

팝핑전처리한 스위치그라스로부터 바이오에탄올 생산*1

김 현 주*2,3 · 배 현 중*2,3,4†

Bioethanol Production from Popping Pretreated Switchgrass*1

Hyun Joo Kim*2,3 · Hyeun-Jong Bae*2,3,4†

요 약

본 연구에서는 스위치그라스를 바이오에탄올 생산용 바이오매스로 선정하여 팝핑 전처리, 효소가수분해 및 발효 과정을 거쳐 바이오 에탄올의 생산 가능성을 조사하였다. 팝핑 전처리 된 스위치그라스에 효소를 처리하여 가수분해 한 결과 95% 이상의 효소 가수분해 효율을 보였고, 가수분해 후 생성된 당화액을 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)로 발효하였을 때 생산된 바이오에탄올의 수율은 89.6%에 이르렀다.

팝핑 전처리 후 바이오매스의 글루코스와 자일로스의 함량은 각각 40.8%와 20.3%로 나타나 전처리 후 글루코스 함량에는 큰 변화가 없었으나, 자일로스의 함량이 4.7% 감소하는 것으로 보아 헤미셀룰로스 영역이 전처리 과정에서 제거된 것으로 보인다. 또한, 주사형 전자현미경 결과에 의하면 전처리 전에는 스위치그라스 표면이 비교적 매끈하고, 입방체 모양을 이루고 있었으나, 전처리 후에는 섬유가 각각 분리되어 있었으며 표면에 많은 미세공극이 생겨난 것을 관찰할 수 있었다. 그러므로 팝핑 전처리는 스위치그라스 시료의 셀룰로스 노출면적을 넓혀주는 역할을 하여 셀룰레이즈 효소의 접근성을 높여 효소 당화 효율을 증대시키는 것으로 사료된다.

ABSTRACT

Switchgrass was selected as a promising biomass resource for bioethanol production through popping pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation using commercial cellulase

*1 접수 2012년 1월 11일, 채택 2012년 1월 30일

*2 전남대학교 바이오에너지 연구소, Bio-Energy Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

*3 전남대학교 임산공학과, Department of Forest Products and Technology (BK21 Program), Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

*4 전남대학교 바이오에너지공학과, Department of Bioenergy Science and Technology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

† 교신저자(corresponding author) : 배현중(e-mail: baehj@chonnam.ac.kr)

and xylanase, and fermenting yeast. The reducing sugar yields of popping pretreated switchgrass after enzymatic saccharification were above 95% and the glucose in the saccharification solution to ethanol conversion rate after fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* was reached to 89.6%. Chemical compositions after popping pretreatment developed in our laboratory were 40.8% glucose and 20.3% xylose, with much of glucose remaining and only xylose decreased to 4.75%. This means that the hemicelluloses area broke off during popping pretreatment. FE-SEM examination of substrate particles after popping pretreatment was showed fiber separation, and tearing and presence of numerous micro pores. These changes help explain, enhanced enzymatic penetration resulting in improved hydrolysis of switchgrass particles after popping pretreatment.

Keywords: cellulose, hemicellulose, switchgrass, popping pretreatment, bioethanol

1. 서 론

바이오매스(biomass)로부터 얻은 바이오 연료(bio-fuel)는 화석연료와는 달리 재생 가능한 에너지이며 탄소 배출도 증립을 띄는 친환경 에너지이다(Hill *et al.*, 2009). 바이오 연료 생산 증가에 따른 바이오매스의 수요 증가가 예상됨에 따라 지속 가능한 공급을 위하여 스위치그라스, 억새와 같은 다년생 초본류가 대상에너지 작물로서 미국, 유럽 등 국제적으로 연구되어 지고 있다(Dien *et al.*, 2006). 다년생 에너지 작물은 매년 씨를 뿌리지 않아도 되며, 일년생 작물에 비해 낮은 에너지가 투입되고 다른 작물이 살지 못하는 토지에서 더 잘 자란다. 그리고 토양 침식을 줄여주고 탄소 축적을 증가시키며 야생 생물의 서식지를 제공해 주는 등 환경적인 이익을 가져다준다. 또한 최근 미국 연구팀의 연구에 의하면 스위치그라스를 통해서 생산되는 에탄올이 같은 양의 석유와 비교해서 94% 정도의 탄소배출량을 줄일 수 있다고 보고된 바 있다(Keshwani and Cheng, 2009; Schmer *et al.*, 2008).

스위치그라스는 미국 남동부에서 자생하는 다년생 식물로서 생산성이 높고, 척박한 토양에서도 잘 자라며, 물과 영양분의 요구도가 적다. 이에 미국 에너지부에서는 모델 에너지 작물로 스위치그라스를 선정하였다(McLaughlin and Adams, 2005). 또한 스위치그라스를 재배하여 바이오에탄올을 생산하는 경우 기

존 화석연료의 투입량에 비하여 540% 더 많은 재생 에너지가 생산되고, 연간 1헥타르의 평원에서 평균 5.2~11.1톤의 스위치그라스가 생산된다고 보고되고 있다(Schmer *et al.*, 2008). 그리고 에탄올 생산 단가를 기존의 작물에 비하여 줄일 수 있는 방법의 하나로 스위치그라스에 유전공학 기술이 적용되었으며 이 기술을 활용하여 바이오매스 생산량을 2배 이상 증산할 수 있다고 보고하였다(Bouton, 2008). 또한 우리나라에서도 Park 등(2009)의 연구결과에 의하면, 제주도 와 완도에서 스위치그라스를 1헥타르 당 각각 30톤과 29톤을 재배하였다고 보고하였다.

스위치그라스와 같은 리그노셀룰로스계 바이오매스는 셀룰로스, 헤미셀룰로스 그리고 리그닌으로 구성되어 있다. 세포벽 내 수 천개의 포도당 사슬이 수소결합으로 이루어진 셀룰로스는 헤미셀룰로스와 함께 연결되어 있으며, 헤미셀룰로스는 세포벽 내에서 리그닌과 공유결합을 하고 있어 세포벽을 단단하게 한다(김영숙, 2009).

전처리 공정은 리그닌과 헤미셀룰로스를 깨뜨려서 셀룰로스에 대한 효소의 접근성을 용이하게 하여 효소가수분해 효율을 증대시킨다. 지금까지 수행된 전처리법으로는 증기 폭쇄법(이 등, 1994), 약산 가수분해법(김 등, 2011; Esteghlalian *et al.*, 1997), 초임계 처리법(서 등, 2008), 암모니아 처리법(신 등, 2009; Alizadeh *et al.*, 2005) 등이 있다. 전처리 기술에 따라 바이오매스의 셀룰로스 노출 정도가 결정되

고, 셀룰로스가 당으로 전환되는 효소당화에 영향을 미치게 되므로 효율적인 효소가수분해를 위해서는 효과적이고 경제적인 전처리법이 중요하다. 또한, 효소가수분해에 의해 생성된 당화액은 효모를 이용한 발효 공정을 거쳐 에탄올로 전환될 수 있다. 이에 본 연구실에서는 팝핑 전처리법을 개발하였다. Wi 등 (2011)의 연구 결과에 의하면, 유체를 팝핑 전처리 전과 후에 효소가수분해 하여 얻은 당화율은 각각 < 20와 93.1%로 팝핑 전처리하지 않은 유체에 비해 당화효율이 훨씬 효과적이었다. 이 방법은 화학첨가제를 사용하지 않고 시료의 당화율을 높일 수 있는 방법으로 환경 친화적이며, 산이나 염의 화학적인 처리 후 나온 수용액 상태의 당을 회수하는 공정 단계가 필요 없는 효과적인 방법이다. 그리고 기존의 증기 폭쇄법과는 달리 증기의 주입 없이 23 kg/cm² 압력에 도달한 순간 기압을 순간적으로 배출하는 방법으로 증기 폭쇄법에 비해 전처리 시간이 짧다.

본 연구는 스위치그라스를 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스로 선정하고, 팝핑 전처리하여 효소가수분해 효율을 알아보고, 효소가수분해 생성된 당화액을 효모로 발효하여 에탄올을 생산 가능성을 알아보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료 및 전처리

본 실험에서 사용된 공시재료는 미국 텍사스대학에서 제공한 기건 상태의 스위치그라스를 사용하였다. 이 시료는 리파이너를 이용하여 잘게 분쇄 후 24시간 동안 물에 침지 후 팝핑기를 사용하여 230°C, 23 kg/cm² 압력에 도달하면 기압을 순간적으로 배출하여 처리하였다(Wi *et al.*, 2011; 김 등, 2011). 공시재료는 40~60 mesh분말로 만들어 화학분석 및 중성당 분석실험에 사용하였다.

2.2. 화학분석 및 중성당 분석

공시재료의 전처리 전과 후의 화학적 성분 변화를

알아보기 위해 회분, 유기용매 추출물, 리그닌과 중성당 분석을 실시하였다. 회분 함량은 회화로(575 ± 25°C)에서 완전히 회화시켜 구하였고, 알코올-벤젠 혼합액(1 : 2, v/v)으로 유기물을 추출하여 유기용매 추출물 함량을 구하였으며, 유기용매로 추출한 후 탈지 시료는 황산가수분해법으로 클라손 리그닌 함량을 구하였다. 모든 분석법은 표준분석법에 따라 실시하였다(임산화학실험서, 향문사). 중성당 분석은 alditol acetate법(Wi *et al.*, 2009)에 따라 처리한 후 inositol을 내부표준시료로 하여, gas chromatography (CP-9100, Chrompack, The Netherlands)를 이용하여 분석하였다. 이때 FID (flame ionization detector)를 이용하여 검출하였고, DB-225 capillary column (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, J&W)을 사용하였으며, FID 온도는 250°C, injector 220°C, 컬럼온도는 100에서 220°C까지 5°C/min로 승온 하였다. H₂를 carrier gas로 50 ml/min로 흘려주었으며, 시료 용액은 1 μl를 주입하여 중성당 분석을 하였다.

2.3. 상업효소 활성 특성분석

본 실험에서 사용된 효소는 상업용 효소인 cellulase (Sigma C9748)와 xylanase (Sigma X2629)를 사용하였다. 이 효소의 특성을 알아보기 위해 Bradford법(Bradford, 1976)을 사용하여 단백질을 정량하였다. 각각 효소의 활성을 측정하기 위해서 1% 기질을 포함한 10 mM citrate buffer (pH 5.0) 500 μl와 조효소액 500 μl를 혼합하여 37°C에서 60분간 반응시킨 후 생성된 환원당은 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)방법(Ghose, 1987)에 따라 분석하였다. 이 때 기질로는 CMC (Sigma C5678), Avicel (Sigma 11365), Filter paper (Watman No.1), Xylan (Sigma X4252)을 각각 사용하였다. 효소 1 Unit는 ml당 분당, 1 μmol의 환원당을 생성하는 효소량으로 정의하였다.

2.4. 전처리 전과 후 당화 효율 비교

전처리된 스위치그라스의 효소가수분해율을 측정

Table 1. Chemical composition of non-pretreated (Non) and popping pretreated (POP) switchgrass

(%)	Pentose		Hexose				Organic solvent Extractives	Klason lignin	Ash
	Arabinose	Xylose	Mannose	Rhamnose	Galactose	Glucose			
Non	28	25.0	0.1	0.2	0.5	40.6	15	225	5.9
POP	23	20.3	0.1	0.3	0.8	40.8	7.9	23.0	7.9

하기 위하여 전처리 전과 후의 시료에 효소를 처리하여 생성된 환원성 당류의 함량을 DNS법으로 측정하였다. 전처리 전과 후의 시료를 10 mM citrate buffer (pH 5.0) 5 ml에 1% 농도로 넣고 효소 (cellulase 30U CMC, xylanase 15U Xylan)를 처리하여 진탕배양기(37°C)에서 반응시켰으며 0, 6, 12, 24, 36, 48시간 후에 각각 시료를 채취하였다.

2.5. 분리 당화 발효에 의한 에탄올 생산

팝핑 전처리한 시료 10 g을 2구 둥근 플라스크에 넣고 10 mM citrate buffer (pH 5.0) 50 ml와 셀룰레이즈 1 g, 자일란네이즈 1 g을 혼합한 용액을 첨가하여 37°C 항온수조에서 교반봉(150 rpm)을 이용하여 5일간 당화하였다. 반응 혼합물을 원심분리기로 분리하여 당화액만 취하여 발효하였다. 발효는 당화액 50 ml에 YP media (0.5% yeast extract, 0.5% peptone, 0.33% KH₂PO₄, 0.02% (NH₄)₂SO₄) 50 ml와 100 mM citrate buffer (pH 4.3) 10%를 첨가하고, YPD 액체 배지에서 24시간 배양한 효모(*S. cerevisiae*)를 넣어 30°C 항온수조에서 교반봉을 이용하여 발효하였으며 0, 24, 48, 72, 96시간 후에 각각 시료를 채취하였다.

2.6. 당화액과 발효액 분석

효소 가수분해 후 당화액에 존재하는 환원당의 함량은 100 μ l 시료를 10배 희석하여 DNS 용액과 혼합 후 5분간 끓인 후 550 nm 에서 분광분석기로 측정을 하였다. 또한 당화액의 구성 당류의 분석은 Refractive index detector가 부착된 HPLC column (300 × 7.8 mm, Rezex RPM-monosaccharide, phenomenex, CA, USA)를 이용하였다. 용리 용매로는 0.6 ml/min의 속도로 물을 흘려주면서 시료 용액

20 μ l를 주입하여 사용하였다. 표준시료로는 순수한 glucose (sigma G8270), xylose (sigma X1500)를 10 mM citrate buffer (pH 5.0)에 녹여 조제하였다. 에탄올 함량 분석은 표준물질로 99.9% 에탄올을 완충 용액에 희석하여 조제 후 HPLC로 분석하였다.

2.7. 주사형 전자현미경(SEM) 관찰

팝핑 전처리 전과 후의 시료와 효소 처리한 시료를 2% glytaraldehyde + 2% paraformaldehyde (in 0.05 M cacodylate buffer, pH 7.2) 고정액으로 처리한 후 동일 buffer로 세척한 다음 에탄올 농도별 계열 탈수를 실시하였다. 탈수된 시료는 isoamyl acetate로 치환 후 임계점 건조를 실시한 다음 osmium하여 주사형 전자현미경(FE-SEM: JSM-7500F, Jeol, Japan)을 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 스위치그라스의 전처리 전 후 화학적, 미시적 특성분석

팝핑 전처리에 의한 효과를 알아보기 위하여 스위치그라스의 팝핑 전처리 전·후의 화학적 성분 변화를 살펴보았다. 그 결과 리그닌의 함량은 거의 변화가 없었고, 유기용매 추출물과 회분의 경우 각각 6.4%, 2.0% 증가하였다. 유기용매 추출물과 회분의 증가 현상은 고온에서 처리되는 전처리 과정으로 인해 일부 당의 갈변화 현상 때문으로 보여진다. 또한, 전처리 전·후 당류의 변화를 살펴본 결과 셀룰로스를 구성하는 글루코스와 나머지 당의 경우에는 거의 변화가 없었으나, 헤미셀룰로스의 주요성분인 자일로스는 전과 후 각각 25.0와 20.3%로 4.7% 감소현상을 보였

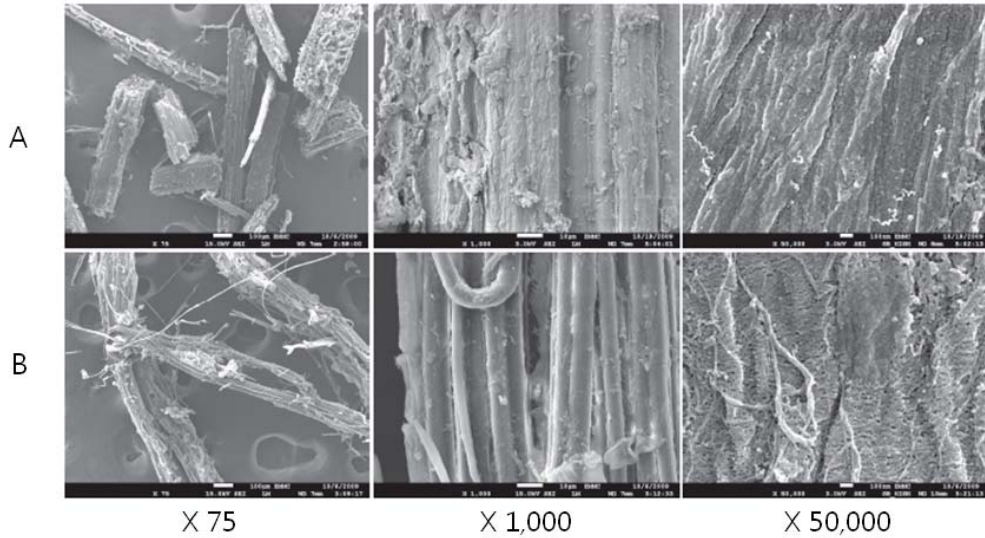


Fig. 1. Micromorphological characteristics of switchgrass. SEM. A: non-pretreatment, B: popping pretreatment.

Table 2. Specific activities (U/mg protein) of cellulase and xylanase used in this experiment

(U mg ⁻¹ protein)	*TPC	Xylan	CMC	Avi	Filter paper
Cellulase (Sigma C9748)	167.4	123	11.6	0.4	0.6
Xylanase (Sigma X2629)	2465	724	140	0.3	0.4

* Total protein concentration (mg/g enzyme)

다(Table 1). 이는 고온 고압에서 물리적인 방법으로 시료를 팽창시켜 세포 내부의 구성성분 중 헤미셀룰로스의 주요 성분인 자일로스의 연결고리를 끊으면서 자일로스가 일부 손실된 것으로 보인다. 이 결과로부터 팜핑 전처리 방법은 전처리 후 발생할 수 있는 당 손실을 최소화함을 확인하였다.

Fig. 1은 전처리 전·후 스위치그라스의 물리적인 변화를 나타내는 SEM사진이다. 그 결과 전처리 전의 경우에는 파티클의 형태가 직육면체의 형태를 유지하며 표면이 비교적 매끈한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 하지만 전처리 후 파티클을 구성하는 섬유소가 분리되어 길게 찢어지고 쪼개진 형태로 미세섬유화 되고 표면에 미세공극이 생긴 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B).

3.2. 효소 활성 특성

Table 2에는 본 실험에서 사용한 셀룰레이즈와 자일라네이즈를 대상으로 다양한 기질에 대한 활성도를 조사하여 제시하였다. 그 결과 자일라네이즈의 총 단백질 농도(246.5 mg/g)가 셀룰레이즈(167.4 mg/g)보다 더 높게 나타났다. 그리고, 자일란 기질에 대해서는 자일란을 주로 분해하는 자일라네이즈의 활성이 셀룰레이즈에 비해 훨씬 높았으며, 아비셀과 필터페이퍼 기질에서는 셀룰레이즈의 활성이 더 좋았다. 그러나 CMC 기질의 경우 CMC를 잘 분해하는 셀룰레이즈보다 자일라네이즈의 활성이 높게 나타났다. 그 이유는 자일라네이즈에도 CMC를 분해하는 셀룰레이즈가 포함된 것으로 보여진다.

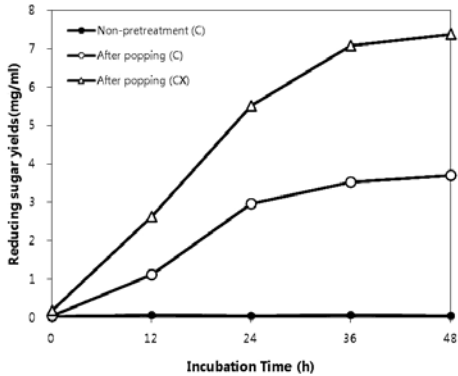


Fig. 2. Reducing sugar yields of non-pretreated and popping pretreated switchgrass after treatment of enzyme mixture. C: cellulase, X: xylanase

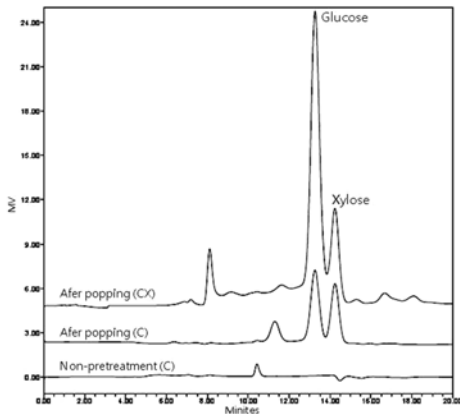


Fig. 3. HPLC spectra of switchgrass hydrolysate after treatment of enzyme mixture of cellulase and xylanase. C: cellulase, X: xylanase.

3.3. 스위치그라스의 효소 당화

Fig. 2는 팡핑 전처리 전·후 스위치그라스의 효소 가수분해 효율을 알아보기 위해 셀룰레이즈와 자일란네이즈 처리 후 생산된 총 단당류 함량을 조사한 결과이다. Fig. 2에서 보듯이 팡핑 전처리 전 시료에서는 단당류 함량에는 변화가 나타나지 않았다. 하지만, 팡핑 전처리 후에는 경우 시간이 지남에 따라 총 단당류

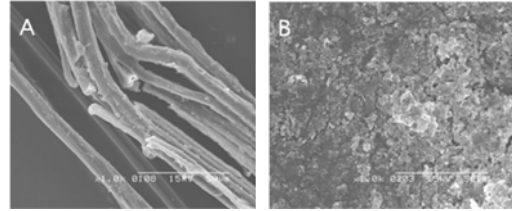


Fig. 4. Micromorphological changes of switchgrass after enzymatic hydrolysis. A: control, B: after enzymatic hydrolysis with a mixture of cellulase and xylanase.

함량이 증가하는 것으로 보아 가수분해 효과가 나타났음을 확인 할 수 있었다. 또한, 전처리 후 시료에 셀룰레이즈만 처리한 경우보다 셀룰레이즈와 자일란네이즈를 동시에 처리한 시료에서 분해능이 높음을 알 수 있었다. 이는 자일란네이즈에 의해서 셀룰로스 다발을 연결하고 있는 자일란이 제거되면서 셀룰레이즈가 셀룰로스의 접근이 용이하게 되어 서로 시너지 효과를 나타낸 것으로 판단된다.

또한, 전처리 전·후 스위치그라스의 효소 가수분해 효율을 HPLC를 이용하여 확인하였다(Fig. 3). 총 단당류 함량 조사 결과와 마찬가지로 전처리 전의 시료 당화액에서는 글루코스와 자일로스를 관찰할 수 없었으며, 전처리 후 시료 당화액 중 셀룰레이즈만 처리한 당화액보다 셀룰레이즈와 자일란네이즈를 동시에 처리한 당화액에서 글루코스와 자일로스가 많이 생산되는 것을 확인할 수 있었다.

전처리된 스위치그라스의 효소 가수분해 전·후 구조적 특성 변화를 전자현미경으로 관찰한 결과 효소 가수분해 후 섬유 다발들이 거의 분해되어 미세입자 구조로 변한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 대부분의 당들은 글루코스나 자일로스라 전환되어 수용액 상태로 변화하였으므로 남아있는 미세입자들의 성분은 리그닌으로 추측된다. 또한, 효소 가수분해 산물은 원심 분리하여 당화액만 분리 후 발효 공정을 통한 에탄올 생산에 사용하였다.

3.4. 스위치그라스의 분리 당화 발효

Fig. 5는 전처리 된 스위치그라스의 효소가수분해

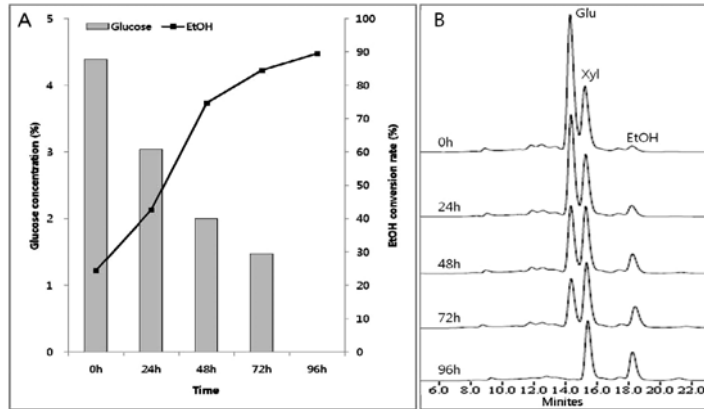


Fig. 5. Fermentation of switchgrass hydrolysate. A: Glucose concentration and ethanol conversion rate after fermentation, B: HPLC spectra of fermentation solution.

후 얻은 당화액에 효모(*S. cerevisiae*)를 이용하여 발효하여 에탄올 생산 가능성을 조사한 결과인데, 먼저 효소가수분해 후 당화액의 글루코스 농도는 4.2%으로 나타났다. 이 당화액에 효모를 넣고 4일간 발효하여 글루코스와 에탄올 농도 변화를 관찰한 결과, 글루코스의 농도는 점점 줄어들어 4일 후에는 완전히 소멸됨을 확인하였고, 에탄올 농도는 시간이 지남에 따라 점점 증가하였다(Fig. 5A). 바이오매스의 당화과정에서 생성되는 발효 저해제로 인한 발효 저해 현상이 발생할 수 있을 것이라는 예상과는 달리 스위치그라스의 발효가 잘 진행되어 19.2 g/l의 에탄올(당화액 기준 : 89.6%)을 생산하였다.

또한, HPLC 분석 결과에서도 시간이 지남에 따라 글루코스 피크가 점점 줄어들고 에탄올 피크가 증가한 것을 볼 수 있었다(Fig. 5A). 하지만 자일로스의 경우에는 피크 변화를 관찰할 수 없었다. 이는 *S.cerevisiae* 효모가 육탄당 발효만을 수행하고, 오탄당 발효는 수행할 수 없기 때문이다(Antonius *et al.*, 2006).

4. 결론

본 연구에서는 스위치그라스를 바이오에탄올 생산을 위한 바이오매스로 선정하고, 팝핑 전처리 후 효소가수분해 효율을 알아보고, 가수분해 후 생성된 당화

액을 효모로 발효하여 에탄올 생산 가능성을 조사하였다.

팝핑 전처리 후 특성 조사 결과 셀룰로스의 주성분인 글루코스의 함량 변화는 거의 없었으나 헤미셀룰로스를 구성하고 있는 자일로스의 함량은 줄어들었다. 이는 셀룰로스와 리그닌의 가교역할을 하는 헤미셀룰로스의 손실에 기인한 것으로 보인다. 또한 전자현미경을 통한 팝핑 전처리 전후 특성 조사결과 팝핑 전처리는 스위치그라스 섬유들을 단리시키며 표면에 미세공극이 생기고 결합들이 끊어져서 효소의 침투가 용이한 상태로 변화된 것을 관찰할 수 있었다. 이 결과로부터 팝핑 전처리 방법이 바이오에탄올로 전환할 수 있는 당류의 손실을 최소화하고, 당화 공정의 효율을 높일 수 있는 효과적인 방법임을 확인할 수 있었다.

팝핑 전처리 전·후 스위치그라스의 효소가수분해를 살펴본 결과 전처리 전에는 효소가수분해가 거의 이루어지지 않았고, 팝핑 전처리 후 가수분해효율이 높게 나타났다. 또한, 팝핑 전처리 후 효소가수분해 과정에서 셀룰레이즈 단독으로 처리한 경우보다 셀룰레이즈와 자일라네이즈를 동시에 처리한 경우 더 분해 효율이 좋음을 알 수 있었다.

또한, 가수분해 후 생성된 당화액을 효모로 발효하였을 때 글루코스가 높은 효율(89.6%)로 에탄올로 전환되는 것을 확인하였다. 이 때 발효 저해제의 영향은 거의 받지 않았으며, 글루코스가 에탄올로 전환되는

데 4일의 발효시간이 소모되었다. 오탄당인 자일로스는 육탄당만을 발효하는 *S. cerevisiae* 효모의 특성 때문에 발효가 이루어지지 않았다.

위의 결과로부터 스위치그라스가 팍핑 전처리 과정, 효소 가수분해 과정 및 발효 과정을 거쳐 효과적으로 바이오 에탄올을 생성할 수 있음을 확인하였다. 또한, 앞으로 육탄당과 오탄당을 모두 발효할 수 있는 시스템에 대한 연구를 수행한다면 바이오에탄올 생산의 효율을 더 증가시킬 수 있을 것이다.

사 사

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 대학중점연구소 지원사업으로 수행된 연구임(2011-0018393).

참 고 문 헌

1. 김영숙. 2009. 목질계 바이오에탄올 생산의 전처리 기술에 관한 연구동향. 목재공학 37(3): 274~286.
2. 김현주, 조은진, 이광호, 김수배, 배현중. 2011. 팍핑 전처리를 이용한 폐목재의 효소당화. 목재공학 39(1): 95~103.
3. 김혜연, 이재원, T. W. Jeffries, 최인규. 2011. 바이오에탄올 생산을 위한 백합나무칩의 동시당화발효 및 Response surface method를 이용한 옥살산 전처리 조건 탐색. 목재공학 39(1): 75~85.
4. 서현범, 한재건, 최원석, 이오규, 이수민, 최석환, 정경환. 2008. 초입계수 처리로 가수분해된 목질계 바이오매스를 이용한 바이오 에탄올 생산. 한국생물공학 23(6): 494~498.
5. 신수정, 유주현, 조남석, 한심희, 김문성, 박종문. 2009. 옥수수 줄기의 암모니아수 침지 전처리에 의한 효소 당화 향상. 목재공학 37(4): 381~387.
6. 윤병호, 안원영, 황병호 외 8명. 1998. 목재분석. 입산화학실험서 77~85. 향문사.
7. 이영우, 홍종준, 이진석, 박순철, 조재경, 이준표. 1994. 목질계 바이오매스의 전처리 및 효소당화 연구. 한국화학공학 32(1): 36~41.
8. Alizadeh, H., F. Teymouri, T. I. Gilbert, and B. E. Dale. 2005. Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX). Applied Biochemistry and Biotechnology 124(1): 1133~1141.
9. van Maris, A. J. A., D. A. Abbott, E. Bellissimi, J. van den Brink, M. Kuyper, M. A. H. Luttik, H. W. Wisselink, W. A. Scheffers, J. P. van Dijken, and J. T. Pronk. 2006. Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status. Antonie van Leeuwenhoek 90: 391~418.
10. Bouton, J. 2008. Improvement of switchgrass as a bioenergy crop. Genetic Improvement of Bioenergy Crops: 309~345.
11. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72(1-2): 248~254.
12. 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 and Bioenergy 30: 880~891.
13. Esteghlalian, 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. Bioresource Technology 59(2-3): 129~136.
14. Ghose, T. 1987. Measurement of cellulase activities. Pure Appl Chem. 59(2): 257~268.
15. Hill, J., S. Polasky, E. Nelson, D. Tilman, H. Huo, L. Ludwig, and D. Bonta. 2009. Climate change and health costs of air emissions from biofuels and gasoline. Proceedings of the National Academy of Sciences 106(6): 2077.
16. Keshwani, D. R. and J. J. Cheng. 2009. Switchgrass for bioethanol and other value-added applications: A review. Bioresource Technology 100(4): 1515~1523.
17. McLaughlin, S. B. and L. Adams Kszos. 2005. Development of switchgrass (*Panicum virgatum*) as a bioenergy feedstock in the United States. Biomass and Bioenergy 28(6): 515~535.
18. Park, H. S., K. J. Hwang, J. K. Lee, W. H. Kim, J. G. Kim, K. W. Lee, and Y. C. Lim. 2009. Evaluating Warm-Season Grass Production and Feed Value in Subtropical Area of Korea. 한국초지학회 학술발표회 심포지엄 8: 32~33.

19. Schmer, M., K. P. Vogel, R. B. Mitchell, and R. K. Perrin. 2008. Net energy of cellulosic ethanol from switchgrass. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(2): 464.
20. Wi, S. G., H. J. Kim, S. A. Mahadevan, D. J. Yang, and H. J. Bae. 2009. The potential value of the seaweed Ceylon moss (*Gelidium amansii*) as an alternative bioenergy resource. *Bioresource Technology* 100(24): 6658~6660.
21. Wi, S. G., B. Y. Chung, Y. G. Lee, D. J. Yang, and H. J. Bae. 2011. Enhanced enzymatic hydrolysis of rapeseed straw by popping pretreatment for bioethanol production. *Bioresource Technology* 102(10): 5788~5793.