

목질계 바이오에탄올 생산의 전처리 기술에 관한 연구동향*¹

김 영 숙*^{2†}

A Research Trend of Pretreatment in Bioethanol Production Process with Lignocellulosic Biomass: A Literature Review*¹

Yeong-Suk Kim*^{2†}

요 약

목질바이오매스 원료는 구성성분 특성 및 분포상 생물·화학적 전환에 매우 큰 장애요소를 지니고 있다. 특히 셀룰로오스를 이용하고자 하는 경우의 리그닌 장애는 해결해야 할 중요한 요소로 인식되고 있어 바이오에탄올 생산에서도 당화공정에 앞서 전처리 공정이 필연적이며 최종 에탄올 수율 및 생산비용에도 영향이 커서 다양한 전처리 방법들이 제안되고 있는 상황이다. 본 총설은 문헌연구를 통하여 최근 세계적으로 진행되고 있는 목질바이오매스 대상의 전처리 연구에 대한 동향을 파악하고, 이들 전처리공정의 특징 및 장단점을 분석하여 국내 목질바이오매스 원료 및 생산여건에 적합한 공정 연구 개발에 필요한 기초자료를 마련하고자 하였다. 국내외적으로 활발하게 연구되는 주요 전처리 기술은 각각 공정 및 경제성 면에서 장단점이 있어 원료나 생산여건 환경에 따라 적합한 전처리 공정을 선택해야 할 필요가 있는 것으로 고찰되었다.

ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is the most abundant raw material for bioconversion in many country. However the high costs for pretreatment and enzymatic hydrolysis currently deter commercialization of lignocellulosic biomass, especially wood biomass which is considered as the most recalcitrant material for enzymatic hydrolysis mainly due to the high lignified structure and the nature of the lignin component. Therefore, overcoming recalcitrance of lignocellulosic biomass

*¹ 접수 2009년 3월 4일

본 연구는 국민대학교 교내연구비(2007)지원에 의해 수행되었음

*² 국민대학교 임산공학과, Dept. of Forest Products, College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea
 † 주저자(corresponding author) : 김영숙(e-mail: yskim@kookmin.ac.kr)

for converting carbohydrates into intermediates that can subsequently be converted into biobased fuels and biobased products is the primary technical and economic challenge for bioconversion process. This study was mainly reviewed on the research trend of pretreatment with lignocellulosic biomass in bioethanol production process.

Keywords: lignocellulosic biomass, bioethanol, physical pretreatment, chemical pretreatment

1. 서 언

전 세계적으로 수송용 대체에너지로서 바이오에탄올의 수요증가가 예측되는 상황에서 옥수수유래 바이오에탄올에 대체하는 2세대 바이오연료 원료로서 목질바이오매스(Lignocellulosic biomass)가 부상되고 있다. 그러나 목질바이오매스는 구성성분과 구조 등 원료에서 에탄올까지 매우 복잡한 생산 공정이 요구되는 문제점이 있다.

바이오연료 원료로 목질바이오매스를 이용하는 경우, 효율성을 높이기 위해서는 다음과 같은 내용에 유념해야 하는 것으로 설명된다. 목질바이오매스

원료 중에서도 침엽수나 활엽수와 같은 목재의 경우 각 조성분간의 결합이 치밀하고, Fig. 1에 나타난 바와 같이, 이용가능한 당이 리그닌에 둘러싸여져 있을 뿐 아니라 결정성 cellulose가 당화 효소 등의 접근이 어려울 정도로 cellulose 섬유 간 결합이 긴밀하게 결합되어 있다는 특징이 있다. 이러한 강고함은 cellulose 주변의 수소결합과 van der waals인력의 결합으로 인하여 가수 분해가 더 어렵고, cellulose microfibril들은 5탄당의 함량이 높은 hemicellulose의 매트릭스에 파묻혀 있어 더욱 더 효소가수분해 등이 어려운 구조를 띄고 있다. 따라서 치밀한 구조의 목질바이오매스를 분해하여 유용물질을 얻고자 하는 경우에는 이용의 목적이 되는 구성성분의 수율이 높으면서 화학적 성상이 손상되지 않는 전처리 공정이 요구된다고 할 수 있다.

그리고 지금까지 물리적, 화학적, 생물학적 전처리 방법 등 수 없이 다양한 방법들이 개발되어 왔으나 많은 전문가들은 공통적으로 이들 전처리과정에

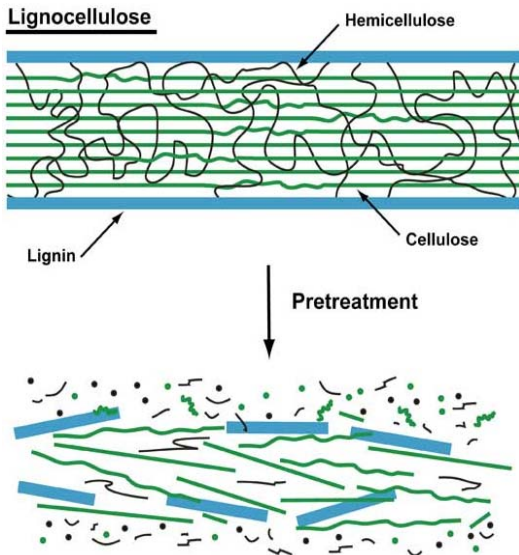


Fig. 1. Lignocellulose model showing lignin, cellulose and hemicellulose, Ref.: Hector et al., 2008, USDA Agricultural Research Service.

Table 1. Pretreatment of lignocellulosic materials (Ref.: Schell et al., 2006)

Pretreatment category	Pretreatments
Physical pretreatment	Mechanical pretreatment Pyrolysis
Physico-chemical pretreatment	Steam explosion (autohydrolysis) Ammonia fiber explosion (AFEX) CO ₂ explosion
Chemical pretreatment	Ozonolysis Acid hydrolysis Alkaline hydrolysis Oxidative delignification Organosolv process
Biological pretreatment	

서 에너지사용을 줄이고, 공정상 소요되는 비용을 감소시켜야 할 필요성을 지적하고 있다. 이와 같은 상황에서 암모니아나 희석산 처리와 같이 상당히 고효율의 전처리방법이 보고(Teymouri *et al.*, 2005; Weyman *et al.*, 2005)되기도 하나 이들 방법들도 역시 장단점을 동시에 수반하는 문제점을 가지므로 이를 개선하기 위한 또 다른 전처리방법이 여러 국가에서 연구 개발되고 있다. 연구 진행이 많이 되고 있는 전처리방법의 요약을 Table 1에 나타낸다. Table 1에 나타낸 바와 같이 산, 알카리, 유기용매 등의 화학물질을 사용하는 방법과 열처리와 같은 물리적 처리, 미생물을 이용한 생물적 전처리방법들에 대한 연구가 이루어지고 있다(Silverstein *et al.*, 2007; Schell *et al.*, 2006; Gomez *et al.*, 2008; Zhang & Lynd, 2004). 그러나 지금까지 목재바이오매스를 이용한 바이오에탄올생산에 상용화할 만큼의 실용 가능하다고 할 만한 전처리기술이 미흡한 것으로 보고되고 있다(Zhao *et al.*, 2008). 따라서 국내에서도 목질바이오매스의 에탄올화 공정에 상용화가 가능한 전처리에 관한 심도 있는 연구가 시급하며 국내는 물론 국제시장에도 진출할 수 있는 국산 기술 확보의 필요성이 매우 큰 상황이라고 판단된다. 이와 같은 상황에서 본 연구에서는 문헌연구를 통하여 최근 세계적으로 진행되고 있는 목질바이오매스를 대상으로 한 이들 전처리 연구에 대한 동향을 소개하고, 이들 전처리공정의 특징 및 장단점을 분석하여 국내 목질바이오매스 원료 및 생산여건에 적합한 공정 연구 개발에 활용 가능한 기초자료를 마련하고자 하였다.

2. 묽은 산(dilute acid)을 이용한 전처리

2.1. 묽은 산 전처리

목질바이오매스 원료를 효소당화과정에서 효소 접근성을 증대시키고자 하는 목적으로 근년에 많은 연구가 이루어지고 있는 방법 중의 하나가 전처리의 촉매제로 묽은 산을 이용하는 것이다. 즉 묽은 산으

로 cellulose 주변의 hemicellulose를 가수분해하여 cellulose에 효소 접근성을 높여 glucose 수율 증대를 꾀하고자 하는 것이다.

묽은 산의 원료에 따른 적용가능성을 타진하기 위하여 옥수수목질부산물(corn stover)(Schell *et al.*, 2003; Saha & Bothast, 1998), 벧짚이나 갈대(Kim & Mazza, 2008; Saha & Bothast, 1998; Karimi *et al.*, 2006), switchgrass와 hybrid poplar와 같은 에너지작물(Schell *et al.*, 2006; Brink, 1998; Penner, 1995; Brink, 1995), 소나무(Kim & Mazza, 2008) 등 다양한 목질계 원료에 적용하여 그 효과와 공정의 최적화 조건을 도출한 연구들이 있다. 이 때 묽은 산을 처리하는 온도 및 시간 조건에 따라 원료가 가지고 있던 hemicellulose나 cellulose의 분해정도가 달라지는데 묽은 산의 농도가 높거나 반응시간을 길게 할 경우에는 cellulose의 붕괴가 많아져서 원래 목적으로 한 polyglucan의 생성율이 매우 저하되는 결과를 초래할 수 있다는 보고들이 있다(Brink, 1998; Penner, 1995). 그러나 묽은 산에 의해 hemicellulose가 잘 분해되고 후에 회수가 가능한 특성을 이용하여 벧짚이나 switchgrass와 같이 xylose와 같은 hemicellulose 함유가 비교적 높고, cellulose 결정성이 목재에 비해 낮은 바이오매스에서는 오히려 hemicellulose 회수량이 높아짐으로써 오탄당 이용에 묽은 산 전처리방법이 유용하다는 것이 보고되고 있기도 하다(Ohgren *et al.*, 2006; Silverstein *et al.*, 2007; Gomez *et al.*, 2008). 또한 당화과정에서 hemicellulose 유래의 5탄당과 cellulose 당화산물인 6탄당을 혼합하여 발효하는 어려움을 없애는 차원에서 강도 높은 묽은 산 처리로 hemicellulose을 분리하는 것이 보고되었다(Kim & Mazza, 2008; Saha *et al.*, 2005).

한편 묽은 산 전처리 방법에서 사용하는 산의 종류는 황산, 염산, 질산, 인산 등 다양한 산이 이용되는데, 이 중에서 주로 황산과 염산 등의 이용이 많다(Kim & Mazza, 2008; Schell *et al.*, 2003; Saha & Cotta, 2008; Saha *et al.*, 2008; Saha & Bothast, 1998; Karimi *et al.*, 2006; Schell *et al.*, 2006; Brink, 1998; Penner, 1995; Brink, 1995). 이 경우,

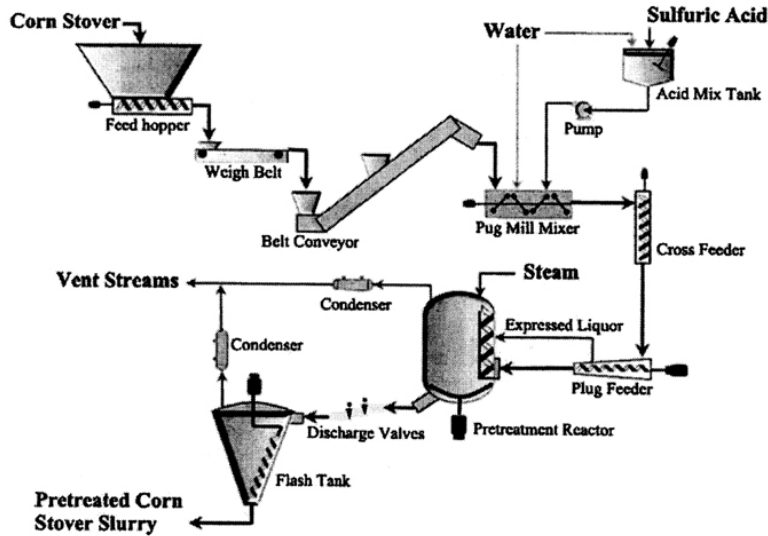


Fig. 2. Diagram of pilot-scale dilute-H₂SO₄ pretreatment system (Ref.: Schell *et al.*, 2003).

이들 약제가 고온으로 인해 hydroxymethyl furfural (HMF) 또는 furfural과 같은 독성의 부산물을 발생하게 하고, 그리고 HMF가 수분 존재 상태에서 또 다른 발효 억제 물질인 Levulinic acid 및 formic acid를 생성시키는 부작용이 있어(Kim & Mazza, 2008; Dadi *et al.*, 2006), 인산 또는 질산과 같은 산의 필요성이 시사된 연구들이 있다. 인산을 이용하는 경우, 조성분 분리의 효율성이 높아지며 공정상 에너지절감, 독성부산물 생성 감소하는 등 환경적으로 이로운 점이 있음이 강조되고는 있으나(Kim & Mazza, 2008; Sun & Cheng, 2002; 2005; Wyman *et al.*, 2005a; 2005b) 충분한 전처리결과를 위해서는 농도가 높은 인산을 사용해야 하는 등의 문제점이 있다(Kim & Mazza, 2008).

맑은 산을 이용한 전처리 공정에 있어서는 많은 연구들이 산 농도 0.5%~3%, 처리온도는 약 121~195°C, 반응시간은 3분~1시간까지 폭 넓은 조건이 시험되었는데 이들 공정조건은 적용하는 목질바이오매스원료의 종류 및 입자크기 등 조건에 따라 다양한 조합의 공정 계획이 적용되었다(Kim & Mazza, 2008; Schell *et al.*, 2003; Saha & Cotta, 2008; Saha *et al.*, 2008; Saha & Bothast, 1998;

Karimi *et al.*, 2006; Schell *et al.*, 2006; Brink, 1998; Penner, 1995; Brink, 1995).

한편 진한 산을 이용한 산당화가 실증생산기술의 주류였던 미국에서 최근 옥수수 목질부산물이나 switch grass와 같은 에너지작물의 에탄올화 과정의 전처리에 맑은 산을 이용하는 연구가 많다. 초기의 연구 그룹(Knappert *et al.*, 1980; Torget *et al.*, 1991 in Schell *et al.*, 2003)은 옥수수목질부산물(corn stover)에 맑은 산으로 실험실규모의 batch식 처리를 시도하였고, 그 후 근년에 들어 미국 NREL의 Daniel 등(2003)은 옥수수 알갱이를 수확하고 버려지는 옥수수목질부산물을 바이오에탄올생산의 목질계 원료로 이용하기 위한 연구로 맑은 황산(농도 0.5~1.4%)을 온도 165~195도, 3~12분간 처리하는 전처리방법을 시도하여 총 xylose의 70~77%의 수율로 Hemicellulose를 분리 회수하는 효과를 얻었으며, cellulose함유량의 80~87%의 수율의 효과를 얻었다. 이 연구에서 시도한 맑은 산의 농도, 온도, 반응시간 등 공정조건을 달리한 전처리 결과의 예를 Table 2에 제시하였다. 이 연구는 미국에서 목질계 바이오매스 원료의 1순위라고 할 수 있는 옥수수목질부산물에 대한 상용화 전처리기술 개발을 목표로

Table 2. Pretreatment run conditions and enzymatic cellulose and xylan conversion results (Ref.: Schell *et al.*, 2003)

Run no.	Pretreatment Conditions					Xylan conversion					
	Temperature (°C)	Acid Time (min)	concentration (%[w/w])	Final ph	CSF	Cellulose conversion (%)	Monomeric xylose yield (%)	Total xylose yield (%)	Furfural yield (%)	Unconverted xylan (%)	Mass closure (%)
1	165	8.1	137	128	155	79	64	67	14	10	92
2	165	8.1	137	128	155		63	67	19	11	97
3	165	6.0	137	114	157	63	57	65	9	15	89
4	165	8.2	0.71	185	0.99		35	55	7	27	90
5	165	8.1	135	117	166		70	71	14	11	95
6	165	8.0	139	119	164	82	71	71	13	11	95
7	165	6.4	0.71	184	0.90		31	53	10	34	97
8	165	10.1	137	116	177		59	61	13	8	82
9	165	8.0	1.41	105	1.78	83	66	63	15	13	90
10	166	10.2	0.71	174	1.20		44	59	16	24	99
11	166	8.0	137	114	169		62	63	21	9	93
12	169	3.9	0.71	152	1.12		56	65	7	22	94
13	170	8.3	0.74	210	0.89		33	54	6	40	100
14	170	6.1	0.74	205	0.81		27	57	7	39	103
15	171	5.1	0.73	222	0.57		17	43	9	34	86
16	174	5.8	137	118	178		63	67	18	9	94
17	174	2.9	137	127	138		63	68	6	11	85
18	175	3.8	138	129	149		66	72	7	13	92
19	175	2.9	137	117	149		64	70	12	15	97
20	175	8.1	0.94	152	159	81	59	61	17	7	85
21	175	8.1	0.95	176	136	71	50	63	17	23	103
22	175	4.2	0.94	171	113	70	49	67	8	18	94
23	175	5.0	0.94	163	128	78	59	70	10	21	101
24	175	6.1	0.95	160	141	67	62	69	17	12	98
25	179	8.1	0.97	140	183	52	56	11	9	77	25
26	179	4.7	1.03	178	122		50	53	24	19	97
27	179	6.2	1.16	150	163	87	68	70	16	14	100
28	180	8.1	0.80	142	183		55	60	16	10	86
29	180	4.0	1.18	147	148		66	70	10	11	91
30	180	10.1	0.80	148	187	78	54	60	14	9	83
31	180	12.2	0.80	147	196	80	55	58	19	9	86
32	180	10.1	0.99	133	202	81	54	55	17	7	79
33	180	5.1	1.18	156	150		56	63	13	9	86
34	180	3.1	1.19	149	134		66	71	11	13	95
35	180	6.0	0.99	137	176		54	58	14	11	82
36	180	5.8	1.27	139	174		66	63	31	7	101
37	181	4.1	c	146	152		65	65	27	13	105
38	183	5.3	c	149	169	84	67	66	27	13	106
39	190	b	139	108			67	70	19	10	99
40	191	b	117	143		76	65	77	5	18	99
41	195	b	135	113			68	61	19	7	87
Average	165.4	8.28	138	119	165	813	66.1	67.0	15.8	10.9	93.7
SD	0.1	0.06	0.02	0.09	0.09	23	3.7	3.5	3.1	1.3	2.6

^a Averages and SDs for 1, 2, 5, 6, 9, and 11 all were for the same run conditions.

^b Pretreatment reactor poerated at zero level in a mode that achieves a short but unknown residence time stimated at 45-75 s.

^c Corn stover preimpregnated with acid before pretreatment; actual acid concentration in the pretreatment reactor was not controlled but targeted to achieve an acid concentration equivalent to 12% (w/w).

연속식 1 t/일 규모의 파이렛 반응기(Fig. 2)에서 고수율의 당화효과를 올릴 수 있는 묽은 황산처리의 최적 조건을 도출하였다.

그러나 묽은 산의 경우, 목재와 같이 리그닌 함량이 높은 바이오매스에는 여전히 리그닌 제거가 충분치 않아 효소당화의 효율성이 저해되고, 산의 금속부식성으로 인해 고가의 내산성 설비가 필요함으로 고비용구조의 원인이 되는 문제점이 있다. 또한 산처리 후에는 중성화 하는 단계가 요구되어 역시 비용이 수반과 함께 반응온도가 고온으로 인한 투입되는 에너지 소모율이 높은 문제 등이 있는 것으로 지적되어 알카리나 기타 방법의 전처리가 여전히 전처리의 연구대상이 되고 있는 상황이다(Cardona & Sanchez, 2007; Silverstein *et al.*, 2007; Gomez *et al.*, 2008; Zhang & Lynd, 2004; Kim *et al.*, 2007).

2.2. 스팀 폭쇄/묽은 산 복합 전처리

목질바이오매스의 물리적 전처리는 전통적으로 펄프공법에서 도입되었던 방법들로, 바이오매스의 입자 크기 조정, 스팀 폭쇄, 열수 처리 등을 통해서 당 가수분해율을 높이고자 하는 방법들이다. 국내에서도 일찍이 양 등(1989)에 의해 국내산 소나무, 졸참나무, 자작나무에 대해 폭쇄 처리로 전처리 후 산당화를 시도한 연구가 있었다. 또한 1996년 엄 등은 신갈나무와 낙엽송을 대상으로 폭쇄 처리하여 신갈나무는 15 kg/cm² 수증기압, 10분 처리 후 30초간 30 kg/cm² 증압, 낙엽송은 20 kg/cm² 수증기압, 10분 처리 후 30초간 30 kg/cm² 증압처리 조건에서 헤미셀룰로오스 수율이 각각 23.6% 및 15.5%가 얻어졌음을 보고 한 바 있다. 이 경우 폭쇄처리 조건만으로는 충분한 당수율을 얻을 수 없는 문제점이 있다. 바이오에탄올 생산을 위한 최근의 전처리에서는 당화 효율 증대를 위해 이들 물리적 방법에 산/알카리와 같은 화학처리를 복합한 전처리를 시도하고 있다(Sorensen *et al.*, 2008; Linde *et al.*, 2008; Ohgren *et al.*, 2006; Sassner *et al.*, 2008; Emmel *et al.*, 2002; Galbe & Zacchi, 2007; Elia *et al.*, 2008; Shannon *et al.*, 2007; Panagiotou & Olsson, 2007;

viola *et al.*, 2007; Linde *et al.*, 2007). 이들 연구의 결과를 보면 산을 촉매로 한 스팀 폭쇄 처리는 바이오매스 조성분의 화학적 분해에 물리적 파열이 동반되어 당화과정에서 단당류 생성에 효과가 큰 것으로 보고되고 있다. 목질바이오매스의 당화에서 glucose 생산을 최대화하려면 온도를 높이고, xylose 생산을 늘리려면 비교적 낮은 온도의 전처리를 시도한다(Sanchez *et al.*, 2004). 묽은 산과 스팀폭쇄를 병용하는 전처리는 목표 물질에 따라 공정 조건을 달리 할 수 있고, 적정 공정에서 전처리가 이루어질 때 이 두 가지 당의 수율을 동시에 높이는 효과를 가질 수 있다고 보고하고 있다. 즉, 묽은 산은 hemi-cellulose를 가수분해하고, 스팀 폭쇄는 세포벽구조를 파괴하여 cellulose를 polymer 또는 oligomer로 전환하여 효소 접근성이 좋은 환경을 만드는 역할을 한다는 것이다(Esteghlalian *et al.*, 1997; Howard *et al.*, 2003; Sanchez *et al.*, 2004). 이와 같은 스팀 폭쇄/묽은 산 복합 전처리를 시도한 바이오매스들은 벗짚, 옥수수목질부산물, 사탕수수섬유, 유카리 목재, 에너지작물인 switchgrass와 poplar, salix, lodgepole pine 등 다양한 목질바이오매스에 적용이 시도되었다.

공정면에서 보면 다양한 연구에서, 산농도 약 0.2~4%, 스팀온도 약 180~210°C, 시간은 산 처리와 스팀 폭쇄별로 다르나 각각 2~20분 정도의 범위에서 기질의 입자크기 및 목표산물 등에 따라 다양한 공정조건이 시도된 바 있다(Sorensen *et al.*, 2008; Linde *et al.*, 2008; Ohgren *et al.*, 2006; Sassner *et al.*, 2008; Emmel *et al.*, 2002; Galbe & Zacchi, 2007; Elia *et al.*, 2008; Shannon *et al.*, 2007; Panagiotou & Olsson, 2007; Viola *et al.*, 2007; Linde *et al.*, 2007). 스팀 폭쇄/묽은 산 복합 전처리의 경우에 스팀 폭쇄로 바이오매스의 피브릴화는 달성하지만 고온 고압에서 목재에서 추출되는 수용성 물질이 cellulose 등에 흡착하여 후에 발효미생물에 저해요소로 작용하는 부작용과 산을 사용하므로 금속부식에 강한 내산성소재의 설비에 고온고압설비를 갖추어야 하므로 경제적인 설비투자 부담이 되는 단점이 있는 것으로 분석되어 상당히 고효율 당화

발효공정이 요구되는 것으로 분석되었다(Zhao *et al.*, 2008).

3. 알카리를 이용한 전처리

목질바이오매스에 알카리 전처리는 묽은 산의 경우와는 달리 효소당화에 저해요소로 알려져 있는 리그닌을 제거함으로써 효소의 접근성을 개선시키고자 하는 시도이다. 적용되는 알카리는 수산화나트륨, 암모니아, 석회, 과산화수소 등으로 열거될 수 있다(Zhao *et al.*, 2008; Saha와 Cotta, 2008; Zhang & Cai, 2008; Silverstein *et al.*, 2007). Saha와 Cotta (2007)는 과산화수소가 리그닌 산화 과정을 유도하여 탈 리그닌 반응을 촉진하고 cellulose 결정성 감소효과(Gould, 1985 in Silverstein *et al.*, 2007)로 알카리 효과가 있음을 보고하였으나 가격 면에서 고비용의 문제점이 지적된 바 있다. 이에 알카리 처리의 경제성을 고려하여 Chang *et al.* (1997), Chang *et al.* (1998), Karr & Holtzaple (2000) 및 Kim & Holtzaple (2005) 등은 값이 저렴한 석회를 switch grass, 옥수수목질부산물, 목재, 폐목재의 전처리에 적용하여 효소 당화성 향상이 있었음을 보고하였다. Saha & Cotta (2008)는 기존의 석회 전처리에서 보다 가격을 저렴화하기 위해 형질전환체인 재조합 단백질의 *E. Coli*를 적용하여 당화효율 개선을 시도하여 향상된 결과를 보여주었다. 한편 수산화나트륨과 Urea 등을 사용하여 효소 당화효과를 향상시키고자 하는 보고들(Cai & Chang, 2005; Isogai & talla, 1998; Laszkiewicz, 1998; Zang *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2002; 2004; 2006; in Zhao *et al.*, 2008)이 있었고, 최근에 Zhao *et al.* (2008)은 동일한 수산화나트륨과 Urea 등을 섭씨 -14도의 저온에서 처리하여 가문비나무 chip으로부터 60% glucose 전환율을 나타내 수산화나트륨과 Urea가 목재성분의 리그닌-탄수화물 결합 분해에 기여한 결과를 보고하였다. 특히 묽은 산 처리에서의 문제점으로 지적되었던 furfural과 HDF와 같은 효소 가수분해 장애 물질의 생성이 없는 것으로 밝혀졌다(Saha & Cotta, 2007). 일반적으로 알카리 처리는

목재보다 벗짚이나 초분류 목질계에 효율적이라는 보고가 있다(Hsu, 1996).

알카리 전처리에 포함되는 공정에 암모니아 전처리방법이 있다. 암모니아수를 이용하는 전처리 연구에서는 액체암모니아 상태로 처리하며, 농도를 적용하는 공정에 따라 15%정도에서 100%범위를 사용하고, 온도는 약 섭씨 30도~200도, 반응시간은 온도 및 기타조건에 따라 적정시간을 조정하여 반응을 유도하는 것이 일반적이다(Kim *et al.*, 2007; 오 등, 1998; Oh *et al.*, 2002; Lau *et al.*, 2007; Shishar, 2006). 암모니아는 고온에서 목질바이오매스에 침투하여 거대 리그닌 분자의 C-C, C-O-C 등의 결합을 절단하면서 리그닌을 저분자화 하고, 부분적으로 hemicellulose의 아세틸기를 탈리시키고, 리그닌과 탄수화물 복합체의 L-C-C 결합을 절단하면서 목질바이오매스를 구조적으로 파열하거나 바이오매스의 wettability를 증대시킴으로써 후에 효소 접근 면적을 증가시키는 역할을 한다(Teymouri *et al.*, 2005; Kim & Lee, 2005a; 2005b; 2006; 2007; Kim *et al.*, 2003; Shishir *et al.*, 2006). 한편 낮은 온도에서는, hemicellulose가 고체에 그대로 결합되어 있는 비율이 높아져서 후에 당 수율을 높이는 데 기여하거나 xylose와 같은 오탄당 생산에 도움이 되는 면도 가지고 있다(Kim & Lee, 2005a; 2007). 그러나 온도를 비교적 저온 처리(섭씨 30~75도 정도)하는 경우 온도에 따라 최소 1일~11주로 장시간 소요되는 문제점이 있다(Kim *et al.*, 2007). 목질바이오매스의 전처리공정은 단순히 산 및 효소 등을 이용한 당화 및 발효에 주안점을 두어 왔으나 바이오매스의 효율적 이용으로 경제성 제고를 위해서는 각각의 구성성분의 분별이 매우 중요하다고 할 수 있다. 암모니아수에 용해된 리그닌은 황 등의 물질이 결합되지 않은 비교적 순수한 리그닌 형태를 가지며 바이오원료로의 이용가능성이 높은 것으로 알려져 있다(오 등, 1998). 이러한 점에서 암모니아수를 이용한 전처리 방법은 타 공정에 비해 구성성분의 분별이 가능하고, 환경에 무해할 뿐 아니라 용매를 재순환하여 사용이 가능한 경제적인 장점이 있는 공법으로 소개되고 있다(Kim *et al.*, 2007).

암모니아 전처리의 공정연구에서 국내에서도 Oh 등(1998; 2002)이 암모니아수의 순환형 침출법(Ammonia Recycled Percolation, ARP) 및 2단계 묽은산 전처리를 시도하여 국내산 참나무에 최적 조건을 도출한 바 있다. 또한 Shishir 등(2006)과 Min 등(2007)이 옥수수목질부산물을 대상으로 AFEX (ammonia Fiber Explosion)를 시도하는 등 다양한 공정 연구가 보고되고 있다.

4. 수분과 열을 이용한 전처리

수분과 열을 이용한 전처리는 화학약품을 사용하지 않고 물과 열을 이용하여 전처리를 시도하는 방법이다. 이 경우, 목질바이오매스를 초미세입자로 분쇄한 후 autoclave와 같은 고압 습열 장치를 이용하여 처리하는 방법이다(Zeng *et al.*, 2006; Saha & Bothast, 1999; 熊谷 等, 2007; Inoude *et al.*, 2008; Hideno *et al.*, 2009). 최근에는 일본 산업기술총합 연구소 바이오매스 연구센터에서 목질계 바이오매스의 에탄올 생산을 위한 전처리 방법으로 도입한 방법 중의 하나이다. 이 연구센터에서 유카리목재, 삼나무, 미송 등의 목질바이오매스에 대한 수분과 열을 이용한 전처리는 여러 보고서를 통해 목재입자를 나노입자로 분쇄하여 열수효과를 높이고 cellulose에 효소접근성을 증대시키는 결과를 보고하고 있다(熊谷 等, 2007; Hideno *et al.*, 2009; Inoue *et al.*, 2008). 이 전처리의 경우, 화학물질을 사용하지 않으므로 환경적으로 무해하고 저비용이나 섭씨 120도 이상의 고온과 바이오매스를 초 미립자화 하는 과정에서 에너지 소모 등이 관건인 것으로 고찰되었다.

5. 기 타

5.1. 미생물을 이용한 전처리 방법

목질바이오매스를 이용한 그 밖의 전처리방법에는 리그닌 분해균을 이용한 미생물 전처리법(Shi *et al.*, 2008a; Shi *et al.*, 2008b; Keller *et al.*, 2003)은 기존의 물리화학적 전처리방법이 고온, 고압으로

에너지를 많이 사용하고, 화학 약품사용으로 인한 환경적 피해 및 고비용, 복잡한 설비 등으로부터 벗어나고자 개발된 방법이라 할 수 있다. 일단 미생물을 사용하므로 환경적으로 피해가 없고, 고온 고압 등의 물리적 에너지를 필요로 하지 않으므로 에너지가 절약되고, 간단한 설비 등의 이점이 있다. 여기에 사용되는 미생물은 주로 리그닌성분을 분해하는 목재 부후균으로서 *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporiopsis subvermisporea*, *Phlebia subserialis*, *Pleurotus ostreatus* 등과 같은 백색 부후균의 이용가능성이 있는 것으로 보고되었다(Hatakka, 1983; Sawada, 1995; Keller *et al.*, 2003; Taniguchi *et al.*, 2005). 국내에서 Kim *et al.* (2002)는 표고버섯(*Lentinus edodes*)균을 목분의 전처리에 적용한 경우 열수추출물의 저해현상을 보고한 바 있다. 미생물을 이용하는 전처리의 경우, 상기와 같은 장점이 있음에도 불구하고 최근에 효율적인 전처리방법으로 크게 활용되지 못하는 이유는 전처리 시간이 지나치게 길고 미생물의 분해 양상이 기질에 대해 매우 선택적 작용을 하므로 쉽게 적용하기가 어려운 단점이 있기 때문인 것으로 분석되었다(Hatakka, 1983; Shi *et al.*, 2008).

5.2. 유기용매를 이용한 전처리 방법

유기용매를 사용하는 전처리 방법은 물에 에탄올과 같은 유기용매를 혼합하여 가열 처리하는 공정이며 이 방법은 용매가 리그닌과 리그닌의 결합과, 리그닌과 탄수화물의 결합 등을 가수분해하는 촉매제 역할을 함으로서 바이오매스가 가지고 있는 탄수화물의 당화성을 증대시키고자 하는 공정이다(Zao *et al.*, 2008; Mucoz *et al.*, 2007; Pan *et al.*, 2008; Teramoto *et al.*, 2007). 주요 공정 조건은 용매와 물 혼합비율에 따라 전처리 효과가 매우 다른데 에탄올과 물의 비율이 75 : 25, 적용온도는 섭씨 약 170~200도 범위에서 섬유화 촉진이 활발하고 리그닌 감소 효과가 다소 커지는 경향을 나타냈다. 유기용매를 사용하는 공정에서는 온도가 높을수록 후에 이루어지는 당화효과가 좋다는 보고가 있다(Teramoto *et al.*,

2007). 특히 이 공정은 캐나다 British Columbia 주의 Mountain pine beetle 피해목의 에탄올화 공정 중 전처리에 도입되고 있으며 실증생산의 규모로 상용화되는 전처리기술이라고 할 수 있다(Pan *et al.*, 2008). 이 경우 에탄올 사용은 회수하여 재사용 한다는 이점이 있어 이 방법이 채택되고 있다. 이 공정은 실제로 증류하여 재사용하기까지 비용 소모가 많고, 설비자체가 고가인 단점이 있다.

6. 결 론

최근 세계적으로 진행되고 있는 목질바이오매스 전처리 연구에 대한 동향을 조사 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

뭍은 산의 경우, 목재와 같이 리그닌 함량이 높은 바이오매스에는 여전히 리그닌 제거가 충분치 않아 효소당화의 효율성이 저해되고, 산의 금속 부식성으로 인해 고가의 내산성 설비가 필요하므로 고비용구조의 원인이 되는 문제점이 있다. 또한 산 처리 후에는 중성화 하는 단계가 요구되어 역시 비용 수반과 함께 반응온도가 고온으로 인한 투입되는 에너지 소모율이 높은 문제 등이 있는 것으로 분석되었다.

스팀 폭쇄/뭍은 산 복합 전처리의 경우에는 스팀 폭쇄로 바이오매스의 피브릴화가 양호하여 효소당화나 발효에 좋은 영향을 주지만, 고온 고압에서 목재에서 추출되는 수용성 물질이 cellulose 등에 흡착하여 후에 발효미생물에 저해요소로 작용하는 부작용이 존재하고, 산으로 인한 금속부식을 방지하기 위한 내산성소재의 설비에 고온고압설비를 갖추어야 함으로 경제적인 설비투자 부담이 되는 단점이 있는 것으로 분석되어 상당히 고효율 당화와 발효공정이 요구되는 것으로 고찰되었다.

알카리는 수산화나트륨, 암모니아, 석회, 과산화수소등을 원료로 연구되는데 과산화수소보다는 석회를 사용하는 것이 경제적인 절약 효과가 있고, 암모니아를 용매로 사용하는 경우에는 목질바이오매스 구성성분을 비교적 혼탁하지 않은 성상으로 분별이 가능하다는 장점과 환경에 무해할 뿐 아니라 용매를 재순환하여 사용이 가능하다는 장점이 있는 공법으로 소개되었다. 그러나 역시 고온이 요구되므로

에너지 소모의 문제점이 시사되었다.

열수 처리의 경우에도, 화학물질을 사용하지 않으므로 환경적으로 무해하고 저비용인 장점으로 시도되고 있으나 섭씨 120도 이상의 고온과 바이오매스를 초 미립자화 하는 과정에서 에너지 소모 등의 문제점이 있어 저에너지 소모형으로의 개발이 요구되는 것으로 고찰되었다.

유기용매를 사용하는 전처리 방법은 물에 에탄올과 같은 유기용매를 혼합하여 가열 처리하는 공정인데 당화 효과가 양호하고 에탄올을 재사용하는 장점이 있는데 여전히 고온처리여야 효과가 좋고, 에탄올 회수를 위한 증류에도 에너지가 소모되므로 이에 대한 대안이 필요한 공정으로 조사되었다.

이상과 같이 현재까지 연구되거나 실증생산에서 도입된 목질바이오매스 원료의 전처리 공정은 첫째 효소당화 및 발효수율 증대, 둘째 전처리공정상 에너지소모나 환경적 오염이 없을 것, 셋째 바이오에탄올 전 생산과정에서 손실되는 조성분을 최소화하고 분별하여 이용수율을 극대화할 수 있을 것, 넷째 경제적인 것 등의 조건을 만족시킬 수 있는 방향의 연구가 이루어지고 있었다.

국내의 경우에도 이들 조건을 충족시키면서 본 총설에서 다루었던 전처리공정의 특징 및 장단점을 잘 고려하여 국내 목질바이오매스 원료 및 생산여건에 적합한 공정 연구 개발이 필요가 있는 것으로 고찰되었다.

참 고 문 헌

1. Brink, D. L. 1995. Dilute nitric acid pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of lignocellulosic materials(Final report), Subcontract No. XAW-3-11181-01, NREL.
2. Brink, D. L. 1998. Development of alternate pretreatment and biomass fractionation processes (Final report), Subcontract No. XAW-4-14292-01, NREL.
3. Cardona, C. A. and O. J. Sanchez. 2007. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities, *Bioresource Technology* 98: 2415~2457.

4. Chang, V. S., B. Burr, and M. T. Holtzapple. 1997. Lime pretreatment of switchgrass, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 63~65: 3~19.
5. Chang, V. S., M. Nagwani, C. H. Kim, M. T. Holtzapple. 1998. Lime pretreatment of crop residues: Bagasse and wheat straw, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 74~65: 135~59.
6. Dadi, A. P., S. Varanasi, and C. A. Schall. 2006. Enhancement of Cellulose Saccharification Kinetics Using an Ionic Liquid Pretreatment step, Wiley Interscience.
7. Dien, B. S., H. J. G. Jung, K. P. Vogel, M. D. Casler, J. F. S. Lamb, L. Iten, R. B. Mitchell, and G. Sarath. 2006. Chemical composition and response to dilute-acid pretreatment and enzymatic saccharification of alfalfa reed canarygrass and switchgrass, *Biomass & Bioenergy* 2006: 880~891.
8. Emmel, A., A. Mathias, F. Wypych, and L. P. Romos. 2003. Fractionation of *Eucalyptus grandis* chips by dilute acid-catalysed steam explosion, *Bioresource Technology* 86: 105~115.
9. Estghlalian, A., A. G. Hashimoto, J. J. Fenske, and M. H. Penner. 1997. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresour. Technol.* 59: 129~136.
10. Ewanick, S. M., R. Bura, and J. N. Saddler. 2007. Acid-Catalyzed Steam Pretreatment of Lodgepole Pine and Subsequent Enzymatic Hydrolysis and Fermentation to ethanol, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 98, No. 4.
11. Galbe, M. and G. Zacchi. 2007. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production, *Biofuels* 108: 41~65.
12. Gomez, R. D., C. G. Steele-King, and S. J. McQueen-Mason. 2008. Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls, *New Phytologist* 178: 473~485.
13. Gould J. M. 1985. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues, *Biotechnol. Bioeng.* 27: 225~231.
14. Hatakka, A. I. 1983. Pretreatment of wheat straw by white-rot fungi for enzymatic saccharification of cellulose. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18: 350~357.
15. Hector, R., S. Hughes, and X. Liang-Li. 2008. Developing Yeast Strains for Biomass-to-Ethanol Production. *Biomass Magazine*, April 2008 Issue, <http://www.biomassmagazine.com>
16. Hideno, A., H. Inoue, K. Tsukahara, S. Fujimoto, T. Minowa, S. Inoue, T. Endo, and S. Sawayama. 2009. Wet disk milling pretreatment without sulfuric acid for enzymatic hydrolysis of rice straw *Bioresource Technology* 100(10): 2706~2711.
17. Howard, R. L., E. Abotsi, E. L. Jansen van Rensburg, and S. Howard. 2003. Review: Lignocellulose biotechnology: Issue of bioconversion and enzyme production, *Afr. J. Biotechnol.* 2(12): 602~619.
18. Hsu, T. A. 1996. Pretreatment of biomass, In: Wyman, C. E. (Ed.), *Handbook of bioethanol: Production & Utilization*. Taylor & Francis, Washington, DC, pp. 179~195.
19. Inoue, H., S. Yano, T. Endo, T. Sakaki, S. Sawayama. 2008. Combining hot-compressed water and ball milling pretreatments to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 1, No. 2.
20. Karimi, K., S. Kheradmandinia, and M. J. Taherzadeh. 2005. dilute-acid hydrolysis, *Biomass & Bioenergy* 2006: 247~253.
21. Karr, W. E. and M. T. Holtzapple. 2000. Using lime pretreatment to facilitate the enzyme hydrolysis of corn stover. *Biomass & Bioenergy* 18: 189~199.
22. Keller, F. A., J. E. Hamilton, and Q. A. Nguyen. 2003. Microbial pretreatment of biomass potential for reducing severity of thermo-chemical biomass pretreatment, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 105: 27~41.
23. Keller, F. A., J. E. Hamllton, and Q. A. Ngyen. 2003. Microbial Pretreatment of Biomass 105~108.
24. Kim, C. H. and M. T. Holtzapple. 2005. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* 96: 1994~2006
25. Kim, J. W. and G. Mazza. 2008. Optimization of phosphoric acid catalyzed fractionation and enzymatic digestibility of flex shives, Elsevier.
26. Kim, T. H., T. Frank, and B. H. Kevin. 2008. Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment, *Bioresource Technology* 99: 5694~5702.
27. Kim, T. H., B. K. Lim, J. P. Chang, K. H. Yoon, J. Y. Lee, and J. K. Yang. 2002. Pretreatments of soft-

- wood sawdust for mycelial growth of *Lentinus edodes*, Mokchae Konghak 30(3): 109~115.
28. Kim, T. H., J. S. Kim, C. Sunwoo, and Y. Y. Lee. 2003. Pretreatment of corn stover by aqueous ammonia. *Bioresource Technol.* 90(1): 39~47.
 29. Kim, T. H. and Y. Y. Lee. 2005a. Pretreatment and fractionation of corn stover by ammonia recycle percolation process, *Bioresource Technol.* 96 (18SPEC.ISS): 2007~2013.
 30. Kim, T. H. and Y. Y. Lee. 2005b. Pretreatment of corn by soaking in aqueous ammonia. *Appl Biochem. Bioethanol.* pp. 121~124, pp. 1119~1132.
 31. Kim, T. H. and Y. Y. Lee. 2006. Fractionation of corn stover by hot-water and aqueous ammonia treatment. *Bioresource Technol.* 97(2): 224~232.
 32. Kim, T. H. and Y. Y. Lee. 2007. Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia at moderate temperature. *Appl. Biochem. Biotechnol.* pp. 136~140, pp. 81~92.
 33. Lau, M. W., B. E. Dale, and V. Balan. 2007. Ethanolic Fermentation of Hydrolysates From Ammonia Fiber Expansion (AFEX) Treated Corn Stover and Distillers Grain Without Detoxification and External Nutrient Supplementation, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99, No. 3.
 34. Linde, M., E. L. Jakobsson, M. Galbe, and G. Zacchi. 2008. Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production, *Biomass & Bioenergy* 32(4): 326~332.
 35. Lissens, G., H. Klinke, W. Verstraete, B. Ahring, and A. B. Thomsen. 2004. Wet oxidation pretreatment of woody yard waste: Parameter optimization and enzymatic digestibility for ethanol production, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79(8): 889~895.
 36. Moon, H. S., J. S. Kim, K. K. Oh, S. W. Kim, and S. I. Hong. 2001. Kinetic Modeling of Simultaneous Saccharification and Fermentation for Ethanol Production Using Steam-Exploded Wood with Glucose-and Cellobiose-Fermenting Yeast, *Brettanomyces custersii*, *Microbiology and Biotechnology*, 11(4): 598~606.
 37. Mucoz, C., R. Mendonca, J. Baeza, A. Berlin, J. Saddler, and J. Freer. 2007. Bioethanol production from bio-organosolv pulps of *Pinus radiata* and *Acacia dealbata*, *Journal of chemical thechnology and biotechnology* 82(8): 767~774.
 38. Oh, K. K., S. I. Hong, and Y. Y. Lee. 1998. Optimization of Ammonia Recycled Percolation Process for Lignocellulosic Biomass Pretreatment, *HWAHAK KONGHAK*, 36(5) 784~791.
 39. Oh, K. K., Y. S. Kim, H. H. Yoon, and B. S. Tae. 2002. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass using Combination of Ammonia Recycled Percolation and dilute-Acid Process, *The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry*, 8(1): 64~70.
 40. Ohgren, K., A. Rudolf, M. Galbe, G. Zacchi. 2006. Fuel ethanol production from steam-Pretreated corn stover using SSF at Higher dry matter content, *Biomass & Biotechnology* 2006: 863~869.
 41. Ohgren, K., M. Galbe, and G. Zacchi. 2006. Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam- Pretreated Corn Stover at High Dry-Matter Concentration for Fuel Ethanol Production, *Oral Presentation 3B-08*.
 42. Pan, X., D. Xie, R. W. YU, and J. N. Saddler. 2008. The Bioconversion of Mountain Pine Beetle-Killed Lodgepole Pine to Fuel Ethanol Using the Organosolv Process, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 101, No. 1.
 43. Panagiotou, G. and L. Olsson. 2007. Effect of Compounds Released During Pretreatment of Wheat Straw on Microbial Growth and Enzymatic Hydrolysis rates, *Biotechnology and Bioengineering* Vol. 96, No. 2.
 44. Penner, M. H. 1995. Optimization of dilute acid pretreatment (Final Report), Subcontract No.XR-2-11186-1, NREL.
 45. Rudolf, A., H. Baudel, G. Zacchi, and B. Hahn-Hagerdal. 2007. Simutaneous Saccharificati on and Fermentation of Steam-Pretreated Bagasse Using *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400 and *Pichia stipitis* CBS6054, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99, No. 4.
 46. Saha, B. C., L. B. Iten, M. A. Cotta, and Y. V. Wu. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochem.* 40: 3693~3700.
 47. Saha, B. C. and M. A. Cotta. 2007. Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Lime Pre-

- ament Wheat Straw to Ethanol, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82: 913~919.
48. Saha, B. C. and M. A. Cotta. 2007. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology* 41: 528~532.
 49. Saha, B. C. and M. A. Cotta. 2008. Cost effective bioprocess technologies for production of biofuels from lignocellulosic biomass, *Journal of Biotechnology* 136(S): S285-S286.
 50. Saha, B. C. and M. A. Cotta. 2008. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol, *Biomass & Bioenergy*. 2008: 971~977.
 51. Saha, B. C., N. Qureshi, R. Hector, M. Bowman, and M. Cotta. 2008. Cost-Effective Bioprocess Technologies for Production of Biofuels from Lignocellulosic Biomass, *Fermentation Biotechnology Research*.
 52. Saha, B. C. and R. J. Bothast. 1998. Pretreatment and Enzymatic saccharification of Corn Fiber, *Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 76, No. 2.
 53. Sanchez, G., L. Pilcher, C. Roslander, T. Modig, M. Galbe, and G. Linden. 2004. Dilute hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Braba, *Bioresource Technology* 93: 249~256.
 54. Sassner, P., C. G. Martensson, M. Galbe, and G. Zacchi. 2008. Steam pretreatment of H₂SO₄-impregnated Salix for the production of bioethanol, *Bioresource Technology* 99: 137~145.
 55. Sawada, T., Y. Nakamura, F. Kobayashi, M. Kuahara, and T. Watanabe. 1995. Effect of fungal pretreatment and steam explosion on enzymatic saccharification of plant biomass, *Biotechnol. Bioeng.* 48: 719~724.
 56. Schell, D. J., J. Farmer, M. Newman, and J. D. McMillan. 2003. Dilute Sulfuric acid pretreatment of corn stover in pilot-scale reactor investigation of yields, kinetics, and enzymatic digestibilities of solids, *PPL. Biochem. Biotechnol.* 105: 69~85.
 57. Schell, D. J., J. Farmer, M. Newman, and J. D. Mcmillan. 2003. Dilute-sulfuric Acid Pretreatment of Corn Stover in Pilot-scale Reactor, *Biochemistry and biotechnology* 2003: 105~108.
 58. Schell, D. J., R. Elander, and J. McMillan. 2006. Pretreatment, unpublished, NREL, USA.
 59. Shi, J. R., R. Sharma-Shivappa, M. Chinn, and N. Howell. 2008. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production 2009: 88~96
 60. Shi, J., M. S. Chinn, and R. R. Sharma-Shivappa. 2007. Microbial pretreatment of cotton stalks by solid state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*, *Bioresource Technology* 2008: 6556~6564
 61. Shishir, P. S. C., V. Balan, and B. E. Dale. 2006. Effect of Particle Size Based Separation of Milled Corn Stover on AFEX Pretreatment and Enzymatic Digestibility, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 96, No. 2
 62. Silverstein, R. A., Y. Chen, R. R. Sharma-shivappa, M. D. Boyette, and J. Osborne. 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks, *Bioresource Technology* 98: 3000~3011.
 63. Sorensen, A., P. J. Teller, T. Hilstrom, and B. K. Ahring. 2008. Hydrolysis of Miscanthus for bioethanol production using dilute acid presoaking combined with wet explosion pre-treatment and enzymatic treatment, *Bioresource Technology* 99: 6602~6607.
 64. Sun, Y. and J. J. Cheng. 2002. Dilute sulphuric acid pretreatment of agricultural residues for ethanol production. *Agricultural Engineers Meeting*, Paper Number: 026198.
 65. Sun, Y. and J. J. Cheng. 2005. Dilute acid extraction of rye straw and bermuda grass for ethanol production, *Bioresour. Technol.* 96(14): 1599~1606.
 66. Taniguchi, M., H. Suzuki, D. Watanabe, K. Sakaai, K. Hoshino, and T. Tanaka. 2005. Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. *J. Biosci. Bioeng.* 100: 637~643.
 67. Teramoto, Y., N. Tanaka, S. H. Lee, and T. Endo. Pretreatment of Eucalyptus Wood Chips for Enzymatic Saccharification using Combined Sulfuric Acid-Free Ethanol Cooking and Ball Milling, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99, No. 1.
 68. Teymouri, F., L. Laureano-Perez, H. Alizadeh, and B. E. Dale. 2005. Optimization of the ammonia fiber explosion(AFEX) treatment parameters for

- enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* 96: 2014~2018.
69. Tomas-Pejo, E., J. M. Oliva, M. Ballesteros, and L. Olsson. 2008. Comparison of SHF and SSF Processes From Steam-Exploded Wheat Straw for Ethanol Production by Xylose-Fermenting and Robust Glucose-Fermenting *Saccharomyces cerevisiae* Strains, *Biotechnology and Bioengineering* Vol. 100, No. 6.
 70. Viola, E., M. Cardinale, R. Santarcangelo, A. Villone, and F. Zimbardi. 2007. Ethanol from eel grass via steam explosion and enzymatic hydrolysis, *Biomass & Bioengineering* 2008: 613~618.
 71. Wyman, C. E., B. E. Dale, R. T. Elender, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee. 2005b. Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. *Bioresour. Technol.* 96(18): 2026~2032.
 72. Wyman, C. E., B. E. Dale, R. T. Elender, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee. 2005a. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies, *Bioresource Technology* 96: 1959~1966.
 73. Zeng, M., N. S. Mosier, C. P. Huanag, D. M. Sherman, and M. R. Ladisch. 2006. Microscopic Examination of Changes of Plant cell Structure in Corn Strover Due to Hot Water Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 97, No. 2.
 74. Zhang, Q. and W. Cai. 2008. Enzymatic hydrolysis of alkali-pretreated rice straw by *Trichoderma reesei* ZM4-F3, *Biomass & Bioenergy* 2008: 1130~1135.
 75. Zhang, Y. h. and L. R. Lynd. 2004. Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems, Wiley Interscience.
 76. Zhao, Y., Y. Wang, J. Y. Zzu, A. Ragauskas, and Y. Deng. 2008. Enhanced Enzymatic Hydrolysis of Spruce by Alkaline Pretreatment at Low Temperature, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99 No. 6.
 77. 양재경, 이종윤, 장준복. 1989. 목질계 biomass의 이용 (II)-폭쇄제의 산가수분해에 의한 당화-, 목재공학. 17(3): 1~779.
 78. 엄찬호, 엄태진, 이종윤, 저압 폭쇄처리에 의한 목재주성분의 분리, 정제 및 이용(II)- 탄수화물의 화학적 성상 및 이용-, 목재공학. 24(2): 20~25.
 79. 態谷 聰, 坂木剛, 山田則行, 林信行. 2007. 種種の 리그ノセルロース系バイオマスの水熱分解, 糖化特性および得られた水熱處理残渣の酵素糖化, 日本エネルギー學會誌, 86(9): 712~717.