

Physico-chemical, Nutritional, and Enzymatic Characteristics of Shiitake Spent Mushroom Substrate (SMS)

Hwa-Jung Sung¹, Su-Jin Pyo¹, Jong-Sik Kim², Jong-Yi-Park³ and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Department of Biological Science, Andong National University, Andong 36729, Korea

³Gyeongbuk Institute For Bio-Industry, Andong 36728, Korea

Received June 4, 2018 / Revised July 18, 2018 / Accepted July 24, 2018

In Korea, edible mushrooms are produced largely on commercial artificial media, so the annual production of spent mushroom substrate (SMS), as a by-product of the mushroom industry, is estimated at over 200 million tons. This SMS is assumed to contain abundant fungal mycelia and pre-fruiting bodies, as well as various nutritive and bioactive compounds that are presently discarded. This study examined the physico-chemical, nutritional, and enzymatic characteristics of uninoculated sterilized medium (USM) and SMS of shiitake mushrooms with the aim of developing a high-value added product from SMS. The contents of crude protein, crude lipid, and ash were higher after the third SMS harvest (SMS-A-3rd) than in USM or SMS-A-1st. The contents of Ca, Mg, and P in SMS-A-3rd were 2.95, 2.35, and 2.1-fold higher compared than in USM. No As or Cd was detected in USM or SMS. The pH, Brix, and acidity were 4.6, 20.0, and 1.4, respectively in SMS-A-3rd, but 5.6, 6.0, and 0.0, respectively, in USM. These results suggest a highly active production of soluble components and organic acids in SMS-A-3rd. The distinct color differences noted for USM, SMS-A-1st, and SMS-A-3rd could be used as a mycelial growth indicator. Enzyme activity assays using the APIZYM system showed that SMS is a potent source of hydrolysis-related enzymes, especially esterase (C4) and β -glucuronidase. Our results suggested that the SMS of shiitake has a high potential for use in environmental, agricultural, and stock-breeding industries, for example, as active ingredients for sewage treatment, waste-polymer degradation, and feed additives.

Key words : APIZYM, nutritional analysis, shiitake, spent mushroom substrate (SMS)

서론

국내 식용버섯 총 생산량은 2017년 162,292톤으로 보고되어 있으며, 종류별로는 느타리버섯 58,784톤, 새송이 버섯 48,588톤, 팽이버섯 38,092톤, 양송이 버섯 10,173톤 및 표고버섯 25,000톤이 재배, 생산되는 것으로 추정되고 있다[20]. 이러한 버섯 재배는 천연배지를 이용하던 과거와 달리, 점차 특성의 인공배지를 사용하는 대량 밀식재배 방식으로 변화되고 있다. 특히 표고버섯의 경우, 다양한 톱밥 배지를 사용하는데, 2016년 한국 관세청 수출입통계에 따르면 2015년 중국에서 수입된 톱밥배지는 36,285톤으로 2012년 11,825톤이었던 수입량과 비교하면 3년 만에 2배 이상 증가한 것으로 나타났다. 버섯의 인공재배 및 생산량이 증가하면서, 버섯 수확후 배지(Spent

Mushroom Substrate, SMS)의 배출도 급속도로 증가되고 있다. 일반적으로 버섯 1 kg 생산에 버섯 배지가 5 kg이 소비되는 것으로 볼 때 국내 버섯 수확후 배지는 연간 200만톤 이상이 배출되는 것으로 추정된다[13]. 한편, 버섯재배에는 배지 영양성분의 약 20~25%가 소요된다고 보고되어[3, 27] SMS에는 상당량의 영양성분이 잔존한다고 알려져 있으며, 또한 SMS에는 이미 버섯 균사체가 수개월 이상 대량 배양된 상태이므로 버섯 자실체 및 균사체로부터 유래하는 β -glucosidase, cellulase 등의 다양한 효소와 식물생육 촉진 유효성분, 항균물질, 병저항성 유도체 등의 다양한 생리활성을 가진 이차대사산물이 포함되어 있는 것으로 알려져 있다[1, 8, 16, 18, 23, 24, 26]. 그러나 SMS를 폐기물로 판단한 나머지, SMS의 효율적인 재이용에 대한 연구는 초보적인 단계에 있으며[4-7], 현재까지 SMS를 이용한 고부가가치 기능성 소재로의 개발 연구는 매우 제한된 실정이다.

국내의 경우, SMS의 일부는 사료용[22] 및 버섯 재배에 10~30% 첨가하여 재이용되기도 하였으나[5, 13], 인공배지의 톱밥 함량이 높은 경우 사료나 버섯 재배에 재이용되지 못하고 거의 퇴비로 사용되고 있는 실정이다[10]. 최근, 외국에서는 SMS를 이용한 돈분 등의 축사 폐기물의 효율적인 정화에 사

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-7804

E-mail : hysohn@andong.ac.kr

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.

용하는 연구가 활발히 진행되고 있어[17-19], 새로운 환경정화제로 사용 가능성이 제시되고 있다. SMS의 유용 물질 함량은, 버섯 접종전의 배지 조성 및 배양 버섯의 종류 및 상태에 의해 달라지게 된다. 현재까지 대부분의 연구는 팽이버섯 SMS에 집중되어 있었으나[5, 13], 최근에는 노루궁뎅이버섯의 SMS[13] 및 표고 톱밥배지의 베타-글루칸 함량에 대해서도 연구되고 있다[24]. 현재까지 SMS의 알려진 유용 생리활성으로는 큰느타리버섯, 표고버섯, 노루궁뎅이버섯의 SMS의 실은 물 추출물의 고추 생육촉진 및 역병 억제효과[9, 11] 및 느타리버섯 SMS의 물 추출물의 항염증 효과가 알려져 있다[26]. 또한 SMS의 주요 활성성분으로는 수용성 고분자 다당류(polysaccharide)가 주로 보고된 바, 최근 표고버섯 SMS에서 항산화 활성의 고분자 다당류[31], 암세포 생육억제 활성의 산성다당류[29] 및 항균 활성의 다당류가 보고되어 있다[30]. 따라서 본 연구에서는 표고버섯 SMS의 이화학적, 영양적 및 효소적 특성을 검토하여 보고하고자 하며, 이는 버섯 산업에서 대량으로 생산되는 SMS의 고부가가치화의 기초자료로 활용될 것이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 SMS와 표고버섯은 경북 문경의 표고버섯 농장에서 직접 제공받아 사용하였으며, 재배용 배지는 2017년 중국 금전시에 제조된 표고버섯 재배용 배지(참나무 80%, 밀기울 19%, 식용석고 1%)를 압착 밀봉하고 이를 100℃에서 8시간 살균하여 조제하였다. 이후 살균배지에 표고버섯 종균 808을 접종하여 약 120일간 배양실에서 배양하고, 다시 재배사에서 40일간 23℃, 습도 70% 조건에서 배양한 후 버섯 발생작업을 하여 표고버섯을 수확하였다. 1회 수확한 이후 1회 SMS를 회수하였으며, 이후 7일 간격으로 표고버섯을 2회 및 3회 재배생하였으며, 3회 수확후 SMS를 회수하였다. 실험에 사용한 표고버섯 및 SMS시료는 안동대학교 식품영양학과에 보관하고 있다(voucher specimen 2017-LE1~4).

영양성분 및 미네랄 분석

조제된 살균배지, SMS 및 수확 표고버섯의 일반성분은 기존의 보고[10]와 동일하게 AOAC (Association of Official Analytical Chemist) 방법[2]에 따라 분석하였다. 수분은 시료 3g을 각각 칭량병에 담고 105℃에서 항량 건조하여 측정하였으며, 조회분은 시료 0.5 g을 250℃에서 예비 회화한 후 600℃에서 직접회화법으로 측정하였다. 조단백질의 함량은 Kjeldahl법으로 측정된 질소량에 질소계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조지방의 함량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였다. 조탄수화물 함량은 총량에서 조단백질, 조지방, 조회분 및 수분 함량을 뺀 값으로 계산하였다[10]. 한편 미네랄 성분은 각각의 시료를 초단파 용해장치(microwave digestion system, Mile-

stone, IT/ETHOS TC, Italy)로 전 처리하여 분석하였으며, 시료 0.5 g을 400℃에서 진한 염산 10 ml를 가하고 초단파 처리하여 용출하였으며, 이후 4배 희석한 염산 10 ml를 가한 후 증류수를 이용하여 100 ml로 정용한 여액을 분석시료로 사용하였다. 각 무기성분의 정량은 원자흡광광도계(ICP/AES, Agilent 720 series, Australia)로 각 원소의 표준 용액 농도를 0.1, 0.5 및 1.0 ppm으로 조제하여 표준 검량 곡선을 작성하여 분석하였다.

살균 배지 및 SMS의 다양한 효소활성 평가

표고버섯 재배용 살균배지와 1회 및 3회 수확 SMS의 다양한 효소 활성은 기존의 보고된 19종의 가수분해효소 기질을 포함하고 있는 APIZYM 시스템을 이용하여 분석하였다[25]. 먼저 각각의 살균배지 및 SMS 시료에 10배의 멸균수를 가하여 37℃에서 1시간 진탕 추출한 후, 추출액을 filter paper (Whatman No. 2, GE Healthcare, UK)로 여과하여 조효소액으로 사용하였다. 이후 제조사의 제시된 방법대로, 수분을 유지하도록 Kit tray (Biomerieux Co., Lombard, IL, USA)에 5 ml의 멸균증류수를 넣은 후 strips을 올리고 각각의 큐플에 제조한 조효소액을 65 µl씩 분주하고, 37℃에서 4시간 반응시킨 후 ZYM A와 ZYM B 용액을 한 방울씩 떨어뜨려 비교하였다[15]. 반응 결과는 발색 정도에 따라 제조사에서 제공된 판독표를 이용하여 기록하였다.

이화학적 분석 및 미세구조 확인

표고버섯 재배용 살균배지와 1회 및 3회 수확 SMS의 추출액의 pH는 pH meter (Mettler Toledo INLab R413, UK)로 측정하였으며, brix 측정은 refractometer (Atago N-1E, Japan)로 측정하였다. 산도는 시료 10 ml에 0.1 N NaOH 용액을 가하여 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 그 소비된 양을 acetic acid의 함량(%)으로 환산하여 나타내었다[2, 16]. 살균배지와 SMS의 미세구조는 Digital Eyepiece (ScopeTek DCM 300, Hangzhou Huaxin Digital Technology Co, LTD, China)와 이미지 분석 프로그램(ScopePhoto 3.0, Hangzhou Huaxin Digital Technology Co, LTD, China)이 장착된 광학현미경(CH-2, Olympus Optical Co., Ltd, Japan)을 이용하여 800배로 확대 촬영하였다. 한편 색차 분석은 색차계(Super color SP-80 Colormeter, Tokyo Denshoku Co., Japan)를 이용하였으며, 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)를 측정하였다. 표준 백색판은 L값이 92.39, a값이 -0.08, b값이 1.39이었으며, 시료당 3회 측정하여 평균값을 구하여 나타내었고 색차(ΔE)는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

통계분석

실험 결과는 SPSS 23.0 버전을 사용하여 mean ± SD로 나타

내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결과 및 고찰

살균 배지, SMS 및 표고버섯의 이화학적 특성

실험에 사용된 살균배지, 1회 및 3회 수확 SMS, 수확된 표고버섯과 이들을 20~50메쉬로 마쇄한 분말은 Fig. 1에 나타내었다. 표고버섯 종균을 미 접종한 살균 배지는 진한 갈색의 거친 참나무 조각들이 포함되어 있었으며(Fig. 1A), 1회 및 3회 SMS는 옅은 갈색을 나타내었다(Fig. 1B, Fig. 1C). 각각의 분말 시료의 명도(L)를 측정된 결과, 살균배지는 19.31을 나타내었으나, 1회 및 3회 SMS는 유사한 49.6~50.8의 값을 나타내었으며, 표고버섯 분말은 63.97로 가장 높은 값을 나타내었다(Table

1). 그러나, 적색도(a) 및 황색도(b)는 1회 SMS가 가장 높게 나타났으며, 모든 시료에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 최종적으로 살균배지, 1회 및 3회 SMS 및 수확 표고버섯은 각각 표준백판에 비해 73.32, 46.30, 44.75 및 31.88의 색차를 나타내어 쉽게 구분 가능하였다(Table 1). 이러한 색차 분석은 향후 SMS내의 배지 및 첨가물 혼입여부 및 SMS의 수확 횟수를 추정하는 데 중요한 지표가 될 수 있으리라 판단된다. 한편 각각의 시료 구조변화를 광학현미경으로 관찰한 결과, 살균 배지에서는 목질부가 변형 없이 노출되어 있었으나, SMS의 경우 목질 부분에 표고버섯 균사체가 조밀하게 부착하여 성장하고 있었으며, 특히 3회 SMS 경우에는 목질 부분이 대부분 분해되어 있었다(Fig. 2B, Fig. 2C). 또한 표고버섯은 쉽게 분쇄되는 약한 조직으로 SMS 목질부와는 차이를 나타내었다(Fig. 2D).

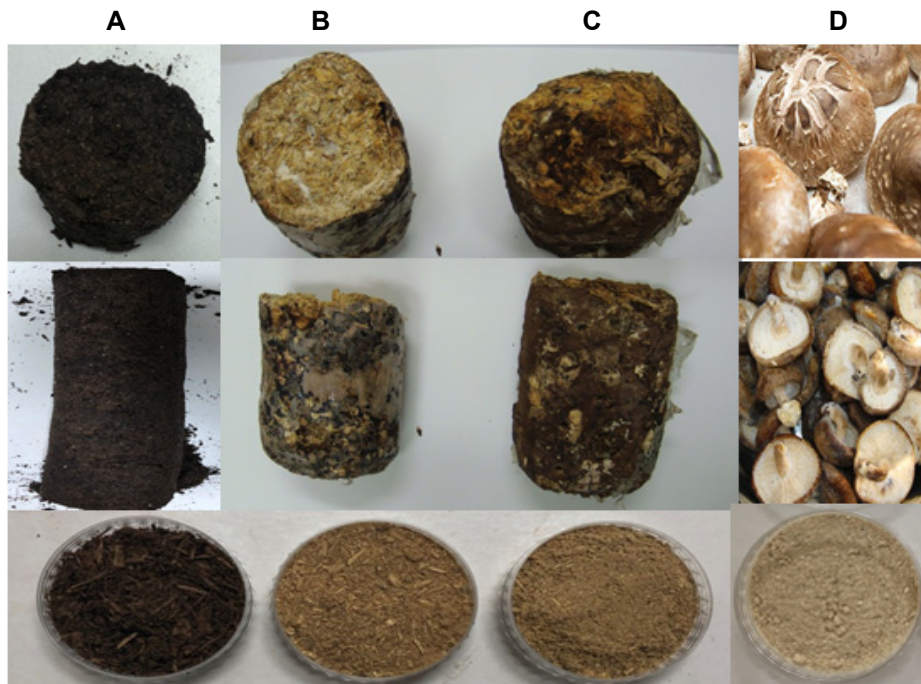


Fig. 1. Photography of (A) un-inoculated sterilized medium, (B) spent mushroom medium (SMS) after 1st harvest, (C) spent mushroom medium (SMS) after 3rd harvest, and (D) harvested shiitake.

Table 1. Color differences of un-inoculated sterilized medium, spent mushroom medium (SMS) and harvested shiitake

Samples	Color differences			
	¹ L	² a	³ b	⁴ ΔE
Un-inoculated medium	19.31±0.22 ^a	3.12±0.08 ^b	5.71±0.13 ^a	73.32±0.21 ^d
SMS after 1 st harvest	49.60±0.26 ^b	5.67±0.07 ^d	18.00±0.11 ^d	46.30±0.09 ^c
SMS after 3 rd harvest	50.87±0.24 ^b	4.30±0.10 ^c	17.39±0.16 ^c	44.75±0.11 ^b
Harvested shiitake	63.97±0.16 ^c	2.17±0.05 ^a	15.61±0.01 ^b	31.88±0.15 ^a

¹L: degree of lightness (white +100~0 black), ²a: degree of redness (red +100~-80 green), ³b: degree of yellowness (yellow +70~-80 black), ⁴ΔE: overall color difference ($\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$).

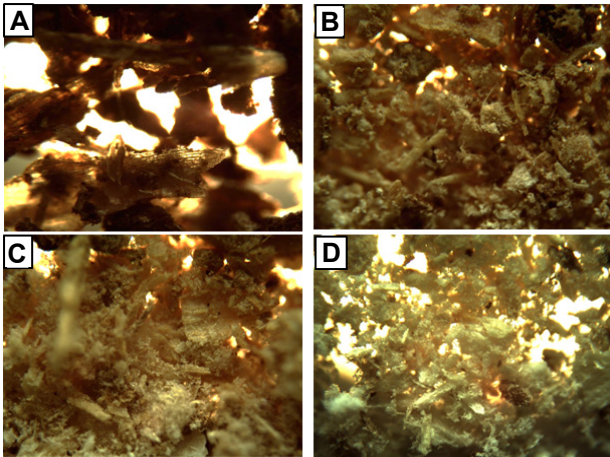


Fig. 2. Microscopic photography (×800) of (A) un-inoculated sterilized medium, (B) spent mushroom medium (SMS) after 1st harvest, (C) spent mushroom medium (SMS) after 3rd harvest, and (D) harvested shiitake.

살균 배지, SMS 및 표고버섯의 영양성분 분석

살균배지, 1회 및 3회 SMS, 수확 표고버섯의 영양성분을 분석 한 결과, 미접종 살균 배지보다 3회 수확 SMS가 높은 칼로리를 나타내었다(Table 2). 수분 함량은 살균배지 및 SMS에서 46.8~54.0%를 나타낸 반면, 표고버섯은 90.8%의 높은 수분함량을 보였다. 조단백 함량은 3회 수확 SMS, 1회 수확 SMS, 미접종 살균 배지 순으로 높게 나타나, 균사체 성장에 따라 조단백 함량이 증가된 것으로 판단되었다. 반면, 조지방 함량은 미접종 살균 배지 및 1회 수확 SMS에서는 0.22%를 나타내었으나, 3회 수확 SMS 및 표고버섯에서 0.3~0.32%로

증가되었다. 회분의 경우에도 1회 수확 및 3회 수확 SMS에서 가장 높은 14.77~14.93% 함량을 보였다. 반면 살균배지의 43.37%의 높은 조탄수화물 함량은, 1회 및 3회 수확 SMS에서는 각각 25.7%, 23.19%로 감소되었다. 이러한 변화는, 표고버섯 배지에서 균사체가 성장함에 따라 목질부가 분해되어 조탄수화물 함량이 감소하고, 1회 수확 및 3회 수확 SMS에서 100g 당 조단백, 조지방, 회분의 함량이 미접종 살균배지보다 증가되었음을 의미하고 있다. 이러한 결과는, SMS를 사료용으로 이용 가능하다는 기존의 보고와 일치하며[3, 5], 표고버섯 SMS의 경우 3회 수확 SMS가 효율적임을 제시하고 있다.

살균 배지, SMS 및 표고버섯의 미네랄 분석

살균배지에 버섯 종균을 접종하여 표고버섯을 수확하는 경우, 버섯 성장시의 미네랄 요구도의 차이 및 배지 고분자 물질 분해에 따른 SMS 단위 무게당 미네랄 함량의 차이가 발생하게 된다. 또한 이러한 차이는 버섯 수확 횟수에 따라 차이가 나타나리라 예상되었다. 따라서 살균배지, 1회 및 3회 SMS, 수확 표고버섯의 미네랄 함량을 분석하였으며 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 먼저 살균 배지에서는 생체 유용 미네랄인 칼슘, 칼륨, 인, 마그네슘, 철, 나트륨, 아연, 구리 순으로 높은 함량을 나타내었으며, 비소와 카드뮴은 검출되지 않았다. 이러한 패턴은 1차 및 3차 SM에서도 동일하게 나타났으며, 살균 배지보다 1차 및 3차 SMS에서 전체적으로 증가된 미네랄 함량을 보였다. 특히 3차 SMS에서는 살균 배지보다, 칼슘은 2.95배, 마그네슘 및 나트륨은 2.35배, 인은 2.1배 이상 증가되었다. 한편 표고버섯은 기존의 보고[21]와 유사하게 칼륨, 인, 마그네슘, 칼슘, 철, 아연 순으로 높은 함량을 나타내었다

Table 2. Water content and nutritional analysis of un-inoculated sterilized medium, spent mushroom medium (SMS) and harvested shiitake

Samples	Water content (%)	Calories (kcal/100 g)	Components (g/100 g)			
			Crude protein	Crude carbohydrates	Crude lipid	Ash
Un-inoculated medium	46.8	187.86	3.10	43.37	0.22	6.55
SMS after 1 st harvest	52.6	131.78	6.75	25.70	0.22	14.77
SMS after 3 rd harvest	54.0	245.88	7.56	23.19	0.32	14.93
Harvested shiitake	90.8	35.1	2.00	6.10	0.30	0.80

Table 3. Content of minerals in un-inoculated sterilized medium, spent mushroom medium (SMS) and harvested shiitake

Samples	Mineral (unit: ppm)									
	Ca	K	P	Mg	Fe	Na	Zn	Cu	As	Cd
Un-inoculated medium	16,569	3,761	1,975	1,252	700	39	24	9	ND ¹	ND
SMS after 1 st harvest	38,217	4,933	4,439	3,672	934	191	54	12	ND	ND
SMS after 3 rd harvest	48,883	5,991	4,241	2,975	711	92	45	12	ND	ND
Harvested shiitake	265	11,450	2,800	690	125	53	12	12	ND	ND

¹ND : <0.001 ppm

Table 4. Physico-chemical characteristics of water extract of un-inoculated sterilized medium, spent mushroom medium (SMS) and harvested shiitake

Samples	pH	Brix (%)	Acidity	Color differences			
				¹ L	² a	³ b	⁴ ΔE
Un-inoculated medium	5.6	6.0	0.00	15.56±0.09 ^c	0.31±0.00 ^c	0.18±0.15 ^a	76.86±0.09 ^b
SMS after 1 st harvest	4.6	16.0	0.83	14.66±0.05 ^b	-0.22±0.18 ^b	3.99±0.00 ^d	77.79±0.05 ^c
SMS after 3 rd harvest	4.6	20.0	1.40	14.26±0.07 ^a	-0.19±0.09 ^b	4.54±0.08 ^c	78.20±0.07 ^d
Harvested shiitake	6.0	48.0	1.83	17.06±0.08 ^d	-0.92±0.08 ^a	1.43±0.04 ^b	75.35±0.08 ^a

¹L: degree of lightness (white +100~0 black), ²a: degree of redness (red +100~-80 green), ³b: degree of yellowness (yellow +70~-80 black), ⁴ΔE: overall color difference ($\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$).

(Table 3). 이러한 결과는 SMS를 이용한 축산 및 수산용 사료 개발 연구가 필요함을 제시하고 있다.

살균 배지, SMS 및 표고버섯의 물 추출물의 특성 및 효소 활성

조제된 살균배지 물 추출물의 pH, brix, 산도를 측정 한 결과, 각각 5.6, 6.0 및 0을 나타내었으나, 1회 SMS의 경우, 4.6, 16.0 및 0.83으로 변화되었다(Table 4). 또한 3회 SMS의 경우 brix와 산도는 각각 20.0 및 1.4로 증가되었다. 최종 수확 표고 버섯은 각각 6.0, 48.0 및 1.83을 나타내어, SMS와 달리 높은 brix와 산도를 보였다. 이러한 결과는 표고버섯 균사체 성장에 따라 배지성분의 분해가 진행되어 가용성 물질 및 유기산의 증가가 나타남을 의미하고 있으며, 1회 SMS와 3회 SMS상에

도 많은 차이가 있음을 의미하고 있다. 또한 각각의 물 추출물의 색차는 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

한편 조제된 물 추출물을 이용하여 다양한 효소활성을 평가 한 결과, 살균 배지에서는 APIZYM 시스템의 18 개 효소활성은 나타나지 않았으나, 특이하게 Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase가 약하게 확인되었다(Fig. 3, Table 5). 이는 재배용 배지를 100℃에서 8시간 살균하여 조제하였음을 고려할 때, 상당한 내열성의 phosphohydrolase가 내재되어 있음을 의미하고 있다. 한편, 1회 SMS 및 3회 SMS에서는 19개 기질에 대한 효소활성이 모두 나타나 다양한 단백질 및 당류 가수분해 효소들이 존재함을 알 수 있었으며, 특히 esterase (C4), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, α-chymotrypsin, acid phosphatase, naphtol-AS-BI-phos-

Table 5. Differentiation of the various enzyme activities of the water extracts prepared from un-inoculated sterilized medium, spent mushroom medium (SMS) and harvested shiitake

No.	Enzyme	Relative enzyme activity		
		Un-inoculated medium	SMS after 1 st harvest	SMS after 3 rd harvest
1	control	-	-	-
2	alkaline phosphatase	-	+	+++
3	esterase (C4)	-	+++	++
4	esterase lipase (C8)	-	++	++
5	lipase (C14)	-	+	++
6	leucine arylamidase	-	+++	+++
7	valine arylamidase	-	+++	+++
8	Cystine arylamidase	-	+++	+++
9	trypsin	-	++	+++
10	α-chymotrypsin	-	+++	+++
11	acid phosphatase	-	++++	++++
12	Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase	+	+++	++++
13	α-galactosidase	-	+++	++++
14	β-galactosidase	-	++++	++++
15	β-glucuronidase	-	++++	++++
16	α-glucosidase	-	+++	++++
17	β-glucosidase	-	++++	++++
18	N-acetyl-β-glucosaminidase	-	+++	++++
19	α-mannosidase	-	++	++++
20	α-fucosidase	-	+++	++++

Symbol: -, No activity, + ~ ++++: from weak to potent activity.



Fig. 3. Photography of enzyme detection using APIZYM Kit for the water extracts of (A) un-inoculated sterilized medium, (B) spent mushroom medium (SMS) after 1st harvest, and (C) spent mushroom medium (SMS) after 3rd harvest (Refer the list of enzymes for No. 2~No. 20 in Table 5).

phosphatase, α-galactosidase, β-galactosidase, β-glucuronidase, α-glucosidase, β-glucosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, α-mannosidase 및 α-fucosidase는 매우 강력한 활성을 나타내었다(Fig. 3, Table 5). 이러한 결과는 SMS 물 추출물이 향후 환경정화, 고분자 분해 산업, 생물 전환 산업에 효율적으로 이용 가능성을 제시하고 있다. 본 연구 결과는 표고버섯 채배 후 별도의 용도 없이 폐기되고 있는 SMS를 이용하여 기능성, 영양성이 강화된 사료 및 다양한 효소원으로 이용 가능성을 제시한다. 현재 SMS의 다양한 유용 생리활성을 평가 중이며, SMS 기반의 식의약품, 화장품 소재 개발을 진행 중에 있다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 산업통상자원부 바이오테라피산업기반구축사업(과제번호 N0001805)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Alves, M. J., Ferreira, I. C., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A. and Pintado, M. A. 2012. Review on antimicrobial activity of mushroom (*Basidiomycetes*) extracts and isolated compounds. *Planta Med.* **78**, 1707-1718.
- AOAC. 1996. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington DC. USA. pp. 210-219.
- Bae, J. S., Kim, Y. I., Jung, S. H., Oh, Y. G. and Kwak, W. S. 2006. Evaluation on feed-nutritional value of spent mushroom (*Pleurotus osteratus*, *Pleurotus eryngii*, *Flammulina velutipes*) substrates as a roughage source for ruminants. *J. Anim. Sci. Technol. Kor.* **48**, 237-246.
- Cho, D. B., Hun, K. H., Choi, J. H., Na, K. C., Seo, J. S., Kang, S. K. and Kim, Y. D. 2002. Chemical compositions of *Lentinula* in growth stage - A study on application plan of *Lentinula* I. *Kor. J. Plant Res.* **15**, 128-134
- Chung, J. C., Lee, C. J., Suh, J. S. and Moon, Y. H. 2012. Comparison of physico-chemical and nutritional characteristics of pre-inoculation and post-harvest *Flammulina velutipes* media. *J. Mushroom Sci. Prod.* **10**, 174-178.
- Cronin, M. J., Yohalem, D. S., Harris, R. F. and Andrews, J. H. 1996. Putative mechanism and dynamics of inhibition of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* by compost extracts. *Soil Biol. Biochem.* **28**, 1241-1249.
- Ha, H. C., Park, S., Park, K. S., Lee, C. W., Jing, I. C., Kim, S. H., Kwon, Y. I. and Lee, J. S. 1995. Isolation and purification of protein-bound polysaccharides from mycelia of *Flammulina velutipes* grown on sawdust medium. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **10**, 589-597.
- Hideo, T. 1985. Studies on the lipids of shiitake mushroom, *Lentinus edodes*. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **14**, 419-427.
- Kang, D. S., Min, K. J., Kwak, A. M., Lee, S. Y. and Kang, H. W. 2017. Defense response and suppression of phytophthora blight disease of pepper by water extract from spent mushroom substrate of *Lentinula edodes*. *Plant Pathol. J.* **33**, 264-275.
- Kim, K. J., Im, S. B., Yun, K. W., Je, H. S., Ban, S. E., Jin, S. W., Jeong, S. W., Koh, Y. W., Cho, I. K. and Seo, K. S. 2017. Content of proximate compositions, free sugars, amino acids, and minerals in five *Lentinula edodes* cultivars collected in Korea. *J. Mushrooms* **15**, 216-222.
- Kwak, A. M., Kang, D. S., Lee, S. Y. and Kang, H. W. 2015. Effect of spent mushroom substrates on phytophthora blight disease and growth promotion of pepper. *J. Mushrooms* **13**, 16-20.
- Lee, N. G., Lee, J. H., Mun, Y. G., Jeong, T. S. and Kwon, S. B. 2015. Yield characteristics according to use of post-harvest substrate of *Pleurotus pulmonarius*. *J. Mushrooms* **13**, 310-313.
- Lee, S. Y., Kang, H. W., Kim, J. J., Han, J. H. 2015. Effect of spent mushroom substrates of *Hericium erinaceum* on plant pathogens of tomato. *Kor. J. Mycol.* **43**, 185-190.
- Li, J., Huang, J., Yin, J., Wu, N., Song, J., Zhang, L. and Jiang, T. 2012. Rapid purification and characterization of γ-glutamyl-transpeptidase from shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *J. Food Sci.* **77**, C640-C645.
- Liew, S. M., Tay, S. T., Wongratanaheewin, S. and Puthuchery, S. D. 2012. Enzymatic profiling of clinical and environmental isolates of *Burkholderia pseudomallei*. *Asian Pacific J. Tropical Biomed.* **29**, 160-168.

16. Lim, S. H., Lee, Y. H. and Kang, H. W. 2013. Optimal extraction and characteristics of lignocellulytic enzymes from various spent mushroom composts. *Kor. J. Mycol.* **41**, 160-166.
17. Luo, X., Yuan, X., Wang, S., Sun, F., Hou, Z., Hu, Q., Zhai, L., Cui, Z. and Zou, Y. 2018. Methane production and characteristics of the microbial community in the co-digestion of spent mushroom substrate with dairy manure. *Bioresour. Technol.* **250**, 611-620.
18. Meng, L., Zhang, S., Gong, H., Zhang, X., Wu, C. and Li, W. 2018. Improving sewage sludge composting by addition of spent mushroom substrate and sucrose. *Bioresour. Technol.* **253**, 197-203.
19. Meng, X., Liu, B., Xi, C., Luo, X., Yuan, X., Wang, X., Zhu, W., Wang, H. and Cui, Z. 2018. Effect of pig manure on the chemical composition and microbial diversity during co-composting with spent mushroom substrate and rice husks. *Bioresour. Technol.* **251**, 22-30.
20. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA). 2016. *Production records of a crop for a special purpose*. pp20
21. Mleczeck, M., Siwulski, M., Rzymyski, P., Niedzielski, P., Gąsecka, M., Jasińska, A., Budzyńska, S. and Budka, A. 2017. Multi-elemental analysis of *Lentinula edodes* mushrooms available in trade. *J. Environ. Sci. Health B.* **52**, 196-205.
22. Moon, Y. H., Chang, S. S., Kim, E. T., Cho, W. G., Lee, S. J., Lee, S. S. and Cho, S. J. 2015. Effects of spent mushroom (*Flammulina velutipes*) substrates on in vitro ruminal fermentation characteristics and digestibility of whole crop sorghum silage. *J. Mushroom* **13**, 163-169.
23. Parada, R. Y., Murakami, S., Shimomura, N. and Otani, H. 2012. Suppression of fungal and bacterial diseases of cucumber plants by using the spent mushroom substrate of *Lyophyllum decastes* and *Pleurotus eryngii*. *J. Phytopathol.* **160**, 390-396.
24. Park, Y. A., Bak, W. C., Ka, K. H. and Koo, C. D. 2016. Comparison of β -glucan contents of *Lentinula edodes* cultivated on sawdust according to medium composition and fruiting temperature. *Kor. J. Mycol.* **44**, 296-299.
25. Sallam, N., Abd Elrazik, A. A., Hassan, M. and Koch, E. 2010. Differentiation of the causal pathogen of onion white rot *Sclerotium cepivorum* isolates by using the APIZYM system. *Arch. Phytopathol. Plant Protection* **43**, 957-961.
26. Rivero-Pérez, N., Ayala-Martínez, M., Zepeda-Bastida, A., Meneses-Mayo, M. and Ojeda-Ramírez, D. 2016. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian J. Pharmacol.* **48**, 141-144
27. Williams, B. C., McMullan, J. T. and McCahey, S. 2001. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. *Biores. Technol.* **79**, 227-230.
28. Zhang, G. Q., Wu, Y. Y., Ng, T. B., Chen, Q. J. and Wang, H. X. 2013. A phytase characterized by relatively high pH tolerance and thermostability from the shiitake mushroom *Lentinus edodes*. *Biomed. Res. Int.* **2013**, 540239.
29. Zhang, Y., Liu, W., Xu, C., Huang, W. and He, P. 2017. Characterization and antiproliferative effect of novel acid polysaccharides from the spent substrate of shiitake culinary-medicinal mushroom *Lentinus edodes* (*Agaricomycetes*) Cultivation. *Int. J. Med. Mushrooms* **19**, 395-403.
30. Zhu, H., Sheng, K., Yan, E., Qiao, J. and Lv, F. 2012. Extraction, purification and antibacterial activities of a polysaccharide from spent mushroom substrate. *Int. J. Biol. Macromol.* **50**, 840-843.
31. Zhu, H., Tian, L., Zhang, L., Bi, J., Song, Q., Yang, H. and Qiao, J. 2018. Preparation, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from spent *Lentinus edodes* substrate. *Int. J. Biol. Macromol.* **112**, 976-978.

초록 : 표고버섯 수확 후 배지의 이화학적, 영양적, 효소적 특성

성화정¹ · 표수진¹ · 김종식² · 박종이³ · 손호용^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²안동대학교 생명과학과, ³경북바이오산업연구원)

국내 식용버섯 생산은 인공배지에 의존하고 있으며, 버섯 수확후의 폐 배지는 연간 200만톤 이상이 부생되고 있다. SMS에는 다량의 버섯 균사체와 자실체가 포함되어 있으며, 상당량의 영양성분 및 생리활성물질이 잔존하고 있으나, 현재 특별한 용도없이 폐기되고 있는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 표고버섯 SMS의 고부가가치화를 위해 무접종 살균배지, 1차 SMS 및 3차 SMS의 이화학적, 영양적 및 효소적 특성을 평가하였다. 그 결과, 3차 SMS에서는 대부분의 목질부가 표고버섯 균사체에 의해 분해되어, 미접종 살균배지 및 1차 SMS보다 높은 함량의 조단백, 조지질, 회분 함량을 나타내어 우수한 영양성을 나타내었으며, 미접종 살균배지보다 칼슘은 2.95배, 마그네슘 및 나트륨은 2.35배, 인은 2.1배 이상 높게 나타났다. 유해 중금속인 비소와 카드뮴은 검출되지 않았다. 또한 3차 SMS의 경우 pH, brix와 산도는 각각 4.6, 20.0 및 1.4로 나타나, 1차 SMS 보다 가용성 물질 및 유기산의 증가가 월등함을 확인하였다. 무접종 배지와 수확횟수에 따른 SMS 분말 및 추출물의 색차는 유의적으로 변화되어 쉽게 구분가능하였다. 한편 APIZYM kit을 이용한 SMS의 효소 활성 평가결과, 평가한 19종의 효소 모두 우수한 활성을 나타내었으며, 특히 esterase (C4), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, α -chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, α -galactosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase, α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, α -mannosidase 및 α -fucosidase는 매우 강력한 활성을 나타내었다. 본 연구결과는 표고버섯 SMS를 이용한 축산, 수산 사료 개발 및 환경정화, 고분자 분해 산업, 생물 전환 산업에 효율적으로 이용 가능성을 제시하고 있다.