Journal of Mushrooms 한국버섯학회지 Research Article

# 전처리 방법에 따른 느타리, 큰느타리 및 팽이버섯 수확후 배지의 당함량 비교분석

김정한[1] · 이윤혜[1] · 지정현[1] · 장명준[2,*]

[1]경기도농업기술원 버섯연구소
[2]공주대학교 산업과학대학 식물자원학과

# Comparison of the saccharide content of spent mushroom (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, and *Flammulina velutipes*) substrates under various pretreatment conditions

**Jeong-Han Kim[1], Yun-Hae Lee[1], Jeong-Hyun Chi[1], and Myoung-Jun Jang[2,*]**

[1]*Mushroom Research Institute, Gyeonggido Agricultural Research & Extension Services, Gwangju 12805, Korea*
[2]*Department of Plant Resources, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea*

**ABSTRACT:** A new method to utilize spent mushroom substrates (SMS) for ethanol production was investigated. Analysis of the chemical properties of SMS revealed that they were decomposed by the mushrooms during cultivation. In particular, the free sugar content in SMS was reduced to half of that in mushrooms. Of the tested SMS, the *Pleurotus eryngii* SMS was determined to be suitable for saccharification. Upon pretreatment with a 1% alkaline solution, *Pleurotus eryngii* SMS achieved 80.7% of its maximum saccharification ratio. The optimum pretreatment conditions for enzyme saccharification were 1% NaOH solution at 120° for 60 min. Further studies are required to determine ethanol production using *Pleurotus eryngii* SMS.

**KEYWORDS:** Enzyme hydrolysis, Glucose conversion rate, *Pleurotus eryngii*, Spent mushroom substrates

## 서 론

우리나라의 농산버섯 생산량은 연간 182,561MT으로 병재배 연중안정 생산체계가 확립된 팽이, 느타리 및 큰느타리가 전체 버섯 생산량의 70%를 차지한다(Ministry of agriculture, food and rural affairs, 2014). 일반적으로 버섯을 생산하고 발생된 수확 후 배지는 버섯 생산량의 약 5배 가량 배출된다고 알려져 있는데(Williams *et al*, 2001; Semple *et al*, 2001), 이를 감안할 때 느타리, 큰느타리 및 팽이에서만 연간 912,805MT이상 배출될 것으로 추정하고 있다. 현재 버섯 수확 후 배지는 작물생산을 위한 퇴비 및 토양개량제로 주로 사용되고, 가축사료용으로 일부 사용되고 있으나, 방치시 침출수로 인한 환경오염원으로 인식되기도 한다.

현재 세계적으로 공급되는 대부분의 에탄올은 설탕과 옥수수로부터 생산되는 전분질계 에탄올이다(Park & Kim, 2011). 그러나 이들은 식량 고갈문제로 인한 장기적인 관점에서의 원료수급의 불안정으로 인한 원료비 상승과 원료확보의 문제점이 나타났으며, 전 세계가 필요로 하는 에탄올 수요량을 충족시킬 수 없다.

이에 최근 목질계 바이오매스에 관심이 주목되고 있는데 이는 지구상에서 가장 풍부한 재생 가능한 자원이기 때문이다. 그러나 목질계 바이오매스는 전분질계에 비하여 자연 당화가 어렵고, 당 생산성이 낮아 경제성을 높일

J. Mushrooms 2016 June, 14(2):70-74
http://dx.doi.org/10.14480/JM.2016.14.2.70
Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
© The Korean Society of Mushroom Science

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

Received May 17, 2016
Revised June 17, 2016
Accepted June 27, 2016

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.

수 있는 전처리 기술 개발이 필수적이다(Kim *et al*., 2005). 버섯 수확 후 배지는 톱밥, 콘코브, 미강, 밀기울, 비트펄프 등 농업 가공부산물이 주요 재료로 버섯균에 의해 1차 분해가 이루어지기 때문에(Moon *et al,* 2012; Cheong *et al,* 2012), 전처리 비용을 낮출 수 있는 새로운 바이오매스로 개발이 가능할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 바이오매스에 적합한 버섯 수확 후 배지를 선발하고, 당화를 위한 최적 전처리방법을 구명하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 연구에 사용된 수확 후 배지는 경기도농업기술원 버섯연구소에서 수확한 느타리배지와 안성의 농가에서 수집한 큰느타리 수확 후 배지, 경북 청도의 농가에서 수집한 팽이 수확 후 배지를 사용하였다. 버섯종류별 각 수확 후 배지는 40°C에서 온풍건조시켜 분쇄하여 균질화시킨 다음 50~100 mesh 입자만 당화를 위한 시험재료로 사용하였다. 효소당화를 위하여 Celluclast 1.5L(Cellulase, Novo Co., Denmark)과 Novozyme-188(β-glucosidase, Novo Co., Denmark)를 사용하였다.

### 전처리

버섯별 수확 후 배지에 10배 가량의 고액비로 침지를 하여 사용하는데, 고압습열처리는 121°C에서 60분간 실시하고, 산처리는 1% $H_2SO_4$를 가하여 1시간 반응시키며, 알카리는 1% NaOH를 1시간동안 진행하였다. 이후 각각의 수확 후 배지는 깨끗한 물로 헹군 후 45°C의 오븐에서 건조하여 잔류 수분을 제거하였다.

### 효소당화

효소당화는 삼각 플라스크에 각각 전처리된 버섯 수확 후 배지를 구연산 버퍼용액(0.5M, pH 4.8)에 기질농도 5%(w/v)로 혼합한 후에 온도 50°C에서 72시간 동안 진탕배양기에서 진행되었다. 효소는 Celluclast 1.5 L과 Novozyme-188을 3:1 비율로 혼합하여 사용하였고, 일정 시간 단위로 시료를 채취하여 HPLC로 당분석을 실시하였다.

### 성분분석

당 성분들은 미국 신재생 에너지 연구소(NREL)에서 제시한 NREL Procedures LAP-002에 제시된 방법으로 성분을 분석하였다. 시료에 황산 72%를 넣고 30°C에서 2시간 동안 1차로 산가수분해를 시킨 뒤에 희석한 후 1시간 동안 121°C에서 2차 가수분해를 하였다. 가수분해된 액체를 HPLC를 이용하여 각 성분에 대한 정량분석을 실시하였다. 리그닌 성분은 시료를 72%황산에서 4시간동안 끓인 후에 용해되지 않은 잔여물을 측정하여 리그닌 성분을 계산하였다. 시료의 성분분석과 당화액의 분석은 HPLC (Younglin YL9100, Korea)을 사용하였다. 당화액의 분석에 사용된 Column은 Biorad사의 Aminex HPX-87H로 하였고, 검출에 사용된 Detector는 RI detector를 사용하였다. 이동상은 5 mM의 $H_2SO_4$를 사용하여 유속을 0.6 ml/min으로 분석하였다. 각 column과 detector의 온도는 HPX-87H는 60°C, RI detector는 50°C 이었다.

## 결과 및 고찰

버섯균 접종전과 수확 후의 배지의 화학성은 Table 1과 같다. 버섯 접종 전 배지의 셀룰로오스 함량은 톱밥의 첨가비율이 높은 느타리는 66.4%로 가장 높고 톱밥의 비율이 상대적으로 낮은 팽이는 46.4%, 큰느타리는 47.1%로 나타났다. 버섯 수확 후 배지에서는 느타리가 59.7%, 큰느타리가 41.7%로 원배지에 비해 각각 6.7%, 4.7% 감소된 것으로 나타났으나 팽이는 접종 전과 수확 후의 차이

**Table 1.** Comparison of chemical properties between substrate before spawning and spent mushroom substrates (unit : %)

| Items | | Oyster mushroom | | King oyster mushroom | | winter mushroom | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | substrates before spawning | substrates after mushroom harvest | substrates before spawning | substrates after mushroom harvest | substrates before spawning | substrates after mushroom harvest |
| Cellulose | | 66.4 | 59.7 | 46.4 | 41.7 | 47.1 | 47.7 |
| Sugar | glucan | 18.0 | 7.9 | 17.1 | 8.6 | 14.7 | 7.9 |
| | xylan | 8.4 | 3.2 | 8.7 | 6.1 | 11.1 | 6.8 |
| | arabinan | 1.1 | nd[a] | 0.1 | nd | 1.8 | nd |
| Ether extract | | 0.9 | 0.7 | 3.3 | 2.4 | 7.7 | 5.6 |
| lignin | | 19.5 | 21.5 | 15.2 | 16.2 | 13.5 | 15.5 |
| Protein | | 9.7 | 10.4 | 8.1 | 7.5 | 7.7 | 5.2 |
| Ash | | 3.5 | 4.7 | 7.8 | 8.2 | 13.0 | 13.7 |

[a] : non detected

**Table 2.** Sugar conversion rate and chemical property of spent mushroom substrate by various pretreatment (unit : %)

| Item | Spent oyster mushroom substrate | | | | Spent king oyster mushroom substrates | | | | Spent winter mushroom substrates | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | control | Autoclave | Acid | Alkali | control | Autoclave | Acid | Alkali | control | Autoclave | Acid | Alkali |
| lignin | 21.5 | 32.4 | 39.7 | 17.1 | 16.2 | 19.8 | 33.0 | 11.2 | 15.5 | 31.1 | 61.5 | 23.0 |
| glucan | 7.9 | 8.8 | 14.4 | 15.1 | 8.6 | 7.5 | 13.0 | 13.7 | 7.9 | 7.0 | 7.8 | 8.4 |
| xylan | 3.2 | 5.2 | 5.9 | nd[b] | 6.1 | 7.4 | nd | 6.8 | 6.8 | 2.9 | nd | 10.2 |
| arabinan | nd | nd | nd | nd | nd | 6.7 | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| GCR[a] | 9.0 | 9.8 | 23.4 | 25.2 | 35.7 | 38.1 | 58.6 | 80.7 | 31.7 | 38.8 | 45.8 | 15.8 |

[a]: Glucose conversion rate(%)=(glucose concentraion after saccharification/total glucose concentration)×100,
[b]: non detected z

**Table 3.** Chemical property of spent king oyster mushroom by different pretreatment temperature with 1% alkali for 60minute (unit : %)

| Treatment | Moisture | lignin | Ash | glucose | xylose | arabinose | other sugar |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| control | 2.8 | 18.6 | 8.9 | 22.7 | 13.8 | 5.1 | 30.1 |
| 30°C | 2.6 | 14.2 | 6.9 | 22.8 | 14.3 | 6.0 | 33.2 |
| 60°C | 2.7 | 14.9 | 8.5 | 23.2 | 12.5 | 4.3 | 33.9 |
| 80°C | 2.7 | 14.0 | 8.7 | 24.6 | 13.4 | 4.0 | 31.8 |
| 100°C | 2.2 | 14.6 | 8.6 | 24.4 | 14.3 | 4.1 | 30.8 |
| 120°C | 2.8 | 14.8 | 8.5 | 25.3 | 14.8 | 4.0 | 25.8 |

a : 1% NaOH during 60 minute

가 없는 것으로 나타났다.

당 함량은 전반적으로 6탄당 계열의 glucan과 5탄당 계열의 xylan이 주로 검출되었는데, 버섯 수확 후에 당 함량이 약 30~62% 소모된 것으로 보아 버섯 균사의 영양생장을 위해 소모된 것으로 생각된다. 에테르 추출물은 미강의 함량이 높은 팽이 배지에서 높았는데 접종 전 배지에 비해 수확 후 배지에서 약 2%가량 소모된 것으로 나타났다. 접종 전 배지의 리그닌 함량은 톱밥의 함량이 상대적으로 높은 느타리에서 19.5%로 가장 높고 큰느타리 15.2%, 팽이 13.5%의 순이며, 수확 후 배지에서는 느타리 21.5%, 큰느타리 16.2%, 팽이 15.5%로 접종 전 배지에 비해 약 1~2% 높게 나타났다. 이것은 버섯의 배양과정 중에 당과 셀룰로오스는 영양생장에 이용되어 함량이 줄고, 리그닌은 분해되지 않고 배지에 축적되어 더 높은 것으로 추정된다.

전처리 방법에 따른 버섯 수확후 배지의 고형분의 성분분석 결과(Table 2), 알카리처리를 제외한 고압습열처리와, 산처리는 무처리에 비해 리그닌 함량이 크게 증가되었다. 이러한 이유는 고압습열처리와 산처리의 과정에서 상대적으로 유리당이 액화되어 소실된 반면 고형성분은 상대적으로 증가됨으로써 리그닌함량이 높게 나타난 것이다. 일반적으로 리그닌과 그 부산물은 미생물에 독성물질로 작용하며 효소당화의 저해물질로 작용한다고 알려져 있다(Park and Lee, 2011). 따라서 바이오매스 이용 측면에서 미생물활동과 효소 당화효율을 향상시키기 위해 리그닌 함량을 전처리과정에서 반드시 낮춰야 한다. 본 연구에서도 알카리처리는 무처리나 산처리에 비해 리그닌 함량을 효과적으로 감소시켰는데 이러한 이유는 알카리가 리그닌을 분해했을 것으로 판단된다(Park & Kim, 2011). 효소를 이용한 당화율을 분석결과, 느타리에서는 산처리와 알카리 처리가 각각 23.4, 25.2%, 팽이는 산처리가 45.8% 우수하였고, 큰느타리는 알카리처리에서 80.7%로 가장 우수한 것으로 나타났다. 따라서 바이오매스에 가장 적합한 소재는 리그닌 함량이 낮고 당전환율이 높은 큰느타리

**Table 4.** Free sugar contents and sugar conversion rate of spent king oyster mushroom by enzyme saccharification temperature (unit : %)

| Temperature | glucose | xylose | SCR[a] |
|---|---|---|---|
| control | 6.4 | 4.3 | 28.2 d[b] |
| 25°C | 14.5 | 4.5 | 63.6 b |
| 60°C | 13.5 | 4.7 | 58.2 bc |
| 80°C | 12.5 | 5.6 | 50.8 c |
| 100°C | 14.9 | 4.5 | 61.1 bc |
| 120°C | 16.7 | 4.0 | 66.0 a |

[a]: Glucose conversion rate(%)=(glucose concentraion after saccharification/total glucose concentration)×100
[b]: Values followed by the same letter do not differ significantly at $p>0.05$ according to Duncan's multiple range test.

**Table 5.** Chemical property of spent king oyster mushroom by the catalyst (sodium hydroxide) concentration (unit : %)

| NaOH concentration | Moisture | lignin | Ash | glucose | xylose | arabinose | other sugar |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.5% | 2.2 | 18.6 | 8.6 | 23.8 | 14.3 | 4.8 | 27.7 |
| 1.0% | 2.7 | 17.8 | 8.5 | 25.3 | 14.8 | 4.0 | 25.9 |
| 1.5% | 2.6 | 17.7 | 10.5 | 24.3 | 12.0 | 3.9 | 29.0 |
| 2.0% | 2.7 | 18.8 | 11.6 | 25.7 | 12.0 | 3.2 | 26.0 |

**Table 6.** Free sugar contents and sugar conversion rate of spent king oyster mushroom by enzyme saccharification with different sodium hydroxide concentration (unit : %)

| NaOH concentration | glucose | xylose | SCR[a] |
|---|---|---|---|
| 0.5% | 11.7 | 3.8 | 49.2 c[b] |
| 1.0% | 16.7 | 4.7 | 66.0 a |
| 1.5% | 13.5 | 5.8 | 55.5 b |
| 2.0% | 11.4 | 7.0 | 44.4 c |

[a]: Glucose conversion rate(%)=(glucose concentraion after saccharification/total glucose concentration)×100
[b]: Values followed by the same letter do not differ significantly at $p>0.05$ according to Duncan's multiple range test.

수확후 배지임을 알 수 있다.

큰느타리 수확 후 배지를 1% NaOH에 침지하여 처리 온도에 따른 성분분석 결과는 Table 3와 같다. 리그닌 함량은 무처리에 비해 전처리시에 감소되었으나, 처리 온도에 따른 영향은 크게 보이지 않았다. 그러나 glucose와 xylose는 처리온도가 높아질수록 다소 증가하여 120°C에서 glucose 25.3%, xylose 14.8%로 나타났다.

Table 4는 전처리 온도별 큰느타리 수확 후 배지 효소당화에 따른 유리당 함량 및 당전환율을 나타내었다. 무처리시 glucose함량은 6.4%이었으나 120°C에서 16.7%로 당 함량이 2.6배 증가하였다. xylose는 무처리시 4.3%이었으나 전처리온도가 높아질수록 증가하다가 80°C에서 5.6%로 최고치를 보였다가 그 이후에는 다시 감소하는 경향으로 나타났다. 당화효소에 의한 당전환율은 무처리시에 28.2%이었으나 120°C에서 66%로 가장 우수한 것으로 나타났다.

촉매제 농도에 따른 큰느타리 수확후 배지의 성분분석 결과는 Table 5와 같다. 촉매제 농도별 리그닌 함량은 큰차이가 없었으나 회분은 촉매제 농도가 높을수록 증가하는 경향을 보였다. 유리당중 glucose 함량은 촉매제 농도와 차이없이 23.8~25.7% 수준이었으며, xylose와 arabinose는 촉매제 농도가 높을수록 다소 감소하는 경향이었다.

촉매제 농도별 효소당화에 따른 유리당함량 및 당전환율을 Table 6과 같다. 효소당화 결과 촉매제(NaOH) 1.0% 농도시에 glucose 16.7%, xylose 4.7%로, 이때의 당전환율이 66%로 가장 우수하였다. 그러나 촉매제 1.5%이상의 농도에서는 glucose의 함량 및 당전환율이 감소하게 되는데, 이러한 결과는 적정 농도 이상의 촉매제가 효소 반응을 저해하는 것으로 추측된다. 이상의 연구결과 전처리 촉매제로 1% NaOH를 사용하여 120℃에서 60분간 반응시에 glucose 함량과 당화율이 가장 우수하여 큰느타리 수확후 배지의 적정 전처리 방법으로 여겨진다.

## 적 요

본 연구에서는 버섯 수확후배지를 바이오매스로 활용하고자 수행하였으며, 적정 전처리 조건을 구명한 결과는 다음과 같다. 버섯 수확후 배지의 전처리방법 중 알카리 처리가 리그닌 함량을 효과적으로 경감시키면서, 당전환율이 우수하였고 큰느타리 수확후 배지가 당전환율 80.7%로 가장 우수하였다. 큰느타리 수확후 배지에 1% NaOH를 이용한 알카리 처리시 전처리 온도별 성분분석 결과 120℃처리시에 glucose 25.3%, xylose 14.8%로 유리당 함량이 가장 높고, 효소에 의한 당전환율도 66%로 무처리구 28.2%에 비해 2.3배 증가되었다. 촉매제 농도(NaOH 0.5~2.0%)에 따른 당분석결과 glucose 함량은 촉매제 농도와 관계가 적었으며, xylose와 arabinose는 촉매제 농도가 높을수록 다소 감소하는 경향이었다. 그러나 당전환율은 NaOH 1% 처리시에 66%로 가장 높았다.

## 참고문헌

Cheong JC, Lee CJ, Suh JS, Moon YH. 2012. Comparison of physico-chemical and nutritional characteristics of pre-inoculation and post-harvest *Flammulina velutipes* media. *J. Mushroom Sci. Prod.* 10:174-178.

Kim KH, Tucker M, Nguyen Q. 2005. “Conversion of Barkrich Biomass Mixture into Fermentable Sugar by Two-stage Dilute Acid-catalyzed Hydrolysis,” *Bioresource Technology*, 96:1249-1255.

Kim YH, Cho MJ, Shin K, Kim TJ, Kim NH, Kim YS. 2010. Enzymatic Hydrolysis of Rice Straw, a Lignocellulosic Biomass, by Extracellular Enzymens from *Fomitopsis Palustris*. *Mokchae Konghak* 38:262-273.

Minister of agriculture, food and rural affairs. 2015. 2014 the production record of a special crop.

Moon YH, Shin PG, Cho SJ. 2012. Feeding value of spent mushroom(*Pleurotus eryngii*) substrate. *J. Mushroom Sci. Prod.* 10:236-243.

National Renewable Energy Laboratory, Standard Biomass Analytical Procedures. http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html.

Park YC, Kim JS. 2011. Enzymatic hydrolysis characteristics of pretreated rice straw by aqueous ammonia for bioethanol production. *Korean Chem. Eng. Res*, 49:470-474.

Semple KT, Reid BJ, Fermor TR. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental pollution* 112:269-283.

Williams BC, McMullan JT, McCahey S. 2001. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. *Bioresource Technology* 79:227-230.