

폐 신문의 가수분해에 미치는 계면활성제의 영향

† 김성배 · 신해중 · 김창준 · 박영철
경상대학교 공과대학 생명화학공학과 및 공학원
(접수 : 2006. 10. 10., 게재승인 : 2007. 2. 10.)

Influence of Surfactant on the Hydrolysis of Used Newspaper

Sung Bae Kim[†], Hae Joong Shin, Chang Joon Kim, and Young Cheol Bak

Department of Chemical & Biological Engineering and ERI, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

(Received : 2006. 10. 10., Accepted : 2007. 2. 10.)

The effect of surfactant on the hydrolysis of used newspaper was investigated. The most suitable surfactant for the pretreatment stage was found to be NP-series surfactants among 9 kinds of nonionic surfactants. Process parameters such as surfactant concentration, mixing speed, pretreatment temperature and time were tested to optimize for maximum digestibility and 0.5%, 100rpm, 30°C, and 1 h were found to be optimum, respectively. In order to maximize digestibility, substrate was pretreated with NP-20 and then the pretreated substrate was hydrolyzed by adding TW-80. The effect of surfactant on the hydrolysis of previously surfactant-pretreated newspaper was marginal. Therefore, the digestibility with the addition order of enzyme and surfactant was investigated by using surfactant only in hydrolysis stage. The results show that digestibility was more lowered as the surfactant addition after adding enzyme to substrate was more delayed.

Key Words : Newspaper, pretreatment, hydrolysis, surfactant, digestibility

서론

최근 원유 가격의 급등과 화석연료의 사용으로 인한 지구 환경문제로 석유를 대체할 에너지원으로 바이오매스에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다. 바이오매스로부터 에너지를 얻는 방법으로는 직접 연소시키는 방법, 고온에서 화학적으로 변환시켜 가스화하는 방법, 그리고 발효를 통한 에탄올을 제조하는 방법 등이 있다. 현재 선진국에서는 자동차 가솔린을 일부 대체하기 위한 에탄올 제조에 관한 연구를 중점적으로 수행하고 있다. 이 분야의 궁극적인 목표는 지구상에 방대하게 존재하는 재생 가능한 임산 및 농산 폐기물, 폐지 등과 같은 리그닌이 포함된 섬유질 자원으로부터 에탄올을 생산하는 것이다.

폐지와 같은 도시고형물은 자원의 재활용과 환경문제 해결 측면에서 에탄올 생산의 좋은 원료가 되고 있다(1). 우리나라에는 해마다 종이 슬러지가 약 1.3백만톤과 재활용되지 못하는 폐지가 약 3.4백만톤이 발생되고 있다(2).

유기성 슬러지의 경우 2003년부터는 매립이 금지되었고 소각 또한 슬러지 자체의 함수율이 높아 처리 비용이 높고 2차 공해를 유발한다. 폐지는 전체 도시고형물중 48%를 차지하며 이중 매일 발간되는 신문지는 전체의 14%를 차지하고, 다른 도시고형물에 비해 비교적 잘 회수된다(3). 목질계 기질에 비하여 이들 기질의 가격이 아주 낮고 상대적으로 높은 cellulose 함량 때문에 바이오에탄올 생산을 위한 좋은 원료가 될 수 있다. 신문에 사용된 펄프는 주로 침엽수를 사용해 만들어지는데 이 침엽수는 리그닌 함량이 높고 셀룰로오스 섬유와 리그닌 사이 조직이 치밀해 효소에 의해 쉽게 가수분해되지 않는다(4). 신문지와 같은 인쇄물을 효소 가수분해하기 위해서는 가수분해 공정 전에 전처리 공정이 필수적이라는 사실은 선행 연구 결과에서 이미 증명되었다(5-8). 현재 사용하고 있는 대부분의 폐지나 종이 슬러지의 전처리 방법은 섬유질 기질을 처리할 때 사용하고 있는 방법을 그대로 사용하고 있으며 이러한 연구도 극히 제한되어 있다(9-11).

계면활성제를 전처리 공정에 첨가하면 기질에서 효소 반응을 방해하는 물질이 제거되기 때문에 이렇게 전처리된 기질을 효소 가수분해하면 당화율을 높일 수 있다(7, 8, 12, 13). 또한 계면활성제를 효소 가수분해 공정에 첨가하면 효소가 안정화되거나 효소와 기질사이 상호 작용이 개선되어 효소 가수분해가 용이하게 된다(14-17). 그래서 전

† Corresponding Author : Department of Chemical & Biological Engineering and ERI, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Tel : +82-55-751-5385, Fax : +82-55-753-1806

E-mail : sb_kim@gnu.ac.kr

처리에서 사용한 계면활성제를 제거하지 않은 기질에 효소를 첨가하여 가수분해하면 전처리에만 계면활성제를 사용한 경우보다 더 좋은 결과를 얻을 수 있지 않을까하여 선행연구에서 실험한 적이 있다(12). 예상과는 달리 전처리 공정 후 남은 기질을 가수분해하기 전에 물로 세척하지 않으면 당화율이 물로 세척한 경우보다 상당히 낮은 것을 알 수 있었다. 이것은 전처리 공정과 가수분해 공정에서 같은 계면활성제를 사용할 필요가 없다는 것을 의미한다. Tween (TW) 계열의 계면활성제는 발효공정에서 균주 성장에 영향을 미치지 않으므로 섬유성 기질의 효소 가수분해 공정에 많이 사용된다(18). 그러나 전처리 공정에서는 TW 계열 계면활성제보다 NP 계열의 계면활성제가 상당히 좋은 효과를 나타내었다(13). 이 연구의 목적은 전처리 공정에 적합한 계면활성제를 찾아내어 공정을 최적화하고, 효소 가수분해 공정에서 계면활성제의 영향과 효소와 계면활성제의 첨가순서에 따라 당화율의 변화를 조사하였다. 효소 가수분해 공정에는 이미 효과가 검증된 TW 계열의 계면활성제만 사용하였다.

재료 및 방법

재료

기질로 사용된 신문지는 매일경제와 경남일보를 5 × 5 mm의 크기로 잘라 혼합하여 사용하였다. 건조시료의 초기 성분을 분석한 결과 glucan: 59.0 wt%, (xylan + mannan + galactan): 16.2 wt%, klason lignin: 12.4 wt%, ash: 6.0 wt%이었다. 사용한 계면활성제는 Table 1에 나타내었는데 Tween 계열 (Sigma Chemical CO., USA.)을 제외한 모든 계면활성제는 TCI (Tokyo Kasei Kogyo, Japan) 제품을 사용하였다. 효소는 상업용 cellulase와 β -glucosidase (Novo Nordisk, Bagvard, Denmark)인 Celluclast 1.5 L (60 FPU/mL)과 Novozym 188 (792 CBU/mL)를 사용하였다. 가수분해 반응 중 생성되는 cellobiose의 가수분해 저해 작용을 최소화하기 위해 cellulase와 β -glucosidase를 4 : 1의 부피비로 첨가해 주었다.

Table 1. Surfactants and 72h digestibility

name	composition	EO*(mol)	HLB**	72 h digestibility
NP-5	polyethylene glycol	5	10.0	73.0
NP-10	mono-4-nonylphenyl	10	13.3	73.3
NP-20	ether	20	16.0	75.5
TW-20	polyoxyethylene sorbitan monolaurate		16.7	62.9
TW-80	polyoxyethylene sorbitan monooleate		15.0	68.1
ML	polyethylene glycol monolaurate		13.0	60.4
MO	polyethylene glycol monooleyl ether		15.3	67.0
MD	polyethylene glycol monododecyl ether		17.7	71.0
MS	polyethylene glycol monostearate		16.6	61.0

*EO: ethylene oxide (mol), **HLB: hydrophile-lypophile balance

전처리

전처리는 500 mL 둥근 플라스크에 기질 10 g을 넣고, 고체와 액체의 비율이 1 : 20이 되도록 증류수 200 g을 넣어주었다. 계면활성제는 건조기질 10 g에 대한 0.25-2.0 wt%에 해당하는 양을 첨가하였다. 전처리는 전처리 온도 30-50°C, 전처리 시간 30-240분, 교반속도 0~400 rpm에서 행하였다. 전처리 후 전처리된 기질을 1 L의 증류수로 세척하고, 세척이 끝난 기질은 수분이 70-80% 정도 포함하도록 처리한 후 반으로 나누어 하나는 수분함량 측정과 당 성분 분석을 하고, 나머지는 냉장고에 보관하여 효소 가수분해에 사용하였다.

효소 가수분해 및 당화율 측정

당화율 측정실험은 NREL standard procedure #009(19)에 따라 수행하였다. 가수분해 용액은 250 mL 플라스크에 0.5 g glucan에 해당하는 기질을 넣고 여기에 완충용액, 효소 그리고 증류수를 포함하여 전체 부피를 50 mL로 조정하였다. 완충용액은 pH 4.8이 되는 0.05 M citrate buffer를 만들어 사용하였고, 효소는 15 FPU/g glucan에 해당하는 양을 넣어주었다. 그리고 계면활성제는 건조기질 기준 0.5 wt% 첨가하였다. 이때 계면활성제는 미리 증류수에 용해시켜 첨가해 주었다. 가수분해시 50°C로 예열해 둔 진탕항온 수조에 앞의 가수분해 용액을 담은 용기를 넣어 용기 전체가 50°C로 온도가 맞추어진 후 효소를 넣어 주었다. 가수분해 반응은 총 72시간 동안 실시하였고, 항온조 내 왕복속도는 90 strokes/min으로 해주었다. 가수분해 실험은 모든 시료에 대해 중복 실험하였고, 가수분해가 진행되는 동안 매 24시간마다 1.5 mL씩 시료를 채취하여 HPLC로 glucose 양을 측정하고 당화율을 계산하였으며, 결과는 평균 당화율로 표시하였다.

분석방법

고체시료의 수분, 당, klason lignin과 회분은 NREL standard procedures #001-005(19)에 따라 분석하였다. 당 분석을 측정하기 위해 Bio-Rad Aminex HPX-87H column (condition: 0.6 mL/min, 65°C, 0.005 M H₂SO₄)을 사용하였고, 이를 연결한 HPLC (Thermo Separation Products)로 분석하였다. 이 칼럼은 xylose, mannose, galactose를 분리할 수 없으므로 세 성분을 합하여 표기하였다.

결과 및 고찰

전처리 공정에서 계면활성제의 영향

신문지와 같은 인쇄물을 효소 가수분해하기 위해서는 가수분해하기 전에 전처리 공정이 꼭 필요하다는 사실은 선행 연구 결과에서 이미 증명되었다(5-8). 전처리 공정에 계면활성제를 사용하면 계면활성제가 기질에 포함된 잉크 성분을 제거하여 효소가 기질에 보다 쉽게 접근할 수 있도록 도와주어 결과적으로 효소에 의한 기질의 가수분해를 향상시키는 것으로 알려져 있다(7, 8, 12, 13). 또한 효소 가수분해 공정에 계면활성제를 사용하면 계면활성제가

효소의 안정화에 도움을 주거나 비활성화를 막아주어 기질이 효소에 의해 가수분해가 잘 되도록 도움을 주는 것으로 알려져 있다(14-17). 그러나 전처리 공정 후 전처리에서 사용한 계면활성제를 물로 세척하여 제거하지 않고 효소를 첨가하여 가수분해하면 물로 세척한 경우보다 당화율이 상당히 낮게 나타났다(12). 이것은 전처리 공정과 효소 가수분해 공정에서 같은 계면활성제를 사용할 필요가 없다는 사실을 의미한다. 그래서 전처리에서 계면활성제가 미치는 영향을 고찰하기 위하여 Table 1에 나타낸 여러 종류의 계면활성제를 사용하였다. 제지의 잉크 제거 공정에서는 미세섬유의 손실을 방지하기 위하여 주로 비이온 계면활성제를 사용하므로 여기서도 모두 비이온 계면활성제를 선택하였다. 사용한 계면활성제 중 NP 계열의 계면활성제의 전처리 효과가 가장 높은 것으로 나타났고 NP 계열 중 HLB 값이 가장 높은 NP-20의 당화율이 근소하지만 가장 높아 전처리 공정에 사용할 계면활성제로 NP-20을 선택하였다. 여기서 각 계면활성제가 잉크 제거과정에 관여하는 정도를 정량적으로 나타내기가 쉽지 않아 자세한 설명은 할 수 없을 것 같다. 일반적으로 NP 계열의 계면활성제는 잉크 제거 공정에서 좋은 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으나 미생물에 의한 분해과정 중 환경에 유해한 phenol을 방출하는 것으로 알려져 있다(20).

전처리 공정을 최적화하기 위해 먼저 NP-20의 최적 사용량을 조사하였다(Fig. 1). 여기서 untreated는 가수분해 전 아무런 전처리를 하지 않은 기질이다. 사용한 기질에 대한 계면활성제의 중량 %가 1%를 정점으로 작지만 증가하다 감소하는 추세를 보였다. 그래서 0.5% (실제 용액에서는 약 0.023%에 해당)를 선택하여 이후 실험하였다. Fig. 2는 교반속도, 전처리 온도 그리고 전처리 시간이 당화율에 미치는 영향을 나타낸 그림들이다. 교반속도가 100 rpm 이상이면 교반속도가 당화율에 미치는 영향은 거의 없었고 교반하지 않고 계면활성제를 침지시킨 경우에도 당화율이 약 71%에 도달하여 100 rpm 이상 교반시킨 경우와 당화율이 3% 정도 밖에 차이가 나지 않았다. 전처리에서 기질을 교반시키면 기질크기가 교반속도의 증가에 따라 감소하여 당화율이 증가할 것으로 생각하였으나 교반속도에 따른 당화율의 변화는 거의 없었다. 이것은 기질 크기가 당화율의 증가와는 거의 무관하다는 것으로 간접적으로 시사하는 것으로 계면활성제에 의한 전처리 효과는 오직 계면활

성제의 역할에 의존하는 것으로 짐작할 수 있다. Fig. 2b는 전처리 온도가 30°C 이상이면 당화율의 변화가 거의 없어 실온에서 전처리를 해도 당화율에는 큰 영향이 없을 것으로 생각한다. 전처리 시간은 1시간 정도이면 충분하다고 생각한다(Fig. 2c). 그래서 최적 조건은 0.5%, 30°C, 100 rpm, 1시간이었고 이후 실험은 이 조건에서 하였다.

효소 가수분해에서 계면활성제의 영향

섬유성 기질의 효소 가수분해 반응에 계면활성제를 첨가하면 계면활성제가 효소 당화율을 높인다는 사실은 이미 많은 연구에서 발표되었다. 가수분해가 진행되는 동안 효소의 활성이 떨어지는데 계면활성제를 첨가하면 효소의 활성이 떨어지는 속도를 낮출 수 있다. 이에 대한 기구가 명확히 밝혀지지는 않았지만 가장 유력한 설명은 효소가 리그닌 등에 흡착되어 비활성화되기 전에 기질 표면에서 쉽게 탈착할 수 있도록 계면활성제가 도와준다는 설(15)과 계면활성제가 효소보다 리그닌에 먼저 흡착하여 리그닌에 의한 효소의 비활성화를 막아 준다는 설이다(14). Tween 계열의 계면활성제를 효소 가수분해에 사용한 이유는 Tween 계열 계면활성제가 cellulase의 활성을 높여주고 효소 가수분해에 사용한 계면활성제가 다음 공정인 발효공정에서 균주 성장에 영향을 미치지 않는다고 알려졌기 때문이다 (14, 16, 17).

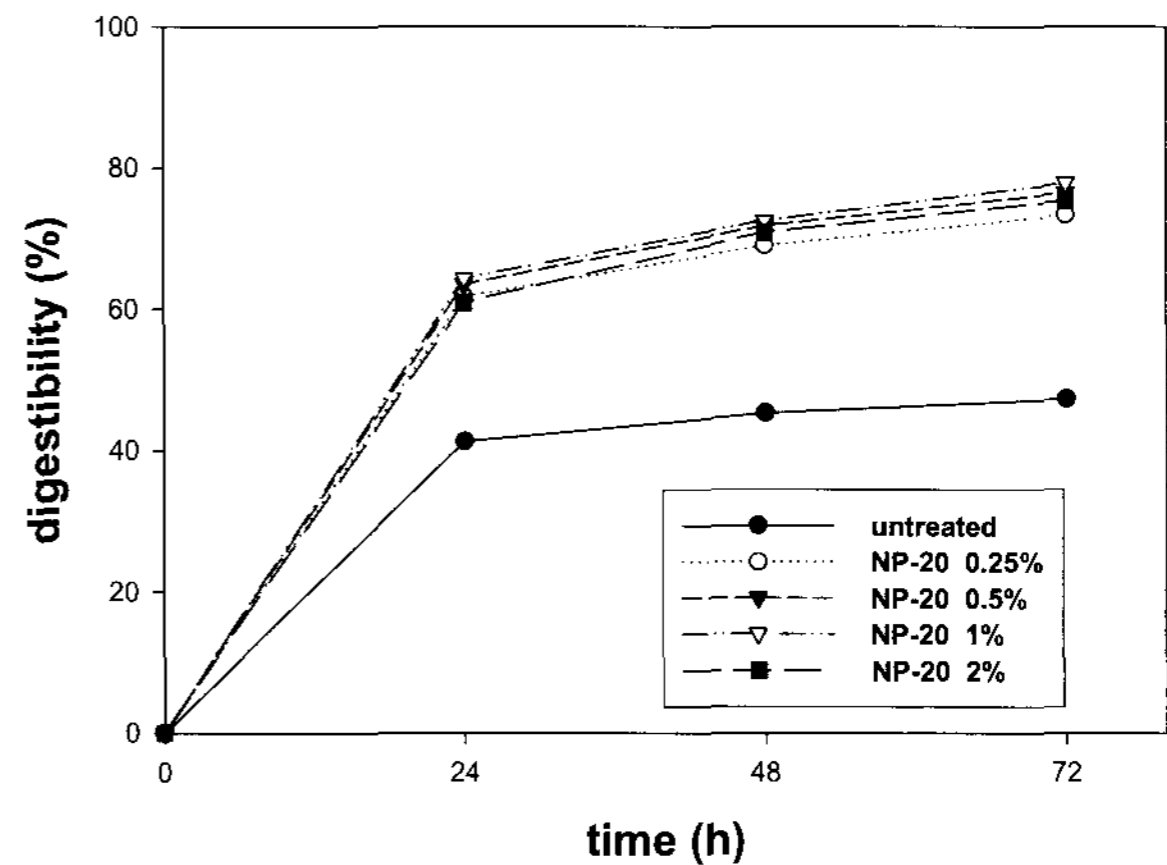


Figure 1. Effect of NP-20 loading on enzymatic digestibility of newspaper.

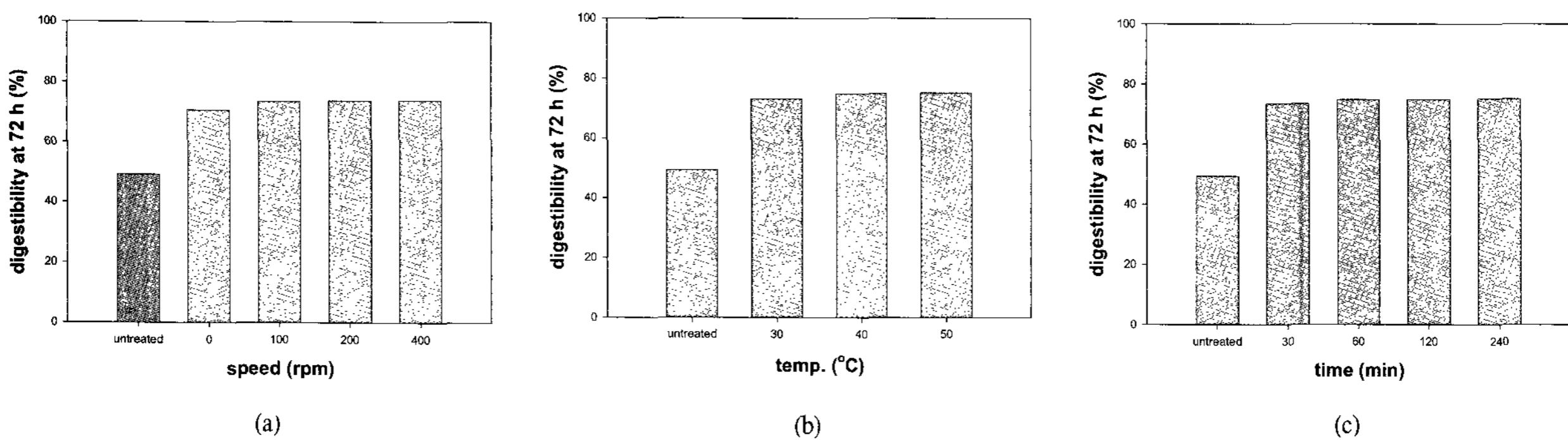


Figure 2. Effect of (a) agitation speed, (b) pretreatment temperature, and (c) pretreatment time on enzymatic digestibility.

그래서 본 연구에서는 당화율을 최대화하기 위해 NP-20을 사용하여 기질을 전처리하고 효소 가수분해에서는 TW 계열의 계면활성제를 사용하였다. Fig. 3은 가수분해 공정에서 계면활성제 사용량에 따른 당화율을 조사한 그림이다. 두 계면활성제의 농도를 건조 기질에 대해 0.25%에서 2% 범위 (실제 용액에서는 0.0045-0.036 wt%) 내에서 실험하였다. NP-20으로 전처리하여 당화율을 측정한 결과(Fig. 1에 나타난 결과), 즉 NP-20을 사용하여 전처리하고 가수분해 공정에서는 계면활성제를 사용하지 않은 경우와 비교하면 TW-20의 경우는 당화율이 약 5% 낮았고 TW-80의 경우는 거의 같았다. 이것은 효소 가수분해 공정에만 계면활성제를 사용하면 당화율을 상승시킨다는 기존의 연구 결과와는 달리 전처리 공정에서 계면활성제를 사용하고 또 효소 가수분해 공정에 계면활성제를 사용하면 가수분해 공정에서 계면활성제 효과가 거의 없음을 의미한다. 여기서 자료를 제시하지는 않았지만 기질을 계면활성제로 전처리하고 기질 중량의 20배나 많은 물로 세척했는데도 같은 결과가 얻어졌다. 그러나 이와 같은 결과에 대한 이유는 현재로서는 설명할 수는 없다. TW-20의 경우는 계면활성제가 가수분해 반응을 방해하는 것으로 보여 진다. 모든 계면활성제가 효소에 의한 가수분해 반응을 도와주는 것은 아니고 저해할 수도 있다고 보고되어 있다(14).

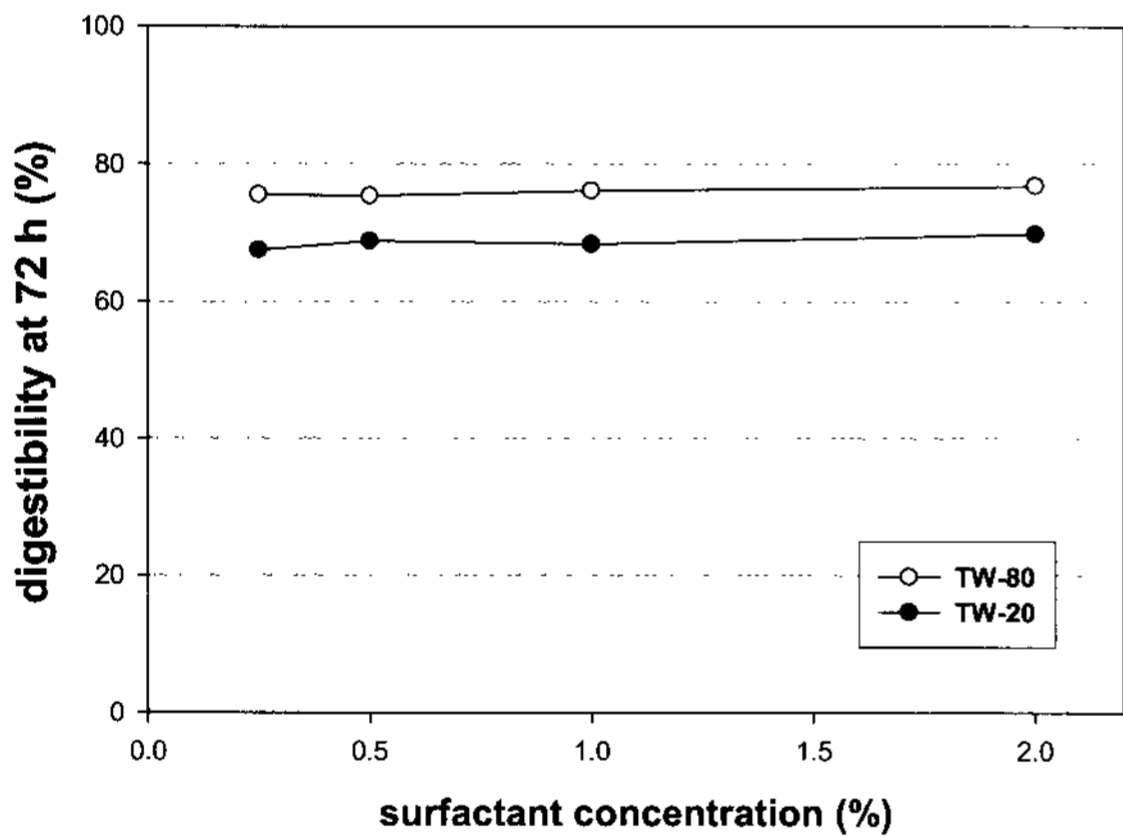


Figure 3. Effect of surfactant concentration on enzymatic digestibility of pretreated newspaper (pretreatment: 0.5% NP-20).

전처리 공정에 계면활성제를 사용하면 가수분해 공정에 사용한 계면활성제가 당화율의 향상에 미치는 영향이 거의 없으므로 전처리에는 계면활성제를 사용하지 않고 가수분해 공정에만 계면활성제를 사용하였다. 이 경우 기질을 가수분해 전에 다른 처리는 하지 않고 미리 물에 1시간 침지시켰다. 계면활성제는 TW-20이 효소 가수분해 반응을 방해하는 것으로 나타났기 때문에 이후 실험에서는 TW-80만 사용하였다. 실험 결과는 Fig. 4의 time = 0일 때의 당화율인데 이 결과는 전처리 공정에만 계면활성제를 사용하는 경우보다는 당화율이 2% 정도 조금 낮았다. 이것은 계면활성제를 전처리나 가수분해 공정 중 한번만 사용하면 된다는 것을 뜻한다. 그래서 효소 가수분해에서 당화율을 높이기 위하여 기질에 계면활성제와 효소의 첨가 순서에 따른 당화율을 조사하였다. 기질에 계면활성제와

효소를 동시에 넣으면 이 두 성분이 경쟁적으로 기질에 흡착하므로 첨가순서가 가수분해 반응에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 다음 두 방법을 고안하였다. 고체 cellulose가 용해될 수 있는 당으로 전환되기 위해서는 먼저 효소가 cellulose 표면에 흡착되어야 한다. 그래서 계면활성제가 리그닌 등에 흡착하여 리그닌에 의한 효소의 비활성화를 예방해 준다는 설명을 근거로 먼저 계면활성제를 첨가하고 나중에 효소를 첨가하는 방법을 생각하였다. 또한 계면활성제가 처음부터 투입되면 기질에 먼저 흡착된 계면활성제가 효소의 기질 흡착을 방해할 수 있기 때문에 먼저 효소를 첨가하고 나중에 계면활성제를 첨가하는 방법을 생각하였다. 그래서 첫 번째 방법은 기질과 계면활성제를 먼저 넣고 진탕 배양기에서 교반시킨 다음 효소를 첨가하는 방법을, 두 번째 방법은 기질과 효소를 먼저 넣고 교반한 후 계면활성제를 넣는 방법을 고안하였다.

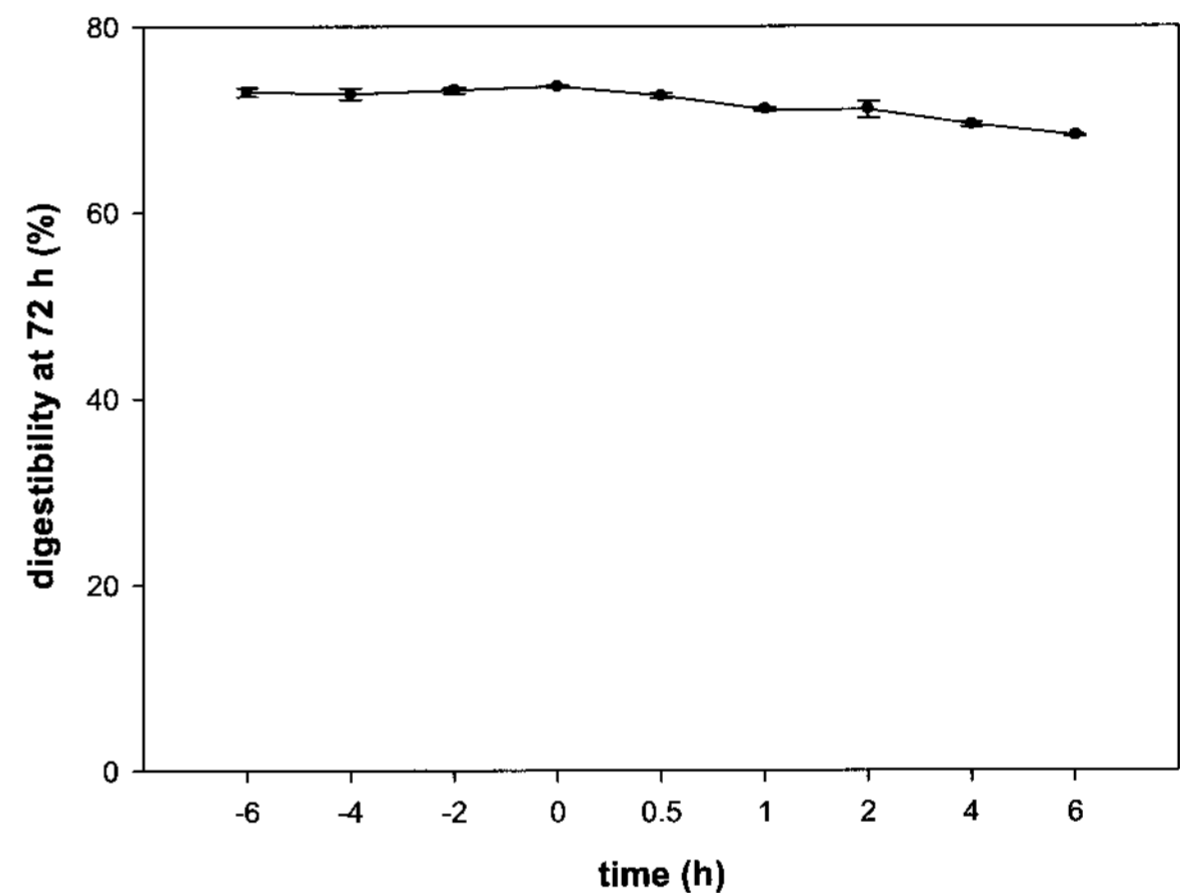


Figure 4. Effect of time of TW-80 addition on enzymatic digestibility.

첫 번째 방법의 결과는 Fig. 4에서 time = -2, -4, -6에서 보여 지는데 이들 결과는 효소를 첨가하기 2, 4, 6시간 전에 기질과 계면활성제를 넣고 교반시킨 다음 효소를 첨가시켜 얻었다. 이들 결과를 기질, 효소와 계면활성제를 동시에 넣은 얻은 결과 (time = 0의 결과)와 비교하면 당화율의 차이는 거의 없어 계면활성제가 효소보다 먼저 투입되어도 계면활성제가 효소의 기질 흡착을 방해하는 않는 것으로 생각할 수 있다. 두 번째 방법의 결과는 Fig. 4에서 time = 0.5, 1, 2, 4, 6일 때 나타난 결과인데 기질과 효소를 동시에 첨가하고 0.5, 1, 2, 4, 6시간 후 계면활성제를 첨가하는 방법이다. 효소와 계면활성제를 동시에 첨가하여 가수분해할 경우 (time = 0의 결과)가 가장 당화율이 높았고 계면활성제를 효소보다 늦게 첨가할 경우 계면활성제의 첨가 시기가 늦을수록 당화율이 낮아지는 경향을 보였다. 이와 같은 현상은 계면활성제가 효소-기질사이 흡착을 방해하는 것이 아니라 계면활성제가 기질 표면의 친수성을 높여 효소가 기질에 접근하기 쉽도록 해준다고 설명(15), 또는 효소가 초기에 기질에 존재하는 리그닌과 같은 물질과 비생산적인 결합하는 것을 계면활성제가 막아주어

효소 가수분해가 잘 되도록 해준다는 설명(14)을 간접적으로 뒷받침해 준다고 볼 수 있다. 결론적으로 계면활성제를 가수분해 공정에 참가하는 방법보다 전처리 공정에 참가하는 방법이 2% 정도 조금 높은 당화율을 얻을 수 있으나 전처리 공정에 참가하면 가수분해 전 반드시 전처리된 기질을 물로 세척해야 하는 과정이 필요하다는 문제가 있다. 가수분해 공정에 계면활성제를 참가하면 전처리공정으로 기질을 물에 침지시키는 과정은 필요하나 세척시킬 필요는 없는 이점이 있다. 이 경우 계면활성제와 효소의 첨가 순서가 중요하다.

요 약

신문지와 같은 폐지의 가수분해에 미치는 계면활성제의 영향을 조사하였다. 전처리 공정에 적합한 계면활성제는 사용한 9종의 비이온 계면활성제 중 NP 계열 계면활성제가 가장 좋은 전처리 효과를 나타내었다. NP-20을 사용하여 전처리 공정을 최적화한 결과 계면활성제 농도, 교반속도, 전처리 온도와 시간이 0.5%, 100 rpm, 30°C와 1시간일 때 최적조건이었다. 당화율을 최대화하기 위하여 기질을 NP-20으로 전처리하고 전처리된 기질을 TW-80을 첨가하여 가수분해하였다. 계면활성제를 사용하여 전처리된 기질을 계면활성제를 첨가하여 가수분해하면 가수분해에서 계면활성제의 효과가 거의 없었다. 그래서 가수분해 공정에서만 계면활성제를 사용하여 효소와 계면활성제의 첨가 순서에 따른 당화율을 조사하였다. 조사결과 기질에 효소를 넣고 난 후 계면활성제의 첨가시기가 늦을수록 당화율이 낮아지는 경향을 나타내었다.

REFERENCES

- Bergeron, P. W. and C. J. Riley (1991), *Wastepaper as a Feedstock for Ethanol Production*, NREL/TP-232-4237, National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, USA.
- Korea Paper Manufacture's Association (2003), *Report for Production and Treatment of Paper Mill Waste*, Seoul, Korea.
- Scott, C. D., B. H. Davison, T. C. Scott, J. Woodward, C. Dees, and D. S. Rothrock (1994), An Advanced Bioprocessing Concept for the Conversion of Waste paper to Ethanol, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **45/46**, 641-653.
- Holtzapple, M. T., J. E. Lundeen, R. Sturgis, J. E. Lewis, and B. E. Dale (1992), Pretreatment of Lignocellulosic Municipal Solid Waste by Ammonia Fiber Explosion (AFEX), *Appl. Biochem. Biotechnol.* **34/35**, 5-21.
- Moon, N. K. and S. B. Kim (2001), Pretreatment of Used Newspaper to Increase Enzymatic Digestibility, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **16(5)**, 446-451.
- Kim, S. B. and N. K. Moon (2003), Enzymatic Digestibility of Used Newspaper Treated with Aqueous Ammonia-Hydrogen Peroxide Solution, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **105/108**, 365-373.
- Kim, S. B. and J. W. Chun (2004), Enhancement of Enzymatic Digestibility of Recycled Newspaper by Addition of Surfactant in Ammonia-Hydrogen Peroxide Pretreatment, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **113/116**, 1023-1031.
- Kim, S. B. and J. W. Chun (2004), Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Used Newspaper, In *Lignocellulosic Biodegradation*, Saha. B. C. and Hayashi, K., Eds., p36, ACS Books, Washington, USA.
- Khan, A. W., J. Labrie, and J. McKeown (1987), Electron Beam Irradiation Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Used Newsprint and Paper Mill Wastes, *Radiat. Phys. Chem.* **29**, 117-120.
- Zheng, Y., H. Lin, and G. T. Tsao (1998), Pretreatment for Cellulose hydrolysis by Carbon Dioxide Explosion, *Biotechnol. Prog.* **14**, 890-896.
- Kim, J. S., Y. Y. Lee, and S. C. Park (2000), Pretreatment of Wastepaper and Paper Mill Sludge by Aqueous Ammonia and Hydrogen Peroxide, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **84/86**, 129-139.
- Kim, S. B., H. J. Kim, and C. J. Kim (2006), Enhancement of the Enzymatic Digestibility of Waste Newspaper using Tween, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **131**, 486-495.
- Kim, S. B., H. J. Kim, and C. J. Kim (2006), Effect of Nonionic Surfactant on the Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Recycled Newspaper, submitted in *Process Biochemistry*.
- Eriksson, T., J. Börjesson, and F. Tjerneld (2002), Mechanism of Surfactant Effect in Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose, *Enzyme Micro. Technol.* **6112**, 1-12.
- Helle, S. S., S. J. B. Duff, and D. G. Cooper (1993), Effect of Surfactants on Cellulose Hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng.* **42**, 611-617.
- Karr, W. E. and M. T. Holtzapple (1998), Benefits from Tween During Enzymic Hydrolysis of Corn Stover, *Biotechnol. Bioeng.* **59**, 419-427.
- Wu, J. and L. Ju (1998), Enhancing Enzymatic Saccharification of Waste Newsprint by Surfactant Addition, *Biotechnol. Prog.* **14**, 649-652.
- Castanon, M. and C. R. Wilke (1981), Effect of the Surfactant Tween 80 on Enzymatic Hydrolysis of Newspaper, *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 1365-1372.
- http://www.ott.doe.gov/biofuels/analytical_methods.html
- Lassus, A. (2006), Deinking Chemistry, In *Recycled Fiber and Deinking Book 7*, L. Götsching, Ed., p241, Gummerus Printing, Finland.