(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년06월24일
(11) 등록번호 10-0841168
(24) 등록일자 2008년06월18일

(51) Int. Cl.
G01N 33/48 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0005851
(22) 출원일자 2007년01월18일
심사청구일자 2007년01월18일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020020035678 A (2002. 5. 15.)
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내
(72) 발명자
류연철
서울 구로구 구로동 139-148 (7/5)
김병철
경기 성남시 분당구 궁내동 중앙하이츠아파트 106동 302호
최영민
서울 광진구 자양동 632-29 12/8
(74) 대리인
손민

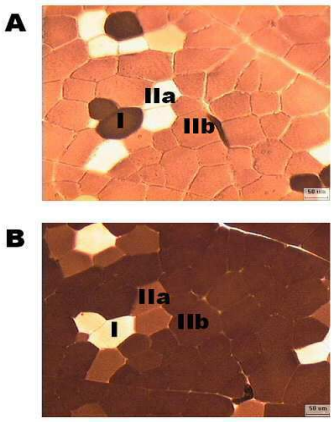
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 안규정

(54) 근세포 조직학적 특성을 이용한 육질 및 육량의 예측방법

(57) 요 약

본 발명은 근세포 조직학적 특성을 이용한 육질 및/또는 육량의 예측 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 (a) 가축의 생체 또는 도체로부터 근섬유를 채취하는 단계 및 (b) 이로부터 근섬유의 조직학적 특성 및 근섬유 유형을 확인하는 단계를 포함하는 육질 및/또는 육량의 예측방법에 관한 것이다. 본 발명에 의할 경우, 가축의 생체 또는 도체로부터 육질 및/또는 육량을 예측하여 고급육 생산을 위한 이상육(異狀肉) 발생을 억제할 수 있을 뿐 아니라 소비자 기호도에 부합하는 육질을 제공하여 농가 수입을 증대시킬 수 있을 것이다.

대표도 - 도1



(56) 선행기술조사문헌
KR1020060011287 A (2006. 2. 3.)
KR1020060055260 A (2006. 5. 23.)
KR1019990070819 A (1999. 9. 15.)
KR1020060090133 A (2006. 8. 10.)
http://www.apgs.co.kr/03_info/02_29.asp 축산물 등급판정소 웹사이트

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 돼지의 생체 또는 도체로부터 근섬유를 채취하는 단계; 및 (b) 상기 근섬유로부터 근섬유의 조직학적 특성인 근섬유의 수 및 단면적을 측정하고, 타입(Type) I 근섬유, 타입(Type) IIa 근섬유 및 타입(Type) IIb 근섬유로 이루어진 군으로부터 상기 근섬유의 유형을 확인하는 단계를 포함하는 돼지의 육질 및 육량 예측방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서, (c) 정상육과 비교하여 높은 근섬유 타입(Type) IIb의 비율 및 낮은 근섬유 타입(Type) I의 비율을 나타낼 때 이상육으로 판단하는 것을 더 포함하는 돼지의 육질 및 육량 예측 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, (c) 정상육과 비교하여 근섬유 수가 많을 경우 근섬유 크기가 작아도 근육량이 우수하다고 판단하거나 또는 근섬유 수가 적을 경우 근섬유 크기가 크면 근육량이 우수하다고 판단하는 것을 더 포함하는 돼지의 육질 및 육량 예측 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, (c) 총 근섬유 수 증가에 의한 육량 증가 및 근섬유 타입(Type) I 비율의 증가는 육질저하를 초래하지 않는 육량 증가로 판단하는 것을 더 포함하는 돼지의 육질 및 육량 예측 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<2> 본 발명은 근세포 조직학적 특성을 이용한 육질 및/또는 육량의 예측 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 가축의 생체 또는 도체로부터 근섬유를 채취하고 이로부터 근섬유의 조직학적 특성 및 근섬유 유형을 확인하여 육질 및/또는 육량을 예측하는 방법에 관한 것이다.

<3> 우리나라의 육류 소비량은 그동안 꾸준한 증가를 보여 왔으며, 그 중 국민 1인당 연간 쇠고기 소비량은 1990년도 4.1kg에서 2002년 8.5kg, 2004년 6.8kg이었고, 돼지고기 소비량은 1990년도 14.8kg에서 2002년 17.0kg, 2004년 17.9kg이었으며, 최근 소비량의 증가가 둔화하고 있으나, 고품질의 육류에 대한 소비자의 기호도는 꾸준히 증가하고 있는 실정이다(농림부, 농림업주요통계, 2005).

<4> 일반적으로 육질은 품종, 연령, 성별, 사양조건 및 도축 전·후의 처리방법, 저장조건 등에 의해 영향을 받게 되며 소비자의 기호도와 직접적으로 관련된 매우 중요한 요인이다. 하지만 오랜 기간 돼지 및 한우의 육종은 사료효율과 성장률을 증가시키는 방향으로 이루어져 왔으며, 육질을 고려하지 않고 등지방을 비롯한 지방량을 줄이고 적육(살코기) 비율을 높인 살코기형 돈육(豚肉, pork) 및 우육(牛肉, beef)생산 방향으로 진행되어왔다. 이러한 결과로, 돼지는 스트레스에 민감한 돼지 스트레스 증후군(porcine stress syndrome, PSS) 발생률이 증가되었다. 또한, 도축전·후 처리에 대한 인식 부족으로 육색과 보수력 등의 저하를 나타내는 PSE(pale, soft,

exudative)와 같은 이상돈육의 발생이 증가하고 있는 실정이다.

<5> 이상육은 DFD(Dark, Firm, Dry: 이상우육(異狀牛肉), 이상돈육(異狀豚肉)), PSE(Pale, Soft, Exudative: 이상돈육, 특히 "물돼지고기"라고도 한다)의 형태로 나타나는데, DFD육은 쇠고기나 돼지고기, PSE육은 돼지고기에서 주로 발견된다.

<6> DFD육의 특징은 색이 지나치게 검고(dark), 고기가 단단(firm)하며, 건조(dry)하다는 것이며, 돼지보다 소, 특히 수컷에서 자주 발생한다. 도축 직후의 근육(고기)은 일반적으로 약 1%의 글리코겐을 함유하고 있으며 시간이 경과함에 따라 분해되어 유산이 생성되는데, 가축이 스트레스 등으로 인하여 글리코겐이 감소된 상태에서 도축될 경우 사후 pH는 높지만 근육 중의 낮은 글리코겐 함량으로 인하여 해당작용이 정지되고, 그 결과 육색소(myoglobin)는 산소결합력이 낮아져 암적색 색깔을 지니게 된다. 최종 pH는 6.0~6.5 이상(정상육 5.6 내외)이 되며, 보수력이 높아진 결과 고기 표면이 건조해 질뿐만 아니라, 세균번식의 최적 pH에 가까워져 오염 가능성이 높아진다.

<7> PSE육은 육색이 밝은 색(pale)을 띄고 조직이 흐늘거리며(soft), 육즙(drip) 손실이 많은 것이(exudative) 특징이다. 일반적인 원인은 유전, 사양방법, 환경, 도축 전·후의 취급 등이다. 이에 반해, 정상육(Red, Firm and Non-exudative, RFN)은 숙성 후 선홍색(담홍색)의 육색을 띄며, 조직은 연하면서도 손가락으로 고기의 외관을 만졌을 경우 수분이 감지될 정도로 육즙이 적어 육즙분리가 거의 없는 것이 특징이다.

<8> 이러한 이상육(異狀肉), 특히 PSE의 경우 소비자의 선호도에서 제외되어 구매력이 저하되며, 유통 중 과다한 감량이 발생하여 수율 저하를 초래하고, 조직감이 좋지 못하여 육제품의 가공원료로도 부적합하다. PSE육의 발생빈도는 1999년도 17%에서 2000년도 35%, 2001년도 45%로 꾸준히 증가하고 있으며, 이러한 이상육으로 인한 연간 손실액은 약 490억 원 정도인 것으로 추정된다. 따라서, 이러한 이상육을 육종상태에서 조기에 발견하고, 고급육을 생산할 수 있도록 육질 및/또는 육량을 생체에서 예측할 수 있는 방법의 개발이 절실한 실정이다.

<9> 식육의 품질을 평가하는 요인에는 육색(명도, 적색도, 황색도), 보수성, 지방(량, 조직감, 색, 분포), 조직감, 연도, 맛, 풍미(풍미 물질, 향), 다즙성, 영양성분, 에너지, 아미노산, 지방산, 비타민, 미네랄, 특수영양성분, 안전성, 동물의 건강상태, 첨가물의 잔류, 식육의 위생 등이 있다. 고품질 돼지고기의 생산은 세계적 추세이며, 일본에서는 고품질 돼지고기를 차등(差等) 판매하고 있는 실정이다. 소비자가 요구하는 육질은 연하고 다즙하며, 풍미가 있고 이취(異臭)가 없으며, 육색은 밝은 색(pale)을 띄거나 암적색(dark)이 아니어야 하고, 지방색은 백색이며, 육즙 발생은 적어야 하고, 탄력성이 좋은 외관과 유해 미생물 및 잔류물질이 없어야 한다.

<10> 이러한 고품질의 육류를 생산하기 위해서는 육질을 예측할 수 있는 연구가 중요하다. 현재까지 육질 예측에 관한 연구들의 관점은 주로 가축의 사후 초기의 pH 등 사후 대사속도를 기준으로 육질을 예측하는데 초점이 맞추어져 왔다. 상기 방법들은 사후에만 측정이 가능하며, 도축 후 근육을 손상시킨 후 시료를 이용하기 때문에 육질 및 이상돈육의 출현을 사전에 예측하기 어렵다는 문제점이 있다.

<11> 상기 문제점을 극복하기 위해, 생체상태에서 육질의 예측방안에 대한 연구가 수행되고 있는데, Lahucky 등(Lahucky *et al*, Meat Science. 47(3/4):277-285, 1997)은 근육 조직을 이용하여 ryanodine receptor(RYR)라고 불리는 Ca channel의 유전자의 이형접합체를 조사하였으며, 이를 통해 육질을 예측할 수 있다고 보고하였다. Cheah 등(Cheah, K.S., *et al, Meat Sci*. 39:293, 1995)은 생체검사를 통해 할로탄(halothane) 이형접합체를 이용하여 개체의 육질을 예측할 수 있음을 보고하였다. Schwagele 등 (Schwagele, *et al*, *MEAT Sci. 44:27-40,* 1996)은 PSE육을 발현시키는 개체의 특징을 생화학적 방법으로 분석하였는데, 해당과정의 키효소(key enzyme)인 피루베이트키나아제(pyruvate kinase)를 조사하여 PSE육의 낮은 pH에 적응된 이소폼 3(isoform 3)을 발견하였고, 상기 효소의 활성이 정상육에 비해 높게 나타남을 확인하여 PSE육에서의 생화학적 차이를 보고한바 있다. 육질을 예측하기 위한 또 다른 방법으로는 스트레스 표지인자를 이용하는 것이다. Kenny와 Tarrant(Kenny, F.J., *et al, Meat Sci.* 22:31, 1988)는 혈청내의 내분비 인자들의 발현 수준이 가축의 스트레스에 의한 지표로 이용될 수 있다고 제안하였다. 하지만 스트레스를 근육 내의 대사 관련인자 및 생리인자와 관련지어 이들의 상관관계를 규명하려는 연구는 미비하여 스트레스가 돈육질에 미치는 영향을 구체적으로 모색하기 어렵다는 문제점이 있었다.

<12> 상기의 육질예측방안은 육량과 육질을 동시에 예측할 수 있는 것이 아니며, 단순히 각 항목과 사후 육질과의 관계만을 비교하는데 그치고 있어 항목간 상관관계 및 육질에 미치는 요인에 대한 전체적인 고찰을 통한 육질 및 육량 예측에는 활용되지 못하는 문제점이 있다. 또한 육질 및 육량에 관련된 많은 유전자들이 제시되고 있으나,

대부분 실험실적인 결과를 바탕으로 그 유전자의 특징을 설명하고 있는 실정이며, 실제로 가축에 적용하여 그 효용을 밝히려는 접근은 미미한 실정이다. 특히 육질 및 도체성적에 대한 실재적인 검증은 거의 이루어지지 않고 있다.

<13> 유전자를 이용한 육질예측방법은 특정형질에 국한된 표지유전자를 이용한 간접적인 육질 예측방법으로, 육질을 예측하는 정확도가 떨어지는 문제점이 있었다. 따라서, 이러한 육질 및 육량을 결정하는 직접적인 예측인자의 발견 및 분석방법의 개발이 절실한 형편이다.

<14> 국내 이상돈육의 발생빈도를 살펴보면, 주로 발생하는 형태인 PSE육의 경우 96년 조사통계에 의하면 25.7%(현대양돈, 1996 5월호, p47)에 달해 미국의 16%(Kauffman, R.G., *et al, National Pork Producers Council Pbulication, U.S.A.,* p.1, 1992)에 비해 그 발생빈도가 높게 나타나며, 육색은 정상이지만 견도와 보수력이 떨어지는 RSE(red, soft, exudative)육까지 포함한다면 이상돈육의 발생률은 상당할 것으로 추정된다. 이상돈육의 발생으로 현재 대일 수출돈육 중 반송되는 비율이 상당하며 국산 돈육의 품질인식에 좋지 않은 영향을 미치고 있는 것이 현실이다. 향후 양돈산업은 양돈농가의 고품질 규격돈 생산 및 이의 공급을 유도하기 위해 지육을 기준해서 등급별 차등구매방식으로 전환될 것으로 예상된다. 돈육 수출촉진을 위해서는 수출 규격돈 생산기반을 확충하는 것이 선결과제이며 이를 위해 이상돈육을 조기에 분리할 수 있는 시스템 구축을 통해 농가들의 안정적 사육과 돈육과 돈육의 품질고급화와 규격화를 유도해야 한다. 또한 경제적 손실을 줄이고 고품질화를 통한 경쟁력 획득 및 수출증대를 위해서는 이상돈육 발생에 대한 조절이 필수적이며, 새로운 접근방법으로 보다 심도 있고 체계적인 연구가 반드시 뒷받침되어 이상돈육의 출현을 최소화하여야만 한다.

<15> 이에, 본 발명자들은 고급육을 생산하기 위해 육종단계에서부터 생체상태에서의 비파괴적 육질예측방안을 찾고자 예의 노력한 결과, 이상돈육의 발생과 관계 깊은 근육내 대사변이의 관찰과 이에 영향을 주는 요인들을 근육대사적, 조직학적 으로 분석하였으며, 근섬유를 이용하여 육량 및/또는 육질을 생체상태에서 비파괴적으로 예측할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<16> 본 발명의 목적은 가축의 생체 또는 도체로부터 채취한 근세포의 조직학적 특성을 이용하여 육질 및/또는 육량을 예측하는 방법을 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

<17> 본 발명은 일 양태로, (a) 가축의 생체 또는 도체로부터 근섬유를 채취하는 단계; 및 (b) 상기 근섬유로부터 근섬유의 조직학적 특성 및 근섬유 유형을 확인하는 단계를 포함하는 육질 및/또는 육량 예측방법을 제공한다.

<18> 근섬유(筋纖維, muscle fiber)는 동물의 근육 또는 근조직을 구성하는 섬유상의 단위 구조로, 본성은 세포(근세포) 또는 신시튬(多核體)으로서, 일반적으로 다핵(골격근)이며 가늘고 긴 형태를 나타낸다. 각 근섬유는 산화적 대사, 혐기적 대사, 수축 속도, 섬유의 크기, 글리코겐(glycogen) 함량, 모세혈관 비율 등으로 구분되는데, 육질, 육량, 사후대사, 이상육의 발생과 밀접한 연관성이 있어, 최근 근섬유조성과 육질 및 이상돈육 발생간의 상관관계를 밝히려는 연구가 시도되고 있었으나, 지금까지 그 연구 성과는 미미하여 근섬유가 육질 및 육량에 미치는 영향을 구체적으로 모색된 바 없었다.

<19> 근섬유의 조직학적 특성으로는 근섬유의 수(muscle fiber number), 단면적(cross-sectional area), 직경(diameter), 밀도(density) 등이 있으나, 본 발명에서는 바람직하게 근섬유의 수 및 단면적을 측정함으로써 육질 및/또는 육량 예측 방법을 제공한다.

<20> 한편, 근육은 여러 가지 유형의 근섬유로 구성되어 있는데 일반적으로 지속적인 운동을 수행할 때 주로 이용되며 유산소성 특성을 갖는 지근섬유(지근-적근섬유 Type I: slow-twitch fibers)와 속근섬유(속근-적근섬유 Type IIa: fast-twitch fibers), 및 단시간의 빠른 형태의 운동을 수행할 때 주로 이용되면서 무산소성 특성을 갖는 속근-백근 섬유(type IIb: fsat-twitch fibers)가 있다. 지근섬유(Type Ⅰ) 및 속근섬유(Type Ⅱa)는 미토콘드리아와 마이오글로빈(myoglobin)을 많이 가지고 있기 때문에 상기 근섬유를 많이 함유하고 있는 근육은 붉은색을 띄며, 속근-백근 섬유(type IIb)를 많이 함유하고 있는 근육은 상대적으로 흰색을 띄고 있다. 이들 근섬유의 유형은 근세포의 대사적 특징을 나타낸다.

<21> 상기 근섬유의 유형을 확인하는 방법은 후술하는 본원 실시예 1-1에 자세히 기술된 바와 같이, 배양버퍼에서의 일정 시간 배양 후 특정 염색버퍼로 염색함에 따른 근섬유의 명도차로 구분할 수 있으며, 특히 전배양버퍼(pre-

incubation buffer)의 pH에 따라 그러한 명도차가 달라질 수도 있다.

<22> 본 발명에 따른 상기 육질 예측방법은, 정상육과 비교하여 높은 근섬유 Type IIb의 비율과 낮은 근섬유 Type I의 비율을 나타낼 때 이상육으로 판단하는 것을 더 포함할 수 있다.

<23> 본 발명의 육량 예측방법에서는 또한 근섬유 수가 많을 경우 근섬유 크기가 작아도 근육량이 우수하다거나, 또는 근섬유 수가 적을 경우 근섬유 크기가 크면 근육량이 우수하다고 판단하는 것을 더 포함할 수 있다. 바람직하게 육질과 육량을 함께 고려할 경우, 상기 방법은 총 근섬유 수 증가에 의한 육량 증가와 근섬유 Type I 비율의 증가는 육질저하를 초래하지 않는 육량 증가로 판단하는 것을 더 포함할 수 있다.

<24> 본 발명에서의 가축은 축산법 제2조 제1호 및 동법 시행규칙 제2조 각호에서 정의하고 있는, 야생습성이 순화되어 사육하기에 적합하며 농가의 소득증대에 기여할 수 있는 가축을 의미한다. 상기 가축에는 소, 말, 노새, 당나귀, 염소, 산양, 면양, 사슴, 돼지, 토끼, 개, 가금류 등 일수 있으며, 돼지의 품종에는 제한이 없으나, 바크셔, 랜드레이스, 요크셔, 듀록 및 이들의 이원교잡종 또는 엘와이디 (랜드레이스×요크셔×두록저지의 삼원교잡종, LYD)인 것이 바람직하다. 가금류에는 닭, 칠면조, 오리, 타조, 거위, 메추리 등, 바람직하게는 닭 일수 있으나, 사육하여 축산물을 얻기에 적합한 것이라면 이에 제한되는 것은 아니다.

<25> 상기 "축산물"은 축산법 제2조 3호의 정의인, 가축에서 생산된 고기, 젖, 알, 꿀과 이들의 가공품, 원피 (원모피를 포함한다), 원모, 기타 가축의 생산물로서 농림부령이 정하는 것을 의미하며, 바람직하게는 고기이다.

<26> 가축 또는 축산물로부터 근섬유를 채취하는 방법에는 당업자에게 알려진 공지의 어떠한 방법도 이용될 수 있다. 또한, 근섬유의 조성 (예로 근섬유의 수, 단면적 등) 및 근섬유 유형인 Type I 근섬유, Type IIa 근섬유 및 Type IIb 근섬유를 확인하는 방법은 본원 실시예에 자세히 기재된 바와 같은 배양 버퍼에서의 배양 후 염색에 의한 방법 및 기타 당업자에게 잘 알려진 공지의 방법을 이용할 수 있다.

<27> 하기 실시예에서는 돈육질 및 돈육량의 예측방법만을 예시하고 있으나, 본 발명의 범위가 돼지나 돼지고기(돈육(豚肉))에만 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

<28> 이하, 하기 실시예에 의해 본 발명을 좀더 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 단지 본 발명의 예시에 불과하며 이로써 본 발명이 제한되지는 않는다.

<29> **실시예 1. 근섬유의 특성분석**

<30> 돼지 생체에서 채취해 액체질소에 침지해 놓은 흉추 5번과 6번 사이의 등심근을 -25℃에서 미세절편기(CM 1850, Leica Co., Mannheim, Germany)를 이용하여 두께 10 ㎛의 연속적인 절편을 만들어 근섬유의 조직학적 특성 분석에 사용하였다. 근섬유의 대사적 특성 및 조직학적 형태 구분은 Brooke와 Kaiser(Brooke and Kaiser, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 18:670-672, 1970)와 Lind와 Kernell(Lind and Kernell, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 39:589-897, 1991)의 방법을 변형하여 실시하였다.

<31> 실시예 1-1. 근섬유 유형(Type) 구분

<32> 상기 미세절편기로 얻은 두께 10 ㎛의 돈육 등심근의 연속적인 절편을 실온에서 pH 4.6 또는 pH 10.7의 전배양버퍼(pre-incubation buffer: 100 mM potassuum chloride, 100 mM, 100 mM sodium acetate)에 8분간 침지시킨 후, 이를 증류수에 2~3초간 세척하였다. 이후 pH 9.4의 세척버퍼(wash buffer: 20 mM glycine buffer, 20 mM calcium chloride)로 30초 동안 추가 세척한 다음, 배양버퍼(incubation buffer: 40 mM glycine buffer, 20 mM calcium chloride, 2.5 mM adenosine triphosphate disodium salt, pH 9.4)로 25분간 배양(incubation)하였다. 이후 1%의 염화칼슘(calcium chloride)으로 30초간 세척한 후, 다시 2% 염화코발트(cobalt chloride)로 세척하였으며, 이를 염색버퍼(stain buffer: 1% yellow ammonium sulfate)를 이용하여 염색한 후 증류수로 2초간 세척하였다.

<33> 상기 염색 결과 구분되는 근섬유 Type I, IIa 및 IIb를 현미경(CX 40, Olympus Co., Japan)과 CCD 컬러 카메라(IK-642K, Toshiba, Japan)를 이용하여 이미지 촬영하였다. 전배양버퍼(pre-incubation buffer)를 pH 4.6으로 이용한 경우(도 1-A) 근섬유 Type I은 짙은 색(dark)으로, Type IIa는 밝은 색(pale)으로, 그리고 Type IIb는 중간색(intermediate)으로 염색되었으며, 전배양버퍼의 pH를 10.7로 한 경우(도 1-B) Type I은 밝은 색(pale)으로, Type IIa는 중간 색(intermediate)으로, 그리고 Type IIb는 짙은 색(dark)으로 나타났다(표 1, 도 1).

표 1

<34>

	pH 10.7	pH 4.6
Type Ⅰ 근섬유	밝은 색 (pale)	짙은 색 (dark)
Type Ⅱa 근섬유	중간 색 (intermediate)	밝은 색 (pale)
Type Ⅱb 근섬유	짙은 색 (dark)	중간 색 (intermediate)

<35> 실시예 1-2. 이미지 분석

<36> 이미지 분석은 Image-Pro®Plus(Image & Graphics, USA) 프로그램을 이용하여 밀도를 나타내는 근섬유 단면적(muscle fiber area) 및 단위면적당 근섬유 수를 조사였으며, 각각의 근섬유 유형(Type)에 따른 수와 크기의 비율을 계산하였다. 또한, 등심근 단면적을 이용하여 전체 근섬유 수와 각각의 근섬유 수를 계산하였다. 이는, 이미지 프로그램으로 계산되며, 근섬유 하나씩 테두리를 이미지로 그리면 프로그램에서 근섬유의 단면적 등의 정보가 수집되고, 이를 이용하여 단위면적당 수 및 근섬유 비율을 계산할 수 있다. 또한 총 근섬유 수는 단위면적당 수를 이용해서 등심근 단면적 크기에 대입하면 등심근 단면적에 나타나는 총 근섬유 수를 나타낼 수 있다. 이와 같은 근섬유의 조직학적 특성을 분석하기 위해, 측정한 근섬유 수가 많을수록 평균값이 일정해지므로 본 발명에서는 각 시료 당 최소 600 세포이상을 조사하였다.

<37> **실시예 2. 근섬유 특성을 이용한 육질예측**

<38> 근육의 대사적 특성을 결정짓는 근섬유의 발현 변이를 분석하였으며, 육질 그룹에 따른 근섬유 특성과 근섬유 조성 변이를 평가하고, 근육의 조직학적 특성을 대표하는 각 분석항목과 대사속도 및 육질항목과의 연관성을 분석하였다.

<39> 실시예 2-1. 육질의 분류

<40> 돈육질을 측정하기 위해서는 일반적으로 보수력을 나타내는 백 드립 방법(bag drip method)과 식육의 명도를 이용하며, Warner 등(1993)의 문헌(*Meat Science*, 33:359-372)에 기초하여 PSE, RSE, RFN 및 DFD의 네 그룹으로 분류하며 구분기준은 표 2와 같다. 또한 사후대사의 진행정도를 분석하기 위해 사후 초기의 pH와 최종 pH를 측정한다. 육즙손실량의 측정은 Honikel(1987)의 문헌(*Evaluation and control of meat quality in pigs*. 129-142, 1987)의 방법을 이용하였으며, 사후 24시에 일정한 크기로 등심근을 잘라 내어 무게를 잰 후 공기가 통하지 않은 폴리에틸렌 백(polyethylene bag)으로 육의 표면이 닿지 않도록 싼 후 봉하여 저온실(4℃)에서 48시간 매달아 놓은 후 감량을 측정하여 유리된 육즙량을 최초 무게에서 산출한다. 육색의 측정은 백색평판으로 표준화(Y=91.7, x=0.3138, y=0.3200)시킨 Minolta chromameter(CR-300, Minolta Camera Co., Japan)를 이용하여 명도(L^*), 적색도(a^*) 및 황색도(b^*)를 측정하였다. pH의 측정은 사후 초기(pH_1)와 최종 pH(pH_{24})를 spear type의 pH meter(290A, Orion Research Inc., USA)를 이용하여 근육에서 직접 측정하였다.

표 2

<41>

육 질 그 룹	육즙손실량 (Drip loss, %)	명도 (Lightness)	사후 초기 pH_1
PSE (pale, soft, exudative)	> 6.0 %	> 50	< 6.0
RSE (reddish-pink, soft, exudative)	> 6.0 %	42 - 50	< 6.0
RFN (reddish-pink, firm, non-exudative)	2.0 - 6.0 %	42 - 50	≥ 6.0
DFD (dark, firm, dry)	≤ 2.0 %	< 42	≥ 6.0

<42> 실시예 2-2. 근섬유 특성과 육질그룹

<43> 본 실험에서 사용한 돈군은 삼원교잡종(Landrace × Yorkshire × Duroc)으로 총 221두를 공시하였다. 실시예 2의 분석은 SAS®(SAS Institute, USA)의 General Linear Model(GLM) procedure에 의해 분석되었으며, 유의성 검증은 F-test를 사용하여 검증하였다.

<44> 실시예 2의 결과를 종합하면, 하기 표 3과 같다. PSE는 근섬유 수 조성에서 RFN육에 비해 높은 Type IIb 조성을 나타낸다. 또한 PSE 및 RSE육은 정상육에 비해 높은 근섬유 Type IIb 크기 조성을 가지며, 낮은 근섬유 Type Ⅰ

크기 조성을 나타낸다. PSE 및 RSE육의 사후 초기의 빠른 대사속도와 육질저하 현상은 근섬유 type IIb 비율의 증가와 근섬유 Type I 비율 감소 때문인 것으로 평가되었다. 따라서 근육의 조직생화학적 특성을 이용할 경우 사후 대사속도 및 육질 예측이 가능함을 확인할 수 있었다.

표 3

<45>

	육질 그룹			
근섬유 조성	PSE	RSE	RFN	DFD
근섬유수 조성				
Type Ⅰ	5.28^{b}	5.89^{b}	7.42^{ab}	10.57^{a}
Type Ⅱa	8.85^{c}	10.31^{bc}	13.32^{ab}	15.10^{a}
Type Ⅱb	86.00^{a}	83.80^{ab}	79.26^{b}	74.33^{c}
근섬유크기 조성				
Type Ⅰ	3.78^{c}	3.58^{c}	4.51^{b}	7.28^{a}
Type Ⅱa	4.69^{c}	5.02^{bc}	7.52^{ab}	9.64^{a}
Type Ⅱb	91.53^{a}	91.40^{a}	87.97^{b}	83.08^{c}

<46> ^{abc} 표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음($P < 0.05$)

<47> **실시예 3. 근섬유 특성을 이용한 육량 예측**

<48> 근육을 구성하는 근섬유의 수, 크기 및 근섬유 조성은 근육량과 근육의 대사적 특성을 결정하는 중요한 항목으로 알려져 있다. 표 4에서의 근육량(MM)은 도체중과 등심근 단면적으로 heavy군과 light군으로 구분하였으며, 근섬유수(FN)는 총 근섬유수를 이용하여 high군과 low군으로 구분하였다. 이와 같은 군집의 분석은 SAS®(SAS Institute, USA)를 이용하였으며, 분산분석의 경우 분석은 SAS®(SAS Institute, USA)의 General Linear Model(GLM) procedure에 의해 분석되었으며, 유의성 검증은 F-test를 사용하여 검증하였다. 도체중은 도체의 냉도체를 kg으로 표시하였으며, 등심근 단면적은 마지막 늑골의 등심근을 이용하여 단면적을 측정하였다.

<49> Heavy 그룹의 도체중은 평균 88.15 kg으로 나타났으며, 등심근 단면적은 평균 50.26 cm^2이었다. Light 그룹의 도체중은 76.59 kg, 등심근 단면적은 42.10 cm^2으로 나타났다.

<50> HH(heavy-high) 그룹은 단위면적당 근섬유 수(근섬유 밀도)가 LH(light-high)에 비해 낮게 나타났으며, 총 근섬유 수에서는 LH와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. HL(heavy-low) 그룹은 근섬유 크기에서 가장 크게 나타났으며, 이러한 특성은 육량에 영향을 미쳤다고 판단된다. 반면에 HH 그룹은 높은 육량 수준은 근섬유 크기보다는 근섬유 수에 의한 것으로 나타났다. LL(light-low) 그룹은 총 근섬유수는 작고 근섬유 크기는 큰 것으로 나타나 근섬유 크기가 크더라도 근섬유 수가 적으면 육량이 감소한다는 것을 나타낸다.

표 4

<51>

근육량 (Muscle mass (MM))	Heavy		Light	
근섬유수 (Fiber number (FN))	High	Low	High	Low
근섬유수 (Fiber number (FN)/mm^2)				
mean	280^{b}	225^{d}	321^{a}	256^{c}
Type Ⅰ	22^{a}	18^{b}	24^{a}	20^{ab}
Type Ⅱa	29^{b}	30^{ab}	34^{a}	31^{ab}
Type Ⅱb	229^{b}	178^{d}	262^{a}	204^{c}
전체 근섬유수 (×1,000)				
Mean	1450^{a}	1069^{b}	1417^{a}	1058^{b}

Type Ⅰ	118[a]	86[bc]	106[ab]	84[c]
Type Ⅱa	148[a]	140[ab]	151[a]	129[b]
Type Ⅱb	1194[a]	844[b]	1160[a]	843[b]
근섬유의 크기 (Cross-sectional area of muscle fiber, um^2)				
Mean	3591[c]	4520[a]	3151[d]	3981[b]
Type Ⅰ	2669[b]	2951[a]	2274[c]	2790[ab]
Type Ⅱa	2268[b]	2565[a]	1963[c]	2301[b]
Type Ⅱb	3917[c]	5024[a]	3403[d]	4377[b]

<52> [abc] 표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음($P < 0.05$)

<53> 상기 결과로부터 근섬유의 크기, 수와 같은 특성은 육량과 밀접한 관계가 있어, 이를 이용하면 육량 개량의 예측인자로서 사용가능할 수 있음을 확인할 수 있었다.

<54> **실시예 4. 여러 품종의 적용가능성**

<55> 근섬유 조성의 경우 품종간의 차이를 보인다. 본 실시예에 공시된 두수는 버크셔 105두, 랜드레이스 102두, 요크셔 221, 삼원교잡종 166두이다. 분석은 SAS®(SAS Institute, USA)의 General Linear Model(GLM) procedure에 의해 분석되었으며, 유의성 검증은 F-test를 사용하여 검증하였다.

<56> 근섬유의 크기와 근섬유 밀도는 품종 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 버크셔의 특성은 근섬유 Type I의 크기 비율이 다른 품종에 비해 높은 것이며, 근섬유 Type IIb의 크기 비율이 낮게 나타난다. 랜드레이스는 근섬유 Type I의 비율이 가장 작게 나타나며, 근섬유 Type IIb의 비율은 버크셔에 비에 높게 나타났다. 즉 버크셔는 호기적인 대사능력이 뛰어난 근섬유 Type I의 비율이 높은 것으로 해석될 수 있으며 이것은 사후대사속도에 영향을 미쳐 사후초기대사속도를 나타내는 pH_1와 근육의 최종 pH인 pH_{24}에서 가장 높게 나타났으며, 랜드레이스는 혐기적 대사능력이 뛰어난 근섬유 Type IIb의 조성이 높아 사후 혐기적 대사능력으로 형성되는 lactate(젖산)의 형성이 높아질 것으로 예상되며, 이로 인한 사후초기대사속도가 빠르게 진행된다. 이것은 pH_1에서 확인 할 수 있으며, 랜드레이스는 가장 낮은 pH를 나타냈다.

<57> 이와같이 근섬유의 특성은 근육의 대사적 특성에 영향을 미치게 되며, 결과적으로 육질에 영향을 미친다. 버크셔의 경우 근섬유 Type I의 높은 비율로 인해 사후대사가 완만히 진행되며 이로 인해 육질저하 현상이 거의 나타나지 않으며, 랜드레이스의 경우 육질저하 현상이 나타나게 된다. 특히 육질그룹의 구분의 척도로 이용되는 육즙손실량에서 버크셔는 손실량이 다른 품종에 비해 월등히 낮게 나타났으며 명도의 수치도 정상육의 기준인 42-50 범위에 속하며 안정적인 품질 특성을 나타냈다. 랜드레이스는 이상육 기준인 6%에 근접한 높은 수준의 육즙손실량을 나타냈으며 명도의 수치도 이상육 기준이 50에 근접한 pale(창백)한 특성을 나타냈다. 요크셔와 삼원교잡종은 버크셔와 랜드레이스의 근섬유 특성과 육질특성이 중간정도로 나타났다.

표 5

<58>

	품종 (breed)			
	버크셔 (Berkshire)	랜드레이스 (Landrace)	요크셔 (Yorkshire)	랜드레이스×요크셔×두록저지의 삼원교잡종(LYD)
근섬유의 단면적 (um^2)	4262	4063	4170	3993
근섬유의 수 /mm^2	241	253	246	258
단면적 (%)				
Type Ⅰ	7.51[a]	5.43[c]	6.80[ab]	6.21[bc]
Type Ⅱa	5.80[b]	7.13[a]	6.42[ab]	5.60[b]
Type Ⅱb	85.03[c]	87.45[a]	86.78[b]	88.19[a]

근섬유의 수 (%)				
Type Ⅰ	10.69[a]	8.13[b]	8.92[b]	9.14[b]
Type Ⅱa	9.02[c]	11.44[a]	10.61[b]	9.40[ab]
Type Ⅱb	80.29	80.43	80.47	81.53
근육 pH_1	6.19[a]	5.86[c]	6.03[b]	6.02[b]
근육 pH_{24}	5.66[a]	5.50[d]	5.56[c]	5.61[b]
육즙손실 (Drip loss, %)	2.97[c]	5.99[a]	4.66[b]	4.24[b]
명도 (Lightness, L^*)	45.29[d]	49.72[a]	47.66[b]	46.60[c]
적색도 (Redness, a^*)	7.87[a]	6.60[b]	6.85[b]	6.83[b]
황색도 (Yellowness, b^*)	3.10[a]	3.77[b]	3.36[a]	3.69[b]

<59> [abcd] 표시가 다른 것은 통계적으로 유의차가 있음($P < 0.05$)

<60>

<61> 상기 결과로부터, 품종에 따른 근섬유 특성이 각각 다르게 나타났으며, 이러한 근섬유 특성은 육질에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 이것은 근섬유 특성을 이용한 돈육질 및 돈육량 예측은 돼지의 여러 품종에 이용할 수 있음을 확인할 수 있으며, 또한 한우 등의 다른 축종에도 이용할 수 있을 것이다.

<62> 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있음을 이해할 수 있다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예 및 실험예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 제한적인 것이 아닌 것으로 이해하여야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 상세한 설명보다는 후술되는 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 등가개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포섭되는 것으로 해석되어야 한다.

<63>

발명의 효과

<64> 본 발명은 가축 또는 축산물의 근세포 조직학적 특성을 이용한 육질 및/또는 육량 예측방법을 제공하는 효과가 있다. 본 발명에 의할 경우, 살아있는 상태의 가축이나 도축된 축산물로부터 육질 및/또는 육량을 예측하여 품질저하와 이상육(異狀肉) 발생을 억제하고 고급육을 생산하여 소비자의 기호도에 부합하는 한편, 방안이 될 수 있다. 농가 수입을 확대하는 효과가 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 본원 실시예 1-1에서 구분한 근섬유 Type I, Type IIa 및 Type IIb를 현미경(CX 40, Olympus Co., Japan)과 CCD 컬러 카메라(IK-642K, Toshiba, Japan)를 이용하여 이미지 촬영한 사진으로, A는 전배양버퍼(pre-incubation buffer) pH 4.6에서 배양한 후 염색한 결과를 나타내고, B는 전배양버퍼의 pH를 10.7로 하여 배양한 후의 염색 결과를 나타낸다.

도면

도면1

