

第 2 章

エタノール製造とその併産物

乾式粉碎とウェットミリングのプロセス

はじめに

本章では燃料エタノール業界が製造するトウモロコシ併産物の栄養特性および飼料価値についての理解を深めるため、エタノール製造の基本原理について記載する。

グルコースからエタノールの変換

米国ではエタノール製造用のデンプン（グルコース）源として圧倒的にトウモロコシが用いられている。サトウキビを例外として、トウモロコシは他の原材料との比較でエタノール収率が最も高い（表 2）。ただし、エタノール製造を目的として、軟材（Arwa ら、2005）のようなセルロース系原材料、非デンプン性多糖類（Arthur ら、2006）、およびテンサイ（Savvides ら、2000）の炭水化物をグルコースに変換する方法の開発研究が現在進められており、生産されるジスチラズ併産物の栄養組成は、エタノール製造に用いられる原材料の栄養成分によって決まってくる。

表 2. 各種原材料のデンプン含有率とエタノール収率

原材料	水分 (%)	デンプン (%)	エタノール収率 (L/MT)
デンプン	-	100.0	720
サトウキビ	-	-	654
大麦	9.7	67.1	399
トウモロコシ	13.8	71.8	408
オーツ麦	10.9	44.7	262
小麦	10.9	63.8	375

出典：Saskatchewan Agriculture and Food (1993).

グルコースからエタノールへの変換エネルギー効率は約 51.4%で、48.6%は二酸化炭素の産生によるものである。水分が含まれていないデンプンからエタノールを製造する場合のエネルギー効率は約 56.7%である。

乾式粉碎エタノール製造

穀粒の粒子微細化

図 3 に示すように、乾式粉碎技術を用いたエタノール製造の最初の段階は、ハンマミルでトウモロコシを粉碎して粒子のサイズを小さくすることである。ハンマミルでは高速で回転するハンマチップを用いてトウモロコシ粒を粉碎する。粉碎後のトウモロコシの細かさは主として回転子の大きさ、ハンマチップの速度、ハンマの数および篩の目開きに依存する (Dupin ら、1997)。ハンマミルで用いられる篩は通常直径が 3~5 mm の範囲である。穀粒の粒径はエタノール収率に影響を及ぼす可能性がある (Kelsall と Lyons、1999) ため、エタノール生産者は収率を最大限に引き上げるために非常に細かく粉碎したトウモロコシを用いる傾向にある。表 3 から分かるように、トウモロコシを 8mm の篩ではなく 5mm の篩に通すことで、エタノール収率は 0.20 ガロン (0.85 リットル) 増加する。

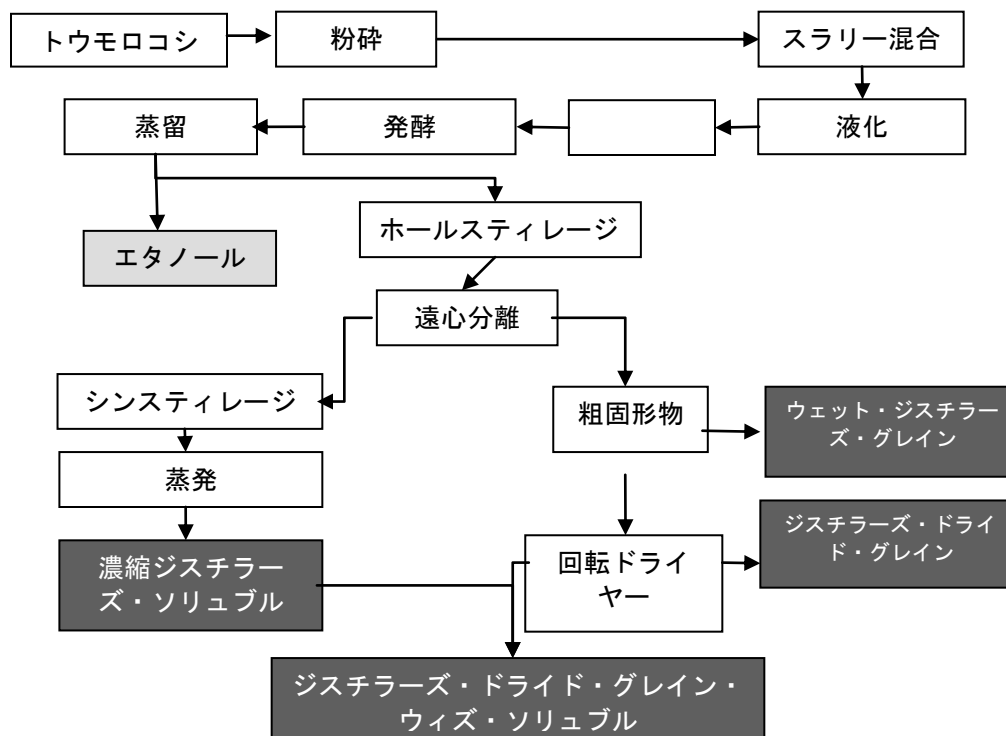


図3. 乾式粉碎エタノール製造プロセスと副産物
(Erickson ら、2005)

表 3. 異なる粒径の粉碎トウモロコシから得られるエタノール収率¹

粒径	エタノール収率 (ガロン/ブッシェル)
細粉碎トウモロコシ、篩 5 mm	2.65
粗粉碎トウモロコシ、篩 8 mm	2.45

¹Kelsall と Lyons、1999.

加熱と糖化

水と再生スティレージを粉砕したトウモロコシに加えると、これらが調整剤として働き、可溶性タンパク質、糖および非デンプン結合脂質の浸出が始まる (Chen ら、1999)。その後デンプン分解酵素を加えて加熱することにより、デンプンは加水分解されてグルコースになり、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) によってグルコースがエタノールへと変換される。加熱工程で用いられる温度は通常、予備混合タンクでは 40~60°C、加熱時は 90~165°C、そして液化時は 60°C である (Kelsall と Lyons、1999)。デンプンの糊化は 50~70°C の範囲温度で始まる。デンプンをグルコースに変換する過程では、デンプンを完全に糊化させることが非常に重要である (Lin と Tanaka、2006)。糊化時には、デンプン粒のほぼすべてのアミロースが浸出し (Han と Hamaker、2001)、膨張した粒子および可溶化したアミロースから成るゲルによって粘度が増す (Hermansson と Kidman、1995)。

デンプンポリマーを完全に加水分解するためには、酵素を組み合わせる必要がある。デンプン業界で最も広く用いられているのは熱安定酵素であるアミラーゼである (Sarikaya ら、2000)。これには α -アミラーゼ、またはグルコアミラーゼが含まれる (Poonam と Dalel、1995)。糊化直後にデンプンの加水分解が起こるよう、酵素は熱安定性を有するものでなければならない。酵素の費用はエタノール製造コストの約 10~20% を占めている (Gregg ら、1998)。

エタノールプラントにはバッチ加熱システムを採用しているところと、連続加熱システムを採用しているところがある (Kelsall と Lyons、1999)。バッチ加熱システムでは、既知量のコーンミールを既知量の水および再生スティレージと混合する。連続加熱プロセスでは、コーンミール、水および再生スティレージを連続的に予備混合タンクの中に加える。予備混合タンクは糊化に必要な温度をわずかに下回るように維持され、マッシュはポンプを用いてジェットクッカーに連続的に供給される。クッカーの温度は 120°C に設定されている。クッカーのマッシュは垂直塔の最上部へと送られ、約 20 分で塔の下へと移動する。その後フラッシュチャンバーへと送られ、80~90°C で液化させる。液化のために、高温耐性のあるアミラーゼを 0.05~0.08% (w/w 穀類) 濃度で加える。液化またはフラッシュチャンバーでの保持時間は約 30 分である。システムの pH は 6.0~6.5 の範囲に制御する。連続システムと比較すると、バッチシステムでは使用する酵素の量が少なく、エネルギー効率が低い。バッチシステムの主なデメリットは生産性、あるいは時間単位当たりの原材料利用率が低いことである。

発酵

発酵は酵母によって糖がアルコールに変わる過程である。最も一般的に用いられている酵母は *Saccharomyces cerevisiae* (出芽酵母) で (Pretorius、2000)、これはこの酵母によって発酵プロセス中 18% という高濃度のエタノールを作り出すことができるためである。一般に、*Saccharomyces* 酵母は食用として摂取しても安全 (GRAS) な食品添加物とみなされている (Lin と Tanaka、2006)。理想的な発酵状態では糖の約 95% がエタノールと二酸化炭素に変わり、1% は酵母細胞の細胞内容物質に、4% はグリセロール等の生成物へと変化する (Boulton ら、1996)。酵母の費用はエタノール製造コストの約 10% を占める (Wingren ら、2003)。

発酵に必要な酵母細胞の数を増やすために行う予備発酵プロセスでは、3億～5億 cells/ml に達するまで10～12時間の攪拌を行う。温度約33°C (Thomasら、1996)、pH約4.0 (NeishとBlackwood、1951)で発酵が起り、48～72時間継続する (Ingledew、1998)。エタノールの他に二酸化炭素も生成されるが、これは回収または大気放出することができる。

エタノールを効率よく製造する上で鍵となる要素は、正常な酵母増殖の制御である。酵母の活動は発酵設備の温度に大きく依存する。Torijaら (2003)の報告によれば、酵母の分裂と発酵に最適な温度はそれぞれ28°Cと32°Cである。高温 (35°C超)での *S. cerevisiae* の発酵効率は低い (Banatら、1998)。従って、発酵設備には冷却装置が必要とされる。

エタノールプラントで発酵槽を管理する上で注意しなければならないことのひとつは、他の微生物による汚染を防止することである。微生物汚染が発生すると、エタノール収率およびエタノールプラントの生産性が低下する (BarbourとPriest、1988)。微生物汚染に関与する最も一般的な有機体は乳酸菌および野生酵母である。こうした微生物は *Saccharomyces cerevisiae* と栄養分 (微量ミネラル、ビタミン、グルコースおよび遊離アミノ酸) を取り合い、酢酸や乳酸といった阻害最終生成物を産生する。燃料アルコール製造においては以前から *Dekkera/Brettanomyces* 野生酵母が懸念の対象となっていた (AbbottとIngledew、2005)。現在では抗生物質を使用することにより、燃料エタノールプラントにおける乳酸バクテリアの汚染を低減することが可能となっている (NarendranathとPower、2005)。

エタノールの蒸留

発酵が終了すると、エタノールは蒸留塔を使用して回収される。発酵槽から回収されたエタノールには水分が含まれているため、分子篩装置を用いて水分を除去し、純粋なエタノールにする。

トウモロコシ油の抽出

トウモロコシを使用するエタノールプラントでは、DDGS製造途中でシンステイレージから油を抽出して粗トウモロコシ油を製造する (CEPA、2011)。シンステイレージからのトウモロコシ油の抽出は発酵と蒸留の工程が終了し、DDGSを得るための乾燥工程に入る前に行われる。プラントのエネルギー効率を向上し、トウモロコシ1メートルトン当たりの総燃料生産量を引き上げる目的で、既存のエタノールプラントがトウモロコシ油抽出装置を設置している。既存エタノールプラントにトウモロコシ油抽出装置を設置することで、エタノール生産量に影響を及ぼすことなく、バイオディーゼルの原材料の生産を強化することができる。エタノール業界には商業利用することのできる様々なトウモロコシ油抽出技術が存在する。

エタノール業界の大半が、遠心力を用いてホールステイレージからトウモロコシ油を取り出し、その後シンステイレージからトウモロコシ油を抽出する「ステップ1」抽出プロセスを採用している (CEPA、2011)。結果として得られる部分的に濃縮されたシンステイレージを加熱し、第2の遠心分離装置でトウモロコシ油を抽出する。シンステイレージの温度を上げて抽出を促進させるために熱交換器には蒸気を用い、トウモロコシ油抽出後はステイレージからの熱エネルギーを熱交換器で回収し、次のステイレージの加熱に用いる。

シンスティレージにはトウモロコシ中の利用可能な油の約30%が含まれており、その大半はこの「ステップ1」プロセスを用いることで回収することができる。ただし、これは個々のエタノールプラントの条件にもよる（CEPA、2011）。一般に、典型的なエタノールプラントではトウモロコシ油が約4%（重量比）含まれるトウモロコシが使用されており、トウモロコシ油の抽出を行わない場合にはこの油がDDGSに残ることになる。例えば、生産能力が年1億9000万リットルの乾式粉碎エタノールプラントでは年に570万リットルのトウモロコシ油を回収することができる。

「ステップ2」プロセスは未だ大半の米国エタノールプラントでは実施されていないが、遠心分離力を用いたウェットグレインとシンスティレージとの分離に先立ち、ホールスティレージ中のトウモロコシ油の30%をさらに獲得することを可能にする追加的な抽出プロセスである（CEPA、2011）。トウモロコシに含まれる全ての油の40%以上がウェットケーキ中に存在するため、この油を遊離させるための「洗浄」を行うと、「ステップ1」方式で油分抽出することが可能となる。「ステップ1」抽出プロセスに加えて更に追加的に得られるトウモロコシ油によって、通常はトウモロコシ油の生産量が倍になる。このため、「ステップ1」と「ステップ2」を組み合わせて用いることで、ジステラズ併産物中に存在するトウモロコシ油の60~70%を抽出することができることになる。結果として、こうした技術によって製造されるエタノール380リットルにつき23~27リットルのトウモロコシ油が抽出可能となる。

トウモロコシ油の抽出を行わない場合、製造されるエタノール3.8リットルにつき2.4kgのDDGSが得られる（CEPA、2011）。ところが、トウモロコシ油の抽出を行うとDDGSの収量は製造されるエタノール1リットルにつき約0.06 kg減少し、これはDDGS収率の9.4%減に相当する。トウモロコシ油の抽出はDDGSの栄養組成に影響を及ぼし、主に脂肪とエネルギーの減少、タンパク質含有量の増加につながる。食用動物種の中には、豚、家禽および魚など、DDGSに多くの脂肪およびエネルギーが含まれていることが重視されるものもあるが、乳牛や肉牛では油分低減DDGSを効果的に用いることができる。油分低減DDGSを肉牛、乳牛、家禽および豚に給与することによるそれぞれへの影響についての詳しい情報は**第15、18、20および22の各章**を参照されたい。

併産物の製造

エタノールの蒸留後に残った水と固形物はホールスティレージと呼ばれる。ホールスティレージは主として水分、繊維、タンパク質および脂肪から構成される。この混合体を遠心分離器にかけて液体から粗固体を分離させる。シンスティレージと呼ばれるこの液体は蒸発器に送られ、更に水分が除去されて約30%の乾物を含む濃縮ジステラズ・ソリュブル（シロップ）となる。濃縮ジステラズ・ソリュブルは地元の畜牛生産者に販売したり、分離された粗固体と混ぜ合わせて乾燥させ、ドライ・ジステラズ・グレイン・ウィズ・ソリュブルを製造することができる。分離させた粗固体はウェットケーキとも呼ばれ、乾物を約35%含んでいる。ウェットケーキは乾燥させずに地元の畜牛生産者に販売したり、乾燥させてドライ・ジステラズ・グレインを製造し、あるいは濃縮ジステラズ・ソリュブルと混ぜ合わせて乾燥させ、ジステラズ・ドライ・グレイン・ウィズ・ソリュブル（乾物88%）を製造することができる。

ウェットミリング（湿式粉碎）

粉碎したトウモロコシ粒全体を発酵させる乾式粉碎エタノールプラントとは異なり、ウェットミリング法ではトウモロコシ粒を様々な分画に分離させることによって、各種の食品やエタノールなどの工業製品の製造を可能にする。トウモロコシのウェットミリング業界は、食品および洗濯用製品

のためのデンプンを製造することを主たる目的として、19世紀初頭に発展した（Kerr、1950）。湿式プラントは1920年代に入って結晶デキストロースの製造を開始し（Newkirk、1923）、第二次世界大戦後にはエタノールの製造を開始した。1990年代初めには、湿式プラントは他の製品に加えてハイフルクトースコーンシロップの製造を開始した。ウェットミリングのプラントの大半がこの2、30年間に建設されたものである（JohnsonとMay、2003）。図4はウェットミリングプロセスの概要を示したものである。

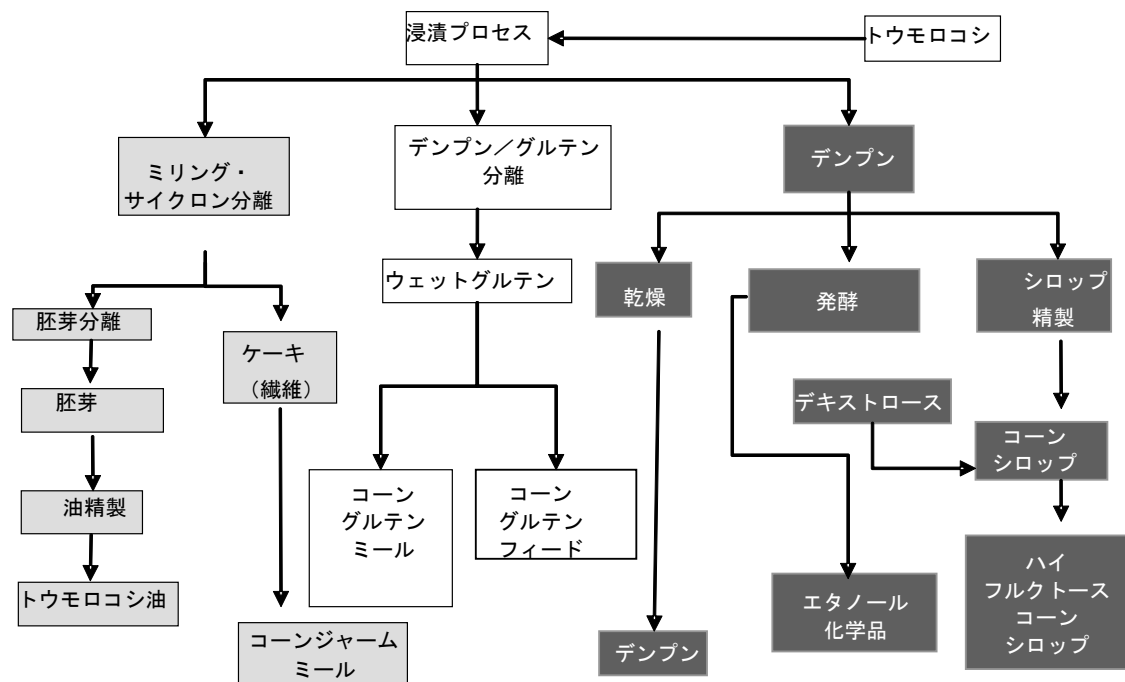


図4 ウェットミリングプロセスと副産物
(Erickson ら、2005)

穀粒クリーニング

最初にトウモロコシのクリーニングを行って、破損粒、外皮、穂軸の破片および異物を除去する。浸漬液をステーパーリカーへと蒸発させる間に、デンプンが破損粒から浸漬液に放出され糊化して不適切な粘度となる可能性があるため、このクリーニング工程は重要である（May、1987）。

浸漬

浸漬工程では、温度（48-50°C）、時間（35-50時間）、SO₂濃度（0.1-0.2%）、および乳酸を管理した条件下でトウモロコシ粒を浸漬する（Watson、1984）。水分が調整剤として働くので最適な条件で粉砕を実施することができる（Bass、1988）。浸漬によってトウモロコシ粒は粉砕に適した柔らかさになり、微生物の増殖が抑えられ、純粋なデンプンの回収性を高めることができる（Bartling、1940）。

粉砕

浸漬後、コーンジャームは柔軟な弾性を持つようになる。二重反転ディスクと相互にかみ合うフィンガを備えた hidroサイクロンがトウモロコシ粒を引き砕き、胚芽を分離する (May, 1987)。胚芽の重量はトウモロコシ粒の他の部分よりも軽いため、遠心力で簡単に分離することができる。分離した胚芽は水で洗浄することによりデンプンおよびタンパク質抽出物を取り除き精製する。その後胚芽から油分を抽出してトウモロコシ油を製造する。

相当な力をかけてスラリー (デンプン、グルテン、繊維および穀粒の破片) をポンプで 120° のくさび形ワイヤースクリーンに当てて繊維を分離する。繊維の粒子はサイズが大きいため選り分けられ、デンプンおよびタンパク質が後に残る。

タンパク質の重量はデンプンよりも小さいため、高速遠心力によってグルテンを分離することができる (May, 1987)。その後グルテンを遠心力で濃縮し、真空濾過により固体が 42% になるまで脱水し、更に固体が 88% になるまで乾燥させてコーングルテンミールとして販売する (Jackson と Shandera, 1995)。

デンプンの処理

遠心力を用いた逆流プロセスで、清水を用いてデンプンを洗浄することにより、タンパク質態の不純物を除去する。精製されたデンプンに含まれるタンパク質は 0.4% を下回り、遊離タンパク質は 0.01% を下回る (May, 1987)。除去されたタンパク質には主としてデンプンとタンパク質の複合体が含まれ、再生利用のために第 1 分離段階へと戻される。精製したデンプンはその後乾燥させ、発酵させてエタノールを製造するか、再度精製してコーンシロップを製造する。ウェットミリング法 (湿式粉碎) でデンプンからエタノールを製造するために用いられる手順は、先に記載した乾式粉碎プラントでの方法とほぼ同じである。

併産物の製造

コーンステーパーリカー はエネルギー価の高い液状の飼料原材料である。50% 乾物ベースで約 25% の粗タンパク質が含まれている。この製品は時にコーングルテンフィードと組み合わせることがあり、あるいは肉牛または乳牛用飼料の液体タンパク質源として単体で販売することもある。ペレット用の結合剤として使用されることもあれば、ビタミン B 群およびミネラルの供給源として用いられることもある。

コーンジャームミール にはタンパク質が 20%、脂肪が 2%、繊維が 9.5% 含まれている。アミノ酸のバランスがとれているため、家禽および豚用飼料としての価値が高い。

コーングルテンフィード はトウモロコシ粒のふすまおよび繊維部分から成る中濃度タンパク質原材料である。コーングルテンフィードには濃縮されたトウモロコシ抽出物が含まれている場合と含まれていない場合がある。この副産物は乾燥状態のまたは水分が含まれた状態の飼料原材料として販売される。ふすまと濃縮抽出物 (ジャームミールと呼ばれることがある) は混合して回転ドライヤーで乾燥させる。乾燥させたコーングルテンフィードは容易に取扱えるよう、ペレット状にする。一般に、乾燥コーングルテンフィードにはタンパク質が約 21%、脂肪が 2.5%、繊維が 8% 含まれている。水分を含んだコーングルテンフィード (乾物 45%) は 6 日 ~ 10 日で傷む可能性があるため、この期間内に給与するか、嫌気環境で保管しなければならない。コーングルテンフィードは主として乳牛および肉牛用飼料に用いられる。

コーングルテンミールはタンパク質含有率が高い。一般的な含有率はタンパク質が60%、脂肪が2.5%、繊維が1%である。コーングルテンミールは貴重なメチオニン源でもあり、キサントフィルが豊富であり、黄色の色素源として家禽用飼料の原材料として重宝される。

References

- Abbott, D.A., and W.M. Ingledew. 2005. The importance of aeration strategy in fuel alcohol fermentations contaminated with *Dekkera/Brettanomyces* yeasts. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 69:16-21.
- Arthur, J.R., C.K. Williams, B.H. Davison, G. Britovsek, J. Cairney, C.A. Eckert, W.J. Frederick, Jr., J.P. Hallett, D.J. Leak, C.L. Liotta, J.R. Mielenz, R. Murphy, R. Templer, and T. Tschaplinski. 2006. The path forward for biofuels and biomaterials. *Science.* 311:484-489.
- Arwa, K., A. Berlin, N. Gilkes, D. Kilburn, R. Bura, J. Robinson, A. Markov, A. Skomarovsky, A. Gusakov, O. Okunev, A. Sinitsyn, D. Gregg, D. Xie, and J. Saddler. 2005. Enzymatic hydrolysis of steam-exploded and ethanol organosolv-pretreated Douglas-Firby novel and commercial fungal cellulases. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 26th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. Volume 121, Issue 1-3, pps. 219-230.
- Banat, I.M., P. Nigam, D. Singh, R. Merchant, and A.P. McHale. 1998. Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations: A review; Part-I Yeast In General. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14:809-821.
- Barbour, E.A., and F.G. Priest. 1988. Some effects of *Lactobacillus* contamination in scotch whisky fermentations. *J. Inst. Brew.* 94:89-92.
- Bartling, F.W. 1940. Wet process corn milling. No. 5. The steep house. *Am. Miller.* 68:40-41.
- Bass, E.J. 1988. Wheat floor milling. Pages 1-68 In: *Wheat Chemistry and Technology*, Vol. 2. Y. Pomeranz. Ed. Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, MN.
- Boulton, B., V.L. Singleton, L.F. Bisson, and R.E. Kunkee. 1996. Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. In: *Principles and Practices of Winemaking*, Boulton B, Singleton VL, Bisson LF, Kunkee RE (eds). Chapman and Hall. New York, pp. 139-172.
- California Environmental Protection Agency. 2012. California-Modified GREET Pathway for the Production of Biodiesel from Corn Oil at Dry Mill Ethanol Plants. Stationary Source Division, Release Date: November 3, 2011, Version 2.0. 40 pp.
- Chen, J.J., S. Lu, and C.Y. Lii. 1999. Effect of milling on physicochemical characteristics of waxy rice in Taiwan. *Cereal Chemistry* 76:796-799.
- Dupin, I.V.S., B.M. McKinnon, C. Ryan, M. Boulay, A.J. Markides, P.J. Graham, P. Fang, I. Boloni, E. Haque, and C.K. Spillman. 1997. Comparison of energy efficiency between roller mill and a hammer mill. *Appl. Engineering in Agric.* 13:631-635.
- Erickson G.E., T.J. Klopfenstein, D.C. Adams, and R.J. Rasby. 2005. General overview of feeding corn milling co-products to beef cattle. In: *Corn Processing Co-Products Manual*. University of Nebraska. Lincoln, NE, USA.
- Gregg, D.J., A. Boussaid, and J.N. Saddler. 1998. Techno-economic evaluations of a generic wood-to-ethanol process: effect of increased cellulose yields and enzyme recycle. *Bioresour. Technol.* 63:7-12.
- Han, X.Z., and B.R. Hamaker. 2001. Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *J. Cereal Sci.* 34:279-284.
- Hermansson, A.M., and S. Kidman. 1995. Starch – A phase-separated biopolymer system. In: S.E. Harding, S.E. Hill and J.R. Mitchell, Editors, *Biopolymer Mixtures*, Nottingham University Press, UK. pp. 225-245.
- Ingledew, W.M. 1998. Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: A yeast primer. Chapter 5 In: *The alcohol textbook*. 3rd ed. K.A. Jacques, T.P. Lyons and D.R. Kelsall Ed. Nottingham University Press. Nottingham, UK.
- Jackson, D.S., and D.L. Shandera, Jr. 1995. Corn wet milling: Separation chemistry and technology. *Adv. Food Nutr. Res.* 38:271-300.

- Johnson, L.A. and J.B. May. 2003. Wet milling: The basis for corn refineries. In: *Corn: Chemistry and Technology*. Ed. S.A Watson. pp. 449-495. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN.
- Kelsall, D.R., and T.P. Lyons. 1999. Grain dry milling and cooking for alcohol production: designing for 23% ethanol and maximum yield. Chapter 2. In: *The alcohol textbook*. 3rd ed. K.A. Jacques, T.P. Lyons and D.R. Kelsall Ed. Nottingham University Press. Nottingham, UK.
- Kerr, R.W. 1950. *Chemistry and industry of starch*. Academic Press, New York. p. 29.
- Lin, Y., and S. Tanaka. 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69: 627-642.
- May, J.B. 1987. Wet milling: Process and products. In "*Corn: Chemistry and Technology*". ed. S.A. Watson and P.E. Ramstad. Pp 377-397. Am. Assoc Cereal Chem., St. Paul, MN.
- Narendranath, N.V., and R. Power. 2005. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 2239-2243.
- Neish, A.C., and A.C. Blackwood. 1951. Dissimilation of glucose by yeast at poised hydrogen ion concentrations. *Can. J. Technol.* 29:123-129.
- Newkirk, W.B. 1923. Method of making grape sugar. U.S. Patent 1:471,347.
- Poonam, N. and S. Dalel. 1995. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Enzyme Microb. Technol.* 17:770-778.
- Pretorius, I.S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: Novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16:675-729.
- Renewable Fuels Association. 2012. Annual Industry Outlook.
<http://www.ethanolrfa.org/pages/annual-industry-outlook>
- Sarikaya, E., T. Higassa, M. Adachi, and B. Mikami. 2000. Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. *Proc. Biochem.* 35:711-715.
- Saskatchewan Agriculture and Food. 1993. *Establishing an Ethanol Business*.
- Savvides, A.L., A. Kallimanis, A. Varsaki, A.I. Koukkou, C. Drainas, M.A. Typas, and A.D. Karagouni. 2000. Simultaneous ethanol and bacterial ice nuclei production from sugar beet molasses by a *Zymomonasmobilis* CP4 mutant expressing the Z gene of *Pseudomonas syringae* in continuous culture. *J. Appl. Microbiol.* 89: 1002-1008.
- Thomas, K.C., S.H. Hynes, and W.M. Ingledew. 1996. Practical and theoretical considerations in the production of high concentrations of alcohol by fermentation. *Proc. Biochem.* 31:321-331.
- Torija, M.J., N. Rozès, M. Poblet, J.M. Guillamón, and A. Mas. 2003. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. *International J. Food Microbiol.* 80: 47-53.
- Watson, S.A. 1984. Corn and sorghum starches: Production. In: *Starch: Chemistry and Technology*. Ed. R.L. Whistler, J.M. BeMiller, and E.F. Paschall. 417-467. Academic Press, Orlando, FL.
- Wingren, A.M., Galbe, and G. Zacchi. 2003. Techno-Economic Evaluation of Producing Ethanol from Softwood: Comparison of SSF and SHF and Identification of Bottlenecks. *Biotechnol. Prog.* 19:1109-1117.