

## 감마선 조사에 의한 고로쇠 수액의 효율적인 저장방법

†서상태 · 오혜영 · 강하영

국립산림과학원

### Efficient Storage of Gorosoe(*Acer mono* Max.) Sap by Gamma Irradiation

†Sang-Tae Seo, Hye-Young Oh and Ha-Young Kang

Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

#### Abstract

Effects of gamma irradiation on microbiological changes of Gorosoe sap were characterized during a post-irradiation storage at 4°C. The aseptically collected sap was irradiated and stored at 4°C for 0 to 60 days and analysed for standard plate counts and 16S rDNA. There were significant differences in the total number of colony forming units(CFU) of bacteria between irradiated and non-irradiated control sap. Bacteria of non-irradiated sap were present at levels of  $1.5 \times 10^4 \sim 2.3 \times 10^8$  CFU/ml, whereas no viable microbial cells were detected in sap after 10 kGy of irradiation during storage. According to the 16S rDNA sequence analysis, bacterial community structures decrease with time and the most abundant strain was *Pseudomonas* species. Our results suggested that gamma irradiation can be used to enhance the shelf-life of Gorosoe sap.

Key words : Gorosoe sap, gamma irradiation, 16S rDNA

#### 서 론

고로쇠나무(*Acer mono* Max.)는 단풍나무 과에 속하는 낙엽교목으로 한국, 중국, 일본, 그리고 만주에 천연적으로 분포하고 있으며(Moon & Kwon 2004), 우리나라에는 현재 18종의 단풍나무류가 자라고 있는데, 목재의 재질은 치밀하고 무거우며 단단하고 질긴 성질을 가지고 있기 때문에 가구재, 약기재, 건축재 등으로 이용되기도 한다(Park 등 1989). 우리나라에서 건강음료로 음용되고 있는 수종은 단풍나무과의 고로쇠나무와 당단풍, 자작나무과의 자작나무, 거제수나무, 박달나무, 시스래나무 등이며(Kwon SD 2003), 이들 수종의 수액 중 97%가 고로쇠나무 수액이다(Korea Forest Service 2002).

고로쇠나무의 수액은 예전부터 위장병, 신경통, 고혈압 등에 약효가 있다고 알려져 있다(Kim 등 1991; Yoon 등 1992). 수액에는 각종 미네랄, 마그네슘, 칼슘 등이 풍부하게 함유되어 있으며 특히, 4대 미네랄이라 일컫는 칼슘(Ca), 칼륨(K),

마그네슘(Mg), 나트륨(Na)이 전체 무기성분의 94%를 차지하고 있다. 전남의 백운산과 지리산 지역에서는 오래 전부터 건강음료로 이용되어 왔으며, 최근까지도 경칩을 전후로 2주간의 특정시기에 채취된 수액이 약효가 크다고 보고되고 있다(An 등 1998). 그러나 수액의 저장성 문제는 음용객 수요의 감소로 이어져 수액 채취자에게 수입 증대를 저해하는 중요요인이 되고 있다. 또한, 수액 채취자는 수액의 변질 방지를 위하여 일정기간 저장할 수 있는 냉장시설을 대부분 보유하지 못하여, 공급이 원활히 이루어지지 않고 있다(An JM 등 1998). 우리나라는 고로쇠 수액을 음료로서 이용하기 위한 유통과 판매 등의 산업화가 이제 걸음마 수준이며, 무균 상태로 장기간 저장할 수 있는 캔 음료 개발이 최근에 시도되고 있다(Moon 등 2004). 또한 Oh 등(2009)은 열처리 후 -20°C 보관으로 저장 중 세균의 증식을 억제할 수 있다고 보고하였다.

방사선 조사기술은 현재 국제기구와 선진 여러 나라에서 안전성과 경제성이 인정되어 여러 국가에서 식품 방사선 조

† Corresponding author: Sang-Tae Seo, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea. Tel: +82-2-961-2667, Fax: +82-2-961-2679, E-mail: stseo@forest.go.kr

사를 허가하고 있으며(FAO/IAEA/WHO Study Group 1999), 우리나라도 1987년 방사선에 대한 식품 조사가 허가되었고, 현재 20개 이상의 품목이 허가되어 있다(Korea Food and Drug Administration 2004). 방사선 조사는 포장 후 살균이 가능하고 식품에 잔류독성이 전혀 없으며 식품 고유의 풍미와 품질을 유지할 수 있는 기술이어서(Byun MW 1997), 국제적으로 방사선 조사 기술의 산업적 활용은 크게 신장되고 있다(FAO/IAEA/WHO Study Group 1999).

따라서 본 연구에서는 고로쇠 수액의 효율적인 저장과 유통, 판매에 필수 불가결한 저장성을 개선하고자 감마선 처리 후 세균수의 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 채취 및 감마선 조사

수액 시료는 2009년 3월 19일 강원도 인제의 고로쇠나무로부터 채취하였으며, 채취된 시료는 아이스박스에 담아 운반하여 채취 당일 질소충진 및 비충진 알루미늄 캔으로 보관하였다.

수액 캔에 대한 감마선 조사는 (주)소야그린텍에 의뢰하여 실시하였으며, 감마 조사기는 High Performance Tote Type(IR-203, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온에서 5 kGy, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 5 kGy 처리 소요시간은 3시간 40분이었으며, 10 kGy는 5 kGy의 선량율로 두 번 처리하였다. 흡수선량의 확인은 Harwell amber perspex dosimeter(Type 3040D, UKAEA)를 사용하였다. 감마선 조사는 캔으로 제조 후 바로 하였으며, 감마선 비조사 대조구와 함께 4°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

### 2. 총 세균수 조사

고로쇠 수액의 세균수는 표준평판계수법(Standard plate count)으로 확인하였다. 수액 캔을 멸균상태에서 개봉한 후 수액을 멸균증류수에 단계별로 희석하였으며, 단계별로 희석된 용액을 Nutrient Agar(Difco, USA)에 도말하여 25°C에 2일간 배양한 후 집락수가 30~300개가 형성된 배지의 것을 계

수하여 colony forming unit(CFU/ml)로 나타내었다. 방사선 처리 후 15일 간격으로 60일까지 세균수를 확인하였다.

### 3. 염기서열 분석 및 동정

각 조건별로 dilution plating법을 이용하여 도말한 후 25°C에 2일간 배양한 후 나타나는 colony 수가 20~30개 정도의 plate를 선택하여 모든 colony를 순수 분리하여 염기서열 분석에 이용하였다. 분리한 세균의 total DNA는 InstaGene™ Matrix(BIO-RAD)를 이용하여 추출하였으며, 16S rDNA 유전자 증폭에는 primer 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')를 이용하였다(Blackall LL 1994). PCR 조건은 94°C에서 4분 반응시키고 94°C 4분, 56°C 1분, 72°C 3분을 1 cycle로 하여 35 cycles 반복하고 72°C에서 10분 반응시켰다. 증폭된 유전자는 PCR Purification Kit(QIAGEN)를 사용하여 정제 후 염기서열 분석에 이용하였다. 염기서열 분석은 ALF-Express automatic sequencer(Pharmacia biotech, Lyon, France)를 이용하였으며, 염기서열 비교분석은 NCBI BLAST search 프로그램을 이용하여 동정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 감마선 조사와 총 세균수

저장기간별, 감마선 처리별 총 세균 수는 Table 1, 2와 같았다. 0일차 감마선 무처리 수액의 총 세균수는 질소 비충진 수액에서는  $1.5 \times 10^4$  CFU/ml였으며, 질소 충전 수액에서는  $2.4 \times 10^6$  CFU/ml를 나타내었다. 이 결과는 국내 먹는 물 수질 기준인 일반세균  $1.0 \times 10^2$  CFU/ml보다 높은 수준인 것으로 나타났다. 감마선 무처리 수액의 경우 저장 기간이 지남에 따라 총 세균수가 증가하는 경향을 보였는데, 최대  $2.3 \times 10^8$  CFU/ml까지 증가하였으며, 일반 저장온도인 4°C에서도 세균의 증식을 확인할 수 있었다. 그러나, 감마선 10 kGy 처리 수액에서는 세균이 검출되지 않았다(Table 1, 2). 감마선 5 kGy 처리 시 수액시료에 따라 세균이  $5.5 \sim 6.9 \times 10^3$  CFU/ml 검출되었는데(Table 1, 2), 이는 감마선 처리시 많은 양의 캔을 쌓아서 처리하는 중 시료의 중앙에 있는 캔까지 감마선이 조사되지 않은 결과로 판단되었다. High Performance Tote Type의 운반

Table 1. Effect of gamma irradiation on bacterial cells of Gorosoe sap

Date	Storage	Non-Tret.	5 kGy	10 kGy
0 day	-	$1.5 \times 10^4$ CFU/ml	0	0
15 day	4°C	$3.7 \times 10^6$ CFU/ml	0	0
30 day	4°C	$1.3 \times 10^8$ CFU/ml	0	0
45 day	4°C	$3.9 \times 10^7$ CFU/ml	0	0
60 day	4°C	$1.5 \times 10^7$ CFU/ml	$5.5 \times 10^3$ CFU/ml <sup>-1</sup>	0

Table 2. Effect of gamma irradiation on bacterial cells of Gorosoe sap filled with nitrogen

Date	Storage	Non-Tret.	5 kGy	10 kGy
0 day	-	$2.4 \times 10^6$ CFU/ml	0	0
15 day	4°C	$8.1 \times 10^7$ CFU/ml	0	0
30 day	4°C	$1.0 \times 10^8$ CFU/ml	$6.9 \times 10^3$ CFU/ml	0
45 day	4°C	$2.3 \times 10^8$ CFU/ml	0	0
60 day	4°C	$7.4 \times 10^7$ CFU/ml	0	0

상자(tote)는 알루미늄 재질로 내부 공간이 82.5×54.0×150 cm 였으며, 보다 정확한 방사선 조사량을 알기 위해서 도시미터를 표면과 중앙에 설치하여 재 실험 계획 중이다.

## 2. 16S rDNA Sequencing을 통한 세균군집 조사

감마선 무처리 질소 비충진 수액의 저장 중 나타나는 세균 군집의 변화는 16S rDNA sequencing을 이용하여 조사하였다 (Fig. 1). 먼저 0일차에서는 8종류의 세균이 분포하고 있었으며, 그 중 *Pseudomonas* sp.가 25%, Marine bacterium 10.4%, *Janthinobacterium* sp. 8.3% 등이 관찰되었다. 15일차에서는 8종류의 세균 중에 4종류만이 나타났으며, 0일차에서 8.3% 관찰된 *Rahnella* sp.가 41.6%로 크게 증가하였다. 30일차에서는 *Pseudomonas* sp.가 42.8%로 우점하였고, 0일차와 15일차에 나타나지 않았던 *Epilithonimonas* sp.가 14.2% 관찰되었다. 45일차에서는 *Rahnella* sp.와 *Pseudomonas* sp. 두 세균이 50%씩

우점을 하였다. 60일차에서는 4종류의 세균이 관찰되었다. 4°C에서 60일간 저장 중에 나타난 세균 중 *Pseudomonas* sp.만이 모든 시료에서 관찰되었다. Lagace 등(2004)도 설탕단풍나무 수액에서 그람음성균인 *Pseudomonas* sp.가 높은 밀도로 존재한다고 보고하였다. Oh 등(2009)도 고로쇠 수액에서 *Pseudomonas* sp.가 일반적으로 검출 빈도가 높다고 보고하였으며, 저장 기간이 지남에 따라 세균의 다양성이 감소하는 것도 이번 연구 결과와 일치하였다. 그러나, Oh 등(2009)은 저장 기간이 지남에 따라 *Chryseobacterium* sp.가 우점하는 것으로 보고하였는데, 이번 연구에서는 *Chryseobacterium* sp.가 검출되지 않았다. 이 결과는 고로쇠 수액 시료 및 실험방법의 차이, *Chryseobacterium* sp.의 감마선에 대한 민감도 등 다양한 원인이 있을 것으로 생각되며, 이에 관한 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

이번 연구는 감마선 처리로 수액의 저장성을 높일 수 있는 결과를 보여주고 있으며, 이는 수액의 유통, 판매 등의 산업화를 위한 기초 자료로 이용될 수 있을 것이다.

## 결론

본 연구에서는 고로쇠 수액의 장기간 저장시 나타나는 총 세균수 및 세균군집의 변화를 확인하고, 감마선 조사에 따른 수액의 효율적인 저장방법을 확인해 보았다. 총 세균수 및 세균군집의 변화는 dilution plating법과 16S rDNA sequencing을 이용하였으며, 감마선 조사는 Co-60으로 처리하였다. 수액을 채취한 직후 수액내의 세균 수는  $1.5 \times 10^4 \sim 2.4 \times 10^6$  CFU/ml 이었으나, 저장 기간이 지남에 따라 최고  $2.3 \times 10^8$  CFU/ml까지 증가하였다. 16S rDNA 염기서열 분석 결과, 저장 기간이 지남에 따라 세균의 다양성은 감소하였으며, *Pseudomonas* sp.가 일반적으로 관찰되었다. 반면, 감마선 10 kGy 처리시 수액의 저장 기간 중 세균은 관찰되지 않았다.

## 참고문헌

An JM, Kang HM, Kim JS. 1998. A study on the collection and marketing structure of sap water of *Acer mono*. *J Korean*

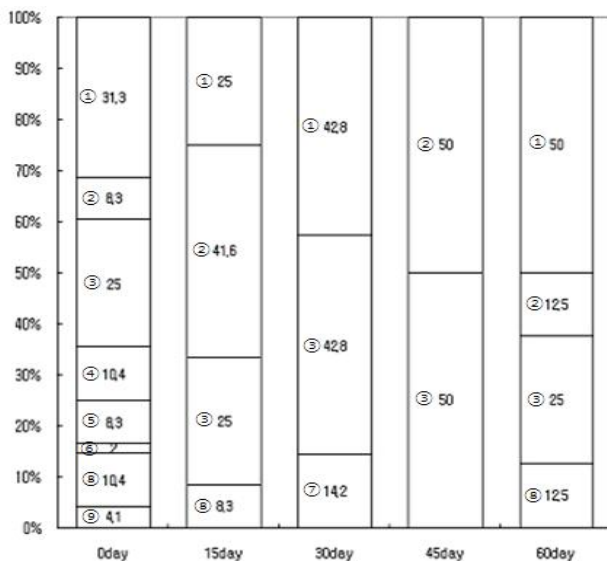


Fig. 1. Distribution(%) of bacterial species during the storage of Gorosoe sap at 4°C. ① Uncultured bacterium ② *Rahnella* sp. ③ *Pseudomonas* sp. ④ Marine bacterium ⑤ *Janthinobacterium* sp. ⑥ *Flavobacterium* sp. ⑦ *Epilithonimonas* sp. ⑧ Bacterium TLCL3 ⑨ Antarctic bacterium.

- For Soc* 87:391-403
- Blackall LL. 1994. Molecular identification of activated sludge foaming bacteria. *Water Sci Technol* 29:35-42
- Byun MW. 1997. Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Sci* 30:89-100
- FAO/IAEA/WHO Study Group. 1999. High-dose Irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. pp.890. World Health Organization, WHO technical report series
- Kim CM, Jung DL, Seo HJ. 1991. A study on the ingredients in the sap of *Acer mono* Max and *Betula costata* T. in Mt. Jiri area. *J Korean Soc Food Nutr* 20:479-482
- Korea Food and Drug Administration. 2004. Food Codex. pp.126-130. Munyoungsa. Seoul. Korea
- Korea Forest Service. 2002. Statistical Yearbook of Forestry. 32:407
- Kwon SD. 2003. A study on the sap of *Acer mono*, *Acer mono* for. *rubripes* and *Acer okamotoanum*. Unpublished doctoral dissertation, Gyeongsang Uni
- Lagace L, Pitre M, Jacques M, Roy D. 2004. Identification of the bacterial community of maple sap by using amplified ribosomal DNA (rDNA) restriction analysis and rDNA sequencing. *Appl Environ Microbiol* 70:2052-2060
- Moon HS, Kwon SD. 2004. Sap collection and major components of *Acer okamotoanum* Nakai native in Ullundo. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12:249-254
- Moon HS, Park SB, Kwon SD, Koo JU. 2004. Bleeding of painted maple in Mt. Jiri area and component analysis. *Korean J Ecol* 27:263-267
- Oh JH, Seo ST, Oh HY, Hong JS, Kang HY. 2009. Analysis of the bacterial community during the storage of Gorosoe (*Acer mono* Max.) sap. *Korean J Food & Nutr* 22:492-496
- Park HS, Song WD, Na CS. 1989. Relationship with sap volume, growth and temperature in Mt. Baekun area. *Report of Forest Bleeding Research* 25:30-34
- Yoon SL, Jo JS, Kim TO. 1992. Utilization and tapping of the sap from birches and maples. *Mokchae Konghak* 20:15-20

---

(2010년 2월 23일 접수; 2010년 3월 23일 채택)