

## 끓은 황산을 사용하여 볏짚으로부터 헤미셀룰로오스 회수

이동헌 · 김창준 · 김성배\*  
경상대학교 공대 생명화학공학과 및 공학원

**Hemicellulose Recovery from Rice Straw using Dilute Sulfuric Acid.** Lee, Dong Hun, Chang-Joon Kim and Sung Bae Kim\*. Department of Chemical & Biological Engineering and ERI, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea – Rice straw was pretreated using dilute sulfuric acid at reaction conditions covering two levels of reaction temperature (140, 150°C) and five levels of acid concentrations (1.0~3.0 %wt). The production and decomposition rates of major components of rice straw indicating glucose, xylose, galactose and arabinose were investigated. The production rate of arabinose and the decomposition rate of xylose were greatest among them. The maximum attainable hemicellulose (xylose+galactose+arabinose) yield was about 80%. High acid concentration appears to favor the maximum yield but high temperature does not. The optimum condition was found to be 140°C, 2.5% and 20 minutes. The maximum glucose yields were almost same, around 16~18%, regardless of reaction conditions.

**Key words:** Rice straw, pretreatment, acid hydrolysis, hemicellulose

### 서 론

석유자원의 고갈로 인한 미래 원유가격의 상승과 지구 온난화로 인한 이산화탄소 배출량감소 요구 등으로 화석연료를 대체할 수 있는 에너지 개발 연구가 활발히 진행되고 있다. 바이오매스 자원으로부터 에탄올 생산이 그 중 한 분야인데 현재 상업적으로 생산되는 대부분의 에탄올은 사탕수수 추출액과 옥수수 전분을 기질로 사용하고 있다. 이들 기질은 기존방법으로도 기술적인 어려움 없이 에탄올로 전환되지만 식량자원으로도 사용되기 때문에 전세계 식량문제를 야기하고 있다. 그래서 차세대 기질로 리그닌이 포함된 섬유질 기질로부터 에탄올을 생산하는 기술개발에 많은 연구가 진행되고 있다[16]. 이 공정이 상업화되기 위해서는 값싼 기질을 찾아야 하고 그 다음에는 경제적인 전처리공정과 셀룰로오스 당화공정을 개발해야 한다. 전처리공정은 그 다음 공정인 셀룰로오스 당화공정과 직접 관련이 있고 에너지 집약적인 공정이기 때문에 전체 에탄올 생산공정의 경제성을 좌우하는 공정이어서 경제성있는 전처리공정 개발에 대한 연구가 시급하다.

섬유질 기질은 헤미셀룰로오스, 셀룰로오스, 그리고 리그닌으로 구성되어 있으며 이들 성분이 따로 존재하지 않고 복잡하게 결합된 구조를 가지고 있어 한 성분을 다른 성분으로부터 분리하는 것이 쉽지 않다[4]. 경제적인 관점에서는

이들 세 성분을 모두 이용하는 것이 필수적이기 때문에 기질의 전처리공정이 필요하다. 전처리공정의 목적은 견고한 구조에 갇혀있는 셀룰로오스가 효소에 의해 쉽게 가수분해되도록 해주는 것이다. 이 목적을 위해서는 셀룰로오스를 감싸고 있는 헤미셀룰로오스와 리그닌을 동시에 제거해 주는 방법이 가장 좋는데 기술적으로는 쉽지 않다[3]. 일반적인 전처리공정은 먼저 기질을 분쇄한 다음 고온에서 물리화학적 처리방법에 의해 진행되므로 효소 가수분해 공정과 함께 비용이 가장 많이 소요되는 공정 중의 하나이다[20]. 전처리공정에 사용되는 방법은 일반적으로 묽은 산[11, 22, 23], 염기용액[3, 8, 10], 증기폭쇄[24] 등이 사용되었으나 최근에는 N-methylmorpholine-N-oxide[12], 글리세롤[18], 전자빔[2], 마이크로파[13] 등 다양한 방법이 사용되고 있다. 전처리공정은 전처리전 공정인 기질분쇄와 전처리후 공정인 효소 분해와 발효공정의 비용에 많은 영향을 미치므로 어떤 방법의 전처리공정을 선택해야 하는지 기술적, 경제적으로 검토가 필요하다. 이 같은 검토가 최근에도 많이 이루어지고 있으나 기술적인 면과 경제적인 면을 고려하면 단기적으로는 묽은 황산을 사용한 전처리 방법이 가장 유망한 것으로 평가되고 있다[14, 20].

볏짚은 우리나라에서만 일년에 약 500만톤 생산되는 가장 풍부한 농산 부산물이고 볏짚의 밀짚 등이 전세계적으로 많은 양이 생산되고 있다[1,5]. 그래서 최근에 볏짚을 묽은 황산[5]으로 전처리하는 방법 이외 볏짚을 전자빔[2]과 마이크로파[13], 밀짚을 글리세롤[18, 19], 콩짚을 암모니아 수용액[21]으로 다양한 전처리방법에 대한 연구가 발표되었다. 그러나 이들 연구에서 발표한 전처리 효과나 비용을 고려하면

\*Corresponding author  
Tel: 82-55-751-5385, Fax: 82-55-753-1806  
E-mail: sb\_kim@gnu.ac.kr

아직 효율적이고 경제적이라고 할 수 없다. 그래서 본 연구에서는 가장 경제적인 전처리공정으로 평가되는 묽은 황산을 사용하여 벗짚으로부터 반응조건에 따른 헤미셀룰로오스 회수율 변화를 조사하였다. 그리고 벗짚을 구성하는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 구성성분들이 어떻게 가수분해되고 생긴 당이 어떻게 분해되는지 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 기질

기질로 사용된 벗짚은 먼저 물로 세척하고 건조한 후 cutting mill(IKA Laboratory MF10)을 사용해 분쇄하고 2 mm를 통과한 것을 사용하였다. 수분을 제외한 초기조성은 glucan 37.8%, xylan 18.4%, arabinan 3.2%, galactan 1.8%, Klason lignin 12.7%, acid soluble lignin 3.3%, ash 15.2%이었다.

### 전처리

실험에 사용한 반응기는 SS316으로 제작된 1.6 cm×14.7 cm(ID×L)이었고, 사용한 기질과 황산용액의 비는 1/8이었는데, 실험결과 모든 기질이 황산용액에 균일하게 적셔질 수 있는 최소비가 1/6이어서 약간 여유있게 1/8을 사용하였다. 황산용액의 농도는 기질 수분을 고려하여 제조되었고 0.8 g 기질에 6.4 mL의 황산용액을 사용하였다. 반응기 내에서 황산용액이 기질에 잘 스며들게 하기위해 먼저 반응기에 일정량의 황산용액을 넣은 다음 기질 그리고 나머지 황산용액을 넣고 15시간 이내에서 실온에 방치하였다. 반응기 내부 내용물이 원하는 반응온도에 도달하는 preheating time을 줄이기 위해 두개의 oil bath를 사용하였다. 반응을 시작하기 위해 반응기를 원하는 반응온도보다 50°C 높게 맞춘 oil bath에 25초간 담근 후 원하는 반응온도에 맞춘 oil bath에 담구었다. 반응기 내부온도는 첫 번째 oil bath에서 원하는 반응온도의 약 95%에 도달하고 전체적으로 1분내 원하는 온도에 도달하였다. 원하는 시간에 반응기를 집어내어 찬물에서 냉각시키고 일정량의 증류수를 사용하여 반응기로부터 내용물을 회수하였다. 내용물을 약 12시간 방치한 다음 4,500 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액을 HPLC 분석용으로 채취하였다.

### 분석방법

고체시료의 수분, 당, acid soluble과 Klason lignin, 회분은 NREL 표준방법 #001-005[15]에 따라 분석하였다. 액체 시료는 CaCO<sub>3</sub>를 사용하여 시료에 포함된 황산을 중화하고 15,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 HPLC 분석용으로 사용하였다. 당 분석을 측정하기 위해 Bio-Rad Aminex HPX-87P 칼럼을 사용하였고 조건은 85°C, 0.6 mL/min이었다. HPLC 시스템은 Lab Alliance P6000 펌프, Shodex

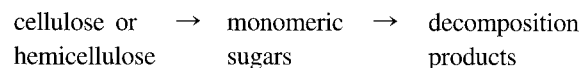
RI-71 검출기를 사용하였다. HPLC로 측정된 각 당의 가수분해 수율은 다음과 같이 계산하였다: 수율=(회수된 각 당의 양/각 당의 초기량)×100.

## 결과 및 고찰

### 당 생성과 분해

묽은 황산을 사용해서 섬유성 기질로부터 헤미셀룰로오스를 회수하기 위한 일반적인 반응조건은 온도가 150°C 내외, 산 농도는 5% 이내이다. 산 농도나 반응온도를 증가시키면 헤미셀룰로오스의 회수율을 증가시킬 수 있으므로 회수율을 최대화하기 위해서는 적절한 산 농도와 반응속도를 선택해야 한다. 최적 조건 근처에서는 산 농도를 낮추면 반응온도를 올려야 하고, 산 농도를 높이면 반응온도를 낮추어야 하는 상호 보완적인 관계가 된다. 또한 이들 반응조건이 높으면 생긴 당이 분해할 가능성이 많기 때문에 적절한 반응시간을 선택해야 한다. 즉 헤미셀룰로오스 회수율을 최대화하기 위해서는 반응온도, 산 농도, 반응시간을 최적화해야 한다. 통계적인 방법을 사용하여 최적화하면 실험횟수를 줄일 수 있는 이점이 있으나 산 농도, 반응온도, 그리고 반응시간이 상호 보완적이어서 최적점이 하나가 아니고 여러 개가 될 수 있어 최적화 방법으로 적합하지 않다[17].

일반적으로 셀룰로오스 또는 헤미셀룰로오스는 산 촉매하에서 다음과 같은 반응경로에 의해 가수분해된다.



이와 같은 연속반응 경로는 실제 복잡한 경로를 단순화시킨 것이다[11]. 반응 초기에는 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스가 산에 의해 무작위로 가수분해되어 glucose, xylose, mannose, galactose, arabinose와 같은 단당류로 전환된다. 이들 단당류는 다시 분해되어 furfural, hydroxymethyl furfural, levulinic acid, formic acid 등과 같은 물질로 바뀐다. 이론적으로는 이들 반응이 연속해서 일어나지만 실제적으로는 단당류의 생성과 분해가 동시에 진행되고 이 때문에 산 가수분해 방법에서 단당류의 생성을 최대화하기 위해 많은 연구가 수행되었다. 또한 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스 모두 구조적 또는 성분적으로 균일한 물질이 아니기 때문에 일부는 쉽게 가수분해되나 나머지 부분은 같은 조건에서 쉽게 가수분해되지 않는다. 그래서 반응 초기에는 산농도[7] 또는 반응온도[6]를 낮추어서 출발하여 반응 중간에 높은 조건으로 바꾸어 단당의 생성은 최대화하고 분해는 최소화하는 연구가 수행되었다.

예비실험을 거쳐 산 농도는 1~3%, 반응온도는 140~150°C를 선택하였다. 선행연구 결과 기질입자가 40 mesh 내외의 기질을 산 용액에 10시간이상 침지시키면 헤미셀룰로오스

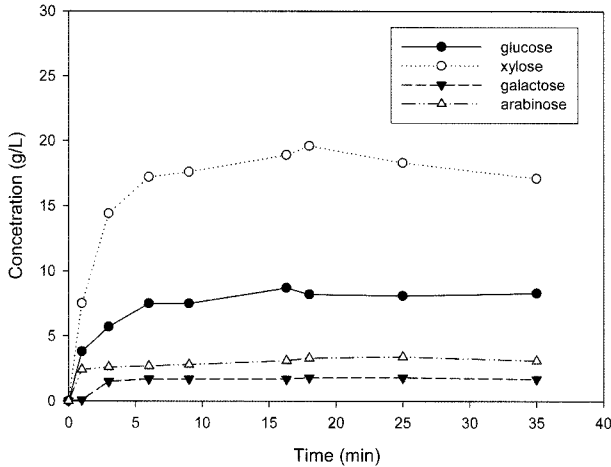


Fig. 1. Time progression of glucose, xylose, galactose, and arabinose produced from rice straw at 140°C and 3% acid concentration.

회수율에 별 영향이 없다고 밝혀져 15시간정도 침지시켰다 [9]. Fig. 1은 140°C, 3%에서 반응시간에 따른 glucose, xylose, galactose, arabinose의 수율변화를 나타낸 그림이다. 셀룰로오스의 가수분해물인 glucose 수율은 초기 3분내 약 12%로 빠르게 증가하고 이후 증가속도가 감소하여 16~18분에 최고점에 도달한 후 다시 완만하게 감소하는 추세를 보였다. 이 같은 glucose의 분해현상은 높은 반응조건에서 보다 뚜렷하게 나타났다. 셀룰로오스는 무정형과 결정형의 두 가지 결합으로 이루어져 있는데 반응 초기에는 결정형에 비해 훨씬 분해되기 쉬운 무정형의 셀룰로오스가 먼저 분해되기 때문에 초기에 glucose가 빠른 속도로 생성되는 것으로 생각된다[4]. 이후 남아있는 무정형 셀룰로오스 양이 줄어들기 때문에 glucose 생성속도가 점점 감소하여 glucose 수율이 최고점에 도달한 후 감소한다. 이것은 이 조건에서 대부분의 결정형 셀룰로오스가 가수분해되기에는 반응조건이 충분하지 않다는 것을 의미하고 결정형 셀룰로오스로부터 glucose가 생성되는 속도보다 생긴 glucose가 분해되는 속도가 더 크기 때문에 최고점에 도달한 후 감소하는 것으로 생각할 수 있다. 여기서 자료를 제시하지 않았지만 다른 반응 조건에서도 glucose 최고수율은 18% 이내로 거의 비슷하여 결정형 셀룰로오스는 가수분해되기 쉽지 않음을 알 수 있다.

일반적으로 헤미셀룰로오스는 셀룰로오스보다 훨씬 쉽게 가수분해되기 때문에 전처리공정에서 대부분의 헤미셀룰로오스를 제거하고 남은 셀룰로오스는 효소 당화하는 것이 일반적인 바이오에탄올 생산을 위한 전처리방법이다. 이 방법을 사용하는 다른 이유는 현재까지 헤미셀룰로오스로부터 생산된 xylose와 셀룰로오스로부터 생산된 glucose를 동시에 발효할 수 있는 상업화된 균주가 없기 때문이다. Xylose는 glucose와 마찬가지로 초기 3분내 수율이 60%에 도달하고 이후 천천히 증가해서 16~18분 사이에 최고점에 도달한다.

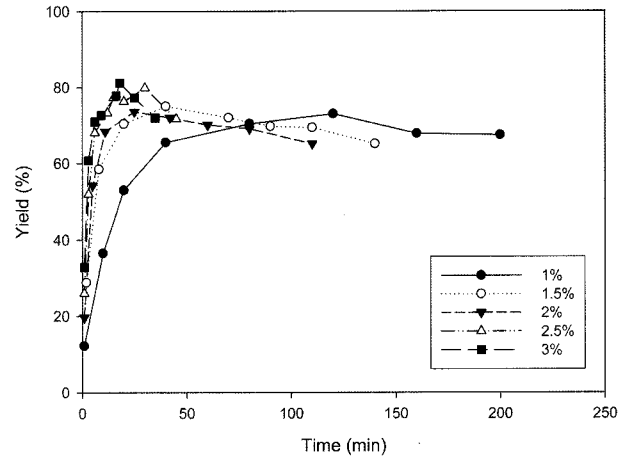


Fig. 2. Effect of acid concentration on hemicellulose sugar yield at 140°C.

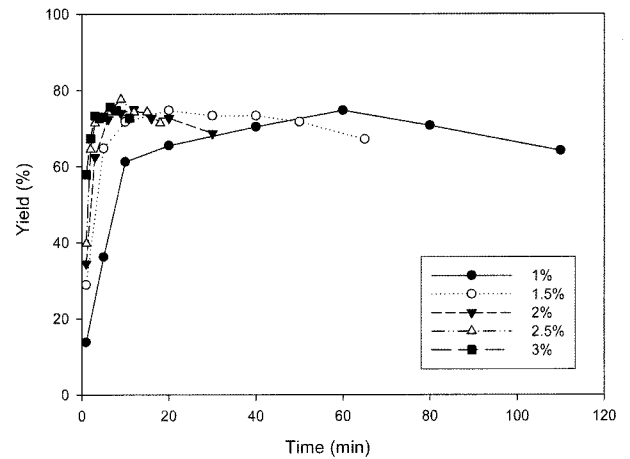


Fig. 3. Effect of acid concentration on hemicellulose sugar yield at 150°C.

이후 생성된 xylose는 glucose 분해속도보다 빠른 속도로 분해됨을 알 수 있다. galactose는 초기 3분내 약 66%, 그리고 arabinose는 초기 1분내 58%에 도달하고, 이후 수율 변화는 거의 없다. 이런 결과를 고려할 때 arabinose가 4종류의 당 중에서 가장 빠르게 가수분해되는 것으로 생각할 수 있다. 그리고 Fig. 1에서 최고점에 도달한 후 분해되는 기율기를 비교해 보면 xylose가 가장 잘 분해되는 것을 알 수 있다.

헤미셀룰로오스당 수율

Glucose를 제외한 xylose, galactose, arabinose의 합을 헤미셀룰로오스라고 부름이라고 할 수 있어 헤미셀룰로오스당 수율변화를 Fig. 2와 3에 나타내었다. Fig. 2는 140°C, Fig. 3은 150°C의 결과인데 산 농도나 온도가 증가하면 헤미셀룰로오스당 생성속도가 커지는 것을 알 수 있다. 또한 반응 초기 헤미셀룰로오스당 생성속도가 굉장히 컸고 최고 값 근처에 도달한 후 서서히 감소하는 것을 알 수 있다. 이

것은 목질계와 같은 섬유질 기질에 나타나는 전형적인 현상인데 [9, 11] 벚짳과 같은 초본계 기질에도 이런 현상이 뚜렷하게 나타났다. 그래서 헤미셀룰로오스당의 생성과 분해반응을 앞서 논의한 2개의 연속 1차 반응속도식으로 표시할 수 없어 다음과 같이 쉽게 가수분해되는 헤미셀룰로오스와 가수분해가 쉽지 않은 헤미셀룰로오스 두 부분으로 구성되어 있다고 가정하여 2개의 평행 1차 반응속도식을 사용하여 생성 반응속도론을 조사해 왔다 [11].

hemicellulos fraction  
easy to hydrolyze ↘  
monomeric sugars → decomposition products  
hemicellulose fraction ↗  
difficult to hydrolyze

반응속도론을 조사하기 위해서는 헤미셀룰로오스에서 가수분해가 잘되는 부분의 분율을 알아야 하는데 이것은 기질의 종류와 반응조건에 따라 다르게 나타나기 때문에 결정하기가 쉽지 않다. 그리고 헤미셀룰로오스가 분해되는 속도도 따로 조사해야 하기 때문에 복잡한 과정이 필요하다. 이런 것들이 알려지면 통계적인 방법을 사용해 분율을 결정할 수 있는데 대략 60~80%사이로 알려져 있다 [11]. 이 연구에서는 실험적으로 최적조건을 찾는 것이 목적이므로 속도론에 대한 연구는 차후 진행할 예정이다.

Fig. 2와 3에 나타난 최고수율은 실험값들이 겹쳐 알아보기 힘들기 때문에 따로 표를 만들어 비교하였다 (Table 1). 같은 온도에서 산 농도가 증가하면 최고 수율은 150°C, 3%경우를 제외하고 증가되나, 같은 산 농도에서 온도를 증가하면 최고 수율은 대체로 증가되지 않는다. 이것은 온도가 증가되면 실제적으로는 헤미셀룰로오스가 더 많이 가수분해되지만 온도 증가에 따른 생긴 단당의 분해반응속도가 생성반응속도보다 더 크기 때문에 생기는 결과라고 생각한다. 그

**Table 1. Optimum time range and expected yield of hemicellulose sugars.**

Temp (°C)	Acid <sup>1</sup> (% wt)	Optimum time (min)	Expected yield <sup>2</sup> (%)
140	1.0	80-100	70-74
	1.5	20-70	70-75
	2.0	20-42	72-74
	2.5	15-30	77-80
	3.0	16-25	77-82
150	1.0	40-80	70-75
	1.5	20-40	73-75
	2.0	6-20	72-75
	2.5	6-15	74-78
	3.0	5-8	73-76

1. Acid concentration accounts for dilution effect from moisture contained in substrate.
2. Yield = weight % of component sugar recovered/original content of component sugar.

리고 산 농도나 반응온도가 증가하면 최고 수율에 도달하는 반응시간은 상당히 줄어든다. 헤미셀룰로오스당 최고수율은 140°C, 2.5%와 3.0%일 때가 가장 높았는데 이것은 앞서 설명한대로 140°C보다 150°C에서 헤미셀룰로오스당이 더 많이 생겼으나 생긴 양 이상 분해되었기 때문이다. 그러나 전반적으로 각 조건에서 얻어진 최고 수율은 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 산 농도를 낮추고 반응온도를 올리면 에너지 소비가 커지고, 가수분해반응보다 당 분해반응이 온도에 더 민감하기 때문에 [9] 낮은 온도를 사용하는 것이 더 유리하여 140°C, 2.5%가 최적조건이라고 판단되고 이 조건에서 반응시간 20분정도에 약 80%의 수율에 도달할 수 있다. 이와 같은 수율은 같은 벚짳을 기질로 사용하여 15 bar, 10 분, 황산 0.5%의 반응조건에서 80.8%의 헤미셀룰로오스를 회수하였다고 발표한 결과와 일치한다 [5]. 이 같은 사실로부터 묶은 황산을 사용하는 방법에서 어떤 반응조건을 사용하더라도 벚짳으로부터 80%이상의 헤미셀룰로오스를 회수하기가 쉽지 않음을 알 수 있다. 다른 논문에서 발표된 초본성 기질을 사용한 전처리 공정의 목적이 헤미셀룰로오스당 수율을 높이기보다 효소에 의한 셀룰로오스 당화율을 높이는 데 목적이 있었기 때문에 헤미셀룰로오스당 수율이 70%이하로 낮은 편이다 [18, 21]. 그러나 목질계 전처리공정에서 황산을 사용해 헤미셀룰로오스 최대 수율이 약 85%내외이어서 벚짳과 같은 초본계 기질도 수율을 좀 더 높일 수 있는 방법에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

**요 약**

회석 황산용액을 사용해 벚짳을 전처리했는데 반응조건은 2개의 반응온도(140, 150°C)와 5개의 황산농도(1.0~3.0 %wt)를 사용했다. 벚짳을 구성하는 주요성분인 glucose, xylose, galactose와 arabinose의 생성과 분해속도를 조사했는데 생성속도는 arabinose, 분해속도는 xylose가 가장 컸다. 헤미셀룰로오스당 (xylose+galactose+arabinose)의 최고수율은 약 80%이었는데 최고수율에 도달하는데 산 농도가 높은 것은 유리하지만 반응온도가 높은 것은 불리하게 나타났다. 최적조건은 140°C, 2.5%와 20분이었다. 최고 glucose 수율은 반응조건에 관계없이 거의 같았는데 대략 16~18% 범위였다.

**REFERENCES**

1. 소규호. 2009. 바이오에너지 마을 조성을 위한 제반조건 및 추진전략. Bioin 스페셜 zine. 11 호.
2. Bak, J. S., J. K. Ko, Y. H. Han, B. C. Lee, I.-G. Choi, and K. H. Kim. 2009. Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment, *Bioresour. Technol.* **100**: 1285-1290.
3. Dale, B. E., J. Weaver, and F. M. Byers. 1999. Extrusion

- processing for ammonia fiber explosion (AFEX). *Appl. Biochem. Biotechnol.* **77-79**: 1-11.
4. Fan, L. T., M. M. Gharapuray, and Y.-H. Lee. 1987. *Cellulose Hydrolysis*. pp.5-20. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
  5. Karimi, K., S. Kheradmandina, and M. J. Taherzadeh. 2006. Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass Bioenergy*. **30**: 247-253.
  6. Kim, B. J., Y. Y. Lee, and R. Torget. 1994. Modified percolation process in dilute-acid hydrolysis of biphasic hemicellulose. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **45/46**: 113-129.
  7. Kim, S. B., D. M. Yum, and S. C. Park. 2000. Step-change variation of acid concentration in a percolation reactor for hydrolysis of hardwood hemicellulose. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **72**: 289-294.
  8. Kim, S. B and J. W. Chun. 2004. Enhancement of enzymatic digestibility of recycled newspaper by addition of surfactant in ammonia-hydrogen peroxide treatment. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **113-116**: 1023-1031.
  9. Kim, S. B., S. J. Kim, D. M. Yum, and S. C. Park. 1997. Kinetics in dilute acid hydrolysis of woody hemicellulose. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **12(4)**: 402-409.
  10. Kim, S. B. and Y. Y. Lee. 1996. Fractionation of herbaceous biomass by ammonia-hydrogen peroxide percolation treatment. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **57/58**: 147-156.
  11. Kim, S. B. and Y. Y. Lee. 1987. Kinetics in acid catalyzed hydrolysis of hardwood hemicellulose. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* No.17: 71-84.
  12. Kuo, C.-H. and C.-K. Lee. 2009. Enhanced enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse by N-methylmorpholine-N-oxide pretreatment. *Bioresour. Technol.* **100**: 866-871.
  13. Ma, H., W.-W. Liu, X. Chen, Y.-J. Wu, and Z.-L. Yu. 2009. Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment. *Bioresour. Technol.* **100**: 1279-1284.
  14. McMillan, J. D. (1992) Processes for pretreating lignocellulosic biomass: a review. NREL/TP-421-4978. NREL. Golden. CO.
  15. National Renewable Energy Laboratory, Standard Biomass Analytical Procedures. [www.nrel.gov/biomass/analytical\\_procedures.html](http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html).
  16. Schwietzke, S., M. Ladisch, L. Russo, K. Kwant, T. Makinen, B. Kavalov, K. Maniatis, R. Zwart, G. Shahnan, K. Sipila, P. Grabowski, B. Telenius, M. White, and A. Brown. 2008. Analysis and identification of gaps in research for production of second-generation liquid transportation biofuels. Task 41. Project 2. IEA Bioenergy.
  17. Shin, H. J, C.-J. Kim, and S. B. Kim. 2007. Optimization of culture medium for rifamycin SV production by *Amycolatopsis mediterranei* MM2 using statistical designs. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **12**: 457-461.
  18. Sun, F. and H. Chen. 2008. Enhanced enzymatic hydrolysis of wheat straw by aqueous glycerol pretreatment. *Bioresour. Technol.* **99**: 6156-6161.
  19. Sun, F. and H. Chen. 2007. Evaluation of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by atmospheric glycerol autocatalysis. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **82**: 1039-1044.
  20. Wyman, C. E., B. E. Dale, R. T. Elander, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee. 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresour. Technol.* **96**: 1959-1966.
  21. Xu, Z., Q. Wang, Z. Jiang, X. Yang, and Y. Ji. 2007. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw. *Biomass Bioenergy*. **31**: 162-167.
  22. Yan, L., H. Zhang, J. Chen, Z. Lin, Q. Jin, H. Jia, and H. Huang. 2009. Dilute sulfuric acid cycle spray flow-through pretreatment of corn stover for enhancement of sugar recovery. *Bioresour. Technol.* **100**: 1803-1808.
  23. Yat. S. C., A. Berger, and D. R. Shonnard. 2008. Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass. *Bioresour. Technol.* **99**: 3855-3863.
  24. Zhu, J. Y., X. J. Pan, G. S. Wang, and R. Gleisner. 2009. Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine. *Bioresour. Technol.* **100**: 2411-2418.

(Received May 25, 2009/Accepted Aug. 7, 2009)