데 산업적으로 이용가능한 세가지 효소를 비교한 결과 Alcalase(Novo Nordisk 제품)가 가장 분해력이 강하였다. 효소분해된 혈장 용액과 MRS 배지의 비질소원 성분을 첨가하여 제조한 modified MRS 배지를 이용하여 4종의 유산균 균주를 배양한 결과 *Streptococcus thermophilus* KCCM12020 균주가 생육도 및 혈장 단백질 이용도에 있어서 가장 좋았다. 단백질을 분해하지 않은 혈장을 첨가하면 분해한 경우보다 생육도 및 생육속도가 저하되었으며 단백분해 혈장의 첨가농도는 혈장 원액이 비질소원 용액과의 동량 혼합에 의해 2배 희석된 농도가 적합하였다. 접종량, 교반, pH조절의 영향 등 기타 배양조건를 조사한 후, 얻어진 최적조건에 의해 혈장 단백질을 질소원으로 이용하여 배양한 결과, 생균수는 2.5×10^9 CFU/m*l*로서 높은 수준이었으며 MRS 배지와 비교할 때 70% 수준이어서 경제성이 충분함을 확인하였다.

감사의 말

본 연구는 농림수산 첨단기술개발사업에 의해 수행되었습니다. 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Ockerman, H. W. and C. L. Hansen. 1988. Blood utilization, p. 233-255, *In Animal By-Product Processing*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
2. 박형기 외 15인. 1994. 식육이용의 역사와 현황, Pp 24-25, 식육의 과학과 이용, 선진출판사.
3. Maeda, K. 1974. Method for animal blood treatment. *Japanese patent* 50-154928.
4. Tybor, P. T., C. W. Dill and W. A. Landmann. 1975. Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *J. Food Sci.* **40**: 155-159.
5. Knapp, F. W., R. H. Schmidt, W. J. Mauldin and E. M. Ahmed. 1978. Evaluating cheese-like emulsions from animal blood proteins and whey solids. *J. Food Protect.* **41**(4): 257-258.
6. Drepper, G. and K. Drepper. 1979. A method of manufacturing new protein products from animal blood for food and feed use. *Fleischwirtschaft,* **59**(9): 1252-1258.
7. Hald-Christensen, V., J. Adler-Nissen, H. S. Olsen. 1979. Material based on blood suitable for supplementing food products. *Germany patent* 2, 904, 239.
8. Hald-Christensen, V., J. Adler-Nissen, H. S. Olsen. 1979. Method for preparing a food material from blood. *U. S. patent* 4, 262, 022.
9. Ledward D. A. and R. A. Lawrie. 1984. Recovery and utilization of by-product proteins of the meat industry. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **34B**: 223-228.
10. Univ. Iowa-Res. Found. 1986. Alpha-alpha crosslinked hemoglobin production. *U. S. patent* 4, 600, 531.
11. Toyo-Soda. 1988. Hemoglobin-derived polypeptide. *Japanese patent* 3267298.
12. Dive, D., J. M. Piot, F. Sannier, D. Guillochon, P. Charet and S. Lutrat. 1989. Use of hemoglobin enzymic hydrolysates, prepared on a pilot-plant scale, as a nitrogen source for the cultivation of three species of Tetrahymena, *Enzyme Microb. Technol.* **11**(3): 165-169.
13. 食品と開發 編輯部. 1991. ヘム鐵. 食品と開發. **26**(4): 35-36.
14. 食品と開發 編輯部. 1995. 蛋白・ペプチドの市場動向. 食品と開發. **30**(8): 31-35.
15. Park, E. H. and K. B. Song. 1996. Anti-hypertensive peptides isolated from beef and pig bloods released in the slaughter house, p 146, *In Food Science and Industry*, Vol 23(2), Korean Society of Food Science and Technology.
16. 전기홍, 박우문, 지중룡, 이희애, 유익종. 1996. Blood Albumin의 효율적 분리기술 개발, p 27, 한국축산식품학회 제17차 학술발표회 초록집.
17. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 365-378.
18. Technical insights, Inc. 1994. Enzymes and microbes in feeds. *In Biomarkets*, p 141-146, Technical insights, Inc.

(Received 31 December 1996)