

회분식 반응기에서 음식물쓰레기를 이용한 바이오에탄올 생산 Bioethanol production using batch reactor from foodwastes

이준철 · 김재형 · 박홍선 · 박대원[†]
JunCheol Lee · JaeHyung Kim · HongSun Park · DaeWon Pak[†]

서울산업대학교 에너지환경대학원
Graduate School of Energy and Environment, Seoul National University of Technology

(2009년 4월 7일 접수, 2010년 6월 4일 채택)

ABSTRACT : In the present study, bioethanol was produced using batch style reactor from food wastes which has organic characteristics. Pretreatment was required to reduce its particle size and produce fermentable sugar. Two different enzymes such as carbohydrase and glucoamylase were tested for saccharification of food waste. The efficiency of carbohydrase saccharification (0.63 g/g-TS) has shown higher than glucoamylase saccharification(0.42 g/g-TS). *Saccharomyces cerevisiae* produced bioethanol via separate hydrolysis & fermentation (SHF) method and simultaneous saccharification fermentation (SSF) method. The production amount of bioethanol was 0.27 g/L · hr for SHF and 0.44 g/L · hr for SSF.

Key Words : Bioethanol, Simultaneous saccharification and fermentation (SSF), Separate hydrolysis and fermentation (SHF), *Saccharomyces cerevisiae*

요약 : 유기성 폐기물인 음식물쓰레기를 이용하여 유용한 에너지원인 바이오에탄올을 생산하고자 하였으며, 에탄올 생산 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하였다. 음식물쓰레기의 당화를 위하여 carbohydrase와 glucoamylase 효소를 이용한 결과 carbohydrase가 glucoamylase보다 당화효율이 우수하였으며, carbohydrase 이용시 건조 음식물쓰레기 기준 glucose 생산량 0.63 g/g-TS을 얻을 수 있었다. 에탄올 생산은 동시당화발효에서 0.44 g/L · hr, 분리당화발효가 0.27 g/L · hr이었다.

주제어 : 바이오에탄올, 동시당화, 분리당화, *Saccharomyces cerevisiae*

1. 서론

지금까지 인류의 생활을 영위하기 위해 사용되어온 에너지 자원은 주로 화석연료에 의존하고 있으며 이중 대부분의 화석 연료는 석탄과 석유이다. 그러나 이러한 화석연료는 매장량에 한계를 가지고 있으며 지구온난화 유발 등의 문제로 바이오 에탄올, 바이오부탄올 같은 바이오매스를 이용한 에너지 연구가 활발히 진행 중이다. 이 중 에탄올의 경우, 옥탄가가 111, 열량이 약 5,000Kcal/L로 최근 휘발유 기재인 MTBE 첨가 대신에 에탄올의 사용이 대체 가능한 것으로 알려져 있으며, 또한 차량 등의 연료 첨가제로 사용하는 바이오 연료로 바이오디젤과 함께 널리 상용화되고 있는 추세이다.

바이오에탄올은 다양한 원료에서 생물학적인 방법에 의해 전환되며, 원료는 일반적으로 슈크로스를 다량 포함하고 있는 사탕수수, 옥수수, 밀, 감자 등의 녹말작물 이용과 카사바, 벳집 등의 다양한 식물에서도 다당류를 이용하여 가수분해를 통해 단당류로 전환 후 에탄올을 생산 할 수 있

다.^{1~3)} 하지만 이와 같은 곡물원료 등을 이용할 경우 곡물가격 급등, 산림자원 파괴 등의 부작용을 가져올 수 있다. 타 연구는 대부분 글루코즈 또는 슈크로스를 탄소원으로 하여 연구를 진행하고 있으며 미국의 경우 옥수수, 브라질은 사탕수수를 재배하여 에탄올 생산 및 상업화를 추진하고 있다.^{4~7)} 하지만 우리나라와 같은 좁은 국토 면적을 가지는 나라에서 옥수수와 사탕수수를 대단위로 경작하면서 에탄올을 생산하기에는 한계를 가지고 있기 때문에, 버려지는 음식물쓰레기를 이용하여 에탄올을 생산하고자 하였다. 국내 음식물쓰레기를 이용한 에탄올 생산 연구 결과를 보면, 정⁸⁾ 등은 음식물쓰레기를 기질로 바로 이용하지 않고 음식물쓰레기의 당화액으로 에탄올을 생산하였으며, 한⁹⁾ 등 또한 당화액을 이용하여 동시당화발효공정에서 에탄올을 생산하였다.

우리나라에서 발생하는 음식물쓰레기는 2007년 기준 14,452 톤/일로 매년 증가하는 추세이다.¹⁰⁾ 음식물쓰레기의 재활용은 대부분 사료화, 퇴비화 등으로 재활용 되고 있으나,

[†]Corresponding author : E-mail : daewon@snut.ac.kr TEL : 02-970-6595 FAX : 970-8609

우리나라의 사료 사용 기피와 염분, 수요처 확보 등의 문제점을 안고 있다. 그러나 음식물쓰레기는 유기물질과 영양성분을 많이 함유하고 있어서 바이오매스로써 높은 이용가치가 있다. 이에 기존의 음식물쓰레기와 같은 유기성폐기물을 이용한 바이오에너지 생산은 메탄과 수소와 같은 가스 상태로의 연구가 많이 이루어지고 있으나, 본 연구에서는 수송과 저장에 비교적 용이한 액체연료인 에탄올을 생산하고자 하였다.

또한, 에탄올 발효 공정은 분리당화발효공정(separate hydrolysis and fermentation, SHF)과 동시당화발효공정(simultaneous saccharification and fermentation, SSF)이 있다. 분리당화발효공정은 당화공정과 발효공정을 각각 다른 반응기에서 수행하는 것으로 당화와 발효과정에 반응하는 효소와 에탄올발효미생물의 최적 활성 조건에서 반응시킬 수 있다는 장점이 있다. 동시당화발효는 당화와 발효공정이 한 개의 반응기에서 이루어지는 공정으로, 장점은 (1)셀룰라아제의 활성도가 저해되지 않는다 (2)효소의 사용량이 적다 (3)최종산물로의 전환 효율이 높다 (4)생산된 글루코즈가 바로 에탄올로 전환되기 때문에 이에 따른 멸균의 필요도가 낮다 (5)반응시간이 짧다 (6)한 개의 반응기를 사용하기 때문에 반응기의 용량이 작아진 다라는 장점들이 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ 본 연구에서도 음식물쓰레기로부터 바이오 에탄올을 생산하고자 회분식으로 동시당화발효와 분리당화발효공정을 비교실험 하였다.

따라서 본 연구에서는, 먼저 효소 종류에 따른 음식물쓰레기의 당화율을 비교하였으며, 에탄올 생산균주인 *Saccharomyces cerevisiae*의 염분 농도에 대한 영향을 살펴보고, 에탄올 생산 평가는 분리당화발효공정과 동시당화발효공정을 회분식 실험으로 비교하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 음식물쓰레기와 효소

Table 1. Characteristics of food waste (unit : mg/L)

pH	TS	VS	TCODcr	SCODcr
4.3 ~4.8	163,000 ~190,000	130,000 ~138,000	150,000 ~180,000	62,000 ~98,000

바이오에탄올 생산의 기질로 사용된, 음식물쓰레기는 학교 내 구내식당으로부터 채취하여 가정용 믹서기로 파쇄 후 사용하였다. 이때 사용된 음식물쓰레기의 특성은 다음 Table 1과 같다.

음식물쓰레기의 가수분해 효소는 Viscozyme L과 Sprizyme Plus FG를 사용하였으며, 한국 Novozyme사로부터 구입하였다. Viscozyme L는 *Aspergillus aculeatus* 종으로부터의 다중복합효소로서 arabanase, cellulase, β -glucanase 등을 포함하는 carbohydrase의 한 종류로, 최적 활성 조건은 pH 3.3 - 5.5, 22 - 55°C이다. Spirizyme Plus FG는 *Aspergillus niger* 종으로 부터의 1,4-alpha-D-glucan-glucohydrolase의 glucoamylase 이다. 이 효소는 1,4 및 1,6-alpha 결합을 가수분해하고, 발효를 위해 분쇄된 곡류의 당화에 사용되는 효소이며, 최적 활성 조건은 pH 4.2 - 4.6, 60 - 63°C이다.⁸⁾(Table 2)

2.2 음식물쓰레기 가수분해 실험

carbohydrase를 이용한 음식물쓰레기 가수분해 실험은 음식물쓰레기 200 g, 완충용액 (pH 5.0) 100 mL, 온도 30°C에서 실험하였으며, 이때 carbohydrase 주입량은 건조 음식물쓰레기 중량(g) 당 0.8, 4.0, 8.0, 40.0, 80.0 FBGU (Fungal beta glucanase unit)이었으며, 회분형태에서 12 시간 동안 진행하였다. Glucoamylase는 음식물쓰레기 200 g, 완충용액 (pH 4.5) 100 mL, 온도 60°C에서 실험하였으며, 효소 주입량은 건조음식물쓰레기 중량(g) 당 3.7, 18.3, 36.7, 183.3, 366.7 AGU(amylogucosidase unit)이었고, 이와 같은 효소들의 주입량은 부피비 기준으로 0.1%, 0.5%, 1.0%, 5.0%, 10.0%에 해당한다.

Table 2. Characteristics of each enzyme

name	Origin	type of enzyme	target	state	color	Activity
Viscozyme L	<i>Aspergillus niger</i>	carbohydrase	arabinose, cellulose, xylan, beta-glucan and hemicellulose	liquid	clear brown	80 FBG ¹ /g
Spirizyme Plus FG	<i>Asperillus aculeatus</i>	glucoamylase	starch, glycogen	liquid	brown	400 AG ² /g

1 and 2 indication the unit of glucoamylase and complex carbohydrase activity that the amount of enzyme liberates 1 μ mol of glucose for 1 min from maltose and β -glucan, respectively.

Table 3. Medium for fermentation of *S.cerevisiae*

Glucose	10 g
Yeast extract	0.5 g
Peptone	0.5 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.1 g
Distilled water	0.1 L

2.3. 에탄올 생산 균주

본 연구에 사용된 에탄올 생산 균주는 *Saccharomyces cerevisiae*(KCCM No. 11293)를 사용하였으며, 한국미생물 보존센터로부터 분양 받았다.

*S. cerevisiae*는 YM 배지에서 전배양하였으며, 진탕배양 기에서 30℃, 150 rpm으로 이를 배양 후 사용하였다. 효소를 이용하여 당화된 음식물쓰레기를 기질로 실험하기에 앞서, Table 3과 같은 발효 배지에 접종하여 *S. cerevisiae*의 에탄올 생산 수율과 염분농도에 대한 영향을 알아보려고 하였으며, 실험 조건은 혐기상태에서 pH 5.0, 30℃, 150 rpm에서 회분형태로 24시간 진행하였다.

2.4. 음식물쓰레기 이용 에탄올 생산 실험

분리당화발효 에탄올 생산 실험은 음식물쓰레기를 가정용 믹서기로 파쇄후 고압증기멸균기에서 121℃, 30분간 멸균 후 사용하였으며, 당화를 위한 효소는 carbohydrase를 사용하였고, 에탄올 생산을 위한 균주는 *S. cerevisiae*를 이용하였다. 멸균된 음식물쓰레기 1,500 g과 완충용액(pH 5.5) 1,170 mL, 효소 30 mL 혼합하여 당화 진행 후 약 17시간 후 *S. cerevisiae*를 300 mL 접종하였다. 이때 실험 조건은 36℃, 150 rpm, 회분형태로 48시간 진행하였으며, 동시당화 발효 실험은 효소와 *S. cerevisiae*를 동시에 주입하여 24시간 동안 실험하였으며, 기타 다른 조건은 분리당화발효 에탄올 생산 실험과 동일하다.

2.5. 분석방법

글루코즈 분석은 샘플을 원심분리 후 0.45 μl 시린지 필터를 이용하여 거른 다음, ELSD가 장착된 HPLC(Acme 9000, 영린기기, Korea)를 이용하여 이동상 75% acetronitrile 용액을 1.5 mL/min 속도로 흘려주었으며, 검출기의 evaporator와 nebulizer는 질소로 분사하였고, 오븐 온도는 35℃ 이었다.

에탄올 분석은 GC(GC 6000series, 영린기기, Korea) FID로 분석하였으며, 분석조건은 Table 4와 같다. 균체량 측정을 위한 OD(optical density)분석은 660 nm에서

Table 4. Gas chromatographic conditions for ethanol

Detector	FID (Flame ionization Detector)
Column	Innowax (Agilent, 30 m×0.25 mm,ID 0.25 μm)
Carrier gas	Helium (1.0 mL/min)
Oven temp.	45℃ (10 min)
Detector temp.	240℃
Injector temp.	220℃
Injection volume	1 μl

UV/VIS spectrophotometer(Optizen 2120, Mezasys, Korea)를 이용하여 분석하였으며, TS, VS, CODcr 등은 Standard Method에 준하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 음식물쓰레기 가수분해 실험

Carbohydrase와 glucoamylase를 음식물쓰레기 가수분해를 위한 효소로 선택하여 실험을 진행하였으며, 그 결과를 Fig. 1, 2, 3에 나타내었다. Fig. 1은 carbohydrase의 주입 농도에 따른 결과로 음식물쓰레기 건조 중량 (g)기준으로 40, 80 FBGU일 때, 글루코즈가 가장 빠르게 생산되었지만 최종 글루코즈 생산량은 12시간 경과시 8 FBGU가 18.316 g, 40 FBGU가 18.054 g으로 큰 차이를 보이지 않았다. 효소 주입량이 많을수록 비용이 추가가 되므로 8 FBGU가 경제적인 것으로 사료되며, Fig. 2와 3은 carbohydrase와 glucoamylase의 글루코즈 생산 결과를 건조음식물 중량(g) 기준으로 나타내었다. 결과와 같이 glucoamylase와 비교하여 carbohydrase의 글루코즈 생산량이 더 많음을 알 수 있는데, 이는 음식물쓰레기 성상에 기인한 것으로 carbohydrase

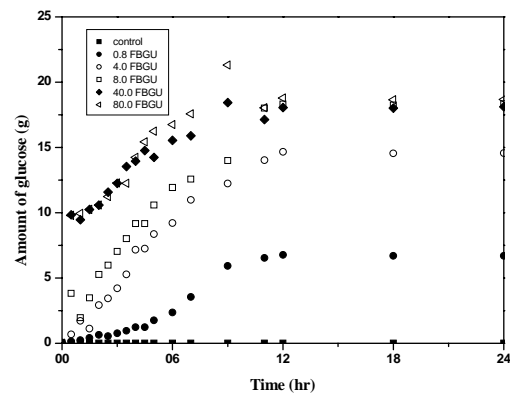


Fig. 1. Amount of glucose with various carbohydrase concentrations.

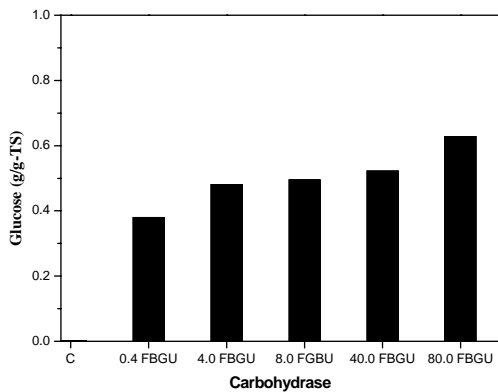


Fig. 2. Amount of glucose from unit dry food waste using various carbohydrase.

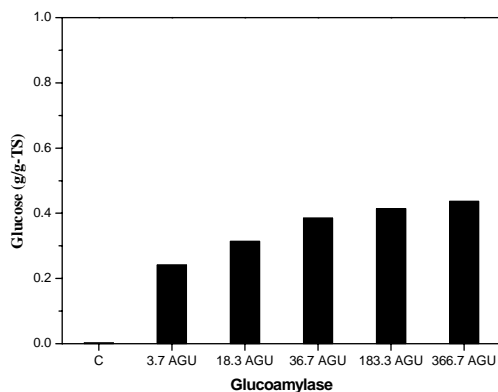


Fig. 3. Amount of glucose from unit dry food waste using various glucoamylase concentration.

의 경우 음식물쓰레기 대부분의 탄수화물을 글루코스로 당화시킨 것으로 사료되며, glucoamylase의 경우 전분 등의 α -1, 4- 및 α -1, 6-클리코시드 결합을 가수분해하여 당을 생성하는데, 본 연구에 사용된 음식물쓰레기에 전분질계가 부족하여 글루코스량이 적게 생산된 것으로 판단된다.

3.2. *S. cerevisiae*의 염분농도에 대한 영향

본 연구에서 사용된 에탄올 생산 균주는 *S. cerevisiae*를 사용하였다. 앞서 기술한 바와 같이 본 연구는 효소를 이용하여 음식물쓰레기를 당화시킨 후, 에탄올을 생산하여야 하지만, 먼저 미생물의 에탄올 생산 수율과 염분농도에 대한 영향을 알아보려고 발효 배지(Table 3)를 만들어 *S. cerevisiae*를 접종하여 실험하였다. *S. cerevisiae*를 이용한 에탄올 생산시 미생물의 물질대사 과정을 살펴보면, 글루코스로부터 에탄올 생산 수율이 0.511, CO₂가 0.489 생산이 가능한 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾ Fig. 4와 같이 *S. cerevisiae*의 에탄올 생산 수율은 0.47 g/g-glucose/day로 글루코스로부터 생산할 수 있는 에탄올 이론값에 상당히 근접함을 알 수 있었

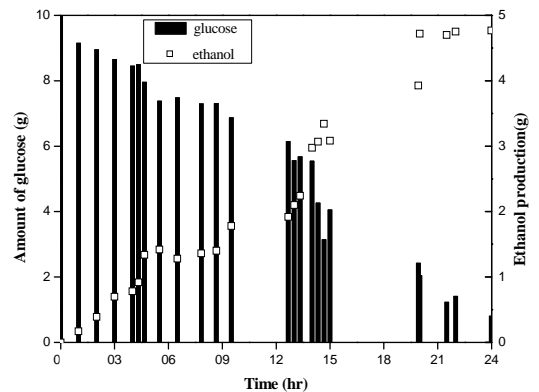


Fig. 4. Ethanol production in the basis of glucose consumption using *S. cerevisiae*.

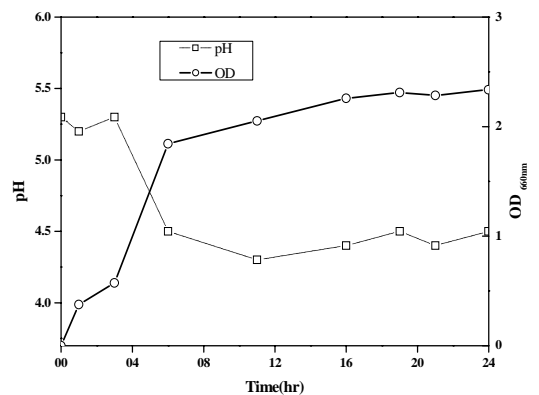


Fig. 5. pH and OD values during ethanol production using *S. cerevisiae*.

다. 글루코스로부터 에탄올 생산시, 글루코스는 일정한 경향으로 서서히 감소하였으며, 에탄올의 경우 실험시작 6시간 동안은 조금씩 증가하다가 12시간을 기점으로 급격히 생산량이 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같은 실험은 글루코스를 바탕으로 얻은 결과로, *S. cerevisiae*의 기질로 사용될 음식물쓰레기의 경우, 효소에 의한 당화가 먼저 선행되고 그 다음 발효과정을 통하여 에탄올이 생산되기 때문에 유도기(lag phase)는 더 길어질 것으로 사료된다.

*S. cerevisiae*를 이용하여 글루코스로부터 에탄올 생산시 OD값 및 pH 변화를 Fig. 5에 나타내었다. OD값은 세포의 현탁액에 야기되는 빛의 분산도를 측정하여 생체량의 상대적 증가를 관찰할 수 있는데, 본 실험에서는 약 8시간 경과 후 OD_{660nm}값이 2.0까지 증가하였으며 그 이후에는 2.3으로 큰 변화가 없는 것으로 보아, 이때 대수 성장기(exponential-growth phase)를 지나 안정기에 다다른 것으로 판단된다. pH는 유기산이 생산되어 다소 떨어지는 경향이 있었으나 5시간이 경과하면서 pH 4.5에서 거의 일정함을 유지하였다.

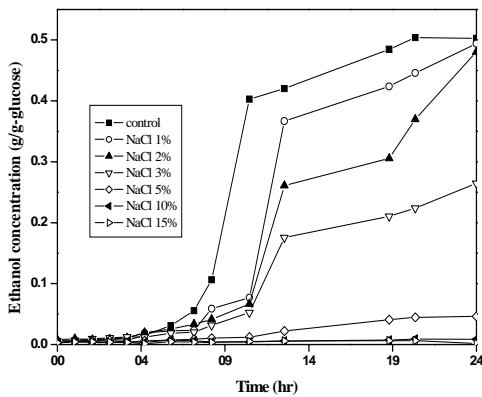


Fig. 6. Inhibition of NaCl solution having different concentrations in ethanol production using *S.cerevisiae*.

다음으로 상기실험과 동일한 조건하에서 *S. cerevisiae* 발효 배지에 NaCl을 주입하여 염분농도에 따른 *S. cerevisiae*의 에탄올 생산 영향 평가 실험을 하였다. 우리나라 음식물쓰레기의 경우 염분농도 함량이 계절별, 지역별로 다르나 평균 약 1.9~2.2%로, 염분농도가 *S. cerevisiae*의 에탄올 생산에 미치는 영향 평가는 필수적이라 할 수 있다. Fig. 6과 같이 NaCl의 농도를 각각 1%, 2%, 3%, 5%, 10%, 15%가 되도록 배지에 주입하여 대조군과 함께 비교 실험하였다. NaCl의 농도가 높아질수록 *S. cerevisiae*의 에탄올 생산은 거의 이루어지지 않았으며, 대조군과 1%, 2%에서 에탄올 생산량이 0.502, 0.494, 0.481 g / g-glucose로 거의 유사한 결과를 보였다. 이는 우리나라 음식물쓰레기의 평균 염분농도를 고려하였을 때, *S. cerevisiae*는 염분농도에 거의 영향을 받지 않음을 의미하는 결과라 할 수 있겠다.

3.3. 에탄올 생산 실험

에탄올 생산 실험은 분리당화발효와 동시당화발효를 비교 하였으며, 그 결과는 각각 Fig. 7과 8에 나타내었다. 분리당화발효에서의 에탄올 생산을 살펴보면, 음식물쓰레기의 당화는 17시간 이후에 글루코즈 농도가 약 73,000 mg/L로 이 시점이 음식물쓰레기가 더 이상 글루코즈로 전환될 탄수화물이 존재하지 않거나, 또는 효소의 최종산물생산에 따른 저해라고 사료되어 *S. cerevisiae*를 접종하였다. 접종 후 약 16시간이 지나면서 에탄올 생산이 이루어졌으며, 약 31시간 부터는 에탄올 생산의 증가가 이루어지지 않았고, 글루코즈 또한 *S. cerevisiae*에 의해 거의 소모되었다. 최종 에탄올 농도는 약 39,000 mg/L이었으며, 이는 건조 음식물쓰레기 기준으로 0.43 g/g-TS에 해당한다. *S. cerevisiae*의 발효 배지에서의 에탄올 생산 실험보다 유도기는 약 10시간 정도 더 길어졌는데, 이는 음식물쓰레기가 가지고 있는 염분농도

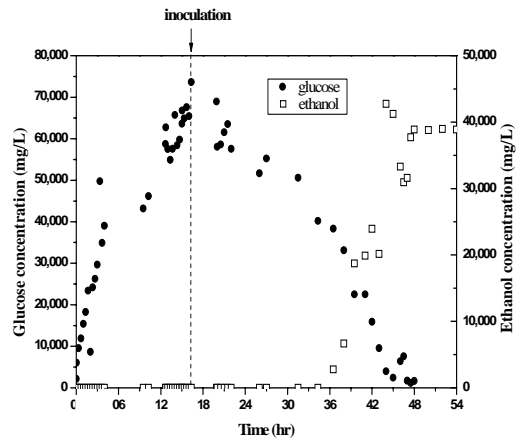


Fig. 7. Ethanol production using SHF.

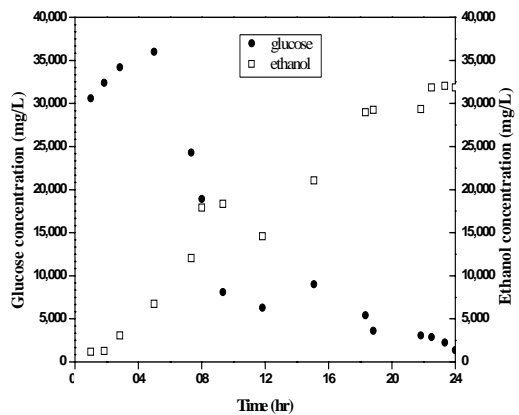


Fig. 8. Ethanol production using SSF.

와 글루코스를 포함한 당류의 높은 부하량 등에 기인된 것으로 사료된다.

동시당화발효에서의 에탄올 생산은 분리당화발효와 달리 유도기가 매우 짧았으며, 약 24시간 동안 꾸준히 증가함을 나타냈다. 이에 반해 글루코즈는 약 6시간부터 급격히 소비됨을 알 수 있었다. 동시당화발효에서의 최종 에탄올 농도는 약 32,000 mg/L로 건조 음식물쓰레기 기준으로 0.35 g/g-TS이었다.

동시당화발효와 분리당화발효에서의 에탄올 생산 비교시 분리당화발효가 최종적으로 에탄올 생산은 약 22% 더 많은 양이 생산되었으나, 반응공정의 시간을 고려하면 에탄올 생산 속도는 동시당화발효가 0.44 g/L · hr, 분리당화발효가 0.27 g/L · hr로 동시당화발효가 분리당화발효보다 생산 속도는 더 높았다. 동시당화발효는 분리당화발효와 비교시 한 개의 반응기에서 당화와 발효공정이 이루어지므로, 각각의 조건을 맞춰주는 어려움이 있지만 저비용이면서 에탄올 생산 효율이 더 우수하다고 보고되고 있으며^{16,17)}, 본 연구에서

도 동시당화발효에서의 에탄올 생산율이 더 높은 것으로 나타났다.

또한 본 연구에서 사용된 효소 당화 효율을 높이기 위해서는 한 종이 아닌 다종의 효소를 같이 사용하여 음식물쓰레기 성상에 따른 당화 비교 분석이 필요할 것이고, 에탄올 생산 실험이 회분식에서의 연구 결과이므로, 앞으로 연속 공정에서의 연구가 이루어져야 할 것으로 사료되며, 생산된 에탄올을 분리하기 위한 추가 연구가 선행되어야 할 것이다.

4. 결론

본 연구에서는 버려지는 음식물쓰레기를 에너지원으로 사용하고 음식물쓰레기를 이용한 에탄올 생산 연구를 통하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

음식물쓰레기의 당화를 위한 효소의 이용은, carbohydrases가 음식물쓰레기 건조 중량 (g)기준 8 FBGU의 사용이 경제적으로 가장 높은 당화율을 보였으며, 에탄올 생산 균주인 *S. cerevisiae*는 염분농도 2%이하에서는 에탄올 생산에 큰 영향을 받지 않았다.

*S. cerevisiae*를 이용한 에탄올 생산은 동시당화발효공정이 0.44 g/L · hr, 분리당화발효가 0.27 g/L · hr로 동시당화발효공정에서의 에탄올 생산 효율이 더 높았으며, 최종 에탄올 생산량은 동시당화발효공정이 0.35 g/g-TS, 분리당화발효공정이 0.43 g/g-TS이었다.

KSEE

사 사

본 연구는 2007년도 서울시 산학연 협력사업 기술기반 구축(일반)사업(GR070049)의 지원을 받아 시행하였으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Cheng, K. K., Cai, B. Y., Zhang, J. A., Ling, H. Z., Zhou, Y. J., Ge, J. P., and Xu, J. M., "Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process," *Biochem. Eng. J.*, **38**, 105-109(2008).
2. Gáspár, M., Kálmán, G., and Réczey, K., "Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production," *Proc. Biochem.*, **42**, 1135-1139(2007).
3. Karimi, K., Emtiazi, G., and Taherzadeh, M. J., "Production of ethanol and mycelial biomass from rice straw hemicellulose hydrolysate by *Mucor indicus*," *Proc. Biochem.*, **41**, 653-658(2006).
4. 김영숙, Gorman, T., "미국 에너지 시장에 공급되는 바이오에너지에 관한 연구(III)," *목재공학*, **35**, 1-10(2007).
5. 외교통상부, 바이오에너지 시장 진출가이드(2007).
6. 대외경제정책연구원, 브라질 바이오에탄올 산업의 발전 현황과 전망(2007).
7. 에너지경제연구원, 수송용 바이오에탄올 도입의 경제성(2007).
8. 정승미, 진길선, 김용진, 김성준, 이동훈, "음식물류 폐기물로부터 바이오 에탄올의 생산," *한국폐기물학회지*, **26**, 419-427(2009).
9. 한효정, 리홍선, 김성준, "음식물 쓰레기 동시당화 발효에 의한 에탄올 생산," *한국생물공학회지*, **21**, 474-478(2006).
10. 환경부, 전국폐기물발생 및 처리현황(2009).
11. Marques, S., Alves, L., Roseiro, J. C., and Girio, F. M., "Conversion of recycled paper sludge to ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipitis*," *Biomass Bioenerg.*, **32**, 400-406 (2008).
12. Sun, Y., and Cheng, J., "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review," *Biores. Technol.*, **83**, 1-11 (2002).
13. Cantarella, M., Cantarella, L., Gallifuoco, A., Spera, A., and Alfani, F., "Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF," *Proc. Biochem.*, **39**, 1533-1542 (2004).
14. Sánchez, Ó. J., and Cardona, C. A., "Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks," *Biores. Technol.*, **99**, 5270-5295(2008).
15. Ingledew, W. M., Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae* : a yeast primer. In the alcohol textbook, Jacques, K. A., Lyons, T. P., and Kelsall D. R.(eds.), Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom, 49-87(1999).
16. Wyman, C. E., Spindler, D. D., and Grohmann, K., "Simultaneous saccharification and fermentation of several lignocellulosic feedstocks to fuel ethanol," *Biomass Bioenerg.*, **3**, 301-307 (1992).
17. Öhgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J., and Zacchi, G., "A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover," *Proc. Biochem.*, **42**, 834-839(2007).