

알칼리 전처리 백합나무(*Liriodendron tulipifera* L.)의 효소당화 및 발효에 의한 바이오 에탄올 생산

신수정^{1*} · 조대행² · 한심희³ · 김용환² · 조남석^{1*}

¹충북대학교 목재 · 종이과학과, ²광운대학교 화학공학과,

³국립산림과학원 산림유전자원부

Bio-ethanol Production from Alkali Prehydrolyzed Yellow Poplar (*Liriodendron tulipifera* L.) Using Enzymatic Saccharification and Fermentation

Soo-Jeong Shin^{1*}, Dae Haeng Cho², Sim-Hee Han³,
Young Hwan Kim² and Nam-Seok Cho^{1*}

¹Wood and Paper Science, College of Agricultural, Life & Environment Sciences,
Chungbuk National University, Cheongju 361-763, South Korea

²Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, South Korea

³Department of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, South Korea

요 약: 백합나무를 원료로 바이오 에탄올을 생산하기 위하여 알칼리 가수분해 처리 후 잔재물을 상업용 혼합 셀룰라아제(Celluclast 1.5L과 Novozym 342)를 사용하여 효소당화 후, 발효하여 바이오 에탄올을 생산하였다. 알칼리 가수분해 후 51.1%의 목재 성분이 회수 되었으며, 이중 셀룰로오스가 82.2%, xylan이 17.6%와 리그닌 2.0%의 조성을 보였다. 백합나무의 알칼리 가수분해과정에서 셀룰로오스 96.9%, xylan 38.0%, 리그닌 5.7%가 잔류하였다. 알칼리 가수분해 잔류물을 상업용 혼합 셀룰라아제에 의한 효소 당화결과, 셀룰로오스의 glucose 전환율은 87.0%였으며 xylan의 xylose로의 전환율은 87.2%였다. 분해된 당당류를 발효효모를 사용하여 바이오 에탄올을 생산하였는데 *Saccharomyces cerevisiae*균주는 대부분의 glucose를 발효에 사용하였고, 0.4-1.4%의 소량의 glucose만을 잔류 시킨데 대하여, xylose의 경우는 92.1-99.5%가 잔류하여 이 균주는 발효과정에서 xylose를 거의 사용하지 않았다. 24시간 발효에서 에탄올의 농도는 57.2 g/L수준이었지만 발효 균주에 의한 에탄올 소비로 인하여 48시간 및 72시간 발효에서 에탄올 농도가 각각 56.2 g/L와 54.3 g/L로 점차 감소하였다.

Abstract: Yellow poplar was selected a promising biomass resources for bio-ethanol production through alkali prehydrolysis, enzymatic saccharification and fermentation using commercial cellulase mixtures (Celluclast 1.5L and Novozym 342 mixtures) and fermenting yeast. In alkali prehydrolysis, 51.1% of Yellow poplar biomass remained as residues, which chemical compositions were 82.2% of cellulose, 17.6% of xylan and 2.0% of lignin. In alkali prehydrolysis process, 96.9% of cellulose, 38.0% of xylan and 5.7% of lignin were remained. Enzymatic saccharification by commercial cellulases led to 87.0% of cellulose to glucose and 87.2% of xylan to xylose conversion. Produced glucose and xylose were fermented with fermenting yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), which resulted in selective fermentation of glucose only to bio-ethanol. Residual monosaccharides after fermentation were consisted to 0.4-1.4% of glucose and 92.1-99.5% of xylose. Ethanol concentration was highest for 24 h fermentation as 57.2 g/L, but gradually decreased to 56.2 g/L for 48 h fermentation and 54.3 g/L for 72 h fermentation, due to the ethanol consumption by fermenting yeast.

Key words : alkali prehydrolysis, yellow poplar (*Liriodendron tulipifera* L.), saccharification, commercial cellulases, fermenting yeast, fermentation, bio-ethanol

*Corresponding author
E-mail: nscho@chungbuk.ac.kr

서 론

화석 연료 고갈과 지구 온난화의 심화가 신재생 에너지에 의한 에너지 대체를 요구하고 있다. 가스 하이드레이트나 석탄의 액화 이용 기술은 고갈되는 자원의 대체는 가능하지만 이산화탄소에 의한 지구 온난화는 막지 못한다. 태양에너지를 열복사의 광합성 작용에 의하여 에너지 고정을 하는 바이오매스 자원에 관한 관심이 이런 이유로 점점 커져가고 있다. 설탕이나 전분계 바이오매스는 당화와 발효 공정을 통하여 바이오 에탄올 생산이 쉽지만, 설탕 산업이나 식량 사료 산업과 경쟁 관계에 있기 때문에 농업 부문에 큰 문제를 야기시킬 수 있다. 목질계 바이오매스 자원은 광합성에 의하여 지속적으로 생산되며, 농업 부문과 경쟁적인 관계가 없기 때문에 재생에너지 자원으로 각광을 받고 있다.

백합나무는 yellow poplar, 또는 tulip tree라고 불리며 미국 미시시피강을 중심으로 동쪽 지역에 자생하는데 남쪽으로는 루지애나주부터 북쪽으로는 미시간주까지 자라고 있다. 백합나무의 주요 용도는 제재 후 판재나 합판 등에 사용하며 구조용 목구조물에도 침엽수 대신 사용하고 있다. 이러한 백합나무가 우리나라에는 1960년대 미국에서 도입된 이후, 우리나라의 기후 풍토에 적합하여 산림청에서 경제 조림수종으로 선정되어 적극 조림되고 있다. 국내 주요 조림 수종인 낙엽송과 스트로브 잣나무 보다 90% 이상 우수한 생장을 보이는데, 백합나무의 성장 특성을 살펴보면 15-20년까지 완만한 성장을 보이다가 그 이후부터 급속한 성장을 보인다(류근욱과 김홍은, 2003). 백합나무를 포함한 대부분의 활엽수 바이오매스 자원의 화학적인 조성은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스와 같은 다당류 성분이 약 55-70%를 차지하고 있으며, 이외 리그닌 성분이 활엽수에는 15-25%를 차지하고 나머지는 추출물이라고 불리는 다양한 유기물과 약간의 회분을 포함하고 있다. 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 효과적으로 가수분해할 수 있다면, glucose, xylose, mannose, galactose 등 다당류를 생산할 수 있는데, 셀룰로오스를 구성하는 glucose와 헤미셀룰로오스인 xylan에서 유래하는 xylose 등이 얻어지게 된다. 한편 이와 같은 다당류성분은 순수한 상태로 목재내에 존재하는 것이 아니고 상호간 그리고 리그닌과 복합구조를 이루고 있으며, 부분적으로는 결정 영역을 가지므로 이들 기질이 당화 및 발효과정에서 효소와 효과적으로 작용하기 위해서는 적절한 전처리가 필요하다.

목질 바이오매스의 다양한 전처리 기술을 위해서는 목재를 가는 크기로 분쇄하여 처리 효과를 높여야 하는데, 목재 분쇄 비용도 목질 바이오매스를 사용하는 바이오 에탄올 생산 공정에서 차지하는 비중이 매우 크다(Sun and

Cheng, 2002; Hamelinck *et al.*, 2005; Hemdriks and Zeeman, 2008). 지금까지 수행되어 온 전처리 기술로는 폭쇄(steam explosion)(Clark and Mackie, 1987; Saddler *et al.*, 1993), 약산 가수분해(dilute acid hydrolysis)(Lee *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2000), 암모니아 폭쇄(ammonia fiber explosion, AFEX) (Dale *et al.*, 1996; Dale *et al.*, 1999), 열수 처리(hydrothermal 또는 autohydrolysis)(Bobleter, 1994; Koullas *et al.*, 1992) 등이 있다. 한편 이들 목질계 기질은 산에 의하여 직접 당화시킬 수 있지만, 단당류가 산 조건에서 2차 반응을 일으키기 때문에 적절한 시점에서 회수해야 하고, 산성 용액의 중화반응에서 폐기물이 발생하는 문제점(Root *et al.*, 1959; McKibbins *et al.*, 1962; 송승구 등, 1986; 민두식과 조남석, 1990; Larsson *et al.*, 1999)을 지니고 있다. 또한 목재를 분해하는 미생물에서 추출한 효소들은 이용하여 목재 내 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 효소가수분해하여 단당류를 생산할 수 있으나, 이를 위해서도 효소가 접근할 수 있는 구조로 적절한 전처리가 필요하다. 한편 공업적으로 생산되고 있는 화학 펄프 공정에서는 적용하는 원료 목재를 칩으로 제조한 다음, 필요한 화학 약품을 첨가하고 증해하여 섬유상의 화학 펄프를 생산하고 있다.

본 연구에서는 생장이 우수하여 유용 조림수종으로 널리 재배되고 있는 백합나무(*Liriodendron tulipifera* L.)재를 칩 상태로 만든 후, 화학 펄프 제조공정에서 일반적으로 채용되고 있는 알칼리 가수분해처리 조건(임기표, 2003)을 사용하여 효소당화가 적합한 조건으로 전처리를 행한 다음, 그 잔재물을 상업용 셀룰라아제 조합(Celluclast 1.5L 과 Novozym 342)을 사용하여 단당류로 효소 당화 전환시켰다. 이렇게 만들어진 단당류 용액을 발효 효모를 사용하여 실험실 발효를 통하여 에탄올로 전환시킨 후 에탄올 생산 특성을 확인하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

충북대학교 구내에 식재된 백합나무(*Liriodendron tulipifera* L., 수령 24년, 흉고직경 38 cm)를 2007년 1월 벌목하여 수피를 제거한 다음, 목재 칩 형태로 조제하였으며, 조제된 목재 칩은 3x2x0.5 cm의 크기로 선별하여 알칼리 가수분해처리에 공시하였다.

2. 알칼리 가수분해

본 알칼리 가수분해 처리조건은 일반적으로 채용되고 있는 크라프트펄프화의 전처리법(임기표, 2003)으로서, 목재 칩 400 g에 대하여 증류수 100 mL, 1.45 M 수산화나트륨 1000 mL와 0.62 M 황화나트륨 500 mL를 가하였다.

황화나트륨은 리그닌의 알칼리 가수분해를 촉진시키기 위하여 첨가하였다. 알칼리 가수분해 조건은 상온에서 170°C 까지 90분 동안 일정한 속도로 가열하여 반응온도에 도달하였고, 170°C에서 30분간 지속 후 반응을 종결시켰다. 반응 후 목재 칩을 여러 단계 세척하여 세척수가 맑은 색을 띠 때까지 세척하여 반응 후 분해된 잔류물과 알칼리를 제거하고, 알칼리 처리된 백합나무 시료를 얻었다.

3. 효소 당화

덴마크 Novozyme사의 Celluclast 1.5L과 Novozym 342 두 가지 상업용 효소를 사용하였다. Celluclast 1.5L에는 endo-glucanase, exo-glucanase와 β -glucosidase를 포함하고 있으며, 효소 당화 중 생겨나는 cellobiose의 농도 증가에 의한 효소 당화 저해를 막기 위하여 α -C-glucosidase를 다량함유하고 있는 Novozym 342를 추가 하였다. 효소 첨가 수준은 알칼리 처리된 백합나무 전건시료 10 g에 대하여 Celluclast 1.5L 2.0 mL(168 FPU)와 Novozym 342 (β -D-glucosidase 및 Cellobiohydrolyse 효소 함유) 0.5 mL(5.4 FPU)를 첨가하였다. 농도 16.0%의 알칼리 가수분해 잔재물 300 g에 증류수 100 mL를 가하여 12.0%로 조절한 후, 필요한 양의 효소를 첨가하고, 전체 pH를 4.8로 조정하였다. 효소당화는 48°C의 교반 반응기에서 120 rpm으로 교반하여 반응을 진행시켰으며, 48 시간 후 효소 당화액을 여과하여 발효시료로 사용하였다.

4. 발효

당화액의 단당류 농도를 확인 후, 알칼리 가수분해 잔류물 효소당화액과 유사한 단당 농도의 대조구를 만들어서 효소당화액의 발효 특성과 비교하였다. 발효 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용하였으며, 종균배지에서 18시간 배양한 후, 본 배양배지에 5% 접종하였다. 종균배지의 조성은 glucose 10 g/L, yeast extract 3 g/L, malt extract 3 g/L, peptone 5 g/L 이며, 에탄올을 생산하기 위한 본 배지의 조성은 glucose 95 g/L, xylose 21 g/L, yeast extract 5 g/L, peptone 5 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4$ 1 g/L 이었다. 각 배지의 초기 pH는 0.1 N HCl과 NaOH를 이용하여 6.0으로 조정하였으며, 완충액은 사용하지 않았다. 본 배양은 배지 50 mL를 포함하고 있는 250 mL 플라스크에서 진탕배양기를 이용하여 200 rpm, 30°C에서 72시간 배양하였다. 효소당화액의 발효를 위해 glucose와 xylose를 제외하고 본 배양배지에서 사용한 나머지 배지들을 첨가하였고, 기타 배양조건을 동일하게 하였다.

5. 분석

1) 백합나무와 알칼리 가수분해 후 시료의 화학적 조성 분석

미국 NREL의 laboratory analysis procedure(http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html)에 따라 백합나무 분말 및 알칼리 처리된 백합나무 시료를 분말로 제조하여 아세톤과 끓는 물로 각각 추출하여 유기용매 추출물(organic solvent extractive)과 끓는 물 추출물(water extractive)을 측정하였고, 추출된 시료로 Klason lignin을 정량하여 리그닌 함량과 다당류 함량을 추정하였다. NREL 표준법의 에탄올-벤젠 혼합 용매 대신 독성이 약한 아세톤을 사용하였다.

목재와 알칼리 가수분해 잔류물의 탄수화물 조성분석을 위하여, 72.0% 황산으로 30°C에서 한 시간 동안 1차 산 가수분해 후 중수(D_2O)를 사용하여 희석시킨 후, 121°C에서 한 시간 동안 2차 가수분해를 실시하였다. 가수분해 후 여과하여 가수분해 액을 수집하여 1H -NMR 분석을 실시한 후, anomeric hydrogen 피크를 적분하여 탄수화물의 조성을 계산하였다(Shin and Cho, 2008).

2) 효소 당화 후 당화액내 조성 분석

효소 당화액내 glucose, xylose, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), furfural, 아세트산의 농도는 액체 크로마토그래프(Agilent model 1200 Liquid Chromatograph)로 분석하였다. 당 및 아세트산의 분석은 Aminex HPX-87H(300×7.8 mm, BIO-RAD) 컬럼과 굴절률 검출기 (Refractive Index Detector)를 사용하였고, 이동상으로는 5 mM 황산, 유속은 0.6 mL/min, 컬럼 온도는 45°C 이었다. 5-HMF와 furfural의 분석은 Zorbax eclipse XDB-C18(4.6×150 mm, 3.5 μ m, Agilent) 컬럼과 다이오드레이 검출기 (Diod Array Detector)를 280 nm에서 사용하였고, 이동상은 0.3% 초산용액과 메탄올을 93:7의 비율로 사용하였으며, 유속은 0.8 mL/min, 온도는 30°C 였다. 또한 당화액 내 총 페놀량을 정량하기 위해 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하였고(Singleton *et al.*, 1999), Gallic acid를 표준품으로 만든 검량선을 이용하여 정량하였다.

3) 발효액 성분 분석

발효 중 일정 시간마다 발효액을 채취한 후, 발효액 중의 당 소모량, 에탄올 생산량, 균체성장 등을 분석하였다. 에탄올은 액체 크로마토그래프(Agilent model 1200 Liquid Chromatograph)로 분석하였다. Aminex HPX-87H(300 mm×7.8 mm, BIO-RAD) 컬럼과 굴절률 검출기(Refractive Index Detector)를 사용하였고, 이동상으로는 5 mM 황산, 유속은 0.6 mL/min, 컬럼 온도는 45°C 였다. 당 분석은 5.2절에서 설명한 방법으로 분석하였다. 균체 성장은 채취한 발효액을 적당히 희석한 후, 자외선흡광도계(UV Spectrophotometer, Shimadzu)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 화학적 조성 변화

알칼리 가수분해 처리 후, 백합나무 시료는 아세톤추출물, 온수추출물, 리그닌의 대부분이 제거 되었다(Table 1). 백합나무 주성분 중 리그닌은 알칼리 가수분해 전 17.5%가 존재 하였지만, 이 중 16.5% 분은 제거되고 나머지 1.0%분만 잔류물에 존재하여 전체적인 리그닌제거율이 94.3% 수준에 도달하였다. 온수추출성분은 고온 증해 조건 때문에 모두 제거되었다. 주성분 탄수화물 성분 중에서는 셀룰로오스가 3.1% 정도 분해된데 비하여 xylan은 62.0% 정도가 제거되었다. 알칼리 가수분해 처리에서 리그닌과 xylan의 제거 효과는 다음단계의 효소당화 효율을 높이는 데 긍정적으로 작용할 것으로 기대할 수 있다.

2. 효소 당화

백합나무의 알칼리 가수분해에서 Table 1에서 보는 바와 같이 51.1%의 목재 성분이 회수 되었으며, 이 가운데 셀룰로오스가 82.2%, xylan이 17.6%와 리그닌 약 2.0%의 조성을 보였다. 조성분별로는 셀룰로오스가 96.9%, xylan 38.0%, 리그닌 5.7%가 잔류하는 것으로 나타났다. 알칼리 가수분해에 의하여 셀룰로오스섬유를 피복하고 있는 리그닌성분의 제거는 잔류물의 상업용 셀룰라아제를 사용하는 효소당화율을 높일 것으로 예상된다.

Table 2는 알칼리 가수분해 잔류물을 상업용 혼합 셀룰

Table 1. Chemical composition of yellow poplar wood and alkali hydrolyzed residue.

Components	Yellow poplar samples (%)	
	Wood	Alkali hydrolyzed residue
Overall	100.0	51.1
Acetone solubles	2.5	0.1
Hot-water solubles	14.0	0.0
Lignin	17.5	1.0
Carbohydrates	66.0	50.0
Cellulose	42.3	41.0
Xylan	23.7	9.0

Table 3. Glucose and xylose consumption, cell growth and ethanol production from the controls and Yellow poplar saccharified solutions.

Substrate	Glucose (g/L)			Xylose (g/L)			Cell growth (O.D. at 660 nm)			Ethanol (g/L)		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Control*1	0	0	0	18.7	17.9	18.3	0.79	0.74	0.76	50	50	48.7
Control*2	0	0	0	18.9	18.4	18.0	0.78	0.75	0.76	51.3	49.4	49.7
Sacc.**1	1.3	0.6	0.7	21.3	20.2	19.7	0.63	0.65	0.67	56.9	55.9	53.9
Sacc.**2	1.3	0.6	1.0	21.2	20.6	20.0	0.62	0.66	0.66	57.5	56.4	54.7

*Control refers to (glucose 95 g/L + xylose 21 g/L); Numbers are replication.

**Sacc. refers to Yellow poplar saccharified solutions (glucose 95.1 g/L + xylose 21.4 g/L); Numbers are replication.

Table 2. Chemical composition of enzymatic saccharified solution.

	Concentration (g/L)
Glucose	95.1 (87.0%*)
Xylose	21.4 (87.2%*)
Acetic acid	0.5
Furfural	0.0
5-Hydroxymethyl furfural	0.0
Total phenolics	0.48

*Conversion rates of monosaccharides based on alkali hydrolyzed substrate.

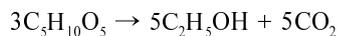
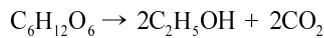
리아제에 의한 효소 당화결과를 나타낸 것으로서, 알칼리 가수분해 잔류물이 대부분의 glucose 및 xylose로 전환되었다. 셀룰로오스의 glucose 전환율은 87.0%, xylan의 xylose로의 전환율은 87.2%였다.

백합나무와 상업용 대마의 효소 당화 특성 비교(Shin *et al.*, 2008)에서 백합나무의 복합구조에 어떤 처리도 하지 않고 미분말화 후 효소 당화 실험에서 셀룰로오스와 xylan의 당화율은 이론적으로 얻을 수 있는 값의 10% 내외였다. 옥수수 줄기 xylan과 리그닌 제거 처리가 셀룰로오스의 효소 당화에 미치는 영향에 대한 연구(Yang and Wayman, 2004)에서 셀룰로오스의 효소당화가 xylan 제거 정도와 밀접한 상관관계가 있었지만, flowthrough 반응기에서는 리그닌 제거 정도도 셀룰로오스의 효소 당화에 영향을 미쳤다. 산 촉매 폭쇄 처리된 옥수수 줄기를 xylan 분해효소로 처리 후, 셀룰로오스의 효소 당화율이 증가하는 것은 잔류 xylan이 셀룰로오스의 효소 당화를 방해하기 때문인 것으로 보고되었다(hgen *et al.*, 2007). 한편 발효공정을 저해하는 물질로 생각되는 초산, 5-hydroxymethyl-furfural(5-HMF), furfural, total phenolics계 화합물이 당화 과정에서 초산 및 total phenolics은 매우 낮은 농도로 검출되었으나, 5-HMF와 furfural은 전혀 검출되지 않았으므로 에탄올 발효효율은 높을 것으로 추정하였다.

3. 발효에 의한 바이오 에탄올 생산

백합나무의 당화액으로 95.10 g/L의 glucose와 21.40 g/L xylan을 함유하는 효소 당화액을 조제하였으며, 인위적

으로 상기 당화액과 유사한 조성으로 조제한 대조구 (glucose 농도 95.0 g/L, xylose 21.0 g/L)의 2종류의 당화액을 사용하여 발효 균주 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용하여 에탄올발효를 실시하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다. 대조구 및 백합나무 당화액의 발효과정에서 glucose 및 xylose의 소비량, 세포증식효과, 에탄올전환율을 24시간, 48시간, 72시간 경시적으로 측정된 결과, glucose는 이론적인 에탄올 전환율에 근접하였으며, xylose는 발효 효모에 의하여 대조구에서는 소량 이용되었으나, 전체적으로 거의 이용되지 않은 채 남아 있었다. glucose와 xylose는 아래 식과 같이 당량으로 에탄올과 이산화탄소로 발효된다.



발효효모 세포의 증식에 있어서는 대조구에서 약 13% 활발한 성장을 보였으나, 에탄올생산량은 높지 않았고, 오히려 백합나무 당화액의 에탄올생산량이 약 12% 높은 결과를 보여주었으며, 약간의 glucose가 에탄올발효 72시간 후에도 소량 잔류하였다. 발효 시간은 24 시간이면 충분한 것으로 나타났다. 본 실험에 사용한 효모 균주의 xylose 발효 능력이 떨어지지만 대부분의 발효 미생물이 glucose를 에너지원으로 선호하기 때문에 glucose와 xylose 혼합 당 용액에서는 glucose의 선호도가 컸다. 보다 높은 에탄올 생산 효율을 위하여서는 xylose까지 이용할 수 있는 효모 균주의 사용이 필요하다고 사료된다. 따라서 알칼리 가수분해 전처리 공정이 발효 공정을 저해하는 물질이 거의 생성되지 않았으므로 바이오 에탄올 생산을 위한 적절한 전처리 공정으로 판단된다.

결 론

백합나무의 알칼리 전가수분해 처리에 의하여 대부분의 리그닌과 xylan 일부가 제거된 알칼리 가수분해 잔재물을 상업용 효소 복합체에 의하여 당화시킨 결과, 쉽게 단당류로 전환되었으며, 당화 용액내에서 발효 저해 물질로 생각되는 furfural과 5-hydroxymethylfurfural이 검출되지 않았다. 이들 전환된 단당류를 이용한 에탄올 발효 결과, glucose의 대부분은 에탄올로 전환되었고 대부분의 xylose는 이용되지 않은 채 남아 있었다. 따라서 백합나무를 이용하여 바이오 에탄올을 생산하기 위한 알칼리 전가수분해 처리가 효소당화 및 에탄올발효 공정으로 매우 적합한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 학문후속세대 양성 사

업(KRF-2006-353-F00006)의 연구 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

- Bobleter, O. 1994. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Progress in Polymer Science* 19: 797-841.
- Clark, T.A. and K.L. Mackie. 1987. Steam explosion of the softwood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. I. Process optimization. *J. Wood Chemistry Technology* 7: 373-403.
- Dale, B.E., C.K. Leong, T.K. Pham, V.M. Esquivel, I. Rios and V.M. Latimer. 1996. Hydrolysis of lignocellulosics at low enzyme levels: Application of the AFEX process. *Bioresource Technology* 56: 111-116.
- Dale, B.E., J. Weaver and F.M. Byersm. 1999. Extrusion processing for ammonia fiber explosion (AFEX). *Applied Biochemistry and Biotechnology* 77: 5-49.
- Hamelinck, C.N., G. van Hooijdonk and A.P.C. Faaïj. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass; techno-economic performance in short-, middle-, and long term. *Biomass and Bioenergy* 28: 384-410
- Hemdricks A.T. and G. Zeeman. 2008. Pretreatments to enhance the digestability of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100: 10-18.
- Koullas, D.P., P. Christakopoulos, D. Kekos, B.J. Macris and E.J. Koukios. 1992. Correlating the effect of pretreatment on the enzymatic hydrolysis of straw. *Biotechnology and Bioengineering* 39: 113-116.
- Larsson, S., E. Palmqvist, B. Hahn-Hagerdal, C. Tengborg, K. Stenberg, G. Zacchi and N.O. Nilverbrant, 1998. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood, *Enzyme and Microbial Technology* 24: 151-159.
- Lee, Y.Y., Z.W. Wu and R.W. Torget. 2000. Modeling of countercurrent shrinkage-bed reactor in dilute-acid total-hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 71: 29-39.
- Lee, Y.Y., P. Iyer and R.W. Torget. 1999. Dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology* 65: 93-115.
- McKibbins, S.W., J.F. Harris, J.F. Saeman and W.K. Neill. 1962. Kinetics of the acid-catalyzed conversion of glucose to 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde and levulinic acid, *Forest Prod. J.* 12(1): 17-23.
- Mok, W.S.L. and M.J. Jr. Antal. 1992. Uncatalyzed solvolysis of whole biomass hemicellulose by hot compressed liquid water. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 31: 1157-1161.
- hgren, K., R. Bura, J. Saddler and G. Zacchi. 2007.

- Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. *Bioresource Technology* 98: 2503-2510.
14. Root, D.F., J.F. Saeman, J.F. Harris and W.K. Neill. 1959, Kinetics of the acid catalyzed conversion of xylose to furfural, *Forest Prod. J.* 9(5): 158-164.
15. Saddler, J.N, L.P. Ramosand and C. Brueuil. 1993. Steam pretreatment of lignocellulosic material enhanced enzymatic hydrolysis. pp. 73-91. In: *Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Wastes* (ed. J.N. Saddler). CAB International, Wallingford, UK
16. Shin, S.-J. and N.-S. Cho. 2008. Conversion factors for carbohydrate analysis by hydrolysis and ¹H-NMR spectroscopy. *Cellulose* 15: 255-260.
17. Shin, S.-J., G.-S. Han, I.-G. Choi and S.-H. Han. 2008. Chemical characterization of industrial hemp (*Cannabis sativa*) biomass as biorefinery feedstock. *Korean Journal of Plant Resource* 21: 222-225.
18. Singleton, V.L., R.O. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.
19. Sun, Y. and J. Cheng. 2002, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresources Technology* 83: 1-11.
20. Yang, B. and C.E. Wyman. 2004. Effect of xylan and lignin removal by batch and flowthrough pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose. *Biotechnology and Bioengineering* 86: 88-98.
21. 류근옥, 김홍은, 2003, 백합나무 양묘기술 개발에 관한 연구, *한국임학회지* 92(3): 236-245.
22. 민두식, 조남석, 1990, 목재당화학, 선진문화사.
23. 송승구, 이민규, 이윤영, 1986, 소량의 수분을 함유한 목재 셀룰로오스의 산촉매 당화 및 생성당의 향류식 추출, *화학공학* 24(5): 351-359.
24. 임기표. 2003. 목재펄프, 제지, 환경, 화학. 전남대 출판부, pp.265-272.

(2009년 3월 30일 접수; 2009년 5월 18일 채택)