

# 광전자증폭관에 의한 키토산 첨가 사료를 사용한 양돈 생체조직에서의 육질 품질 비교 측정

민제호\* · 유종수\*\* · 천병수\*\*\*

Photomultiplier Tube Emission of Protein and fat specimens from the sirloin of a Chitosan-fed pig Comparison of meat quality

Je-Ho Min\* · Jong-Su Yoo\*\* · Byeung-Soo Cheun\*\*\*

## 요 약

키토산 첨가 혼합사료를 섭취한 양돈 근육 조직과 일반 사료를 섭취한 조직에서의 품질을 비교하기 위한 방법으로 생체광자를 이용한 광전자증폭관(Photomultiplier Tube, PMT) 기기를 사용하여 측정된 결과 서로 다른 결과를 얻었다. 키토산 첨가제를 사용한 돼지 등심조직에서의 육질 비교를 PMT와 현미경을 사용하여 측정된 결과 키토산 첨가 혼합 사료를 먹인 돼지 등심 조직의 생체광자 양을 측정된 결과 서로 상이한 수치를 얻을 수 있었다. 이것으로 조직의 품질을 비교 측정이 가능했다. 또한 이조직의 형태를 해부현미경으로 관찰한 결과 키토산 첨가 혼합사료 근육 조직의 육질이 더 섬세하고 촘촘하여 지방질이 적고 맛이 좋다는 것을 알 수 있었다. 따라서 PMT에 의한 조직 육질 측정은 생화학적 상태변화를 측정하는 새로운 분석법의 하나가 될 것으로 기대되어진다.

## ABSTRACT

Effect of chitosan with sirloin specimens from chitosan-fed and normal-fed pig. The specimens were observed by a optical microscope and their biophoton was measured by a photomultiplier(PMT)tube. Results of experiments showed that specimens of the chitosan-fed pig had lower biophoton rate than that of the normal-fed pig. As a result of the organization were also shown pictures Chitosan as a pork loin tissue and fat in the flesh less delicate and compactness is found that tastes good. Thus by PMT fleshy tissue biochemical measurements to measure the change of state to be one of the new method is to be expected.

## 키워드

Biophoton, PMT, Organism Quality, Chitosan-Fed  
생체광자, 광전자증폭관, 유기적조직체, 키토산

## 1. 서 론

해양 갑각류(게, 새우, 새우 등)의 껍질로 만든 키토산은 생리활성물질, 접착력이 뛰어나는 측면에서

적조원인 플랑크톤 제거물질등, 양식분야에서까지 먼역력 증강제 등으로 널리 이용되어 왔다. 이런 가능성 때문에 키토산은 해양 유래 기능성 재료로 그 가치가 인정되었으며 다방면으로 연구가 진행 되어 왔다

\* 광주여자대학교 대체의학과(minjeho@kwu.ac.kr)

\*\* 부경대학교 산학협력단(syoo@pknu.ac.kr)

\*\*\* 교신저자(corresponding author) : 세양 의료재단(bscheun@hanmail.net)

접수일자 : 2013. 12. 26

심사(수정)일자 : 2014. 02. 25

게재확정일자 : 2014. 03. 10

[1-2]. 이러한 관점에서 21세기 과학발전의 주요 방향은 생물학과 물리학의 학제적 연구라고 강조한 바 있다는 점에 착안하여 생체광자를 이용한 조직형태를 비교측정이 가능하게 되었기에 이를 보고한다[3]. 세포의 통신과 암의 기작 이해에 있어서도 이런 학제적 연구의 중요성이 오래전부터 주장되었었다[4]. 물리학적 관점에서 세포의 통신 및 조절기능과 암세포의 성장 요인을 이해하려는 최근의 노력 중에서는 생체광자(Biophoton)에 기기분석법을 한층 관심을 끌고 있다[5]. 세포수준에서 나오는 아주 미세한 빛으로 넓은 스펙트럼 분포(250nm~800nm)를 갖는 생체광자는 1970년대부터 광전자증배관(photomultiplier Tube: PMT)의 기술발전으로 측정이 가능하게 되었다[6]. 생체광자의 원천은 활성화 산소에 의한 대사과정과 DNA의 형태(conformation) 변화에 기인한다고 알려져 있다[7]. 생체광자는 물리학적으로는 양자결맞음(quantum coherence) 특성이 있으므로 기본적인 중요성을 가지며, 생물학적으로는 세포의 분열과 분화, 성장과정, 상처와 치유 과정에서 많이 방출되어 발달과정의 이해에 새로운 기여를 할 것으로 기대된다[8]. 특히 암세포 및 조직에서 나오는 생체광자의 양과 정상세포 및 조직에서 나오는 양이 서로 다르다는 것이 여러 연구에서 밝혀지고 있다[9].

1970년대부터 생체에서 나오는 미약한 빛은 생체조직 사이에서의 정보전달 과정에 중요한 역할을 할 수 있음이 이미 보고되었다[10]. 과학이 발달함에 따라 광자의 측정기술이 고도화되고 아주 미약한 빛까지도 측정할 수 있게 되면서 생체에서 나오는 빛에 대한 연구를 통해 빛의 파장은 물론 가시광선 영역이나 그것보다 더 짧은 파장까지도 측정 가능하게 되었다[11]. 이러한 기기분석법의 발달을 토대로 이미 보고된 바와 같이 조직 내 생체광자의 흡수율이 적으면 정상조직으로 평가하게 되었다. 즉 미약한 생체광자의 방출은 생체 대사활동에 있어서 불완전성에 기인한다는 사실이 정립되었다[12]. 이는 생체가 들뜬 상태를 이룰 때 열적 평형상태로 돌아감으로서 간헐적으로 빛을 낸다는 설명이다[13]. 독일의 Popp (1979)가 생체분자의 광학적 특성과 생리적 작용 사이에는 상관관계가 있다는 사실을 발표함으로써 연구들이 더욱 표면화되었다. 이러한 보고들 생체분자 내 생리적 작용에 인한 발암성 물질 원인 규명에 이르기까지 연구가

진행 될 수 있는 토대를 제공해 주기도 하였다[14].

본 연구는 생체 조직 간의 또 다른 정보전달자로서 생체광자의 역할에 주목하여 생체조직 연구에 간편한 광학시스템을 활용하였다[15]. 특히 사료 첨가제에 대한 육질의 척도를 생체광자 현상을 이용해 측정 가능하게 되었다는 것과 복잡한 생화학적 실험에서만 해명할 수 있었던 기기분석법등을 빛의 양으로 간단하게 측정할 수 있다는 것에 큰 의미가 있다[16]. 키토산을 첨가한 혼합사료를 섭취한 양돈의 육질의 품질 측정에 광전자증배관(Photomultiplier Tube, PMT)을 사용하여 생체광자의 양 변화를 측정하므로 인해 육질 판정이 가능하다는 것을 보고한다.

## II. 본 론

### 2.1. 시료처리 및 측정

조직 시료는 ㈜우리바이오텍에서 사육한 돼지에게 키토산 혼합물을 첨가한 사료를 먹인 돼지 120kg의 체중이 되었을 때 도축한 등심 부분을 이용하였고, 사육조건은 대조군돼지와 동일한 조건으로 이루어졌다. 단백질 시료는 조직 지방을 제거하고, 지방 시료는 단백질이 없는 지방부분만을 사용 하였다(Fig. 1). 돼지고기 등심 시료의 경우 지방이나 단백질이 약간 섞여 있을 가능성은 있으나 시료수를 한 개체로 하여 측정 시에는 PMT기기를 측정하는 부위를 변경시켜 측정 하였다.

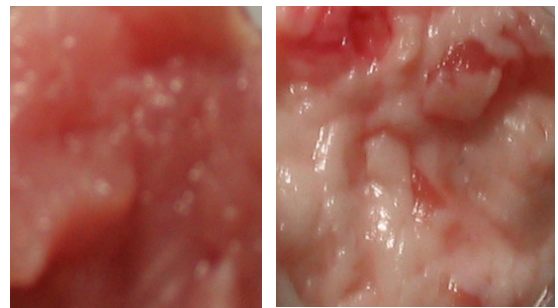


그림 1. 키토산 첨가사료를 먹인 돼지조직에서 보여진 단백질과 지방에 조직비교

Fig. 1 Protein and fat specimens from the loin of a chitosan-fed pig were shown

측정은 매회 한 시료당 3분씩 3회 반복 실시하였고, 실험 전 PMT 기기 보정을 위해서 암실과 냉장실에서 조직을 반복 측정하여 오차를 최소화하였다. 실험결과는 3분 동안 측정된 생체광자의 총 빛의 흡수율로 나타내며, 포톤흡수율 숫자가 높을수록 포톤광자들이 많이 방출된다는 것을 의미 한다. 현미경에 의한 조직 관찰은 해부 현미경 (Stereo Microscope, Nikon TS100)을 사용하였고 400배율에서 일괄적으로 사진을 찍었다.

## 2.2. 광전자증폭관(PMT) 기기 측정법

광전자증폭관(R331-05S, Hamamatsu)을 이용한 측정 기기 모식도는 Fig. 2와 같다. 기기의 반응 파장대는 300~650nm이고, 최대 반응 파장대인 420nm에서 시료를 측정하였으며, 이때 양자효율은 28%였다. 광전자증폭관(PMT)의 직경은 45mm이고, 조직과 PMT 간의 간격은 15mm이며, 작동 전압은 1,600 V로 하였다. 이 조건에서 PMT의 noise level은 40 cps로, 같은 model의 PMT 중, 특별히 잡음 수준이 낮은 것을 골라 사용하였다. PMT에서 나오는 신호는 미약하므로 신호 처리를 위해 preamp (C6865, Hamamatsu)에 의해 증폭된 신호는 PC에 있는 photon counting board (M8794 Hamamatsu)로 전달되어 생체광자의 숫자를 측정한다. 미세한 생체광자 신호를 측정하기 위하여 주변에서 나오는 외부광을 차단하여 신호대잡음비(S/N)가 높은 신호를 측정하였다. PMT는 완전 암실 내에 있는 암 상자 속에 설치하여 측정하였으며, 시료들과 실험기구들이 외부광에 노출되면 빛을 방출하므로 실험 전 충분히 암실에 적응시키고, 암실이 설치되어 있는 실험실 자체도 외부광에 노출되는 것을 방지하여 실험을 실시하였다.

PMT가 들어있는 암 상자의 온도는 20℃로 일정하게 유지하였다. 일반적으로 우리는 400nm 이상의 파장을 투과하며 UV를 흡수하므로, 본 연구에서는 생물광자의 파장대가 250nm 이상임을 고려하여 시료 접시는 석영 재질로 제작된 것을 사용하였다(직경 35mm, 두께 2mm). 일반적으로 생물광자는 표면에 비례하는 경향이 있으므로, PMT의 측정기에 접하는 시료 면을 시료 접시 바닥면에 고르게 퍼줌으로 단위 면적당 생물광자의 양을 용이하게 측정하였다.

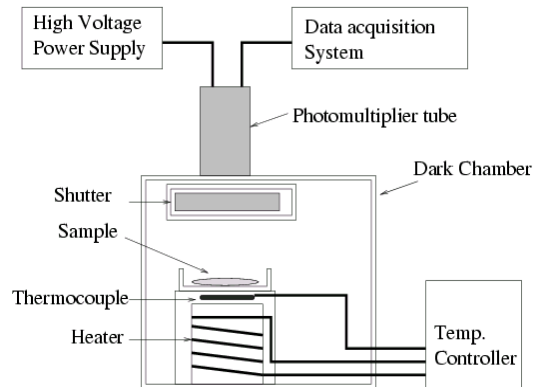


그림 2. 생체광자 측정장치  
Fig. 2 Schematics of experimental photomultiplier tube (PMT) setup

## III. 결 론

실험대상의 조직을 광학현미경으로 관찰한 결과는 그림 3에 나타내었다. 키토산 혼합물 첨가 사료로 사육한 조직 시료군이 대조군보다 육질이 섬세하고 색깔도 선명한 적색을 띄어 확실한 품질의 차이를 한눈에 알 수 있었다.

또한 키토산 혼합물 첨가 사료로 사육된 돼지고기의 지방과 단백질 조직으로 분리하여 생체광자량을 측정한 결과, 지방 조직에서는 대조군보다 4.8배가 적은 2,924였고(그림 4), 단백질 조직에서는 2.8배가 적은 333으로 현저히 차이가 있음을 알 수 있다(그림 5). 이러한 결과로 미루어 볼 때 키토산 혼합물 첨가 사료를 먹인 돼지고기 조직에서 포톤양이 적은 것으로 보아 생체광자의 포톤양으로 육질의 품질측정이 가능하고 키토산 첨가 돼지고기가 현저하게 품질이 좋은 것으로 판단된다. 즉 지방조직과 단백질조직 모두에서 키토산 혼합사료를 사용한 시료는 육질이 섬세하여 빛의 뜨임 현상이 적은 것으로 사료된다. 생체광자(biophoton)의 방출에 대한 이론에 의하면 약한 생체광자의 방출은 생체의 대사활동에 있어서 불완전성(imperfections)에 기인한다는 사실에 입각하여 즉 생체가 들뜬 상태를 이룰 때 열적 평형상태로 돌아감으로서 간헐적으로 빛을 낸다. 또한 독일의 Popp 에 의하면 생체분자의 광학적 특성들과 그들의 생리적 작용 간에는 의미 있는 상

관관계가 있다는 사실이 보고되었듯이 생체분자 내의 생리적 작용으로 인한 육질의 변화를 생화학적인 레벨에까지 육질의 품질개선이 원인규명에 연구가 진행될 수 있다는 토대를 이 기기 분석법으로 가능하다는 새로운 기기분석법의 또 하나의 개척으로 볼 수 있다.

본 연구는 일반적인 생물학적 측정법보다도 간단하고 저렴한 시스템으로 현장에서의 육질 평가 기준을 수치로 알 수 있어 현장 활용이 높을 것으로 사료된다.

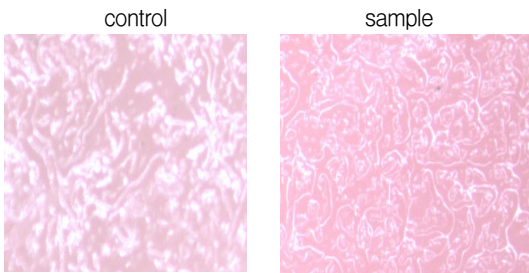


그림 3. 키토산 첨가사료를 먹인 돼지와 먹이지 않은 조직에서의 광학현미경적 소견  
 Fig. 3 Microscope specimens from the sirloin of a chitosan-fed pig were shown (a) control and (b) sample

본 연구에서는 생체광자를 이용하여 양돈 육질의 품질평가를 생체광자를 이용하여 평가 가능 하는 것에 목적을 두었다. 특히 키토산 첨가 사료와 일반사료를 사용한 양돈 육질 품질 평가 기준의 척도를 판단하고 생체광자 현상을 이용해 측정 가능하게 되었는데 큰 의미가 있다. 지금까지는 복잡한 생화학적 실험만으로 육질의 판단을 해명할 수 있었으나 많은 시간, 경비, 복잡한 실험 과정 등의 문제가 있었다. 본 연구에서 활용한 생체광자 현상을 이용한 방법을 도입한 것은 새로운 측정법을 제시했다는데 의의가 있다고 하겠다.

본 연구결과에 의하면 사료 첨가제로 사용된 키토산이 항산화 효과의 유도과 면역 체계에 좋은 결과를 나타냈다는 많은 보고가 있는데[17]. 키토산 첨가 혼합사료 이용 육질을 알 수 있는 통계적 DB 구축을 통해 항산화 면역 체계 육질을 알아 낼 수만 있다면, 화학적 방법이 아닌 PMT, 바이오센서 등의 물리적 방법에 의해서도 육질 품질을 여러 측면에서 알아 낼 수 있을 것으로 사료된다. 이는 향후 FTA체결에 의

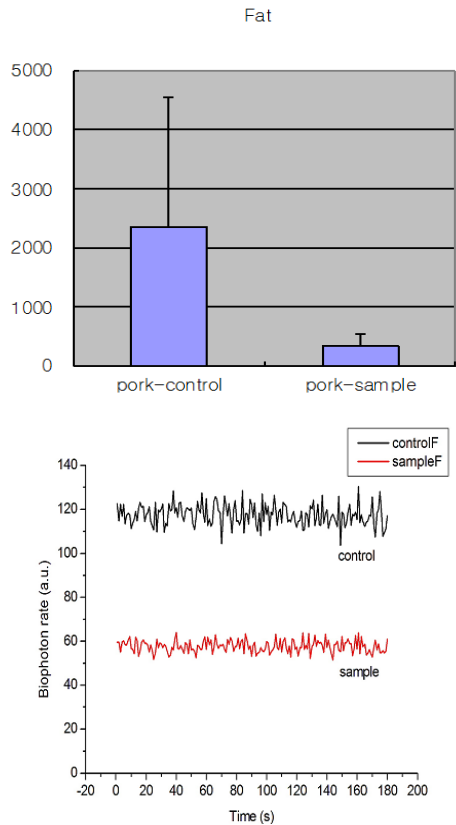
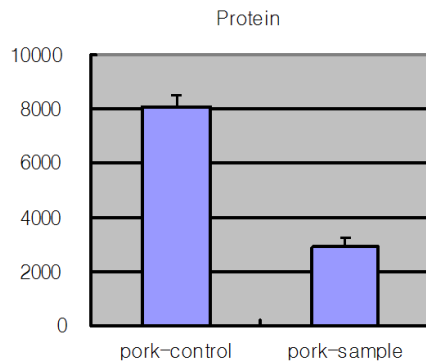


그림 4. 키토산 혼합물 첨가사료를 먹인 돼지고기와 먹이지 않는 돼지고기 지방조직에서의 생체광자량 측정결과 비교 3분간 조직을 측정

Fig. 4 Typical raw data (a) for biophoton rate from pork Fat between the general (control F) and chitosan-additive (sample F). In this case measurement was done for 3 min in order to acquire reliable data. The figure (b) clearly depicts the pork-control and pork-sample dependency of chemiluminescence intensity



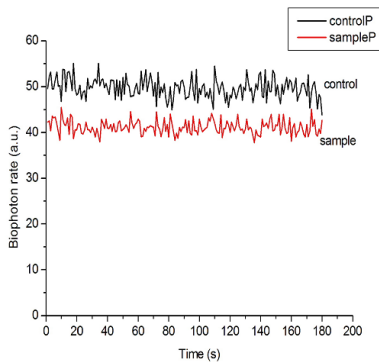


그림 5. 키토산 혼합물 첨가사료를 먹인 돼지고기와 먹이지 않는 돼지고기 단백질 조직에서의 생체광자량 측정결과 비교 3분간 조직을 측정

Fig. 5 Typical raw data (a) for biophoton rate from pork protein between the general and chitosan-additive. In this case measurement was done for 3 min in order to acquire reliable data. The figure (b) clearly depicts the pork-control and pork-sample dependency of chemiluminescence intensity

한 외국산 육류들과의 비교 측정에까지 활용될 수 있는 새로운 기기 분석법으로 널리 사용될 수 있는 가능성이 있다는데 그 의미가 있으며 첨단기기 분석법의 제시에 새로운 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 감사의 글

본 연구는 의료법인 세양의료재단과 사단법인 천수산약초 연구회의 지원과 광주여대, 부경대 산학협력단과 공동으로 수행되었음

#### 참고 문헌

[1] C.-B. An and E.-H. Lee, "Utilization of chitin prepared from the shellfish crust, Effect of chitosan film packing on quality of lightly-salted and dried horse mackerel," *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, vol. 25, no. 1, Jan. 1992, pp. 51-57.

[2] B. Park, K. Kim, K. Kim, and T. Shon, "pH-responsive hydrogels composed of chitosan and poly( $\gamma$ -glutamic acid) by EDC/

NHS cross-linking for controlled drug release : Preparation, characterization and drug release behavior," *J. chitin and chitosan*, vol. 13, no. 1, Jan. 2008, pp. 40-47.

[3] B. Cheun and J. Yoo, *The History of Science*. Yoohanmunhwasa, Yuhansa, 2011, pp. 97-106.

[4] V. E. Foe, "Mitotic domains reveal early commitment of cells in *Drosophila* embryos," *Development*, vol. 107, no. 2, Mar. 1989, pp. 1-22..

[5] F. Popp, W. Nagel, and H. Klima, "In Coherent Excitations in Biological Systems," edited by H. Froehlich, and F. Kremer, Berlin, Heidelberg, New York, and Tokyo : Springer, Oct. 1983. pp. 222–224.

[6] J.-S. Wang, J.-H. Park, O.-K. Moon, N.-J. Kim, J.-H. Choi, and J.-S. Kim, "The Effect of Needle Electrode Electrical Stimulation Following Global Ischemia on the Suppression of Apoptosis in the Cerebellum," *J. of The Institute of Electronic Communication Sciences*, vol. 8, no. 12, Dec. 2013, pp. 1949-1958.

[7] F. A. Popp, B. Ruth, W. Bahr, J. Bohm, P. Grass, G. Grolig, M. Rattemeyer, H. G. Herzog, Z. Yan, and Y. Yan, "Delayed luminescence of biological system in terms of coherent states," *Phys. Lett. A*, vol. 375, no. 20, Nov. 2011, pp. 2531-2532.

[8] S. Kai, T. Ohya, K. Moriya, and T. Fujimoto, "Growth Control and Biophoton Radiation by Plant Hormones in Red Bean," *J. Appl. Phys.*, vol. 34, no. 12, Dec. 1995, pp. 6530-6531.

[9] T. Amano, M. Kobayashi, B. Devaraj, M. Usa, and H. Inaba, "Ultraweak biophoton emission imaging of transplanted bladder cancer," *Urol. Res.*, vol. 23, no. 5, Nov. 1995, pp. 315-318.

[10] F. Popp, *Electromagnetic Bio-information*. edited by F. Popp, G. Becker, H. L. Konig, and W. Peschka, Munchen: Urban and Schwarzenberg, Apr. 1979. pp. 102-109.

[11] M. Kobayashi, M. Takeda, K. Ito, H. Kato, and H. Inaba, "Two-dimensional photon counting imaging and spatiotemporal characterization of ultraweak photon emission from a rat's brain in vivo," *J. Neuroscience Method*, vol. 93, no. 5, Dec. 1999, pp. 163-168.

[12] B. Cheun and J.-H. Min, "Development and Application of Non-Destructive-Type Device of



Ingredients in Mulberry Leaf Tea," *J. of The Institute of Electronic Communication Sciences*, vol. 8, no. 10, Nov. 2013, pp. 1595-1600.

- [13] M. Kobayashi, M. Takeda, T. Sato, Y. Yamazaki, K. Kaneko, K. Ito, H. Kato, and H. Inaba, "In vivo imaging of spontaneous ultra-weak photon emission from a rat's brain correlated cerebral energy metabolism and oxidative stress," *Neuroscience Research*, vol. 34, no. 5, Dec. 1999, pp. 97-103.
- [14] H.-E. Ko, J.-J. Park, K.-J. Lee, E.-H. Lee, and M.-H. Oh, "The effect of action-observational physical training based on mirror neuron system on upper extremity function and activities of daily living in stroke patient," *J. of The Institute of Electronic Communication Sciences*, vol. 9, no. 1, Jan. 2013, pp. 123-130.
- [15] B. S. Chacce, H. Sies, and A. Boveris, "Hydroperoxide metabolism in mammalian tissues," *Physiol. Rev*, vol. 59, no. 3, Oct. 1979, pp. 527-605.
- [16] D. Bagchi, E. Hassoun, M. Bagchi, and S. Stohs, "Chromium-induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA damage, nitric oxide production, and generation of reactive oxygen species in sprague-Dawley rats," *Comp. Biochem. Physiol*, vol. 110, no. 6, Dec. 1995, pp. 177-187.
- [17] S. Suzuki, *Chitin and Chitosan* The Japanese society of Chitin and Chitosan, Aug. 1982, pp. 107-116.

## 저자 소개

### 민재호(Je-Ho Min)



2002년 원광대학교 동양학대학원 동양학과 졸업(동양학석사)  
 2010년 원광대학교 불교학과(氣學) 박사과정 수료

2013년 조선대학교 보원대체의학과 박사과정 수료  
 2009년~현재 광주여자대학교 대체의학과 교수  
 ※ 관심분야 : 補完代替醫學, 經穴學, 氣功學, 氣學

### 유종수(Jong-Su Yoo)



1994년 서울대학교 대학원 생물학과 졸업(이학 박사)  
 전) 한국해양과학기술진흥원(KIMST) 산업진흥본부장

전) 한국해양대학교 전임연구 교수  
 현재 부경대학교 LINC사업단 교수  
 ※ 관심분야 : 생명공학, 플랑크톤, 생물학

### 천병수(Byeung-Soo Cheun)



1983년 서울대학교 물리학과졸업, 동경 명치대학 천연물유기화학학과 졸업(이학사)  
 1987년 동경대학교 대학원 자원화학과 졸업(이학석사)

1991년 동경대학교 대학원 응용미생물학과 졸업(이학박사)  
 전) 경희의대, 연세의대 교수, 현) 서울대학교 재직중  
 2013년~현재 세양 의료재단 이사장  
 ※ 관심분야 : 생화학적대사, 생명공학, 유전자재조합, 암연구, 산약초연구, 생리활성물질, 기능성식품