

다양한 유기성 폐자원을 적용한 바이오 수소 생성 연구

*황재훈¹⁾, 최정아¹⁾, R.A.I. Abou-Shanab^{1,2)}, **전병훈¹⁾

Feasibility of batch anaerobic bio-hydrogen production from different organic wastes

*Jae-Hoon Hwang, Jeong-A Choi, R.A.I. Abou-Shanab, **Byong-Hun Jeon

Key words : Bio-hydrogen, Rotten fruit, Organic wastewater, VFA, Anaerobic fermentation

Abstract : The effects of various organic wastes on anaerobic fermentative hydrogen production were studied using enriched mixed microflora in batch tests. Rotten fruit, corn powder and organic wastewater enriched with sulfate (up to 1,000 mg/L) were used for experiments. Maximum hydrogen production (547.1 mL) was observed from rotten apple with initial substrate concentration of 132.2 g COD/L. The experimental result on sulfate enriched organic wastewater indicated that hydrogen production is not adversely influenced by relatively high sulfate concentration. Residual sulfate content remained at 96-98 % after 75 hours of reaction, which showed that no major sulfate reduction was occurred at pH 5.3-5.5 in the reactor. The volatile fatty acid (VFA) fractions produced during the reaction was in the order of butyrate > acetate > propionate in all experiments. The results of this study would be useful for controlling the conditions on fermentative hydrogen production using different feedstocks.

Nomenclature

$V_{H,i}$, $V_{H,i-1}$: cumulative hydrogen gas volume, mL
 i , $i-1$: current time and previous time, hour
 $V_{G,i}$, $V_{G,i+1}$: total biogas volume, mL
 $C_{H,i}$, $C_{H,i+1}$: hydrogen gas fraction, %
 H : cumulative hydrogen production, mL
 P : ultimate hydrogen production, mL
 R_m : hydrogen production rate, mL/hr
 λ : lag phase time, hr
 e : 2.71828

Subscript

COD: chemical oxygen demand
VFA: volatile fatty acid
HPB: hydrogen producing bacteria
TCD: thermal conductivity detector
FID: flame ionization detector
GC: gas chromatography
IC: ion chromatography
RPM: revolution per minute
ORL: organic loading rate
★

1. 서론

최근 수소 에너지는 여러 가지 산업의 에너지 원으로 활용되고 있으며 신재생에너지의 개발과 보급의 활성화로 수소생산 기술의 중요성이 부각되고 있다. 수소는 연소 시 공해물질이 생성되지 않아 청정하며, 재생가능하고, 높은 에너지 효율(122 kJ/g)을 가지며 연료전지를 통해 쉽게 전기로 전환할 수 있다⁽¹⁾. 그러나 현재 사용단계인 수소연료는 화석연료의 열분해와 물의 전기분해를 기초로 생산되는 것이 대부분이며, 수소에너지 발생을 위한 화석에너지를 투입해야하는 한계가 있다⁽²⁾. 따라서 1차적인 에너지의 사용 없이 대체 에너지의 확보에 대한 연구가 진행 중이다.

그 중 미생물을 이용한 바이오 에너지의 개발이 주목되며, 여러 가지 에너지원을 이용한 기술 개발이 진행 중이다. 최근 들어 유기성 폐기물을 이용하여 바이오 에너지를 얻기 위해 많은 연구가 진행되고 있다⁽³⁻⁴⁾. 유기성 폐기물 중에서 음식물쓰레기는 고농도 유기물을 함유하고 있으며, 탄수화물의 농도 비율이 풍부하게 차지하고 있어⁽⁵⁾, 쉽게 가수분해단계를 거쳐 휘발성 지방산으

1) 연세대학교 환경공학부

E-mail : bhjeon@yonsei.ac.kr

Tel : (033)760-2446 Fax : (033)760-2571

2) Department of Environmental Biotechnology

Mubarak City for Scientific Research,

Alexandria, Egypt

로 전환될 수 있는 장점을 가지고 있다⁽³⁾. 그러나 직접적으로 혐기소화 하기가 매우 어렵기 때문에 파쇄의 전처리 공정이 요구된다⁽⁶⁾. 음식물쓰레기를 직접적으로 혐기 소화할 경우, 이 공정에서 발생하는 극부적인 산발효로 인하여 급격한 pH 저하, 산발효 속도 차이로 인하여 셀룰로오스 성분의 전환, 음식물쓰레기의 높은 염분함량으로 인한 영향 등의 저해요인을 사전에 제거해야 한다고 보고되었다⁽⁷⁻⁹⁾. 또한, 음식물 쓰레기 이외에 유기성 폐수는 대부분 펄프/종이, 해산식품 공정 그리고 알콜 발효 산업으로부터 발생되는 폐수를 포함하며 이 폐수에는 황산염을 고농도로 포함하고 있다. 황산염은 혐기소화과정에 억제요인으로 작용하나 pH 5.5-6.0 범위에서는 수소생성에 제한요소로 작용되지 않음이 보고되었다⁽¹⁰⁾. 따라서 본 연구에서는 혼합균주로 배양한 혐기성 반응조에서 음식물 폐기물 중 부패 과일과 황산염 농도가 함유된 유기성 폐수에서 수소 생성에 대한 특성을 조사하고, 이를 통하여 바이오 수소 생산 시스템에 활용하고자 한다.

2. 연구방법 및 실험

2.1 식종 슬러지 및 유입수 특성

식종 슬러지는 W시 하수처리장 소화조 (35 °C, HRT 28 day) 내부 반응관에서 채취한 슬러지를 90°C, 20분간 끓여 사용하였다. 수소 생성을 위한 기질은 glucose (10 g/L)를 사용하였다. 유입수 기질 이외 NH₄HCO₃, 4700 mg/L; K₂HPO₄, 125 mg/L; MgCl₂ · 6H₂O, 100 mg/L; MnSO₄ · 6H₂O, 15 mg/L; FeSO₄ · 7H₂O, 25 mg/L; CuSO₄ · 5H₂O, 5 mg/L; CoCl₂ · 5H₂O, 0.1 mg/L 및 NaHCO₃, 2000 mg/L을 함께 주입하였다.

본 실험에 사용된 폐수는 W시의 과일가게에서 발생된 부패 과일과 고농도황산염이 함유된 인공 하수를 이용하여 각각 적용하였다. 각각의 유입수는 부패 과일은 3% (W/V)으로 사과, 배를 이용하였으며, 당 함유가 높은 옥수수 가루 3% (W/V), 황산염 0-1,000 mg/L 함유된 인공 폐수로 Table 1에 나타내었다.

2.2 반응조 구성 및 운전 조건

Table 1. Characteristics of each organic wastewater

Parameter (g/L)	Apple	Pear	Corn powder	Artificial wastewater	Seed sludge
COD	132.2	189.1	39.5	14.1	9.7
Carbohydrate rate	45.9	64.5	15.4	11.7	1.4
Total solids	6.8	7.1	8.2	0.1	5.2
pH	5.8	5.6	6.2	7.8	6.7
VFA	3.3	3.5	2.6	0.2	0.4

회분식 반응조는 125 mL의 serum bottle을 사용하였으며, 유입수 40 mL, 식종된 슬러지 40 mL

를 사용하여 운전하였다. 실험기간 중 pH는 조절하지 않았으며, water bath를 이용하여 35 ± 1 °C를 유지 및 80 rpm으로 교반하였다 (그림1 참고).

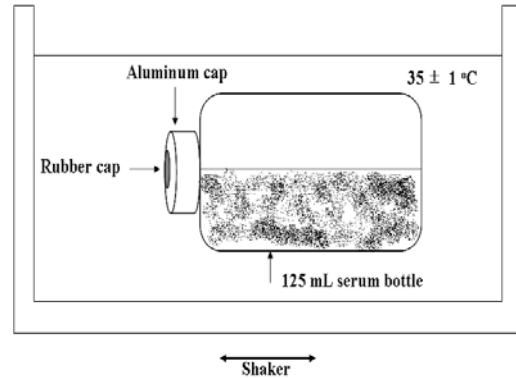


Fig. 1. Batch experimental apparatus.

2.3 분석방법

생성된 바이오가스 발생량은 가스 측정용 유리주사기를 이용하여 측정하였으며, 표준상태조건(0 °C, 1기압)으로 보정하였다. 시간 당 발생된 수소량은 headspace 내의 수소 분압차를 고려하여 식 (1)을 이용하여 구하였으며 누적 수소생산량은 Gompertz equation을 이용하여 모사하였다⁽¹¹⁾.

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_H(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (1)$$

$$H(t) = H_{max} \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R \cdot e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

수소 용량분석은 80/100 6ft × 1/8ft steel column with molecular sieve 5A의 TCD column과 Ar기체(carrier gas)를 이용하는 GC-14A를 이용하여 분석하였다. 당성분 및 유기산 측정은 시료를 0.45 μm 여과지로 filtering한 후 anthrone-H₂SO₄ carbohydrate 분석법⁽¹²⁾과 glass column packed with 10 % REOPLEX 400의 FID column Shimadzu GC-8A로 각각 분석하였다. 잔존 황산염은 IC (DX-120)으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폐수에서의 바이오 수소 생산

본 연구에서는 다양한 유기성 폐수 (부패 과일 폐수, 황산염 함유 폐수)를 효과적으로 처리하는 동시에 혐기성 소화공정에 의한 수소 생성 가능성에 대해 고찰하고자 하였으며, HRT 18 h 에서 운전된 슬러지를 각 기질에 적용 후 관찰한 결과를 그림 2에 나타내었다. 수소 생성 효율, 최대 수소 생성 및 Gompertz equation (식 2)을 적용하여 수소생산가능량 (P), 최대 수소생산속도

(R_m) 및 머무름시간 (λ)을 산출하였고 Table 2에 나타내었다.

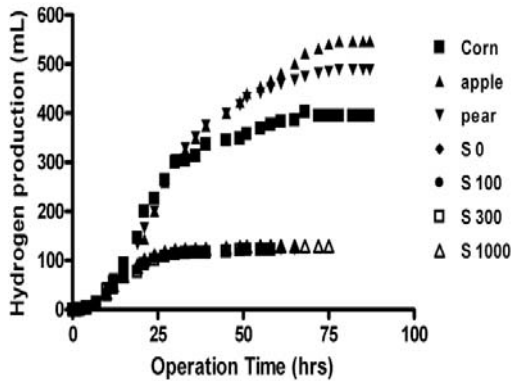


Fig. 2. Cumulative hydrogen production from each organic wastewater.

본 연구에서 최대 수소 발생은 부패한 사과, 배, 옥수수 그리고 황산염 함유 폐수에서 각각 547.1, 488.1, 394.5 mL 그리고 129.1 mL로 나타났다. 수소 발생은 부패한 사과, 배에서 높게 나타났으며, 폐수의 성상 분석결과 부패된 배와 사과에서 가장 높은 당을 함유하였다 (Table 1 참고). 혐기 발효에 의한 수소생성은 폐수에 함유된 당성분 물질을 산발효로 휘발성 지방산으로 분해하여 발생한다고 보고되며⁽¹³⁾, 본 연구결과

과 황산염의 농도 변화에 영향 없이 94-96 %를 유지하여 황산염의 환원이 발생하지 않았다 (그림 3). 황산염 환원이 진행되지 않는 것은 황산염 환원균의 생장이 없음을 의미한다. 본 연구에서 최종 pH는 5.3-5.5로 나타나, 낮은 pH에서 황산염 환원균의 생육이 저하되는 특성이 적용한 것으로 판단된다. 보고된 연구에 따르면, pH 6.7, 5.5 조건에서의 연구 결과 pH 5.5에서 황산염 농도가 수소 생성에 큰 영향을 주지 않는다고 보고되었다⁽¹⁷⁾. 모든 유기 폐수에서 COD분해는 51-68%로 진행되었으며, 분해탄수화물 분해 경우 사과와 배의 분해는 71.3, 74.1 %로 분해가 많이 진행되지 않았다. 발효 반응시 탄수화물 농도가 3.5-7.5 g/L 이상일 경우 높은 생성물(수소, 유기산)의 생성을 저해한다고 보고된다⁽¹⁸⁾. 본 연구에서 부패된 과일인 사과, 배의 경우 수소 발생은 높게 관찰되었으나, 탄수화물 분해 진행이 70%로 나타나 잔존 탄수화물을 이용한 2차 수소 생성의 가능성이 사료된다. 모든 반응조의 최종 pH는 5.4-6.0 사이로 수소를 생성하는 산성생균의 우점화 진행이 되었다고 판단된다. 식 (2)의 회귀분석 r-square 값은 0.95 이상이었으며, 각 산출된 값들은 신뢰구간에서 통계학적으로 중요한 의미를 가진다.

3.2. 발효 산물 분포 특성

다양한 유기 폐자원에 따른 발효 산물의 구성 변화를 그림 3에 나타내었다.

Table 2. Modified Gompertz equation parameters

Experimental conditions	OLR (g COD/L/d)	pH	Carbohydrate degradation (%)	Hmax (mL)	Rmax (mL/h)	λ (h)	VSS (g/L)	H ₂ yield (mL/g VSS)	r ²	H ₂ content (%)
Apple	90.3	5.6	71.3	547.1	14.0	8	2.4	227.9	0.95	57
Pear	133.2	5.8	74.1	488.3	12.9	7	2.3	212.3	0.99	51
Corn ^{a)}	24.3	6	94.9	394.5	13.1	9	2.3	171.5	0.99	48
S ^{b)} 0	10.2	5.4	92.3	123.1	7.1	8	2.1	58.6	0.98	49
S 100	10.2	5.3	93.1	119.2	6.7	10	2.3	51.8	0.99	48
S 300	10.2	5.4	92.4	121.9	6.6	10	2.2	55.4	0.97	51
S 1000	10.2	5.5	91.5	129.3	6.9	10	2.3	56.2	0.99	52

a): corn powder; b): sulfate

당성분이 높은 폐수에서 수소 생성이 높게 발생되었다.

황산염이 함유된 폐수에서 수소 발생 연구 결과, 황산염 농도 0 mg/L 에서는 수소함량이 49-52% 로 나타났으며, 황산염 증가에 따라 2-3% 이상의 수소발생이 증가하였다. 이는 수소를 생성하기 위한 수소화효소의 활성화에 의한 것으로 사료되며, 과거 니켈, 철, 셀레늄의 함유가 풍부한 수소화효소의 생산에 황산염이 기여 작용이 보고된바 있다⁽¹⁴⁾. 황산염이 함유된 폐수에서는 황산염 환원균에 의한 황산염 환원 작용이 보고되며⁽¹⁵⁾, 황산염 환원균은 성장 시 전자수용체로 수소를 이용하며, 수소발효에서 황산염 환원균의 분포는 결과적으로 수소생산을 억제한다⁽¹⁶⁾. 본 연구에서는 황산염 함유에도 불구하고 수소 함량이 큰 차이가 나타나지 않았다. 잔존 황산염 분석결과

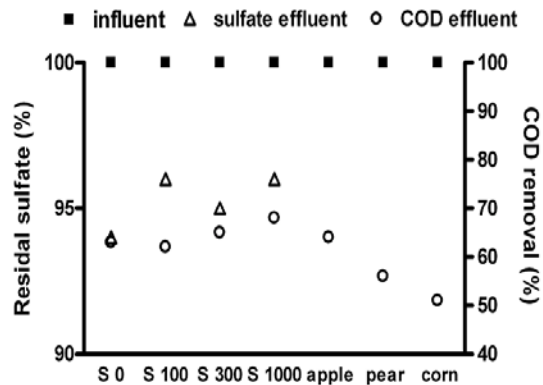


Fig. 3. Removal of COD and residual sulfate fraction from each organic wastewater.

생성된 유기산은 대부분 butyric acid, acetic acid, propionic acid였으며 사과, 배 및 옥수수의 경우 valeric acid가 검출되었다. 높은 COD 함량 (90.3-133.2 g/L)인 부패 과일 폐수에서 낮은 COD 함량 (10.2 g/L)인 황산염함유 폐수로 변화함에 따라 가장 크게 변화한 것은 butyrate의 농도로 5,879 mg/L에서 2,062 mg/L로 감소하였다.

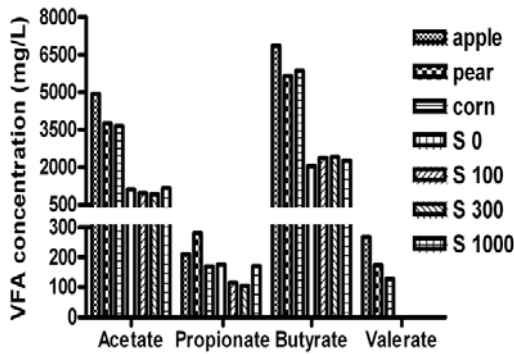
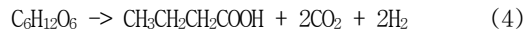


Fig. 4. Organic acid concentrations at various wastewater.

화학양론식에 의하면 1 mol의 hexose가 분해될 때 다음의 식 (3), (4)와 같이 4 mol의 수소와 2 mol의 acetate가 함께 생성되거나 2 mol의 수소와 1 mol의 butyrate가 함께 생성되어 acetate생성이 butyrate의 생성보다 수소 생성에 유리하다고 사료된다.



그러나 B/A (butyrate/acetate)비가 낮아졌을 때 분해된 탄수화물 대비 수소 수율은 저하되고 수소를 발생하지 않는 산생성균 혹은 아세트산 생성균의 양이 증가함이 보고되었다⁽¹⁹⁾. 본 연구 결과 B/A비는 1.6-1.9 (부패 사과 폐수, 황산염 함유 폐수)로 모든 반응조에서 나타났으며, 수소 생성 시 식 (4)에 반응이 주로 발생되었음을 확인하였다. 따라서 발효산물 중 butyric acid의 양에 따라 수소 발생의 증감이 결정되며, 모든 반응조내에 산생성균은 수소 생성 우점 현상이 판단된다.

3.3. 다양한 유입기질에서 수소발효

본 연구에서 적용된 여러 유기 물질들에서 발생된 결과를 Gompertz equation에 적용하여 산출한 값과 선행연구에 보고된 산출 값을 표 3에서 비교하였다. 본 연구에서 사용된 부패과일인 사과는 25 °C에서 부패가 진행 중인 과일을 과쇄 후 혐기 반응에 적용한 결과이며 머무름 값과 누적수소발생 최대량은 8 h와 547.1 mL로 각각 나타났다. 전분성분으로 구성된 옥수수와 감자의 비교 경우 본 연구에서 옥수수의 머무름 값이 10

배정도 빠르게 나타나 반응속도에 차이를 보여준다. 그러나 부패된 옥수수의 수소 발생은 394.5 mL로 발효 적응 속도에 비해 감자보다 수소 생성이 낮게 나타났다 (580.0 mL). 이는 전분 성분의 여러 물질 중에 감자에 함유된 탄수화물의 비율이 높아 최종산물에 영향을 준 것으로 보고된다⁽²⁰⁾.

Table 3. Comparison of the hydrogen obtained in this study to those cited in the literature

Substrate	λ (h)	Rmax (mL/h)	Hmax (mL)	Reference
Apple	8	14.0	547.1	This Study
Apple	31	10.0	280.0	(20)
Corn powder	9	13.1	394.5	This Study
Potato	90	21.0	580.0	(20)
Glucose	8	7.1	123.1	This Study
Glucose	9	8.4	112.7	(21)

Glucose가 풍부한 성상이 유사한 산업폐수를 비교해본결과 머무름 시간은 8-9 h로 반응하였고, 최대수소발생과 누적최대수소 발생량도 7.1과 8.4 mL/h 그리고 123.1과 112.7 mL로 각각 비슷하게 나타났다. 혐기 발효는 온도, pH 및 유입기질의 성상에 따라 머무름 시간과 수소발생량 등 반응에 영향을 준다고 보고된다⁽²²⁾. 본 연구 결과 같은 성상의 과일과 전분성분의 유입기질에 따른 반응속도와 누적 수소 발생의 차이는 부패가 진행된 기질을 발효 반응조에 투입하여 반응속도가 빠르게 진행된 것으로 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는 다양한 유기 폐자원 중 식품 폐수 및 황산염 함유 폐수의 처리와 동시에 바이오 수소 에너지 회수에 효과적으로 활용하고자 혐기 소화 회분형태 공정을 수행하였다. 부패된 사과와 배의 경우, 수소 생산량이 높게 나타났으며, Gompertz equation을 이용하여 계산된 수소 생산 가능량은 547.1 mL로 발생되었다. 모든 연구 결과, 최종 pH 범위는 5.5-6.0으로 수소 우점 조건을 유지하였으며 혐기 반응의 저해 요인으로 작용하는 황산염 함유 폐수 경우 황산염 농도와 상관없이 119.2-129.3 mL 수소 생산이 가능하여 유기 폐자원에서 수소 생산 가능성이 사료된다. 이상의 연구 결과, 여러 유기 폐수의 특성을 활용한다면 혐기소화에 의한 바이오 에너지 회수가 가능하며, 여러 변수의 최적 조건의 연구를 통해 고효율의 바이오 에너지를 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

후기

본 연구는 과학기술국제화사업의 글로벌연구실사업 (사업번호 NP2008-019), 21C 프론티어 사업 (사업번호 3-4-3), BK-21 (핵C6B1608) 연구사업 기술 개발비 지원으로 수행되었습니다.

References

- [1] Kim, C.-G., Kang, S.-H., 2007, "Effect of Temperature on Production of Hydrogen in Anaerobic Fermentation", *Journal of the Korean Society of Water and Wastewater*, Vol. 21, No. 4, pp. 467-475.
- [2] Dincer, I., 2002, "Technical environmental and exergetic aspects of hydrogen energy systems", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 27 No. 3, pp. 265-285.
- [3] J. Mata-Alvarez, S. Mace, P. Llabres, 2000, "Anaerobic digestion of organic solid wastes: an overview of research achievements and perspectives", *Bioresource Technology*, Vol. 74, No. 3, pp. 3-16.
- [4] Parawira W., Murto M., Zvauya R., Mattiasson B., 2004, "Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves", *Renewable, Energy*, Vol. 29 No.11 pp. 1811-1823.
- [5] Jewell, W. J., R. J. Cummings, B. K. Richards, 1993, "Methane fermentation of energy crops: maximum conversion kinetics and in situ biogas purification", *Biomass & Bioenergy*, Vol 5, pp. 261-278.
- [6] Bouallagui H., Y. Touhami, R. Ben Cheikh, M. Hamdi, 2005, "Bioreactors performance used in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes : Review", *Process Biochem.*, Vol. 40, pp. 989-995.
- [7] Chen, C. C., Lin, C. Y., Chang, J. S., 2001, "Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate", *Appl. Microbiol. Biotech.*, Vol. 57, pp. 56-64.
- [8] Jalal, S., Farideh, G., Parisa, M., 2005, "The effect of influent COD and upward flow velocity on the behaviour of sulphate-reducing bacteria", *Process Biochem.*, Vol. 40, pp. 2305-2310.
- [9] Esposito, G., Weijma, J., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., 2003, "Effect of the sludge retention time on H₂ utilization in a sulphate reducing gas lift reactor", *Process Biochem.*, Vol. 39, pp. 491-498.
- [10] Hwang, J.H., Cha, G.C., Jeong, T.Y., Kim, D.J., Bhatnagar, A., Min, B., Song, H., Choi, J., Lee, J.H., Jeong, D.W., Chung, H.K., Park, Y.T., Choi, J.Y., Abou-Shanab, R.A.I., Oh, S.E., Jeon, B.H., 2009, "Effect of COD/SO₄²⁻ ratio and Fe(II) under the variable hydraulic retention time (HRT) on fermentative hydrogen production", *Water Research*, Vol. 43, No. 14, pp. 3525-3533.
- [11] Lay, J.J., Lee, Y.J., Noike, T., 1999, "Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste", *Water Research*, Vol. 33, No. 11, pp. 2579-2586.
- [12] Mah, R.A., Xun, L.Y., Boone, D.R., Ahring, B., Smith, P.H., Wilkie, A., 1990, "Methanogenesis from propionate in sludge and enrichment systems. Microbiology and biochemistry of strict anaerobes involved in interspecies transfer", *FEM Symposium No. 54*, pp. 99-111.
- [13] Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L., Hussy, I., 2002, "Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 27, pp. 1339-1347.
- [14] Aubert, C., Brugna, M., Dolla, A., Bruschi, M., Giudici-Ortoni, M.-T., 2000, "A sequential electron transfer from hydrogenases to cytochromes in sulfate-reducing bacteria", *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1476, pp. 85-92.
- [15] Mizuno, O., Li, YY, Noike, T., 1998, "The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion", *Water Res.*, Vol. 32 No. 5, pp. 1626-1634.
- [16] Aubert, C., Brugna, M., Dolla, A., Bruschi, M., Giudici-Ortoni, M.-T., 2000, "A sequential electron transfer from hydrogenases to cytochromes in sulfate-reducing bacteria", *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1476, pp. 85-92.
- [17] Lin, C. Y., Chen, H. P., 2006, "Sulfate effect on fermentative hydrogen production using anaerobic mixed microflora", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 31, No. 7, pp. 953-960.
- [18] Van Ginkel, S., Sung, S., Lay, J. J., 2001, "Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration", *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 35, pp. 4726-4730.
- [19] Han, S.K., Shin, H.S., 2004, "Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 29, pp. 569-577.
- [20] Van Ginkel, S.W., Oh, S.E., Logan, B.E., 2005, "Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 30, pp. 1535-1542.
- [21] Baghchehsaraee, B., Nakhla, G., Karamanev, D., Margaritis, A., Reid, G., 2008, "The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures", *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 33, pp. 4064-4073.
- [22] Mu, Y., Wang, G., Yu, H.Q., 2006, "Response surface methodological analysis

on biohydrogen production by enriched anaerobic cultures", *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 38, pp. 905-913.