

NaOH를 이용한 우드칩의 당화 전처리에 대한 감마선 조사 영향 연구

김수미 · 최종일[†] · 조민호* · 김종덕**

전남대학교 생물공학과 바이오에너지및바이오소재 협동과정

61186 광주광역시 북구 용봉로 77

*한국원자력연구원 첨단방사선연구소

56212 전북 정읍시 금구길 29

**전남대학교 생명산업공학과

59626 전남 여주시 대학로 50

(2015년 11월 4일 접수, 2015년 12월 28일 수정본 접수, 2016년 1월 9일 채택)

Effect of Gamma Irradiation on Wood Chip Saccharification Pretreated with NaOH

Su-mi Kim, Jong-il Choi[†], Min-Ho Joe* and Jong-deog Kim**

Department of Biotechnology and Bioengineering, Interdisciplinary Program for Bioenergy & Biomaterials, Chonnam National University, 77, Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju, 61186, Korea

*Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, 29, Geungu-gil, Jeongeup, Jeonbuk, 56212, Korea

**Department of Biotechnology, Chonnam National University, 50, Daehak-ro, Yeosu, Chonnam, 59626, Korea

(Received 4 November 2015; Received in revised form 28 December 2015; accepted 9 January 2016)

요 약

본 논문에서는 감마선 조사가 NaOH 전처리를 이용한 우드칩의 당화에 미치는 영향을 살펴보았다. 당화량은 전처리된 우드칩에 효소를 이용하여 가수분해한 후 생성된 환원당과 포도당 양을 측정하여 확인하였다. 10 g/L NaOH 처리한 우드칩을 각각 50, 100, 200 kGy 세기의 감마선을 조사하여 당화량을 측정하였다. 우드칩의 가수분해 수율을 비교했을 때, 200 kGy 감마선 조사한 우드칩에서 가장 높은 환원당 함량 12.2 g/L이 얻어졌다. 또한 전처리 과정에서의 감마선 조사 단계의 영향을 평가하기 위하여 우드칩을 먼저 50, 100, 200 kGy 감마선 조사한 후, 10 g/L NaOH로 전처리하였다. 200 kGy 감마선 조사 후 NaOH 전처리를 수행했을 때 환원당 함량은 13.4 g/L로 전처리 이후의 감마선 조사구보다 증가하였고, 7.9 g/L 포도당을 얻을 수 있었다. 이러한 결과로부터 감마선 조사가 셀룰로오스 바이오매스 전처리에 활용 가능할 것으로 기대된다.

Abstract – The aim of this study was to investigate the effect of gamma irradiation on the pretreatment of wood chips with NaOH solution. The degree of saccharification was quantified by measuring reducing sugar and glucose concentrations after enzymatic hydrolysis. After pretreatment with 10 g/L NaOH, the wood chips were irradiated at the doses of 0, 50, 100, and 200 kGy, respectively. Among the irradiated samples, wood chips irradiated at the dose of 200 kGy had the highest reducing sugar concentration of 12.2 g/L. Also, to define the effect of irradiation before pretreatment, the wood chips were first gamma-irradiated and then pretreated with NaOH. When the NaOH treatment was conducted after irradiation at 200 kGy, the reducing sugar content was further increased to 13.4 g/L and glucose content of the wood chip was as high as 7.9 g/L. These results suggest that gamma irradiation may be the promising method for pretreatment of cellulose biomass.

Key words: NaOH, Pretreatment, Gamma irradiation, Wood chip

1. 서 론

최근 과도한 화석 연료 사용으로 인하여 지구온난화에 대한 전 세계적 관심이 높아지고 있다. 이에 따라 CO₂ 고정을 통한 이산화탄소

방출을 감소시키기 위해 바이오매스가 신재생 에너지로 각광 받고 있다[1].

바이오매스에는 작물, 나무, 농산물, 사료작물, 농업 및 산림 잔해 등이 속하며 지속 가능하고 재생 가능하다는 장점이 있다[2-4]. 하지만 바이오매스의 원료로 사용되는 농작물은 식량 보급 문제로 제약이 있어, 최근 몇 년간 농업 및 산림 잔해와 같은 원료를 이용하는 목질계 바이오 연료에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[5,6].

목질계 바이오매스 원료는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 등을 주 성분으로 구성되어 있는데 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: choiji01@chonnam.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

바이오 연료 생산을 위한 바이오매스 성분으로 이용한다. 이를 이용하기 위해서는 먼저 고분자의 탄소 화합물을 분해하는 전처리 공정이 필요하다[7-9]. 전처리 공정은 바이오매스 공정의 첫 단계이므로 바이오매스 당화의 효율성을 향상시키기 위해서는 효과적인 전처리 방법이 필요하다[10]. 일반적으로 H_2SO_4 , NaOH와 같은 산과 알칼리 화합물을 전처리에 광범위하게 사용하고 있다. 알칼리 전처리는 수소결합과 다른 공유결합을 분해하여 리그닌을 분리하는 반면, 산 전처리 방법은 높은 온도에서 강한 화학 결합을 분해하여 헤미셀룰로오스 방출을 유발한다[11-15].

최근에는 고분자 재료에 감마선(γ 선)이나 전자선(β 선) 등의 방사선을 조사하면 고분자의 사슬 사이에 화학 결합이 끊어져 짧은 분자로 변환되는 절단 반응이 일어난다는 연구 결과가 보고된 바 있다[16-18]. 목질계 바이오매스 성분 중 셀룰로오스는 감마선에 의해 약한 섬유나 저분자의 올리고당으로 분해될 수 있다. 이것은 리그닌이 존재하지만 감마선이 셀룰로오스 분자 사슬의 글리코시딕 결합을 우선적으로 분해하기 때문이다. 또한 최근에는 하나의 전처리 공정을 두 가지 이상으로 접목한 복합 전처리 공정에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. Lu and Minoru (1993)은 NaOH 용액과 방사선을 접목한 빛질의 전처리를 보고한 바 있다. 방사선이 목질계 바이오매스 구조를 변형시켜 리그닌을 더 쉽게 제거하고 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 분해한 후, NaOH 용액이 목질계 바이오매스에 쉽게 침투하고 셀룰로오스의 분해 속도가 증가하여 효소의 가수분해 효과가 향상되었다[19-21].

따라서 본 연구에서는 이러한 방사선의 특성을 이용하여 목질계 바이오매스의 전처리 공정에서 감마선 조사의 효과를 확인해보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2-1. 재료

본 실험에서 사용한 우드칩은 전라북도 정읍시 목공소에서 사용하고 남은 폐목재 칩을 이용하였다. 폐목재의 수종은 주로 백송이나 적송 등의 소나무 목재로 함유율은 약 15% 이내였다. 우드칩은 햇빛에서 건조시킨 후 작은 조각으로 잘라 메시 체(300~500 μ m)를 이용하여 분말형태로 만들었다. 우드칩의 NaOH 처리는 1% (10 g/L) 농도의 NaOH 용액에 100 g/L 농도로 우드칩을 혼합한 후 30 °C의 온도에서 5일간 반응을 진행 하였다. 반응 종료 후 우드칩은 회수되어 용액의 pH가 중성으로 될 때까지 증류수로 세척되었다. NaOH 전처리된 우드칩의 감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소의 감마선 조사시설(Jeongseup, South Korea)에서 수행되었다. 사용된 감마선의 선량은 운전의 용이성과 소요되는 시간을 고려하여 각각 0, 50, 100, 200 kGy였으며, 약 10 kGy/hr의 조사 속도로 진행되었다. 즉, 50, 100, 200 kGy는 각각 5, 10, 20시간동안 진행되었다. 또한, 우드칩의 감마선 조사는 먼저 정제수에 100 g/L 농도로 우드칩을 혼합한 후 각각의 선량에서 감마선 조사를 수행하였고 이후 NaOH 전처리 실험은 NaOH를 1%의 농도가 되도록 첨가한 후 30 °C의 온도에서 5일간 반응을 진행 하였다.

2-2. 당화 반응 조건

전처리된 우드칩의 당화는 효소를 이용하여 수행하였다. 50 mM sodium citrate (pH 5.0) 용액을 사용하여 10% (100 g/L) 농도의 우

드칩을 40 mL 제조하였다. 제조한 각각의 10% 우드칩에 셀룰라아제(Cellic® CTec2, Novozyme, Denmark)를 90 FPU/mL 첨가하여 50 °C에서 87 시간 동안 반응시켰다.

2-3. 환원당 측정

우드칩 시료들을 13,000 rpm으로 2분 동안 원심분리 하였다. 대조군으로 사용한 전처리 하지 않은 우드칩 상등액은 25배 희석하였고, 나머지 우드칩 시료들은 50배 희석하였다. 표준 물질은 1% (10 g/L) 포도당 용액을 32, 64, 128, 256배 희석액을 사용하였다. 모든 우드칩 희석액은 Bernfeld 방법[22]에 따라 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid)와 1대 1로 5분 동안 가열 반응한 후, 반응액에 포함된 환원당은 분광광도계(Qvis 500H, C-MAC, South Korea)를 사용하여 575 nm에서 측정하였다.

2-4. 포도당 함량 측정

효소의 당화반응에 의해 생성된 환원당 중 가장 효율적으로 이용할 수 있는 포도당의 함량을 High performance liquid chromatography (Agilent 1200 HPLC series, Santa Clara, CA, USA) (HPLC)를 사용하여 측정하였다. 표준 물질로 1, 5, 10 g/L의 포도당 용액을 사용하였다. 각 시료는 10 mL씩 주입하였으며 HPLC 조건은 다음과 같이 설정하였다: Flow rate 1.0 mL/min, stop time 15 min, pressure 54 bar, RID optimum temperature 35 °C, maximum pressure 400 bar 실험은 모두 각각 3 반복하여 실험하였으며, 그 평균 값을 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 전처리 방법에 따른 우드칩의 환원당 생산량

전처리한 우드칩은 포도당의 중합체인 셀룰로오스와 펜토오스, 헥소오스 중합체인 헤미셀룰로오스를 함유하고 있다. 당화효소를 사용하여 전처리한 우드칩에 함유된 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 가수분해하면 환원당이 생성된다[23]. 따라서 환원당의 생성량을 통해 가수분해 효율을 확인하였다.

전처리 방법에 따른 우드칩 가수분해 시 생성되는 환원당의 양을 비교한 결과를 Fig. 1에 나타냈다. 전처리 하지 않은 대조군, 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군과 감마선 조사만으로 처리된 군의 환원당 최대 생산량을 비교하였을 때, 대조군은 7.1 g/L, 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군은 10.7 g/L, 50 kGy 감마선 조사만 한 군은 8.5 g/L, 100 kGy

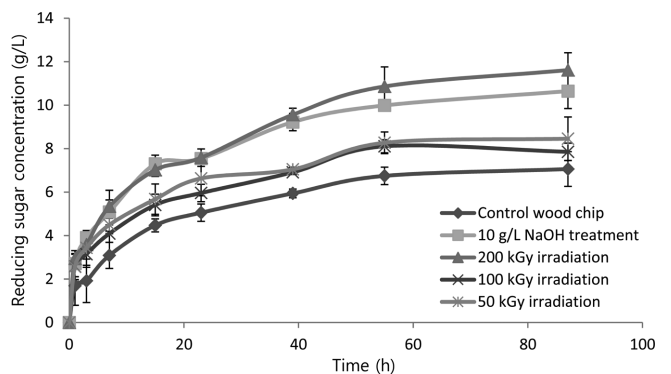


Fig. 1. Reducing sugar yield of wood chip pretreated using gamma-irradiation and 10 g/L NaOH, respectively (100 g/L of Wood chip, 50 mM sodium citrate buffer - pH 5.0, 90 mg/mL of CTec2, reaction temperature: 50 °C, reaction time: 87 h).

감마선 조사만한 군은 7.9 g/L와 200 kGy 감마선 조사만한 군은 11.6 g/L의 환원당을 생산하였다. 이는 50, 100 kGy 감마선 조사의 환원당 생산량이 대조군보다 각각 14%, 8% 더 높지만, 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군보다 낮은 수치이다. 반면 200 kGy 감마선 조사한 우드칩의 경우, 환원당 최대 생산량이 대조군보다 46% 더 높았으며 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군보다는 10% 높은 수치이므로 200 kGy 이상의 감마선을 조사할 경우, 10 g/L NaOH 용액을 처리한 방법보다 가수분해 효과가 더 크다.

감마선 조사 세기에 따른 환원당의 생산량을 비교하면, 200 kGy 조사한 우드칩의 환원당 함량이 50, 100 kGy 조사한 군보다 각각 32%, 38% 더 높다. 이는 감마선 조사선량이 증가 할수록 우드칩 내부 구성성분인 리그닌과 같은 고분자 물질을 분해하는데 더 효과적임을 알 수 있었다.

3-2. NaOH 용액과 감마선 조사를 이용한 우드칩 전처리 최적화

NaOH 용액으로 전처리를 하는 경우, 우드칩의 주성분 중 리그닌을 용해하여 셀룰로오스 가수분해 효율이 증가한다고 보고된 바 있다[11,12]. 따라서 감마선 조사의 경우 NaOH 용액을 이용한 처리와 함께 병용할 경우 더 높은 우드칩 전처리 효과를 가질 가능성이 있다. 이를 확인하기 위하여 50, 100, 200 kGy 감마선 조사와 10 g/L NaOH 용액을 함께 처리하여 우드칩 가수분해 결과 생성되는 환원당의 양을 확인하였다.

10 g/L NaOH 용액을 처리 후 감마선 조사를 한 결과, Fig. 2 처럼 감마선 세기(50, 100, 200 kGy)에 따라 각각 11.1 g/L, 11.4 g/L, 12.2 g/L의 환원당이 생성되었다. 10 g/L NaOH 용액 처리 후 50, 100 kGy 감마선 조사한 경우, 환원당 함량이 10 g/L NaOH 용액만을 처리한 대조군에 비하여 각각 5%, 10% 증가하였고 50, 100 kGy 감마선 조사만한 대조군보다 각각 27%, 36% 증가하였다. 10 g/L NaOH 용액을 처리한 후 200 kGy를 조사한 우드칩은 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군보다 16%, 200 kGy 조사군 보다 6% 더 높은 가수분해 활성을 나타냈다.

처리 공정 순서를 바꿔 감마선 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리하여 환원당 함량을 비교한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 50, 100, 200 kGy 감마선 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리하면 환원당 함량이 각각 11.5 g/L, 11.1 g/L, 13.4 g/L이다. 50, 100 kGy 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리한 우드칩은 10 g/L NaOH 용액을 처리한 우드칩

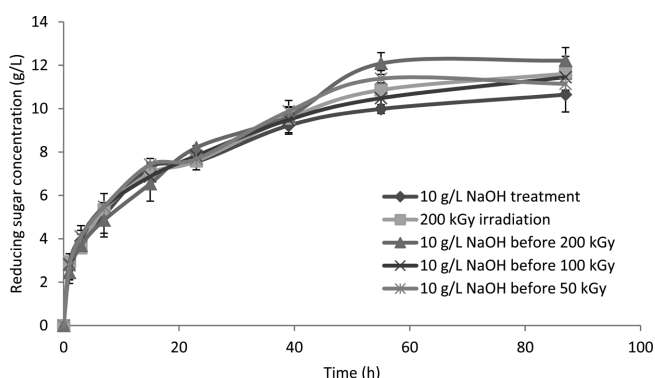


Fig. 2. Reducing sugar yield of wood chip pretreated with 10 g/L NaOH before gamma irradiation (100 g/L of Wood chip, 50 mM sodium citrate buffer - pH 5.0, 90 mg/mL of CTec2, reaction temperature: 50 °C, reaction time: 87 h).

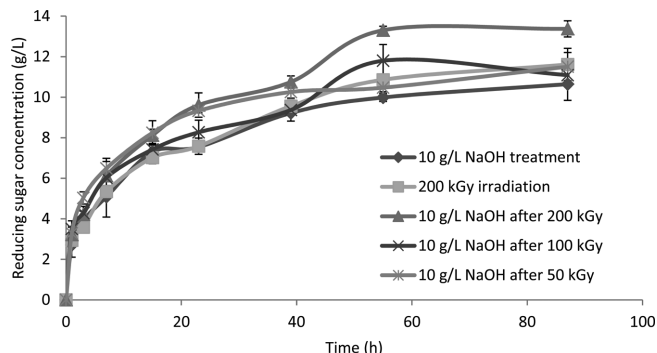


Fig. 3. Reducing sugar yield of wood chip pretreated with 10 g/L NaOH after gamma irradiation. (100 g/L of Wood chip, 50 mM sodium citrate buffer - pH 5.0, 90 mg/mL of CTec2, reaction temperature: 50 °C, reaction time: 87 h).

보다 환원당 함량이 각각 9%, 4% 증가하였고 50, 100 kGy 조사만한 군에 비해 각각 30%, 32% 증가하였다. 200 kGy 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리한 경우, 10 g/L NaOH 용액을 처리한 군보다 27%, 200 kGy 조사보다 18% 더 높은 가수분해 효율을 가졌다.

50, 100 kGy를 조사한 우드칩의 가수분해 수율은 비슷한 수치를 보였고 10 g/L NaOH 용액을 처리한 것보다는 낮았다. 반면 200 kGy를 조사한 우드칩의 경우에는 10 g/L NaOH 용액 처리 군보다 10% 이상 더 높은 가수분해 활성이 나타났다. 이러한 결과는 100 kGy 이상의 감마선 조사선량이 우드칩에서 환원당을 추출하기 위해서 필요하다는 것을 보여준다. 하지만, 감마선 조사와 NaOH 용액을 병용한 전처리가 다른 비교군보다 더 높은 환원당 함량을 갖기 때문에 감마선 조사와 NaOH 용액을 함께 이용한 전처리가 NaOH 용액만 이용한 전처리와 감마선 조사만 이용한 전처리보다 더 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 또한 200 kGy 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리한 우드칩의 환원당 함량이 13.4 g/L로 가장 높은 수율을 보였으며, 10 g/L NaOH 용액 처리 후 200 kGy 감마선 조사한 군보다 환원당 함량이 12% 더 높다. 이는 감마선이 NaOH 용액을 이용한 전처리의 효율성을 향상시켜 우드칩의 리그닌 용해를 용이하게 하였기 때문인 것으로 생각된다.

3-3. 포도당 함량 비교

목질계 바이오매스의 주 성분 중 셀룰로오스가 건조중량이 35~50%로 가장 많은 부분을 차지하고 있다. 셀룰로오스는 포도당이 β -1, 4-glucosidic bonds로 결합한 끈은 사슬형태의 중합체로, 셀룰로오스가 분해되면 에탄올로 전환가능한 포도당이 생성된다[24,25]. 따라서 우드칩의 효소반응 후 생성된 환원당 중에서 포도당의 함량을 HPLC를 통해 확인하였다.

표준물질로 사용한 포도당이 7.2분에 검출된 것을 통해 시료에 포함된 환원당 중에서 포도당은 약 7분 정도에 검출될 것임을 예측하였다. 모든 시료에 함유된 포도당의 양은 환원당 함량과 함께 Fig. 4에 나타내었다.

모든 시료의 포도당 양은 전처리 조건에 따라 생성된 환원당 함량과 비례하였다. 즉, 가수분해 결과 생성된 환원당 중 포도당이 절반 이상을 차지하는 것을 확인하였다.

특히, 200 kGy 감마선 조사한 우드칩의 경우 10 g/L NaOH 용액 처리 군보다 8% 더 높은 포도당 함량을 보였기 때문에 200 kGy의

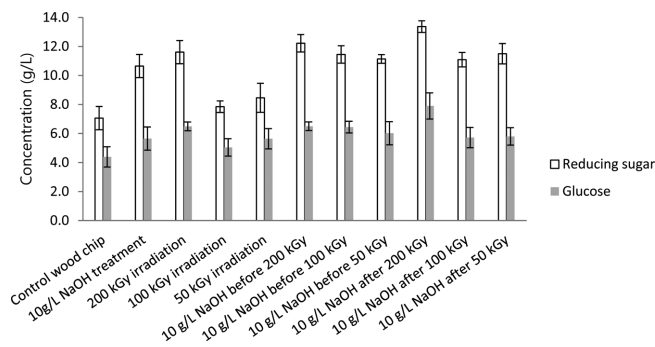


Fig. 4. Comparison of glucose and reducing sugar contents after the pretreatment using gamma-irradiation and 10 g/L NaOH.

감마선을 이용한 처리 방법이 10 g/L NaOH 용액 처리 방법보다 포도당 생성에 더 효과적이다. 또한 감마선 조사와 NaOH 용액을 함께 처리한 우드칩에서 생성된 포도당 함량을 비교하여 보면, 감마선 조사와 NaOH 용액을 함께 병용한 모든 우드칩이 10 g/L NaOH 용액으로 처리한 군과 같은 세기의 감마선 조사만 한 군들보다 포도당 함량이 높았다. 그 중 200 kGy 조사 후 10 g/L NaOH 용액 처리한 우드칩의 포도당 함량이 7.9 g/L로 가장 높은 것을 확인할 수 있었고 200 kGy의 감마선 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리하는 방법이 셀룰로오스의 가수분해 효율을 증가시켜 포도당 생성량을 높이는 데 효과적이다.

4. 결 론

기존의 NaOH 용액을 이용한 전처리, 감마선 세기에 따른 전처리, NaOH 용액과 감마선 조사를 함께 한 방법에 따라 우드칩의 환원당과 포도당 함량을 비교하였다. 200 kGy를 조사한 우드칩의 경우에는 10 g/L NaOH 용액 처리 군보다 10% 이상 더 높은 가수분해 활성이 나타났다. 또한, 감마선 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리하는 방법이 10 g/L NaOH 용액 처리 후 감마선 조사하는 방법보다 평균 30% 더 많은 가수분해 효과가 있었다. 감마선이 NaOH 용액을 이용한 전처리의 효율성을 향상시켜 우드칩의 리그닌 용해를 용이하게 하는 것으로 예상된다. 포도당 함량은 가수분해 수율과 비례하여 증가하였기 때문에 200 kGy의 감마선 조사 후 10 g/L NaOH 용액을 처리하는 것이 가수분해 수율 뿐만 아니라 포도당 함량을 증가시켰다. 따라서 감마선 조사를 목질계 바이오매스로부터 에탄올을 생산하는 전처리 과정에 활용 가능할 것으로 기대된다.

감 사

본 연구는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청 Golden Seed 프로젝트와 2015년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원(No. NRF-2015R1A2A2A01004733)에 의하여 연구되었습니다.

References

1. Zhang, L., Chen, L., Wang, J., Chen, Y., Gao, X., Zhang, Z. and Liu, T., "Attached Cultivation for Improving the Biomass Pro-

ductivity of *Spirulina platensis*," *Bioresource Technology*, **181**, 136-142(2015).

2. Ryu, J. S., Kim, K. S. and Park, S. J., "A Study on Combustion Characteristics of Wood Biomass for Cogeneration Plant," *Applied Chemistry for Engineering*, **22**, 296-300(2011).

3. McKendry, P., "Energy Production from Biomass (part 1): Overview of Biomass," *Bioresource Technology*, **83**(1), 37-46(2002).

4. McKendry, P., "Energy Production from Biomass (part 2): Conversion Technologies," *Bioresource Technology*, **83**(1), 47-54(2002).

5. Fortier, J., Truax, B., Gagnon, D. and Lambert, F., "Biomass Carbon, Nitrogen and Phosphorus Stocks in Hybrid Poplar Buffers, Herbaceous Buffers and Natural Woodlots in the Riparian Zone on Agricultural Land," *Journal of Environmental Management*, **154**, 333-345(2015).

6. Hoekman, S. K., "Biofuels in the U.S. - Challenges and Opportunities," *Renewable Energy*, **34**, 14-22(2009).

7. Liu, S., "A Synergetic Pretreatment Technology for Woody Biomass Conversion," *Applied Energy*, **144**, 144-128(2015).

8. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M., "Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass," *Bioresource Technology*, **96**, 673-686(2005).

9. Toscano, G., Duca, D., Rossini, G., Mengarelli, C. and Pizzi, A., "Identification of Different Woody Biomass for Energy Purpose by Means of Soft Independent Modeling of Class Analogy Applied to Thermogravimetric Analysis," *Energy*, **83**, 351-357(2015).

10. Gregg, D. and Saddler, J. N., "A Techno-economic Assessment of the Pretreatment and Fractionation Steps of a Biomass-to-ethanol Process," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **57/58**, 711-727(1996).

11. Si, S., Chen, Y., Fan, C., Hu, H., Li, Y., Huang, J., Liao, H., Hao, B., Li, Q., Peng, L. and Tu, Y., "Lignin Extraction Distinctively Enhances Biomass Enzymatic Saccharification in Hemicelluloses-rich *Miscanthus* Species Under Various Alkali and Acid Pretreatments," *Bioresource technology*, **183**, 248-254(2015).

12. Hendriks, A. T. W. M. and Zeeman, G., "Pretreatments to Enhance the Digestibility of Lignocellulosic Biomass," *Bioresource Technology*, **100**(1), 10-18(2009).

13. Zheng, Y., Pan, Z., Zhang, R. and Wang, D., "Enzymatic Saccharification of Dilute Acid Pretreated Saline Crops for fermentable Sugar Production," *Applied Energy*, **86**(11), 2459-2465(2009).

14. MacDonald, D. G., Bakhshi, N. N., Mathews, J. F., Roychowdhury, A., Bajpai, P. and Moo-Young, M., "Alkali Treatment of Corn Stover to Improve Sugar Production by Enzymatic Hydrolysis," *Biotechnology and Bioengineering*, **25**(8), 2067-2076(1983).

15. Xu, N., Zhang, W., Ren, S., Liu, F., Zhao, C., Liao, H., Xu, Z., Huang, J., Li, Q., Tu, Y., Yu, B., Wang, Y., Jiang, J., Qin, J. and Peng, L., "Hemicelluloses Negatively Affect Lignocellulose Crystallinity for High Biomass Digestibility Under NaOH and H₂SO₄ Pretreatments in *Miscanthus*," *Biotechnology for Biofuels*, **5**(1), 58(2012).

16. Şen, M., Toprak, D. and Güven, O., "The Effect of Environmental Humidity on Radiation-induced Degradation of Carrageenans," *Carbohydrate Polymers*, **114**, 546-552(2014).

17. Lee, J. S., "Status and Prospects of Cellulosic Ethanol R&D," *Korean Information Center News*, **16**, 38-48(2013).

18. Choi, J. I., "Structural Characteristics of Low Molecular Weight

- Laminarin Prepared by Ionizing Irradiation," *Korean Chemical Engineering Research*, **51**, 780-783(2013).
19. Binod, P., Sindhu, R., Singhanian, R. R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran, R. K., Pandey, A., "Bioethanol Production from Rice Straw: an Overview," *Bioresource Technology*, **101**(13), 4767-4774(2010).
 20. Lee, J. Y., Lee, B. M., Jeun, J. P. and Kang, P. H., "Pretreatment of Kenaf Core by Combined Electron Beam Irradiation and Water Steam for Enhanced Hydrolysis," *Korean Chemical Engineering Research*, **52**(1), 113-118(2014).
 21. Xin, L. Z. and Kumakura, M., "Effect of Radiation Pretreatment on Enzymatic Hydrolysis of Rice Straw with Low Concentrations of Alkali Solution," *Bioresource Technology*, **43**(1), 13-17(1993).
 22. Bernfeld, P., "Amylases, α and β ," *Methods in Enzymology*, **1**, 149-158(1955).
 23. Hinman, N. D., Wright, J. D., Hogland, W. and Wyman, C. E., "Xylose Fermentation," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **20**(1), 391-401(1989).
 24. Zhao, L., Zhang, X. and Tan T., "Influence of Various Glucose/xylose Mixtures on Ethanol Production by *Pachysolen Tannophilus*," *Biomass and Bioenergy*, **32**(12), 1156-1161(2008).
 25. Zhang, Y. H. P. and Lynd, L. R., "Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems," *Biotechnology and Bioengineering*, **88**(7), 797-824(2004).