

감마선 조사가 쇠고기의 연도개선에 미치는 효과

육홍선 · 이주운 · 이경행 · 김덕진* · 신현길** · 변명우***

한국원자력연구소 방사선식품공학기술개발팀,

*대구대학교 식품공학과

**한동대학교 생물식품공학부

Effect of Gamma Irradiation on the Improvement of Beef Tenderness

Hong-Sun Yook, Ju-Woon Lee, Kyong-Haeng Lee, Duk-Jin Kim*,
Heuyn-Kil Shin** and Myung-Woo Byun***

Team for Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute

*Department of Food Engineering, Taegu University

**School of Biology and Food Engineering, Handong University

Abstract

To study the shortening of rigor mortis and changes in the morphological properties of gamma-irradiated pre-rigor bovine muscle (M). *Sternomandibularis* during post mortem, this experiment was performed with a test of shear force and the observation of the ultrastructure of raw muscle. The time elapsed until maximum shear force values was shortened by gamma irradiation, depending upon the dose. The release of rigor mortis started earlier than control (non-irradiated muscle). A shortening of the length of the Z-line and the maintenance of the sarcomere length by gamma irradiation was observed. The breakdown of the perimysium of muscle bundles was observed more in irradiated samples than in the control. In conclusion, it is considered that gamma irradiation on pre-rigor beef shortens aging-period, improves tenderness and enhances the beef quality.

Key words: beef, tenderness, microstructure, gamma irradiation

서 론

식육의 연도는 근질의 길이, 근세포에 존재하는 단백분해효소의 활성정도, 근육 내부의 생화학적 조건 및 근내부 결합조직 단백질들의 붕괴 정도와 관련되어 있다⁽¹⁻³⁾. 도축 후 근육은 경직 상태로 들어가는데 사후 경직은 근육내에 존재하는 에너지원인 glycogen과 그로부터 유래되는 ATP가 고갈됨으로서 완료된다. 일반적으로 쇠고기의 사후경직은 24~36시간 정도가 소요되는 것으로 보고되어 있다⁽⁴⁾. 경직이 완료된 근육은 매우 단단하며 Z-line 사이(근질, sarcomere)의 간격이 최대로 짧게 유지되고 식용 가치가 매우 낮은 편, 이는 근섬유들이 매우 단단하게 결합되어 있어 높은 전단력이 요구되기 때문이다. 또한, 근육내에 존재하는 단백분해효소들의 활동이 미약하고 혼란관련 물질의

분해 산물인 inosine이나 xanthine 등의 생성량이 매우 낮다. 따라서, 식육의 연도와 풍미를 개선시키기 위해서 전기자극, 온도체 가공, 고압처리, 기계적 연화법 등이 인용되어 왔다⁽⁵⁻⁸⁾. 이러한 방법들은 연도와 관련이 있는 결합조직 단백질인 collagen형 단백질의 붕괴를 초래하거나 사후 근육의 해당작용을 가속화시킨다고 보고된 바 있다^(9,10). 한편, 방사선 조사가 근육과 피부조직 collagen을 약화시킨다는 연구보고와⁽¹¹⁻¹³⁾, 근육 내 효소활성을 증진시켜 해당작용을 가속화한다는 보고도 있다⁽¹⁴⁾.

전편⁽¹⁵⁾에서 보고한 바와 같이 감마선 조사는 강직 전 쇠고기의 해당작용에 관여하여 생화학적 반응 속도를 가속화시키고, 근수축 에너지인 ATP의 분해를 촉진시키는 것으로 나타났다. 일반적으로, 식육의 연도와 근조직과의 관계를 규명하기 위하여 현미경을 이용한 식육 미세구조의 관찰을 통하여 사후 근섬유와 근질의 변화가 연도에 미치는 영향 등이 조사되어 왔다^(1,8,10). 본 연구는 도축직후 쇠고기에 감마선을 조사

Corresponding author: Myung-Woo Byun, Team for Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Yusong, Taejon P. O. Box 105, 305-600, Korea

하였을 때 연도 변화와 근육의 미세구조에 미치는 효과에 대한 형태학적 특성을 조사하여 감마선 조사와 연도와의 관계를 규명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

근육의 준비 및 감마선 조사

지역 도축장에서 21개월령의 한우($n=10$)를 도축하였다. 박피 직후 쇠고기의 목살(*M. Sternomadibulais*)을 도체에서 제거하여 얼음으로 채운 다음 실험실로 옮겼다. 4°C로 고정된 냉장실에서 근육을 성형한 후 감마선 조사 시료로 사용하였다. 감마선 조사는 Co-60을 선원으로 하여 선량율을 시간당 5 kGy로서 시료가 0, 3, 5 kGy의 흡수선량을 받도록 조사하였다. 시료의 흡수선량은 ceric/cerous dosimeter를 사용하여 확인하였으며, 흡수선량의 오차는 ± 0.2 kGy이었다. 이때 조사실의 온도는 10°C이었다.

연도 측정

Smulders 등⁽¹⁾의 방법을 이용하여 근육을 직경 1 cm의 천공기로 횡축줄 방향으로 천공한 후 Warner Bratzler blade, blade holder, slotted blade insert로 구성된 blade set를 장착하고 Pretest speed가 2.0 mm/sec, Test speed 가 5.0 mm/sec, post speed가 5.0 mm/sec, 이동거리가 30.0 mm, 시간이 10초, 단위는 g force로 프로그램된 Texture analyser(TA-XT2i, Stable Micro Systems, England)를 사용하여 사후 경직이 일어나는 동안 수축되는 시료의 연도의 변화를 측정하였다. 감마선 조사시료는 도축 후 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48시간에 채취하여 전단력의 변화를 측정하였다.

Transmission electron microscopy

감마선 조사 직후 근육의 미세구조의 변화는 transmission electron microscopy(TEM)를 이용하여 조사하였고, 시료의 준비는 Ngapo 등⁽¹⁶⁾의 방법을 사용하였다. 즉, 근육 조각을 1차 고정용액인 glutaraldehyde(3%, v/v), formaldehyde(2%, v/v)를 함유한 0.1 M phosphate 완충액(pH 7.2)을 사용하여 2시간 동안 실온에서 고정시켰다. 고정된 근육 조각은 실온에서 1차 고정용액을 사용하여 3차례 수세하였다. 2차 고정액인 osmium tetroxide(1%, v/v)를 함유한 phosphate 완충액(pH 7.2)에 수세된 근육조각을 담그고 1시간 동안 실온에 방치하였다. 탈수는 phosphate 완충액에 acetone을 25, 50, 75, 95, 100%로 농도가 다르게 혼합하여 탈수용액을 조제한 후 그 용액을 사용하였다. 근육조각속에 resin(Po-

larbed 812 epoxy resin)을 투입하기 위하여 acetone : resin(50 : 50) 혼합물을 사용하여 실온에서 하룻밤 동안 교반시켰다. 근육조각을 다시 100% resin에 넣고 7시간 동안 실온에서 교반시켰다. 교반 후 근육조각을 silicone rubber mould에 넣고 48시간 동안 60°C에서 침지시켰다.

근육조각을 diamond 칼과 Reichert Ultracut E ultramicrotome을 사용하여 90 nm의 절단된 부분(연한 금색의 간접색)으로 잘랐다. 절단부위를 틀형으로 다듬고 lead citrate법을 이용하여 50% ethanol이 함유된 포화 uranyl acetate를 사용하여 이중염색시켰다. 절단부위를 Jeol 2000FXII(200 kV) Transmission Electron Microscope(Japan)를 사용하여 촬영하였다.

Light microscopy

감마선이 조사된 쇠고기의 perimysium의 변화는 Biscontini 등⁽¹⁷⁾의 방법을 사용하여 조사 직후, 24시간 및 48시간에 측정하였다. 근육시료를 5.0 mm²의 크기로 절단한 후 Boulin 용액에서 고정화시키고 ethanol-용액을 이용하여 탈수시켰다. 탈수된 근육시료를 Parablast에 고정시키고, hematoxylin과 eosin을 사용하여 염색시켰다. 염색된 mount를 Nikon photomicroscope를 이용하여 촬영하였다.

통계적 분석

위 실험에서 얻어진 결과는 SAS program의 limited standard deviation법을 사용하여 통계적 유의성을 분석하였다⁽¹⁸⁾.

결과 및 고찰

사후경직 동안 연도의 변화

Fig. 1은 도축 후 4°C에서 48시간 동안 저장된 감마선 조사된 쇠고기의 연도 변화를 나타낸 것이다. 대조구의 전단력치는 도축 후 약 24~26시간째 최고값(약 31~32 kgf/cm²)을 나타냈다. 그러나 감마선 조사된 쇠고기의 전단력치는 조사선량이 증가함에 따라 최고값에 도달하는 시간이 단축되었다. 생육에서의 최고 전단력치는 사후경직이 완료됨을 나타내는 것으로서^(5,19) 본 시험에서 나타난 결과는 감마선 조사에 의해 사후경직에 도달하는 시간이 단축되는 것으로 나타났다.

Transmission electron microscopy

근육의 형태학적 특성에 대한 연구는 식육 조직의 속성 중 변화를 관찰하기 위하여 전자현미경 등을 이

용하여 시도되어 왔다. 식육의 연도 변화에 대한 과학적인 실험방법으로서 초미세구조의 관찰은 가공처리에 의한 식육의 초미세구조의 붕괴를 정확히 파악할 수 있다^(8,19). Fig. 2는 도축직후 감마선이 조사된 쇠고기의 TEM 사진이다. 감마선 비조사구의 형태는 전형적인 사후 경직전의 근육의 모습을 나타내고 있다. 명확한 Z-line과 M-line을 보여주고 있으며, mitochondria의 모습도 나타나고 있다. 감마선 조사에 의한 근육의 형태학적 변화는 Z-line의 길이가 단축되고, 경직과정에서 전형적으로 나타나는 Z-line 사이의 길이에서 큰 변화를 보이지 않고 있다. 일반적으로 경직이 진행되는 동안 근절의 길이는 줄어들어 1.1~1.3 μm 정도로 단축된다. 대조구에서 근절 길이가 점차 단축되는 것이 확인되었는데, 근절의 평균 길이는 1.25~1.42 μm이었고, Z-line 길이는 0.8~1.12 μm이었다. 그러나, 도축 직후 감마선이 조사된 쇠고기에서 나타난 결과는 일반적으로 진행되는 사후경직 근육에서 나타나는 수축형태와는 다른 결과로서 근절 길이와 Z-line 길이를 보면 3 kGy 조사구에서는 각각 1.65~1.80 μm, 0.55~0.87 μm, 5 kGy 조사구에서는 각각 1.65~1.75 μm, 0.50~0.92 μm로서 대조구에 비하여 근절 길이는 사후경직전 상태와 큰 변화가 없는 반면 Z-line 길이가 감소되는 결과를 보이고 있다(Table 1). 감

마선 비조사구의 근절 길이는 저장기간이 경과되면서 단축되어 저장 24시간부터는 더 이상의 단축이 진행되지 않는 것으로 나타났다. 그러나, 감마선 조사구의 경우 근절길이의 단축이 일어나지 않는 것으로 나타났다. Z-line 길이는 저장 기간 동안 큰 변화를 나타내지 않았다. 현재까지 보고된 어떠한 문헌에서도 이와 같은 결과는 발표되지 않고 있다. Yang과 Perng⁽²¹⁾는 감마선이 조사된 근육내부의 Ca⁺⁺의 이동에 대한 연구에서 5 kGy로 조사된 새우근육의 Ca⁺⁺의 농도가 근섬유내부에서 증가되지 않는 것을 보고하였다. 근소포체에 존재하는 Ca⁺⁺은 근수축·이완 기전에 관여하여 수축될 근육의 tropomyosin에 결합하여 tropomyosin T와 I의 구조를 변환시켜 myosin이 actin에 결합할 수 있게 작용한다. Ca⁺⁺이 근소포체에서 방출되지 않으면 ATP의 존재하에서도 근육은 수축되지 않는다⁽⁴⁾. 감마선 조사에 의해 근소포체에 존재하는 Ca⁺⁺이 근섬유 내부로 전달되지 않으므로 근섬유의 단축이 발생되지 않는 것이다⁽²²⁾. 감마선이 조사된 근육에서 근절 길이가 감소되지 않은 것은 이러한 이유 때문으로 사료된다. Z-line의 길이가 감마선 조사에 의해 단축되는 현상은 감마선이 조사된 생쥐의 피부 collagen 섬유상이 비정상적으로 수축되었거나 틀어진 것으로 보고한 Tzaphlidou 등⁽¹²⁾의 연구 결과와 일치한다. Z-line은 elastin, nebulin과 desmin이라는 collagen성 섬유상 단백질들로 구성되어 있고, 이 단백질들은 근육의 근대나 근섬유막을 형성하는 다른 collagen성 단백질들과 같은 섬유상의 형태로 존재하며 actin filament를 연결해 주는 역할을 한다. 감마선 조사에 의해 Z-line을 구성하는 이 단백질들이 비정상적으로 단축되거나 단축과정 중에 끊어지기 때문에 Z-line 길이가 단축되

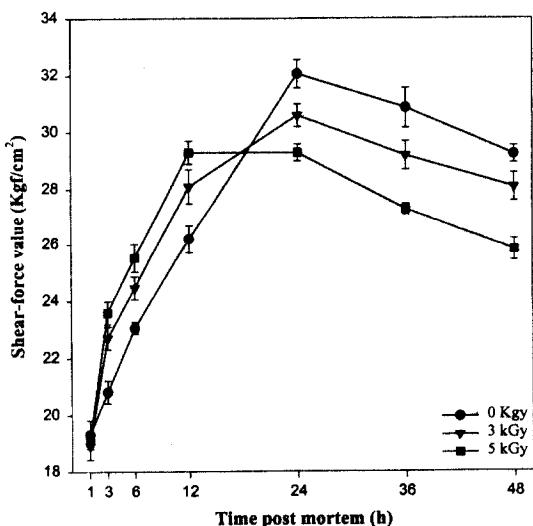


Fig. 1. The changes of shear-force values of gamma-irradiated bovine muscle during post mortem storage at 4°C. Irradiation doses were 0, 3, and 5 kGy. 1 h elapsed from slaughter until irradiation. Muscles were irradiated for 2 h. Shear-force mean values within the same storage condition with different italic letters were significantly different ($p<0.05$).

Table 1. Sarcomere lengths and lengths of Z-line of irradiated bovine M. Sternomastibularis¹

Length (μm)	Storage period ² (h)	Irradiation dose (kGy)		
		0	3	5
Sarcomere	2	1.34±0.093	1.73±0.08	1.72±0.05
	24	1.15±0.17	1.69±0.05	1.73±0.14
	48	1.17±0.13	1.72±0.17	1.75±0.15
Z-line	2	0.96±0.16	0.71±0.13	0.71±0.21
	24	1.01±0.14	0.68±0.24	0.73±0.18
	48	1.03±0.07	0.70±0.18	0.74±0.23

¹Muscles were gamma-irradiated within 5 kGy h⁻¹ of dose rate for 1 h.

²Storage period indicates time lapsed after slaughtering.

³These values were mean values obtained from 5 samples with repeating 5 time and statistically evaluated by SAS program and recognized significant differences in the range of $p<0.05$.

Fig. 2. Transmission electron micrographs for observing the changes of ultrastructures of bovine muscle immediately after gamma irradiation with designated doses, 0 (A), 3 (B) and 5 kGy (C) for 2 h at 10°C. Muscles were irradiated at 1 h post mortem. M, Z, A and I in photographs are M-line, Z-line, A-band and I-band, respectively.

는 것으로 판단된다. 25,000배로 촬영한 감마선 조사 직후 근섬유소의 형태사진에서 감마선 조사에 의해 Z-line 길이가 단축되는 것과 단축으로 인한 근섬유사 이의 공간이 발생되는 것을 확인할 수 있지만, 조사선향에 따라 나타나는 형태는 명확히 구분되지는 않았다. 감마선이 조사된 근육의 A-band와 M-line의 변화는 myosin 다발(thick filament)의 봉괴에서 유래

된 것으로 관찰되었다(Fig. 2). Horowitz 등⁽¹¹⁾과 Lee⁽²³⁾는 감마선이 조사된 근육에서 이온화 에너지에 의해 근질내부에서 단백질 공유 결합의 파괴를 동반한 직·간접적이고 부분적이거나 완전한 구성단백질의 변성이 발생된다고 보고하였다. 특히 Horowitz⁽¹¹⁾와 Bowes and Moss⁽¹³⁾는 결합조직 단백질인 titin과 nebulin 등과 섬유상 구조를 가진 단백질들이 방사선 조사에 의해

Fig. 3. Light micrographs ($\times 400$) for observing muscle bundles from gamma-irradiated bovine muscle. Muscles were sampled immediately after irradiating (A), in 24 h (B) and in 48 h post mortem (C) during storage at 4°C. One helapsed between slaughter and irradiation. Arrows indicate the breakdown of the perimysium and the destruction of the muscle bundles.

disulphide bond를 포함한 화학적 결합들이 깨어져 적은 분자의 peptides로 전환된다고 보고하였다.

Light microscopy

4°C 저장조건에서 감마선이 조사된 근육의 근속(muscle bundle)과 perimysium(근속막)의 변화는 광학현미경을 사용하여 관찰하였고, 결과는 Fig. 3에 나타냈다. 감마선 비조사구의 근속과 근속막의 변화는 사후근육에서 나타나는 전형적인 근속의 붕괴를 나타내고 있다. 그러나, 3과 5 kGy 조사구의 경우, 조사 직후 perimysium의 변화가 관찰되었는데, 저장 1일에 3 kGy 조사구의 perimysium이 찢겨지고, 2일에 끊어짐과 찢겨짐 현상이 모두 나타났다. 5 kGy 조사구에서 조사직후 perimysium이 근속으로부터 분리되고 저장 1일에 풀어지는 정도가 더 커지면서 내부 조직들이 밖으로 유출되는 현상과 저장 2일째 근속이 끊어지는 것이 관찰되었다. 또한 근속의 풀어짐과 perimysium의 붕괴가 확연히 나타났다⁽¹¹⁾. 이와 같은 결과로 볼 때 감마선 조사에 의해 근육을 이루는 근섬유다발인 근속과 연도에 관련된 perimysium의 변화를 확인할 수 있었다. Smulders 등⁽¹⁾은 근절길이가 식육의 연도와 관계가 있으며, 근절길이가 길수록 연도가 개선되는 것으로 보고한 바 있다.

결론적으로 전편⁽¹⁵⁾에서 보고한 바와 같이 본 연구에서 감마선 조사가 사후경직전 근육의 해당작용을 가속화하며 식육의 경직완료시점을 단축시킬 것이라는 실험가설을 입증하는 것으로 생각된다. 사후경직과정

에서 보여주는 독특한 형태학적 특성에 대한 결과는 감마선 조사에 의해 나타나는 근육의 사후변화에 대한 작용기전이 전기자극과 같은 다른 물리적 처리⁽¹¹⁾에서 나타나는 변화와는 다르다는 결과를 얻을 수 있었다. 따라서 방사선 조사가 식육 및 육제품의 위생문제 뿐만 아니라 식육의 연도 개선을 위한 방법으로서 사용할 수 있을 것으로 사료된다⁽²⁴⁾.

요약

감마선 조사가 쇠고기의 연도개선에 미치는 효과를 조사하기 위하여 도축 직후 쇠고기에 감마선을 조사시켜 전단력의 변화 및 근육의 미세구조를 관찰하였다. 감마선이 조사된 쇠고기는 최고 전단력치에 도달하는 시간이 감마선 조사선량에 증가함에 따라 단축되었다. 감마선 조사가 근육의 초미세구조에 작용하여 근절의 단축을 지연시켰고, Z-line의 수축을 유도하였다. 또한 감마선이 조사된 쇠고기에서 근속과 perimysium의 파괴는 감마선 비조사구에 비해 더 빨리 진행되는 것이 관찰되었다. 결론적으로 감마선 조사는 쇠고기의 사후 경직에 도달하는 시간을 단축시키고, 연도개선 효과에 유효한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Smulders, F.J.M., Marsh, B.B., Swartz, D.R., Russell, R.L. and Hoenecke, M.E. Beef tenderness and sarcomere length. *Meat Sci.* 28: 349-363 (1990)
2. Mills, E.W., Smith, S.H. and Judge, M.D. Early post-mortem degradation of intramuscular collagen. *Meat Sci.* 26: 115-120 (1989)
3. Liu, A., Nishimura, T. and Takahashi, K. Structural weakening of intramuscular connective tissue during post mortem ageing of chicken *Semitendinosus* muscle. *Meat Sci.* 39: 135-142 (1995)
4. Bechtel, P.J. Fundamental study of meat, pp. 18-24. In: *Muscle as Food*, Academic Press, New York, USA (1986)
5. Hawrysh, Z.H., Shand, P.T., Wolfe, F.H. and Proce, M.A. Studies of extra low voltage electrical stimulation of mature beef carcasses. *Meat Sci.* 21: 121-135 (1987)
6. Schmidt, G.R. and Gilbert, K.V. The effect of muscle excision before the onset of rigor mortis on the palatability of beef. *J. Food Technol.* 5: 331-335 (1970)
7. Macfarlane, J.J., McKenzie, I.J. and Turner, R.H. Pressure treatment of meat. Effects on thermal transitions and shear values. *Meat Sci.* 5: 307-315 (1981)
8. Tyszkiewicz, I. and Jakubiec-Puka, A. Ultrastructure of mechanically tenderised pork muscle. *Meat Sci.* 41: 273-242 (1995)
9. Lepetit, J. Deformation of collagenous, elastin and muscle fibres in raw meat in relation to anisotropy and length ratio. *Meat Sci.* 26: 47-66 (1989)
10. Nishimura, T., Hattori, A. and Takahashi, K. Structural weakening of intramuscular connective tissue during conditioning of beef. *Meat Sci.* 39: 127-133 (1995)
11. Horowitz, R., Kempner, E.S., Bisher, M.E. and Podolsky, R.J. A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. *Nature* 323: 160-164 (1986)
12. Tzaphlidou, M., Kounadi, E., Leontiou, I., Mattheopoulos, D.P. and Giaras, D. Influence of low doses of γ -irradiation on mouse skin collagen fibrils. *Int. J. Radiat. Biol.* 71: 109-115 (1997)
13. Bowes, J.H. and Moss, J.A. The effect of gamma radiation on collagen. *Radiat. Res.* 16: 211-223 (1962)
14. von Sonntag, C. The chemical basis of radiation biology, pp. 138-141. In: *Radiation Biology*. Taylor and Francis, London, UK (1987)
15. Kim, D.J., Lee, J.W., Yook, H.S. and Byun, M.W. Effect of gamma irradiation on glycolysis, ATP-disappearance, and proteins on beef. *Food Sci. Biotechnol.* 8: 19-23 (1999)
16. Ngapo, T.M., Wilkinson, B.H.P. and Chong, R. Ultrastructural changes of myofibrillar protein gelled with 1,5-Gluccono- δ -lactone at chilled temperatures. *Meat Sci.* 42: 15-23 (1996)
17. Biscontini, T.M.B., Shimokomaki, M., Oliveira, S.F. and Zorn, T.M.T. An ultrastructural observation on charquies, salted and intermediate moisture meat products. *Meat Sci.* 43: 351-358 (1996)
18. SAS Institute, Inc. *SAS User's Guide. Statistical Analysis System* Institute, Cary, NC, USA (1988)
19. Koh, K.C., Bidner, T.D., McMillin, K.W. and Hill, G.M. Effects of electrical stimulation and temperature on beef quality and tenderness. *Meat Sci.* 21: 189-201 (1987)
20. Yamaguchi, M., Mugaruma, M., Sako, T., Nakayama, T., Yamamoto, S., Tangkawattana, P., Oba, T., Takehana, K., Muto, M., Nakade, T. and Yamano, S. Is there a protease that preferentially cleavages the M-line in partially dehydrated muscle? *Meat Sci.* 42: 225-233 (1995)
21. Yang, J.S. and Perng, F.S. Effects of gamma irradiation on the distribution of calcium ions in grass shrimp (*Phenaeus monodon* F.) muscle. *Meat Sci.* 39: 1-7 (1995)
22. Perng, F.S. and Yang, J.S. Research Report: Studies on the extention of shelf-life of Shrimp, Report No. 577. Food Industry Research & Development Institute, Taiwan, Republic of China (1989)
23. Lee, J.W. Application of immunoassay for monitoring the structural changes of myosin under physicochemical treatment. Ph.D. thesis. Konkuk Univ., Seoul, Korea (1999)
24. Stanton, C. and Light, N. The effects of conditioning on meat collagen: Part 2-Direct biochemical evidence for proteolytic damage in insoluble perimysium collagen after conditioning. *Meat Sci.* 23: 179-199 (1988)

(1999년 3월 20일 접수)