

염화나트륨 농도가 느타리 자실체의 아미노산과 향기성분에 미치는 영향

이상철¹ · 편하영¹ · 박윤진² · 오탈석¹ · 장명준^{1*}

¹공주대학교 식물자원학과

²두과농비자원연구센터

Effect of sodium chloride on the growth, amino acid content, and fragrance patterns of *Pleurotus ostreatus*

Sang-Chul Lee¹, Ha-Young Pyeon¹, Youn-Jin Park², Tae-Seok Oh¹, and Myoung-Jun Jang^{1*}

¹Department of Plant Resources, Kongju National University, Gongju/ Cheonan/ Yesan, South Korea

²Kongju National University Legumes Green Manure Resource Center, Gongju/ Cheonan/ Yesan, South Korea

ABSTRACT: We investigated the effect of sodium chloride-associated abiotic stress on the development of *Pleurotus ostreatus*. We examined the growth characteristics of fruiting bodies, constituent amino acids, and fragrance pattern to determine the effect of culturing *Pleurotus ostreatus* on a sawdust substrate supplemented with sodium chloride in a dose-dependent manner. *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies exhibited an increasing tendency towards augmented yields when grown in the presence of 0.5% sodium chloride as compared with that grown in the control group. However, increasing the supplementation of sodium chloride from 1.0 % to 2.0% resulted in significantly decreased yields of *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies in these groups as compared with that in control groups. Further assessment revealed the presence of 14 types of amino acids in the fruiting bodies, including aspartate, threonine, serine, glycine, alanine, methionine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tyrosine, lysine, histidine, and arginine, at lower levels in all the sodium chloride-treated groups than in the control group; except for glutamic acid and proline. Similarly, fragrance pattern analysis of the *Pleurotus ostreatus* fruiting body by chromatography confirmed that the intensity of the substances presumed to be octane compounds, to which the unique flavor of mushrooms is attributed, was lower in all the sodium chloride-treated groups than in the control group.

KEYWORDS: Amino acid, Fragrance pattern, *Pleurotus ostreatus*, Sodium chloride

서론

느타리(*Pleurotus ostreatus*)는 국내 생산 및 소비량이 가장 많은 버섯으로(Lee *et al.*, 2021), 국내 버섯의 총 생산량은 농촌진흥청의 보고에 따르면 2019년 152,853 톤이며, 그중 느타리는 48,327 톤으로 국내에서는 느타리의 생산량이 가장 높은 것으로 조사되었다(Kim and Shin, 2021). 또한 느타리는 2019년 기준 국내 버섯 재배면적의 29%, 생산량의 29%를 차지하면서 재배면적이 가장 높다고 할 수 있으며(Ministry of agriculture, food and rural affairs, 2019), 느타리의 재배는 톱밥을 이용한 병재배가 주를 이루고 있고, 그 중 포플러톱밥이 많이 사용된다(Lee *et al.*, 2018). 최근 고농도의 염분이 녹아있는 토양이나 간척지에서 이용되고 있는 속성수 중 하나인 포플러나무는(Lee *et al.*, 2017) 간척지에 포플러나무 식재 시

J. Mushrooms 2021 December, 19(4):310-315
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2021.19.4.310>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science
 Sang-Chul Lee (Student), Ha-Young Pyeon (Student), Youn-Jin Park (Research professor), Tae-Seok Oh (Professor), and Myoung-Jun Jang (Professor)

*Corresponding author
 E-mail : plant119@kongju.ac.kr
 Tel : +82-41-330-1204

Received November 24, 2021
 Revised December 3, 2021
 Accepted December 15, 2021

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

포플러나무 내의 염화나트륨 함량이 증가하고 토양 염분 농도는 낮아지는 연구결과로 보아(Lee *et al.*, 2018), 포플러나무의 염분흡수능이 높고, 버섯재배에 이용되는 톱밥 내에도 염화나트륨이 유입될 수 있다는 것이 시사된다. 포플러나무는 느타리의 재배에 이용되는 톱밥 원재료 중 하나로, 오염지역에 식재된 포플러나무를 수확 후 버섯배지로의 이용방안을 마련하기 위한 연구가 보고 되어있다(Korea forest service, 2006; Korea forest service, 2008).

식물의 높은 염분은 생장과 발달 저해, 품질 감소의 주된 요인으로 작용한다(Mahajan and Tuteja, 2005)고 알려져 있다. 느타리 재배 시 농도별 처리한 염화나트륨은 느타리의 생육에 영향을 주어 형태적 변화, 생리적인 저해를 야기하는지, 또 버섯의 향 성분이 가공, 저장 및 수확 시기(Lee *et al.*, 1995) 등에 변화의 폭이 큼에 따라 염화나트륨처리 여부에 의해서도 향 성분에 영향을 줄 수 있는지 확인해보기 위해 느타리의 생육특성과 구성아미노산 함량 변화, 향기패턴 분석을 진행하였다.

재료 및 방법

종균제조 및 배양

본 실험에 사용한 느타리는 경기도농업기술원 친환경미생물연구소에서 분양받은 '흑타리' 품종으로, PDA (Potato Dextrose Agar, Difco™, USA)배지에서 7일간 배양하였으며, 포플러톱밥과 미강이 80:20 (v/v)으로 혼합된 배지를 850 mL polypropylene 병에 넣어, 멸균한 후 접종하여 30일간 배양 한 후 평균적으로 사용하였다.

톱밥배지 제조 및 생육환경 조절

실험에 사용된 톱밥배지는 포플러톱밥:비트펄프:면실박을 50:30:20 (v/v)으로 조절하여 사용하였다. 무처리구 및 염화나트륨(Sodium chloride : SC) (DAEJUNG, Korea)농도를 각각 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%로 조절한 후, 교반기를 이용하여 수분함량을 $65 \pm 2\%$ 으로 배합한 톱밥배지를 850 mL polypropylene 병에 염화나트륨농도별로 입병하고, 고압멸균기(HIRAYAMA, HVA-85, Tokyo, Japan)를 사용하여 121°C, 60분간 멸균 후 접종하여 23°C에서 30일간 배양하였다. 전체 배지 중 70% 정도가 배양이 완료되었을 때, 온도 20°C, 상대습도 95%, CO₂ 3,000ppm의 환경에서 발이를 유도하였다. 전체 배지의 70% 이상이 원기가 고르게 형성되었을 때부터는 온도와 CO₂를 점진적으로 하향하여, 온도 15~20°C, 상대습도 95%, CO₂ 3,000~700 ppm 범위에서 갓의 크기가 3 cm 정도 될 때까지 8~11일간 생육한 후 수확하였다.

수량 및 생육특성 조사

염화나트륨처리농도별로 수확한 느타리는 농촌진흥청의 농업과학기술 연구조사분석기준(2012)의 느타리 항목

을 참조하여 조사를 진행하였다.

자실체 건조

염화나트륨처리농도별 생장한 자실체를 열풍건조기(MCO-800, Hanmi Hightech, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 80°C, 2일간 열풍건조한 시료를 구성아미노산 함량과 향기패턴 분석에 이용하였다.

구성 아미노산 함량 분석

자실체의 구성 아미노산 함량 분석을 위한 전처리 과정으로 건조된 시료 0.05 g에 6 N HCl 1 mL를 혼합 후 질소충전 하고, 충전된 시료를 110°C에서 24시간 동안 가수분해 하고, 80°C, 24시간 동안 건조하였다. 건조된 시료는 자동아미노산 기기(L-8900, amino acid autoanalyzer, hitachi, Tokyo, Japan)에 주입하였다. 실험에 사용한 표준용액은 amino acids mixture standard solution, Type H (019-08393, Wako, Japan)이며, 16종의 아미노산 중 proline만 440 nm에서 측정하고, 나머지 15종(aspartate, threonine, serine, glutamic acid, glycine, alanine, methionine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tyrosine, lysine, histidine, arginine)은 570 nm에서 측정하였다. Sample injection volume은 20 uL, 발색용액은 ninhydrin solution (Wako, Japan)을 사용하였으며, 분석시간은 30분으로 조절하였다.

향기패턴 분석

Electronic nose 전용 vial에 건조된 느타리 자실체를 1 g씩 처리구별로 조절하여 80°C, 5분간 방치한 후 분석을 진행하였다. electronic nose (Alpha MOS, Heracles II, Toulouse, France) 조건은 분석시간 170분, 센서 온도 20°C, 주입구 온도 30°C, 시작온도 30°C, 한계온도 120°C, 분당 상승온도 3°C로 설정하여 진행하였다. retention time별 intensity의 peak는 chromatogram으로 나타내었으며, 분석을 진행한 electronic nose는 FID (flame ionization detectors)와 두개의 column (DB-5, DB-1701)이 연결되어 있는 GC type 장비를 사용하였다.

결과 및 고찰

염화나트륨 농도별 느타리 자실체의 수량 및 생육특성

염화나트륨 첨가농도별 느타리 자실체의 수량은 무처리구에서 225.2 g, 0.5%처리구에서 243.6 g으로 나타나 대등한 값을 보였으나, 수량이 1.0%처리구 139.1 g, 1.5%처리구 119.9 g, 2.0%처리구에서는 87.5 g으로 감소하여, 염화나트륨 첨가 1.0% 이상에서 농도가 증가함에 따른 수량감소가 확인되었다(Table 1, Fig. 1). 또한 처리구별 대의 길이는 무처리구 대비 0.5%, 1.0%, 1.5%처리구에서는 대등한 값을 나타내었으나, 2.0%에서는 그 값이 감소함을

Table 1. Yield and growth characteristics of *Pleurotus ostreatus* fruiting body by sodium chloride concentration

Sodium chloride(%)	Yield (g/bottle)	DP*	TP	LS	TS
		(mm)			
0	225.2 ^a	44.6 ^{Ns}	3.2 ^{Ns}	52.6 ^{Ns}	15.4 ^{Ns}
0.5	243.6 ^a	47.6	4.0	51.0	16.6
1.0	139.1 ^b	39.3	2.9	53.7	14.3
1.5	119.9 ^b	37.8	2.6	51.9	15.8
2.0	87.5 ^b	40.6	3.2	47.7	14.6

*Mean separation within columns by DMRT at $p < 0.05$

ns Not significantly different at 5 % level

DP, Diameter of pileus; TP, Thickness of pileus; LS, Length of stipe; TS, Thickness of stipe

확인하였으며, 그 외 갖의 지름과 두께, 대의 두께에서는 큰 차이가 없었다.

염화나트륨 농도에 따른 느타리의 생장은 0.5% 처리까지는 영향을 주지 않았으나 1.0% 처리에서 성장속도가 무처리 대비 감소, 5.0%에서 생장이 이루어지지 않은 이전의 연구결과(Jhune *et al.*, 2009)와 일치하는 것으로 보아 염화나트륨 농도 1.0% 미만의 처리구는 자실체 성장에 영향을 주지 않아 느타리 재배에 문제가 없다고 판단된다.

구성아미노산 함량

느타리 자실체의 구성아미노산(Structure amino acid) 조성에 염화나트륨이 미치는 영향을 알아보기 위해, 염화나트륨을 농도별로 처리한 톱밥배지에서 수확한 자실체의 구성아미노산 함량분석을 진행하였으며, 분석결과는 Fig. 2과 같다. 무처리구 대비 모든 염화나트륨 처리구에서 glutamic acid는 무처리구 24.2 mg/g, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%처리구에서 각각 22.8 mg/g, 25.3 mg/g, 29.757 mg/

g, 30.4 mg/g으로 나타났으며, proline은 무처리구 3.07 mg/g, 염화나트륨처리구에서는 각각 3.2 mg/g, 3.6 mg/g, 4.08 mg/g, 4.5 mg/g으로 나타나 glutamic acid와 proline의 값이 증가함을 확인하였으나 그 외의 14종 아미노산의 함량은 낮은 값을 나타내어 염화나트륨이 첨가되면 스트레스 환경을 극복하기 위한 반응으로 glutamic acid와 proline함량이 증가되는 것으로 판단된다.

식물체에 염 스트레스가 발생되면 식물체 내 동화산물인 glutamic acid가 축적되고(Skjerdal *et al.*, 1996), 유리 프롤린으로 전환되어 삼투조절제 역할을 하며(Choung *et al.*, 2003), 또한 체내의 방어기작으로 proline합성을 증가하여 수분포텐셜을 조절하는 osmoticum으로도 작용한다(Lee *et al.*, 1998)는 연구결과와 본 연구의 구성아미노산 함량 분석결과와 일치하였다.

자실체 향기패턴

무처리구 및 염화나트륨을 농도별로 처리한 톱밥배지에서 수확한 느타리 자실체 향기패턴을 분석한 결과, Table 2와 같이 octane compound로 추정되는 향 성분과 methyl formate, methanethiol, dichloromethane, ethene, 1-2-dichloro, diisopropyl, acetic acid, methan, acetic acid, butanol, benzene, pentane, dimethyl disulfide, formamide, propylpropanate, butanoic acid, furfural, ethylheptane, heptanone, methional, bromobenzene, benzyl alcohol, butyl pentanoate, 2,4-nonadienal, 5,6,7,8-tetrahydroquinoline, hexylbenzene, butyl octanol로 추정되는 물질이 확인되었다(Ahn and Lee, 1986; Jung and Hong, 1991).

Fig. 3와 같이, 무처리구 대비 모든 염화나트륨 처리구에서 81~87분 peak에서 octane compound로 추정되는 물질의 intensity가 감소됨을 확인하였으며, 이를 통해 염화나트륨이 버섯 고유의 향 성분인 octane compound (Kim *et al.*, 2002)의 강도를 감소시키고 fragrance Components를 변화시키는 것으로 판단되었다.

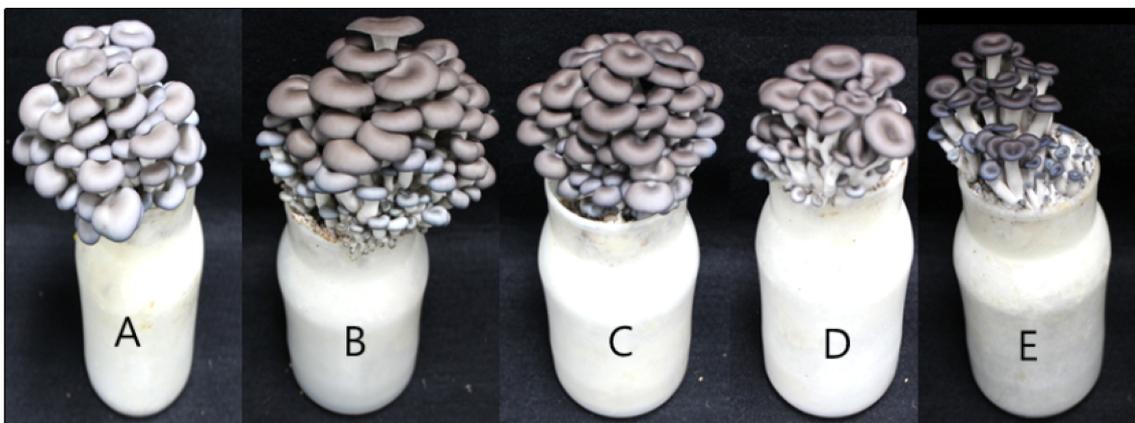


Fig. 1. fruiting body of *Pleurotus ostreatus* on sawdust substrate by sodium chloride concentration. (A: Control, B: Sodium chloride 0.5%, C: Sodium chloride 1.0%, D: Sodium chloride 1.5%, E: Sodium chloride 2.0%)

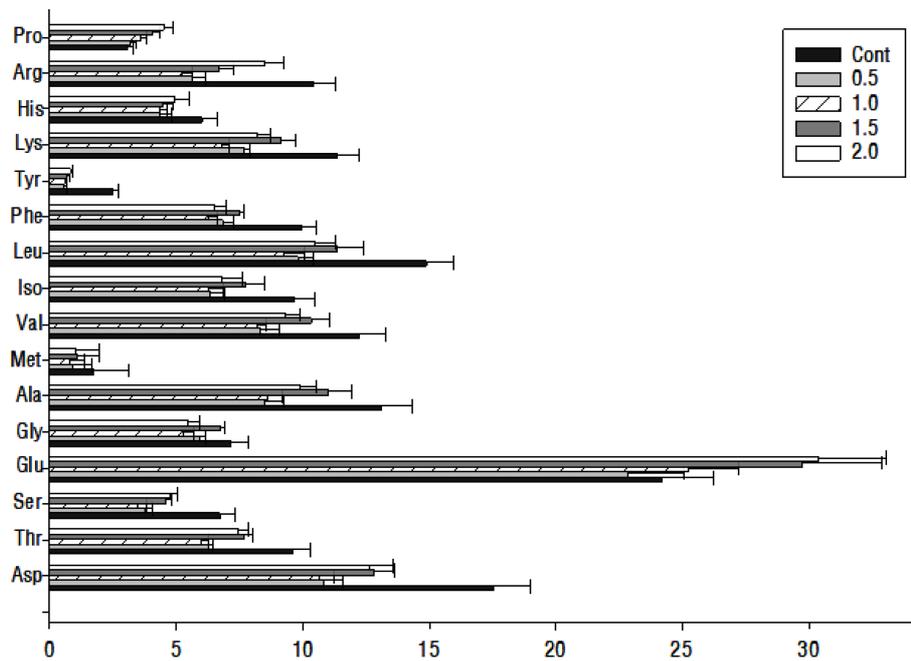


Fig. 2. Structure amino acid of fruiting body for *Pleurotus ostreatus* by sodium chloride concentration.

Table 2. Expected compound of fragrance pattern peaks in *Pleurotus ostreatus* by sodium chloride concentration

Number	Retention time	Expected compound
1	15	Methyl formate
2	17	Methanethiol
3	18	Dichloromethane
4	22	Ethene, 1-2-Dichloro
5	24	Diisopropyl or Acetic acid
6	26	Methan
7	28	Acetic acid
8	32	Benzene or 1-Butanol
9	33	Benzene
10	35	Pentane
11	45	Dimethyl disulfide
12	54	Formamide
13	58	Propylpropanate
14	59	Butanoic acid
15	61	Furfural
16	66	Ethylheptane
17	71	Heptanone
18	72	Methional
19	75	Bromobenzene
20	81~87	2-Octane or 3-Octane
21	93	Benzyl Alcohol
22	99	Butyl Pentanoate
23	113	2,4-Nonadienal
24	115	5,6,7,8-Tetrahydroquinoline
25	121	Hexylbenzene or Butyl octanol

Methyl thioacetate, ethyl (methylthio) acetate, ethyl 3-(methylthio) propanoate와 같은 황함유 ester 화합물은 숙성 호르몬인 ethylene이 발생되는 동안 methionine의 탈아미노반응과 α -keto-(methylthio) butanoic acid의 탈탄산화반응을 포함한 생합성 경로를 거쳐 생성되며(Kim *et al.*, 1998), 육류향이나 버섯분말 및 지질전구체인 methionine (Moon *et al.*, 2011)이 무처리구 대비 염화나트륨 처리구에서 낮은 함량을 나타낸 것을 고려하였을 때, 버섯 고유의 향인 octane compound의 intensity는 methionine함량과 연관이 있는 것으로 판단되며, 향기패턴에 영향을 주는 다른 요인에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

적 요

본 연구는 염화나트륨에 의한 비생물적 스트레스가 생육과정 중의 느타리에게 미치는 영향을 자실체의 생육특성, 그리고 구성아미노산함량과 향기패턴 분석을 통해 확인하였다.

농도별로 염화나트륨을 처리한 톱밥배지에서 수확한 느타리 자실체의 생육특성을 조사한 결과, 처리구별 수량은 무처리구 대비 염화나트륨 0.5%처리구에서의 값은 비슷했으며, 염화나트륨 처리 농도가 1.0%에서 2.0%으로 증가하면서 수량이 확연히 감소하였다.

자실체의 구성아미노산함량 분석결과, 무처리구 대비 모든 염화나트륨 처리구에서 glutamic acid과 proline을 제외한 aspartate, threonine, serine, glycine, alanine, methionine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tyrosine, lysine, histidine, arginine의 14종 구성아미노산

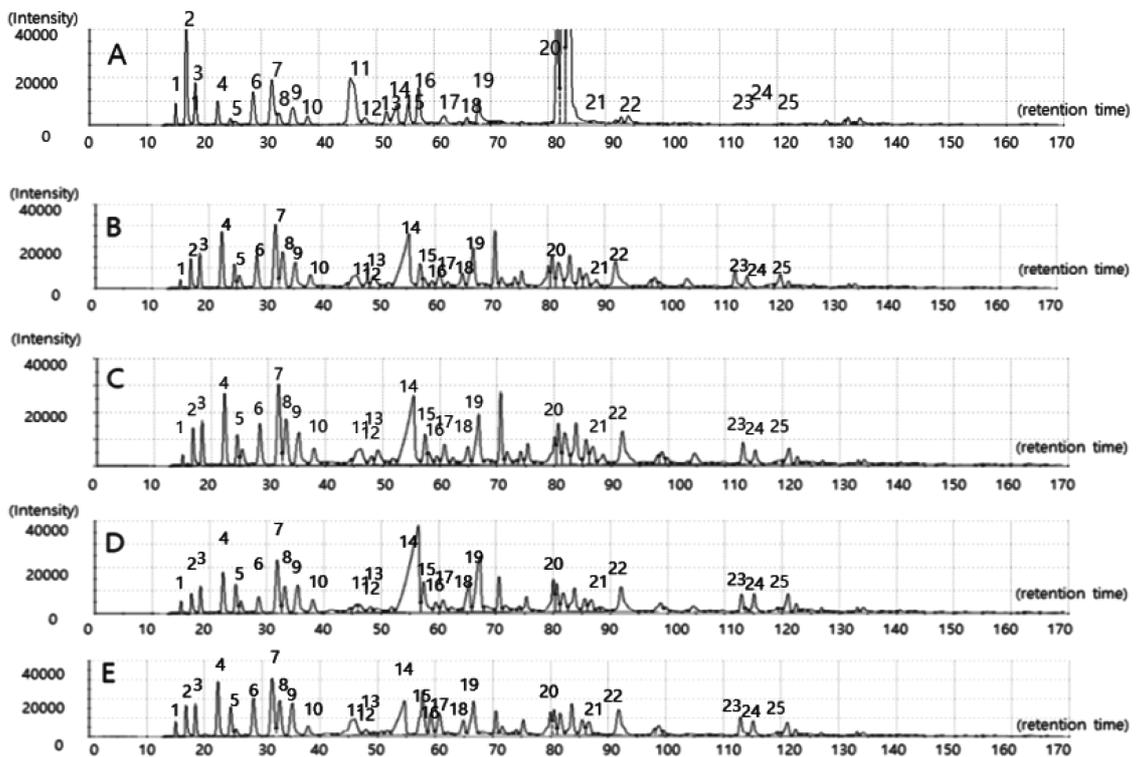


Fig. 3. Fragrance pattern analysis of *Pleurotus ostreatus* by sodium chloride concentration. (A: Control, B: Sodium chloride 0.5%, C: Sodium chloride 1.0%, D: Sodium chloride 1.5%, E: Sodium chloride 2.0%)

의 함량이 낮음을 확인하였다. 자실체의 향기패턴 분석결과, 염화나트륨 처리구에서 버섯고유의 향을 나타내는 octane compound로 추정되는 물질의 intensity가 감소하였음을 chromatography상에서 확인하였다.

감사의 글

이 논문은 2019년 공주대학교 학술연구지원사업의 연구지원에 의하여 연구되었음

REFERENCES

Ahn JS, Lee KH. 1986. Studies on the volatile aroma components of edible mushroom (*Pleurotus ostreatus*) of Korea. *J Korean Soc Food Sci and Nutr* 15: 258-262.

Choung JI, Kim KY, Choi DH, Oh MK, Lee SY, Lee DJ. 2003. Growth responses and proline accumulation by salt treatment in rice cultivars. *J Korean Soc Internat Agric* 15: 288-293.

Jhune CS, Sul HJ, Kong WS, You YB, KIM JH, Cheong JC, Lee CJ. 2009. Effects of NaCl Concentration on Mycelial Growth and Fruiting Body Yields of Oyster Mushrooms, *Pleurotus* spp. *J Mushrooms* 7: 173-181.

Jung ST, Hong JS. 1991. Volatile Components of Oyster Mushrooms (*Pleurotus* sp.) Cultivated in Korea. *Korean J Mycol* 19: 299-305.

Kim EJ, Shin HJ. 2021. Changes in gut microbiota with mushroom

consumption, *J Mushrooms* 19: 115-125.

Kim KS, Kim SS, Kim SM, Park EY, Lee HJ, Jo JO, Kim EA. 1998. Studies on volatile flavor components in domestic plant materials. Ministry of agriculture. *Food and Rural Affairs*. pp. 29-349.

Kim MG, Kim HM, Na US, Yoo SH, Che JK, Hong JS. 2002. Mushroom biology. Hakmunsa. 192-195.

Korea Forest Service 2006. Analysis of poplar exhibit forest and soil leach reduction effect. pp. 3-54.

Korea Forest Service 2008. Developing extended plantation policy of fast. growing trees at landfill. pp. 3-55.

Lee AS, Lee JH, Won HS, Hwang SJ, Lee KJ, Bang KR, Kim KS, Mo YM. 2021. Effect of nitrogen content in media on yield of *Pleurotus ostreatus* in bag culture. *J Mushrooms* 19: 71-75.

Lee CJ, LEE EJ, Park HS, KONG WS. 2018. Growth characteristics and productivity of oyster mushrooms after adding pine tree sawdust obtained from thinning out trees in a forest. *J Mushrooms* 16: 338-341.

Lee HS, Kim HC, Kang JW, Lee WY, Lim HM, Jang KH. 2018. Selection of poplar clones for short rotation coppice in a reclaimed land. *J Agric Life Sci* 52: 21-32.

Lee JG, Do JH, Sung HS, Lee JW. 1995. Volatile flavor components of Korean *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. mushroom. *Appl Biol Chem* 38: 546-548.

Lee JK, Jang JH, Li Yang, Kim HN, Kwak MJ, Khaine Inkyin, Lee TY, Lee HK, Kim IR, Jang GH, Lee WY, Kang HD, Woo SY. 2017. Physiological characteristics of poplar clones in the saemanguem reclaimed land. *J Korean Forest Soc* 106: 186-195.

Lee SG, Shin JS, Seok YS, Bae GK. 1998. Effects of Salt Stress on

- Photosynthesis, Free Proline Content and Ion Content in Tobacco. *Korean J Environ Agric* 17: 215-219.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem and Biophys* 444: 139-158.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs 2018. 2019. Production Performance of Industrial Crop. pp. 64-67.
- Moon JH, Choi IW, Park YK, Kim YS. 2011. Development of natural meat-like flavor based on Maillard reaction products. *Food Sci Animal Res* 31: 129-138.
- Skjerdal OT, Sletta H, Flenstad SG, Josefsen KD, Levine DW, Ellingsen TE. 1996. Changes in intracellular composition in response to hyperosmotic stress of NaCl, sucrose or glutamic acid in *Brevibacterium lactofermentum* and *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol and Biotechnol* 44: 635-642.