

이태리 포플러의 화학적 전처리 공정을 통한 효소가수분해 영향 인자 분석*1

구본욱*2 · 박나현*2 · 여환명*2 · 김훈*3 · 최인규*2†

Study on Affecting Variables Appearing through Chemical Pretreatments of Poplar Wood (*Populus euramericana*) to Enzymatic Hydrolysis*1

Bon-Wook Koo*2 · Nahyun Park*2 · Hwanmyeong Yeo*2 · Hoon Kim*3 ·
In-Gyu Choi*2†

요약

본 연구는 화학적 전처리 공정이 목질계 바이오매스의 효소 가수분해에 미치는 영향을 구명할 목적으로 이태리포플러 분말을 1% 황산과 수산화나트륨 수용액을 이용하여 각각 150°C와 160°C에서 한 시간 동안 전처리를 실시하였다. 전처리된 시료는 건조과정을 거친 시료와 건조과정을 거치지 않은 시료로 각각 구분하여 화학적, 물리적 성상 및 효소 당화 효율에 미치는 영향을 비교, 분석하였다. 황산 전처리에 의한 바이오매스의 분해율은 약 24.5%로 수산화나트륨 전처리에 의한 분해율(18.6%)보다 약 6% 이상 높게 측정되었다. 반면, 탈리그닌화는 수산화나트륨이 우수하여 황산을 이용한 전처리보다 약 2% 가량 높게 나타났다. 결정화도는 미처리 시료와 비교하였을 때 황산과 수산화나트륨으로 전처리한 시료 모두 다소 높은 값을 나타내었는데, 이는 전처리 과정에서 비결정성 셀룰로오스가 결정영역보다 선택적으로 분해됨으로서 나타난 결과로 예측되었다. 주사전자현미경에 의한 표면 미세구조 관찰 결과, 황산, 수산화나트륨 전처리 모두 구성 성분들을 분해함으로써 목질바이오매스의 표면을 미처리 시료보다 거칠게 만들고 부분적인 균열을 발생시키는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 황산 전처리-건조 시료에서는 이러한 표면 거칠음이 대조구와 유사하게 다시 변화하였음을 관찰하였다. 시료 표면의 기공 분포는 두가지 전처리 과정 모두를 통해 크게 증가하였음을 확인하였다. 그러나 수산화나트륨에 의해 전처리된 시료는 건조과정을 거친 경우에도 기공분포가 점차적으로 증가하는 경향을 보였지만, 황산으로 전처리한

* 1 접수 2009년 1월 6일, 채택 2009년 2월 13일

* 2 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부. Dept. of Forest Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

* 3 (주) 해동어콤. HaidongEokom Co.,Ltd, Haidong Bldg., 63-2, Jangchung-dong 1-ga, Jung-gu, Seoul 100-391, Korea

† 주저자(corresponding author) : 최인규(e-mail: cingyu@snu.ac.kr)

시료는 건조과정을 거치면서 전처리에 의해 증가한 기공 분포가 다시 급격히 감소하여 미처리 시료와 유사한 기공분포를 나타내었다. 황산 전처리 후 건조과정을 거친 시료와 미건조 시료는 효소가수분해에 의한 소화율이 각각 7.0%와 26.9%로 측정된 반면, 수산화나트륨 전처리 후 건조된 시료와 미건조시료는 각각 39.7%와 45.8%로 나타나 알칼리에 의한 전처리가 산 전처리보다 소화율 향상을 위해 더 우수하였으며, 이러한 높은 소화율은 당화 효율에도 커다란 영향을 미치는 것으로 판명되었다. 아울러 전처리된 바이오매스의 건조는 소화율 및 당화 수율에 지대한 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

ABSTRACT

To evaluate the effects of chemical pretreatments of lignocellulosic biomass on enzymatic hydrolysis process, *Populus euramericana* was pretreated for 1 hr with 1% sulfuric acid (H_2SO_4) at $150^\circ C$ and 1% sodium hydroxide (NaOH) at $160^\circ C$, respectively. Before the enzymatic hydrolysis, each pretreated sample was subjected to drying process and thus finally divided into four subgroups; dried or non-dried acid pretreated samples and dried or non-dried alkali pretreated samples and chemical and physical properties of them were analyzed. Biomass degradation by acid pretreatment was determined to 6% higher compared to alkali pretreatment. By the action of acid ca. 24.5% of biomass was dissolved into solution, while alkali degraded ca. 18.6% of biomass. However, reverse results were observed in delignification rates, in which alkali pretreatment released 2% more lignin fragment from biomass to the solution than acid pretreatment. Unexpectedly, samples after both pretreatments were determined to somewhat higher crystallinity than untreated samples. This result may be explained by selective disrapture of amorphous region in cellulose during pretreatments, thus the cellulose crystallinity seems to be accumulated in the pretreated samples. SEM images revealed that pretreated samples showed relative rough and partly cracked surfaces due to the decomposition of components, but the image of acid pretreated samples which were dried was similar to that of the control. In pore size distribution, dried acid pretreated samples were similar to the control, while that in alkali pretreated samples was gradually increased as pore diameter increased. The pore volume which increased by acid pretreatment rapidly decreased by drying process. Alkali pretreatment was much more effective on enzymatic digestibility than acid pretreatment. The sample after alkali pretreatment was enzymatically hydrolyzed up to 45.8%, while only 26.9% of acid pretreated sample was digested at the same condition. The high digestibility of the sample was also influenced to the yields of monomeric sugars during enzymatic hydrolysis. In addition, drying process of pretreated samples affected detrimentally not only to digestibility but also to the yields of monomeric sugars.

Keywords: Bioethanol, lignocellulosics, chemical pretreatment, H_2SO_4 , NaOH

1. 서 론

유가의 급속한 상승과 화석 연료의 고갈 등 여러 가지 문제로 인하여 화석에너지를 대체할 새로운 에너

지 개발에 대한 요구가 증가하고 있다. 특히 재생 가능한 바이오매스를 이용한 대체에너지 개발은 화석 연료 중심의 기존 산업 기반에 직접 적용이 가능하다는 점에서 크게 주목받고 있으며, 특히 바이오에탄올

은 수송용 대체에너지원으로 브라질, 미국 등에서는 이미 상당량의 가솔린을 대체하고 있고, 최근 MTBE를 대체하는 가솔린 첨가제 등으로 이용이 확산되고 있다(Sun *et al.*, 2002). 하지만 현재 대부분의 바이오에탄올은 옥수수, 사탕수수 등을 원료로 생산되고 있지만 식량자원으로서의 이용 여부 논쟁과 옥수수와 사탕수수의 재배 면적의 확대에 의한 열대림 파괴 문제, 온실효과에 대한 기여 여부와 같은 여러 가지 논란으로 인하여(Scharlemann *et al.*, 2008) 점차 목질계 바이오매스가 바이오에탄올 생산원료로 선호되는 추세이다. 목질계 바이오에탄올은 탄소 고정으로 인한 온실효과 완화, 자원의 풍부함과 같은 여러 가지 장점이 있으나, 목질계 바이오매스의 구조적 특징으로 인하여 바이오에탄올로의 전환시 높은 비용이 요구되기 때문에 상용화에 이르기에는 아직 개선해야 할 요소가 많다. 한편, 최근 에탄올 생산을 위한 당화공정은 산 당화 공정에서 효소 당화 공정으로 점차적으로 전환되고 있으며, 이러한 효소 당화 공정의 효율성 향상을 위한 전처리 공정에도 많은 연구가 이루어지고 있다.

목질계 바이오매스의 전처리 공정은 바이오에탄올 생산 공정 중 가장 비용을 많이 차지하는 공정임과 동시에 비용 절감 및 수율의 증가를 가장 많이 향상시킬 수 있는 공정이기도 하다(Wyman, 2007; Sánchez *et al.*, 2007). 전처리 공정은 주로 탈리그닌화, 헤미셀룰로오스의 제거 및 결정화도의 감소, 기공 면적의 증가 등을 목적으로 하고 있으며, 당화 수율을 향상시킬 수 있어야 하고, 탄수화물의 분해 및 손실을 최소화하며, 당화 및 발효에 영향을 주는 저해 물질과 같은 부산물의 형성을 억제하며, 합리적인 비용과 같은 조건을 반드시 충족시켜야 한다(Sun *et al.*, 2002). 전처리에 대한 연구는 물리적 전처리와 화학적 전처리를 중심으로 하여 주로 진행되고 있으며, 물리적 전처리는 대부분 결정화도 및 입자 크기의 감소를 주목적으로 하며, 화학적 전처리는 산이나 알칼리 등의 용매를 이용하여 탈리그닌화나 헤미셀룰로오스의 제거 등 바이오매스의 화학적, 구조적 변화를 주목적으로 한다. 최근에는 화학적, 물리적 전처리가 결합된 물리-화학적 전처리가 연구 중이다(Mosier *et*

al., 2005).

본 연구에서는 속성수로 단기간에 대량 생산이 가능한 목질 바이오매스인 이테리 포플러를 공시재료로 선정하여 약산과 약알칼리를 이용한 화학적 전처리를 실시하고, 전처리된 재료의 화학적, 물리적 성상 변화와 이에 따른 효소 당화의 변화를 확인함으로써 전처리에 의한 바이오매스의 물성 변화가 당화에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시 재료

국립산림과학원으로부터 이테리포플러(*Populus euramericana*) 1본을 제공 받아 실험용 분쇄기를 이용, 40mesh 크기의 목분으로 제조하여 공시 재료로 사용하였다.

2.2. 전처리

산 전처리는 시료 3 g과 1% (w/v) H₂SO₄ 용액 30 ml을 내열·내압 반응기(Aceglass Inc.)에 투입하여 150°C에서 한 시간 동안 실시하였고, 알칼리 전처리는 시료 3 g과 1% (w/v) NaOH 용액 30 ml을 내열·내압 반응기에 투입하여 160°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 전처리 후 상온에서 30분간 냉각 후 증류수를 이용하여 여과액의 색변화가 없을 때까지 충분히 세척을 실시하고, 잔사를 효소당화 및 분석에 사용하였다.

2.3. 효소당화

전처리 후 건조 과정이 당화 수율에 미치는 영향을 확인하기 위해, 전처리된 시료를 건조시료와 미건조 시료로 구분하여 효소 당화를 실시하였다. 비교구와 건조 시료 2점(알칼리 및 산 전처리 각 1점), 미건조 시료 2점 등 총 5점에 대한 효소당화가 실시되었다. 효소는 Celluclast 1.5L (Novo Co.)와 β -glucosidase 강화 효소인 Novozyme 188 (Novo

Co.)를 사용하였고, Celluclast와 Novozyme 188의 효소 활성도는 각각 74 IU/ml, 250 CBU/ml이었다. 당화는 250 ml 삼각플라스크에 pH 5.0으로 조절된 50 mM의 sodium acetate 완충액 100 ml와 시료를 넣고 Celluclast 45I U/g, Novozyme 188 30 CBU/g을 투입한 후 50°C, 150 rpm으로 조절된 진탕 배양기에서 실시하였다. 당화 중 일정시간 간격으로 1 ml의 시료를 채취하여 단당류 수율 분석에 사용하였다.

2.4. 전처리 조건에 따른 잔사 분석

2.4.1. 분해율 및 리그닌 제거율

전처리 조건에 따른 분해율은 반응에 투입된 시료 양과 분리된 잔사량으로부터 계산되었으며 그 식은 다음과 같다.

$$\text{Degradation rate}(\%) = \frac{W_0 - W}{W_0} \times 100$$

(W_0 : 투입된 시료의 전건 중량, W : 잔사중량)

Klason lignin 함량은 TAPPI method (T222 om-88)을 이용하여 분석하였으며, 측정시 얻어진 여과액을 자외-가시선 분광광도계를 이용하여 흡광과장 240 nm에서 25 L/g·cm의 흡광계수로 acid soluble lignin 함량을 측정하였다. Klason lignin과 acid soluble lignin 함량의 합계로 총 리그닌 함량을 측정하였으며, 다음과 같은 식으로 리그닌 제거율을 계산하였다.

$$\text{Delignification rate}(\%) = 100 - 100 \times \frac{TL}{TL_0}$$

(TL : 전처리된 시료의 리그닌 총합량, TL_0 : 대조구의 리그닌 총합량)

2.4.2. 결정화도 분석

서울대학교 농업과학공동기기센터의 Powder X-ray Diffractometry (Bruker D5005, Germany)를 이용하여 반응 조건별 잔사에 대한 강도 곡선을 얻은 후 반응 조건에 따른 결정화도의 비교를 통해서 산 및

알칼리 전처리에 의한 결정화도의 변화를 관찰하였다. 결정화도 측정을 위한 기기의 조건으로 40 kV, 40 mA, scanning speed = 0.4 °/min가 적용되었고, 시료에 대한 결정화도는 segal법(Segal *et al.*, 1959)에 의해 계산되었다. 즉 결정화도는 다음 식에 따라 산출하였으며, 여기서 $I_{002} = 22.5^\circ$ 의 peak intensity, $I_{am} = 19.0^\circ$ 에서의 peak intensity를 사용하였다.

$$\text{Crystallinity}(\%) = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100$$

2.4.3. 표면 미세구조 및 기공 분포 분석

전처리 및 건조 조건에 의한 표면 미세구조의 변화 및 기공 분포의 분석은 각각 주사전자현미경(JSM 5410LV, JAPAN)과 BET analyzer (ASAP 2010, micromeritics, USA)를 이용하여 관찰하였다.

2.5. 소화율 및 당화 수율 측정

효소당화를 마친 후 잔사의 무게를 측정함으로써 소화율을 계산하였으며, HPAEC (Dionex)를 이용하여 효소 당화 중 일정 시간별로 채취된 시료의 arabinose, galactose, glucose, xylose, mannose 5종의 단당류에 대한 당 분석을 실시하여 당화 수율을 측정하였다. 당화 수율은 다음 식에 의해 계산되었다.

$$S(\text{wt}\%) = \frac{(\text{Ara} + \text{Gal} + \text{Glu} + \text{Xyl} + \text{Man})}{W_0} \times 100$$

(S : sugar yield, W_0 : Input of wood flour, Ara: arabinose, Gal: galactose, Glu: glucose, Xyl: xylose, Man: mannose)

3. 결과 및 고찰

3.1. 전처리 공정에 따른 영향

3.1.1. 분해율 및 탈리그닌율

산 및 알칼리 전처리에 의한 분해율 및 탈리그닌율을 Table 1에 나타내었다. 산 전처리에 의한 분해율은 24.47%, 알칼리 전처리에 의한 분해율은 18.53%

Table 1. Degradation rate and delignification rate of pretreated *Populus euramericana* by acid/alkali

	Control	Sulfuric acid (SA)	NaOH (SH)
Degradation rate (%)	0.00	24.47	18.53
Klason lignin (%)	23.36	20.30	18.58
Acid soluble lignin (%)	4.53	2.94	4.19
Total lignin (%)	27.89	23.24	22.78
Delignification (%)		16.68	18.34

로 산 전처리에 의한 분해가 더 많이 일어났지만, 탈리그닌율은 산 전처리의 경우 16.68%, 알칼리 전처리의 경우 18.34%로, 알칼리 전처리가 산 전처리에 비하여 우수한 탈리그닌효과가 있음을 확인하였다. 목질계 바이오매스의 전처리 과정에서 산 전처리는 탈리그닌화 뿐만 아니라 많은 양의 헤미셀룰로오스 분해를 촉진하여(Yat *et al.*, 2008; Lloyd *et al.*, 2005), 분해율이 높아진 것으로 사료된다. 알칼리 전처리 또한 바이오매스의 탈리그닌화와 동시에(박, 2001), 헤미셀룰로오스의 분해가 발생하지만(Soto *et al.*, 1994), 헤미셀룰로오스의 분해 정도가 산 전처리에 비해 낮기 때문에, 높은 탈리그닌율에도 불구하고, 낮은 분해율을 나타내었다.

3.1.2. 결정화도의 변화

Table 2는 전처리 및 건조 공정에 따른 결정화도의 변화를 나타낸 것이다. 전처리 공정의 고온과 산 및 알칼리에 의한 분해로 인하여 결정화도가 감소할 것이라 예상되었지만, 미처리 시료의 결정화도가 52.33%인 것과 비교하여, 산 및 알칼리로 전처리한 시료 모두 결정화도가 증가하였다. 이것은 고온에서 비결정성 셀룰로오스의 분해로 인해 결정성 셀룰로오스 함량이 상대적으로 증가했기 때문으로 사료된다. 특히 산 전처리된 바이오매스의 결정화도 폭이 크게 증가하였다. 또한 이러한 결과는 여과액 내에 비결정성

Table 2. Crystalline indices of pretreated *P. euramericana* by acid/alkali (% by Segal method)

	Control	SA-D	SA-ND	SH-D	SH-ND
I_{002}	1955	2147	2603	1979	2036
I_{am}	932	847	933	769	876
Crystalline index	52.33	60.55	64.16	61.14	56.97

(SA-D: sulfuric acid pretreatment and drying; SA-ND: sulfuric acid pretreatment only; SH-D: sodium hydroxide pretreatment and drying; SH-ND: sodium hydroxide pretreatment only)

셀룰로오스 분해로 인한 상당량의 당류가 존재하고 있다는 것을 의미하며(구, 2006), 이러한 당류의 회수를 통해 당화 수율의 향상을 기대할 수 있다.

3.1.3. 표면 미세구조 및 기공 분포

산 및 알칼리 전처리된 시료를 건조 과정을 거친 시료와 건조 과정을 거치지 않은 시료로 나누어 주사전자현미경(SEM)으로 촬영하였다(Fig. 1). 표면이 매끄러운 미처리 시료에 비하여 전처리된 시료들은 전처리의 영향에 의하여 대체적으로 표면이 거칠어지고 부분적인 균열이 일어났다. 산 전처리의 경우 헤미셀룰로오스의 분해로 인한 거칠어짐과 기공 증가 등이 주를 이루었지만, 알칼리 전처리의 경우 헤미셀룰로오스와 동시에 리그닌 분해가 진행되어 셀룰로오스 섬유 상태로 변화되는 것이 확인되었다. 건조과정에 의해 건조 전후 표면 미세구조의 차이가 적은 알칼리 전처리 시료에 비하여, 산 전처리의 경우 건조과정을 거친 시료의 표면 구조가 전처리를 하지 않은 미처리 시료와 유사한 형태를 보임으로써, 산 전처리의 경우, 전처리 후의 건조 공정의 유무에 따른 영향을 받았음을 알 수 있었다.

Fig. 2는 미처리 시료 및 전처리 실시 후 건조과정을 거친 시료의 기공 분포도를 나타내었다. 주사전자현미경을 이용한 표면 미세 구조 관점에서 미처리 시료와 거의 비슷한 형상을 보인 산 전처리- 건조 시료의 기공 분포 또한 미처리 시료와 유사하게 나타났다. 그러나 표면의 거칠어짐과 부분적인 균열이 두드러지게 나타난 알칼리 전처리-건조시료는 기공 직경

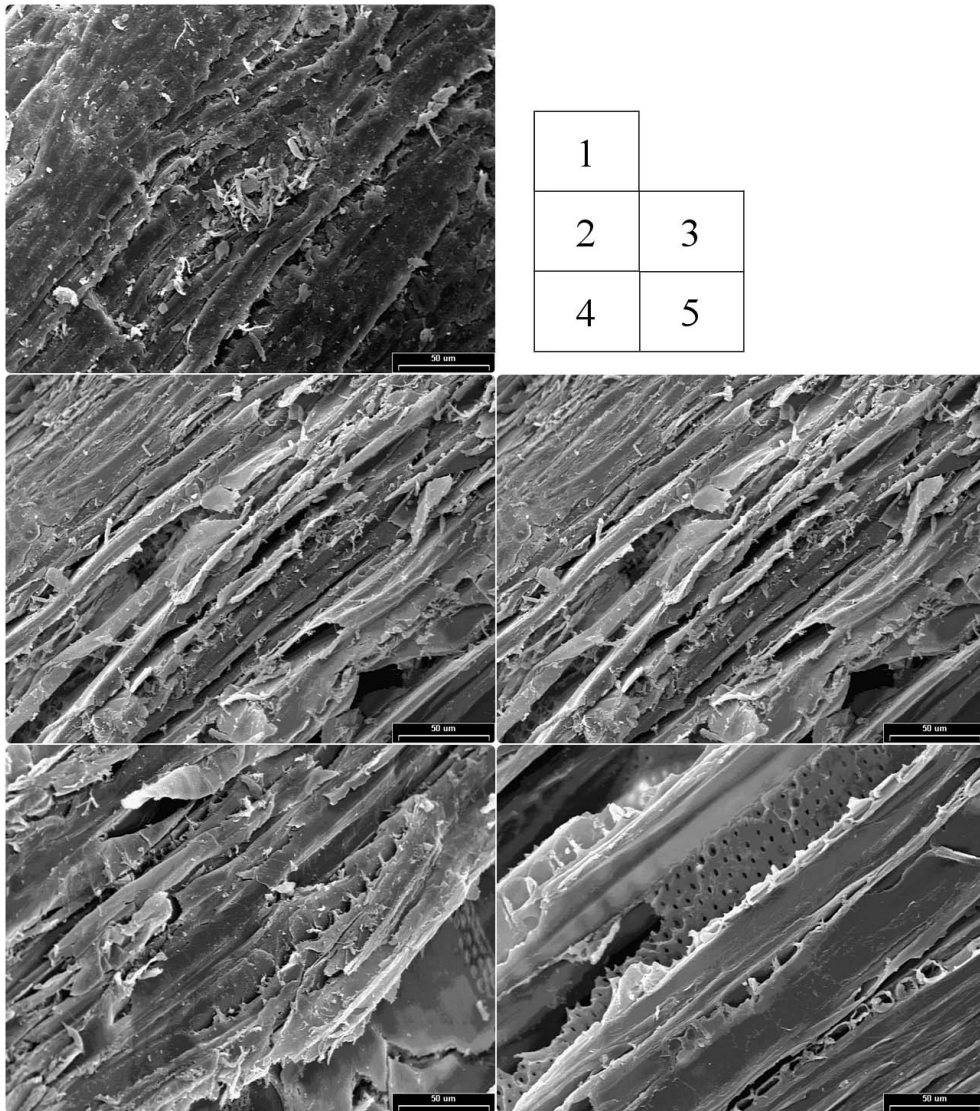


Fig. 1. SEM images of pretreated *P. euramericana* by acid/alkali (1: Control; 2: SA-non drying; 3: SA-drying; 4: SH-non drying; 5: SH-drying).

이 증가함에 따라 기공 분포가 점차적으로 증가하는 경향을 확인할 수 있다. 산 전처리에서 건조 과정의 영향을 확인하기 위하여 산 전처리 후 건조과정을 거친 시료와 거치지 않은 시료의 기공 분포를 비교한 결과(Fig. 3), 산 전처리 후 증가한 유효 기공 면적은 전처리 후 건조과정을 거치면서 급격하게 감소한다는

것을 확인하였다.

3.2. 소화율 및 당화 수율

Fig. 4는 효소에 의한 소화율을 나타낸 것이다. 산 전처리 후 건조 및 미건조 시료의 소화율이 각각

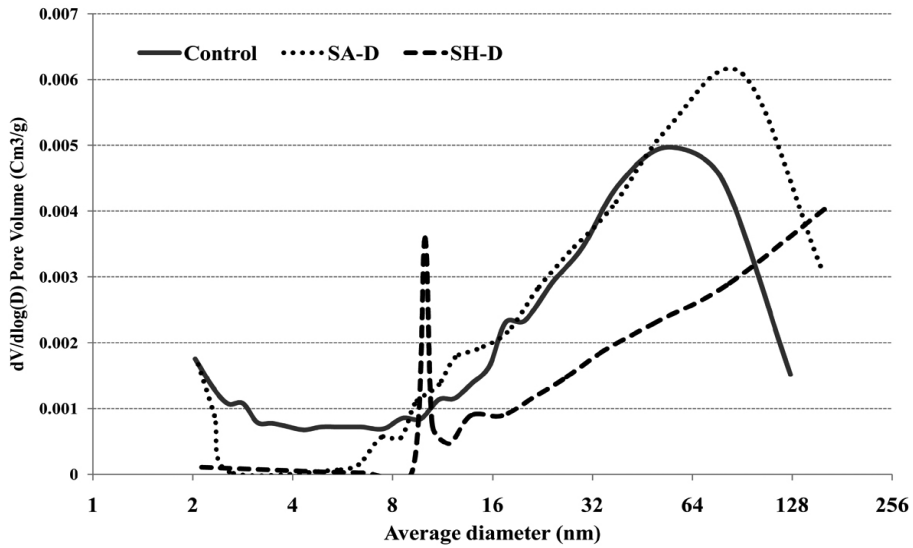


Fig. 2. Pore-volume distributions of dried pretreated *P. euramericana* by acid/alkali.

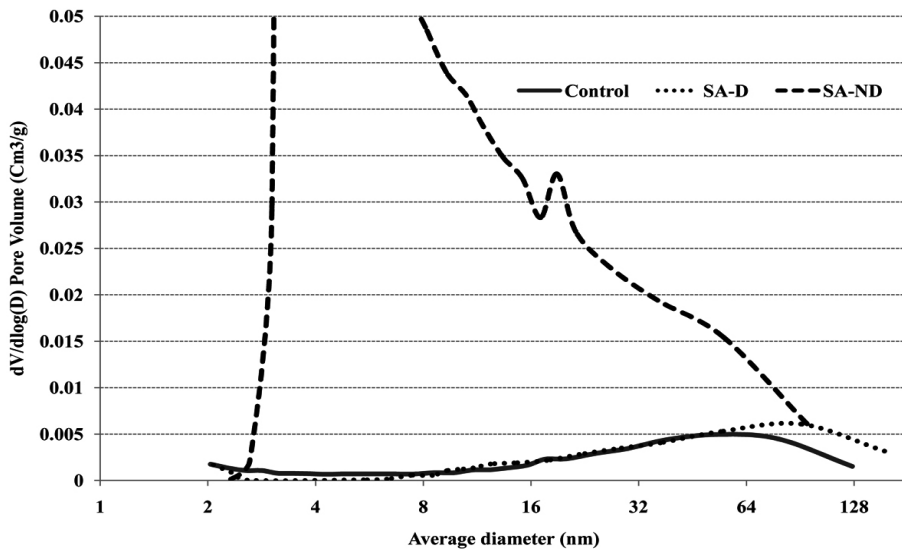


Fig. 3. Pore-volume distributions of pretreated *P. euramericana* by acid with or without drying.

7.03%, 26.88%인데 비하여, 알칼리 전처리의 건조 및 미건조 시료는 각각 39.72%, 45.82%으로 모두 알칼리 전처리의 소화율이 높게 나타났다. 전처리 실시 후 건조에 의한 효과를 확인하기 위하여 건조 과정을 거친 시료와 거치지 않은 시료를 각각 효소

당화를 실시하였다. 산 전처리 시료는 건조 과정을 거치지 않을 경우, 26.88%의 소화율을 보였으나, 건조 과정을 거친 시료의 소화율은 7.03%로 감소하였다. 전처리를 실시하지 않은 미처리 시료의 소화율은 7.26%로 건조과정에 의하여 당화 효율이 감소하

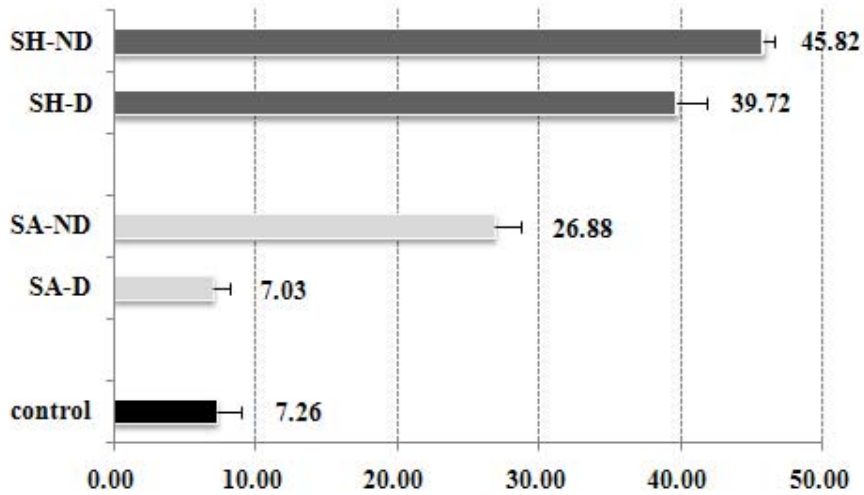


Fig. 4. Digestibility of the pretreated *P. euramericana* by acid/alkali (%).

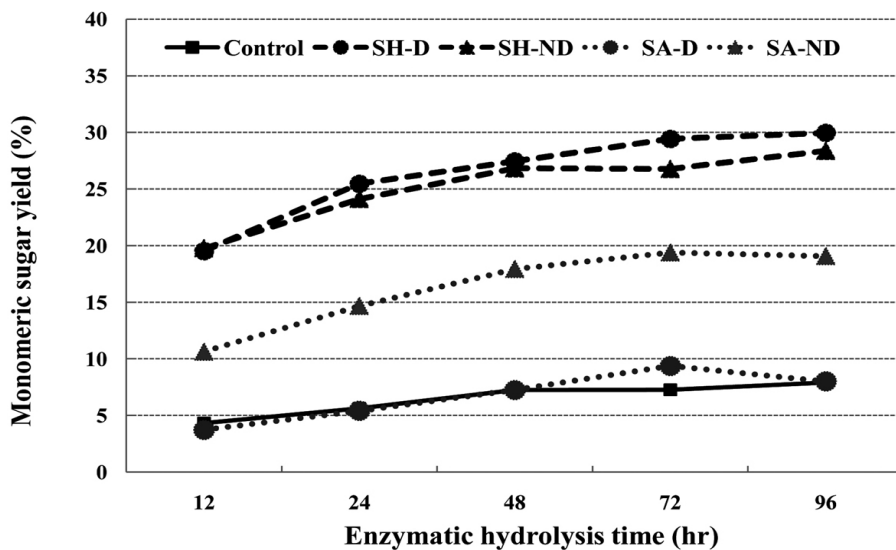


Fig. 5. Monomeric sugar yield by enzymatic hydrolysis of pretreated *P. euramericana* by acid/alkali.

는 것을 확인하였으며, 이는 주사전자현미경 촬영 사진(SEM) 및 기공 분포 결과(Fig. 3)에 의하여 건조과정에 의해 기공 면적의 감소와도 일치한다. 반면, 알칼리 전처리 경우, 건조 시료와 미건조 시료의

소화율이 각각 39.72%와 45.82%로 산 전처리에 비하여 건조에 의한 당화 효율의 감소 효과가 적은 것을 확인하였다.

시간에 따른 당화 수율을 Fig. 5에 나타내었다. 산

전처리 시료에 비해 알칼리 전처리 시료가 수율이 높게 나타났고, 산 전처리 후 건조과정을 거친 시료는 전처리를 실시하지 않은 시료와 유사한 낮은 수율을 나타내었다. 알칼리 전처리가 높은 당화 수율 향상을 보인 이유는 앞서 논의되었던 리그닌 분해 효과와 기공 분포의 복합적인 영향으로 인하여, 리그닌이 분해에 의한 바이오매스 팽윤 효과와 리그닌 구조가 깨지며 늘어난 내부표면적 기공 면적에 의한 것으로 사료된다. 이로 인해 효소가 리그닌에 비가역적인 흡착을 하는 것이 감소되고(Ooshima *et al.*, 1990), 셀룰로오스로의 효소의 접근성이 향상되기 때문에 알칼리 전처리 시료가 높은 수율을 나타낸 것으로 사료된다(Meunier-Goddik and Penner, 1999).

4. 결 론

목질계 바이오매스에 대한 다양한 화학적 전처리 공정의 효과를 살펴본 결과, 산 전처리 공정에 비해 알칼리 전처리 공정이 당화 수율 증가에 대해서 효과적이었으며, 산 전처리 후 건조 과정을 거치면 전처리된 시료의 재응축이 발생하여 전처리 효과가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

알칼리 전처리 공정은 주로 리그닌을 분해함으로써 유효 기공의 증가와 함께 효소의 리그닌에 대한 불필요한 흡착을 감소시켜, 셀룰로오스에 대한 효소의 접근성을 증가시키므로써 당화 효율을 향상시켰으며, 산 전처리 공정은 헤미셀룰로오스 제거를 통해 유효 기공 면적을 증가시켜 구조적으로 당화 효소의 접근성을 증대시켜주었다.

이상의 결과로부터 산 전처리와 알칼리 전처리 공정의 차이를 확인할 수 있었으며, 이는 앞으로 목질계 바이오매스를 이용한 바이오 에탄올 생산 공정 개발을 위한 기반 연구로서 그 가치가 있다고 판단된다. 그러나 전처리 공정에서 사용된 산 및 알칼리의 회수 및 전처리 공정에서 발생하는 당류의 손실 감소 같은 문제점이 해결되어야 할 것이며, 이로 인한 문제의 해결은 당화 수율을 크게 향상시킬 수 있는 효과적인 전처리 공정의 개발을 가능하게 할 수 있을 것이다. 또한 효소 당화에서의 효소의 최적 생

장 조건 탐색 및 효소의 셀룰로오스로의 접근성 향상과 같은 부가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 산림청 '산림과학기술개발사업(과제번호 : S120808L1401704C)'의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

- Lloyd, T. A. and C. E. Wyman. 2005. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Bioresource Technology* 96: 1967~1977.
- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladisch. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 96: 673~686.
- Meunier-Goddik, L. and M. H. Penner. 1999. Enzymatic-catalyzed saccharification of model celluloses in the presence of lignocinuous residues. *J. Agric. Food Chem.* 47: 346~351.
- Ooshima, H., D. S. Burnas, and A. O. Converse. 1990. Adsorption of cellulase from *Trichoderma reesei* on cellulose and lignocinuous residue in wood pretreated by dilute sulfuric acid with explosive decompression. *Biotechnol. Bioeng.* 36: 446~452.
- Sánchez, Ó. J. and C. A. Cardona. 2007. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*: 1~26.
- Scharlemann, J. P. W. and W. F. Laurance. 2008. How green are biofuels? *Science* 319: 43~44.
- Segal, L., J. J. Creely, A. E. Martin, Jr., and C. M. Conrad. 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text. Res. J.*: 786~794.
- Soto, M. L., H. Dominguez, M. J. Nunez, and J. M. Lema. 1994. Enzymatic saccharification of alka-

- li-treated sunflower hulls. *Bioresource Technology* 49: 53~59.
9. Sun, Y. and J. Cheng. 2002. Hydrolysis of ligno-cellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource Technology* 83: 1~11.
10. Wyman, C. E. 2007. What is (and is not) vital to advancing cellulosic ethanol. *TRENDS in biotechnology* 25(4): 153~157.
11. Yat, S. C., A. Berger, and D. R. Shonnard. 2008. Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass. *Bioresource Technology* 99: 3855~3863
12. 구분옥, 이제원, 최준원, 최돈하, 최인규. 2006. 초임계수를 이용한 표고버섯 골목의 가수분해. *목재공학*. 34(6): 81~95
13. 박영기, 오정수. 2001. NaOH 전처리된 현사시나무의 효소가수분해 특성. *임산에너지*. 20(2): 20~27.