

**LIGNOSELLULOOSAN HAPPAMASSA
ESIKÄSITTELYSSÄ POISTUVAT
HIILIHYDRAATIT**

Lisensiaattitutkielma
Jyväskylän yliopisto
Kemian laitos
Soveltavan kemian osasto
28.06.2013
Virpi Rahikkala

TIIVISTELMÄ

Tämän lisensiaattitutkielman kirjallisessa osassa esitettiin kuvaus biomassoista, (lignoselluloosamateriaalit) ja niihin pohjautuvien jalostettujen polttoaineiden tuotannon haasteista ja kustannuksta sekä tarkasteltiin biomassaraaka-aineiden esikäsittelymenetelmiä. Tarkastelun pohjana oli Suomen kasvuoloissa yleisimpien lingoselluloosamateriaalien, havu- ja lehtipuun sekä ruokohelpin, soveltuminen bioetanolituotantoon niin integroituna perinteisen sellutehtaan yhteyteen kuin myös omana erillisenä tuotantonaan.

Tutkielman kokeellisessa osassa analysoitiin eri esikäsittelymenetelmien, laimean ja väkevän rikkihappokäsittelyn sekä vesikäsittelyn vaikutusta tuotetun hydrolysaatin koostumukseen bioetanolituotannon keskeisimpien komponenttien, hiilihydraattien ja inhibiittorien, osalta. Tarkoituksena oli löytää bioetanolituotantoon sopivin yleinen lignoselluloosamateriaali sekä tälle edullisin esikäsittelymenetelmä.

Työn tulokset tukivat yleistä käsitystä eri esikäsittelyliuottimien vaikutuksesta esikäsittelyn onnistumiseen ja eri komponenttien saantoihin. Väkevällä rikkihapolla tehtävän esikäsittelyn havaittiin olevan tehokas menetelmä, mutta se asettaa suuret vaatimukset tuotantolaitteistolle. Samoin laimean rikkihapon avulla suoritettava esikäsittely yhdistettynä korkeaan lämpötilaan tai pitkään käsittelyaikaan ei edustanut käyttökelpoista vaihtoehtoa itse raaka-aineelle aiheuttavan haitallisen vaikutuksensa takia. Tutkituista lignoselluloosamateriaaleista potentiaalisimmaksi raaka-aineeksi osoittautui ruokohelpi ja esikäsittelymenetelmistä laimea rikkihappo lyhyellä käsittelyajalla. Mikäli kyseinen yhdistelmä saavuttaisi teollisen tuotannon kriteerit, on siihen liittyvää tutkimusta kuitenkin vielä laajennettava erityisesti pyrittäessä maksimaaliseen hiilihydraattisaantoon.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	i
SISÄLLYSLUETTELO	ii
ESIPUHE	iv
<u>KIRJALLINEN OSA</u>	1
1 JOHDANTO	2
1.1 Kasvihuonekaasujen vähentäminen	3
1.2 Kasvatat kansainväliset polttoainemarkkinat	4
1.3 Kiinteän jätteen hävittäminen	5
1.4 Orgaanisten yhdisteiden ja nestemäisten polttoaineiden kestävä tuotanto	6
1.5 Ilmaston ja vesistöjen saastuminen	6
2 ETANOLITEKNOLOGIA – valmistusprosessi lyhyesti	8
2.1 Ligniipitoinen biomassa	10
2.2 Entsymaattinen valmistus	10
2.3 Taloudellisuusnäkökohdat	13
3 BIOETANOLITEKNOLOGIAN KAUPALLISTAMISEN	15
HAASTEET	15
3.1 Raaka-aineen laatu	16
3.2 Raaka-ainelähteet	16
3.3 Sivutuotteet	19
3.4 Jätteet	20
3.5 Biomassan koostumuksen ja rakenteen vaikutus hydrolyysiin	20
3.6 Puumateriaali	21
3.6.1 Rakenne	22
3.6.2 Partikkelikoko	25
4 PUUN ESİKÄSITTELY	25
4.1 Esikäsitteilyn merkitys	26
4.2 Fysikaaliset menetelmät	28
4.2.1 Mekaaninen jauhatus	28
4.2.2 Pyrolyysi	29
4.3 Fysikaaliskemialliset menetelmät	29
4.3.1 Höyryräjäytys (autohydrolyysi)	30
4.3.2 Ammoniakkiräjäytys (AFEX)	31
4.3.3 CO ₂ -räjäytys	31
4.4 Kemialliset menetelmät	32
4.4.1 Otsonolyysi	32
4.4.2 Happohydrolyysi	32
4.4.2.1 Lämpivirtausmenetelmä	34
4.4.2.2 Höyrymenetelmä	35
4.4.3 Alkalinen hydrolyysi	35
4.4.4 Organosolv-menetelmä	36
4.4.5 Vesiesikäsitteily	37
4.5 Biologiset menetelmät	39
5 JATKOKÄSITTELY	39
5.1 Entsymaattinen hydrolyysi	40
5.2 Happohydrolyysi	41
5.2.1 Väkevä happo	42
5.2.2 Laimea happo	43
5.2.3 Jälkikäsitteily	44

6	ALKOHOLIT POLTTOAINEENA	45
7	YHTEENVETO	47
	<u>KOKEELLINEN OSA</u>	49
8	TYÖN TARKOITUS	50
9	TARVIKKEET JA OHJELMISTOT	51
10	REAGENSIT JA LIUOTTIMET	52
11	KUUMAVESIKÄSITTELY	52
11.1	Paineajan määrittäminen	53
11.2	Hakkeiden kuumavesikäsitteily sarjakeittimellä	53
11.3	Kuumavesikäsitteily eräkeittimellä	54
12	RIKKIHAPPOESIKÄSITTELY	54
13	RAAKA-AINEEN VALMISTELU	56
13.1	Seulonta	57
13.2	Hakkeen kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen	57
14	ANALYYSIT	58
14.1	Uuteaineiden gravimetrinen määrittäminen	58
14.2	Ligniinipitoisuuden määrittäminen	59
14.2.1	Klason–ligniini	59
14.2.2	Rikkihappoon liukeneva ligniini	60
14.3	Hiilihydraattipitoisuuden määrittäminen massoista	60
14.4	Hiilihydraattipitoisuuden määrittäminen liuoksista	61
14.4.1	GC–analyysi	61
14.4.2	IC–analyysi	63
14.5	Inhibiittoreiden analysointi	64
14.5.1	Furfuraali ja HMF	64
14.5.2	Haihtuvat hapot	64
14.5.2.1	IC–analyysi	64
14.5.2.2	GC–analyysi	65
14.6	Liuoksen pH, tiheys ja kuiva-aine	66
15	TYÖN TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	66
15.1	Raakahake	67
15.2	Vesiesikäsitteily	68
15.2.1	Massat	68
15.2.2	Liuokset	69
15.3	Väkevä rikkihappoesikäsitteily	73
15.3.1	Massat	74
15.3.2	Liuokset	76
15.3.2.1	Väkevä rikkihappoesikäsitteily	76
15.3.2.2	Laimea rikkihappoesikäsitteily	80
16	YHTEENVETO	89
	LÄHDELUETTELO	91
	LIITTEET	110

ESIPUHE

Tämä lisensointityön kokeellinen osuus tehtiin 02.02.2008 – 30.06.2010 välisenä aikana Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen soveltavan kemian osastolla. Työn kokeellinen osuus kuului osin kahteen erilliseen projektiin: Biojalostamosellutehdas (BISE, Tekes-rahoitus) ja Esihydrolyysissä poistuvat hiilihydraatit (Suomen Akatemian rahoitus). Kirjallinen osuus tehtiin myös pääosin yllämainitulla ajanjaksolla, mutta työ saatettiin lopulliseen muotoonsa tätä myöhemmin.

Työn kirjallisessa osassa pyrittiin antamaan lukijalle mahdollisimman laaja ja kattava kuvaus bioetanoli-prosessin haasteista ja mahdollisuuksista, tarkasteltiin erilaisia esikäsittelymenetelmiä ja raaka-aineita sekä käsiteltiin fermentointia. Kokeellisessa osassa tutkittiin valittujen esikäsittelymenetelmien avulla raaka-aineita, joilla saavutettiin mahdollisimman suuri liukoisten hiilihydraattien saanto sekä analysoitiin hydrolysaateissa esiintyvät sivutuotteet.

Työn lähdemateriaali haettiin pääosin tietokannasta Science Direct. Muilta osin se hankittiin yleisesti Internetistä saavutettavissa olevista sivustoista, käsittäen mm. kasvien ja puiden sekä yhdisteiden kuvat.

Kiitokset tästä työstä osoitan yleisesti koko Jyväskylä yliopiston soveltavan kemian osastolla työskenteleville saamastani tuesta ja avusta sekä hillittömästä asenteesta ja hurtista huumorista koko osastolla viettämänäni aikana; ilman teitä tämä työ ei olisi ollut mahdollista saada valmiiksi. Erityiskiitokset työn kuuluvat ohjaajalleni professori Raimo Alénille työn ohjauksesta ja suunnittelusta, laboratoriomestareille, Arja Mäkelä ja Hannu Salo, esikäsittelymenetelmien käytännön suunnittelusta ja avusta toteutuksessa sekä laboratorioinsinööri Jukka Pekka Isoaholle ja tutkijatohtori Hannu Pakkaselle käytännön avusta analyysilaitteistojen kanssa sekä kahvipöytäkeskusteluista.

Vlaardingen, Hollanti 28.06.2013

Virpi Rahikkala

LYHENTEET JA VIERASPERÄISET SANAT

A	Absorbanssi
a	Absorptiviteetti
ACN	Asetonitriili
ACOS	Acid-catalyzed organosolv process
AFEX	Ammonia fiber expansion
ARP	Ammonia recycle percolation
a _x	Pinta-ala
BSFTA	<i>N,O</i> -bis(trimetyylisilyyli)trifloroasetamidi
c	Konsentraatio
CL	Genencor Cytolaasi
DMSO	Dimetyylisulfoksidi
E85	Alkoholipolttoainesekoitus (<85% etanolia ja >15 % bensiiniä)
ED	Elektrodialyysi
ETBE	Etyyli- <i>tert</i> -butyylietteri
EU	Euroopan Unioni
FID	Flame ionization detector
GC	Gas chromatography
HMF	5-(hydroksimetyyli)furfuraali
HPLC	High performance liquid chromatography
IC	Ion chromatography
IR	Infrared
kpl	Kappale
m	Massa
MQ	MilliQ-vesi
MTBE	Metyyli- <i>tert</i> -butyylietteri
N	Normaalisuus (mol/L)
NA	Not available
ND	Not determined
NREL	National Renewable Energy Laboratory
OPEC	Organization of the Petroleum Exporting Countries
p <i>K</i> _a	Logaritminen happovakio
ppm	Parts per million

PVDF	Polyvinylideenifluoridi
R	Responsikerroin
SHF	Separate hydrolysis and fermentation
SRIC	Short rotation intensive culture
SSCF	Simultaneous saccharification and co-fermentation
SSF	Simultaneous saccharification and fermentation
T	Lämpötila
TAE	<i>tert</i> -amyylieetteri
TAME	<i>tert</i> -amyylimetyylieetteri
TBA	Tetrabuttyliammonium
TBAH	Tetra- <i>n</i> -buttyliammoniumhydroksidi
TMCS	Trimetyylisilylikloridi
UHQ	Ultra high quality
USA	United States of America
UV/VIS	Ultraviolet-visible
V	Tilavuus

KIRJALLINEN OSA

1 JOHDANTO

Etanolin valmistaminen lignoselluloosamateriaaleista, kuten maa- ja metsätalouden korjuujätteistä, luo mahdollisuudet ympäristöystävällisiin ja taloudellisiin etuihin. Viimeisten vuosikymmenien aikana biomassasta valmistetun etanolin hinta on vähitellen laskenut ja etanoli on tällä hetkellä kilpailukykyinen bensiiniin sekoitettuna. Avainasemassa kustannusten alenemisessa ovat olleet biomassojen happohydrolyysin esikäsittelymenetelmien kehittyminen ja toisaalta esimerkiksi viisihiilisten sokereiden entistä tehokkaampi konvertointi etanoliksi. Jatkuvalle kehitykselle on mahdollista alentaa bioetanolin hinta tasolle, jossa hinta on kilpailukykyinen verrattuna perinteisiin polttoaineisiin ilman ulkopuolista taloudellista tukea, kuten verohelpotuksia.

Biomassojen entsyymattiseen hydrolyysiin vaikeuttavat selluloosan kiteisyys, sen vaikuttava pinta-ala, ligniini ja selluloosaa ympäröivä hemiselluloosavaippa. Biomassojen esikäsittelytekniikoihin vaikuttavat lukuisat kemialliset ja fysikaaliset tekijät. Esikäsittelyteknologian kehittämistä tarvitaan puolestaan biomassojen ainutlaatuisten ominaisuuksien vuoksi ja kustannusten minimoimiseksi. Eri menetelmien lopullisena tavoitteena on tuottaa lignoselluloosasta useita lisäarvoa tuovia tuotteita pitoisuuksina, jotka tekevät niiden puhdistuksen, käytön ja/tai hyödyntämisen taloudellisesti mahdollisiksi. Esikäsittelyn aikana tapahtuvien kemiallisten ja fysikaalisten ilmiöiden sekä kemiallisen koostumuksen ja lignoselluloosan fysikaaliskemiallisen rakenteen välisen suhteen perusteellinen ymmärtäminen on kuitenkin välttämätöntä, jotta pystytään kehittämään tehokkaita menetelmiä selluloosan ja hemiselluloosien hydrolysoimiseksi mm. entsyymien avulla. Ennakoivien esikäsittelymallien avulla voidaan valita, suunnitella ja optimoida kullekin biomassaraaka-aineelle sopiva esikäsittelymenetelmä ja prosessitoteutus.

Biomassasta jalostettujen polttoaineiden tuotannon laajentaminen on vaikeaa, sillä polttoainetuotanto joutuu kilpailemaan raaka-aineesta nykykäytön kanssa. Vaikka periaatteessa EU:ssakin syntyy maataloustuotteiden ylijäämiä, kyseessä on myös jonkinasteinen eettinen valinta: voidaanko ihmisravinnoksi kelpaavaa raaka-ainetta käyttää polttoaineiden valmistukseen, vai pitääkö se suunnata ravinnon puutteesta kärsivien avustamiseen. Suomessa mainittujen peltotuotteiden kohdalla ei kuitenkaan esiinny ylijäämää ja elintarvikekäyttöön soveltuvista peltotuotteista noin puolet ravintokulutuksesta (rypsinsiemen ja eri viljat) joudutaan tuomaan ulkomailta. Metsäteollisuuden

sivutuotteita ja metsätähteitä taas halutaan mieluummin käyttää sähköntuotannossa, koska tällä tavoin tuotettu ”vihreä sähkö” nauttii EU:ssa verotukea. Todella laajaksi nouseva metsäpohjaisesta raaka-aineesta polttoainetta tuottava teollisuus joutuisi myös raaka-aineista johtuvaan kilpailutilanteeseen perinteisen puunjalostuksen eli sellu- ja paperiteollisuuden kanssa.

Miksi bioetanolin valmistaminen lignoselluloosamateriaalista olisi maailmantaloudellisesti kannattavaa? Minkä vuoksi kyseistä materiaalia kansainvälisestikin laajalti tutkitaan ja se on suuren kiinnostuksen kohde? Tässä tarkastelussa pyritään antamaan vastauksia näihin kysymyksiin.

1.1 Kasvihuonekaasujen vähentäminen

Bioetanolin ehkä ainutlaatuisin ominaisuus on sen erittäin alhainen kasvihuonekaasujen emissio, verrattuna erityisesti muiden liikennepolttoaine-vaihtoehtojen vastaavaan emissioon. Lisäksi etanolin valmistuksessa muodostuvat kiinteät jätteet voidaan polttaa tai kaasuttaa tuotantolaitoksen lämmön ja muun energian lähteiksi, jolloin fossiilisia polttoaineita ei vaadita tuotannon ylläpitämiseen.¹ Useat lignoselluloosaa sisältävät materiaalit eivät tarvitse suuria määriä lannoitteita tai viljelyä, jolloin biomassan tuotantoon sisällytettävän energian määrä minimoituu. Tuloksena on se, että suurin osa etanolin tuotannosta ja polttoaineen kokonaiskierrosta vapautuva hiilidioksidi voidaan sitoa takaisin kasvattamalla uutta biomassaa korjatun tilalle ja vapautuneen hiilidioksidin nettomäärä pysyy alhaisena.¹⁻⁴

Bioetanolin vaikutus kasvihuonekaasuemissioon voi olla erityisesti huomattava liikennepolttoaineissa, koska niitä pidetään suurimpana (noin kolmasosa kokonaisuudesta) kasvihuonekaasujen emissiota lisäävänä tekijänä.⁵ Etanoli on monipuolinen nestemäinen polttoaine, jota tällä hetkellä valmistetaan pääasiallisesti maissista ja muista tärkkelyspitoisista materiaalista. Ajoneuvot voivat käyttää jopa 85 %, (E85), etanoliseosta polttoaineena ja näiden autojen määrää pyritään tulevaisuudessa lisäämään. Lisäksi bioetanolin tuotantoteknologiaa kehittämällä pystytään kaupallistamaan ja lyhentämään etanolin valmistusprosessin aikaa. Kaiken kaikkiaan parhaimpana vaihtoehtona kasvihuonekaasujen vähentämiseen kaikista näkökulmista katsottuna on ole-

massa olevien infrastruktuurien yhdistäminen ja nopea käyttöönotto etanolin valmistamiseksi lignoselluloosapitoisesta biomassasta.

Vaikka tutkimukset⁶ osoittavat amerikkalaisten olevan huolissaan ilmastonmuutoksen eri näkökohdista, ei asialle ole vielä saatu suurempaa poliittista huomiota. Toisaalta suurin osa Eurooppaa, Kanada ja useat muut maat etsivät aktiivisesti ratkaisua kasvihuonekaasujen emission vähentämiseksi. Vastakohtaisesti USA:ssa on kiinnitetty perinteisesti paljon huomiota bioetanolin valmistukseen, kun sen valmistusta on muissa maissa alettu vasta viimeaikoina kehittämään.

Suomessa bioetanolin valmistukseen on kiinnitetty merkittävästi huomiota ja tuotantolaitoksia on jo rakennettu. Bioetanolin valmistuksessa on kotimaassa käytetty mm. leipomojätteitä ja viljaa, mutta vuonna 2002 ratifoidun Kioton sopimuksen tavoitteisiin päästäkseen on muitakin raaka-ainevaihtoehtoja tutkittu ja aloitettu uusia tutkimushankkeita.

1.2 Kasvatvat kansainväliset polttoainemarkkinat

Uusiutuvien polttoaineiden sovelluksiin on kiinnitetty suhteellisen vähän huomiota, vaikka energian tarve kasvaa varsinkin kehitysmaissa.⁷ Kun nämä maat parantuvat elinolosuhteiltaan, asukaskohtainen energiavaatimus tulee kasvamaan ja siten todennäköisesti myös ajoneuvojen määrä tulee kasvamaan niin julkisissa kuin yksityisissä autoissakin. Haasteena sen sijaan onkin se, kuinka pystytään vastaamaan kasvavaan polttoaineen kulutukseen sen sijaa, että etsitään vastausta polttoaineen kulutuksen vähentämiseen. Lisäksi bioetanolia voidaan valmistaa maissa, joilla ei ole omia polttoainelähteitään ja siten vähentää näiden maiden kaupan alijäämää sekä kasvattamaan taloutta.

Uusien energialähteiden kehittäminen ja polttoöljyn käytön rajoittaminen on alkanut jo 1970-luvun loppupuoliskolla ”energiakriisin” aikaansaamana.⁸ Tätä energiakriisiä tulisi nimittää raakaöljykriisiksi, koska useat öljyntuottajamaat, erityisesti Keski-idässä muodostivat öljykartelli OPEC:n (Organization of the Petroleum Exporting Countries) ja siten kontrolloivat raakaöljyn laatua ja hintaa. Lisäksi kriisi koski lähinnä tuotannon säännöstelyä kuin tuotantoa. Energian hinta putosi, kiinnostus uusien energiamuotojen

kehittelyä kohtaan kuihtui ja hallituksen rahoittamat uusien energiamuotojen tutkimus- ja kehitystyöt väheni. Kiinnostavinta aikakaudessa oli se, että rahoitusta myönnettiin enemmän uusien sähköntuotantolähteiden kehittämiseen kuin uusiin liikennepolttoaineisiin. Tämä siitäkin huolimatta, että liikenne on melkein kokonaan riippuvainen raakaöljystä (>97 %), kun puolestaan muut energiasektorit ovat hyvin monipuolisia.⁵ Edellä mainitun kriisin toistuminen tai muunlaiset ongelmat raakaöljyn toimituksessa ja hinnassa, voisi lamaannuttaa nykypäivänä lähes koko liikenteen maailmanlaajuisesti.

On tärkeää, että etanoliksi valmistettavan lignoselluloosamateriaalin tuotanto on riittävä. Käytettävän raaka-aineen hankinta ei kuitenkaan saa kilpailla ruuaksi tuotettavan raaka-aineen kanssa tai olemassa olevan metsäalan hakkuilla, vaan tehtyjen tutkimuksien mukaan tarvittava biomassamäärä on täytettävissä myös erilaisten jätteiden muodossa.^{2,3} Lisäksi on mahdollista valmistaa sivutuotteena eläinten rehuksi kelpaavaa proteiinia ja siten biomassan tuotantoon käytettävä maa-ala on tehokkaassa käytössä.

1.3 Kiinteän jätteen hävittäminen

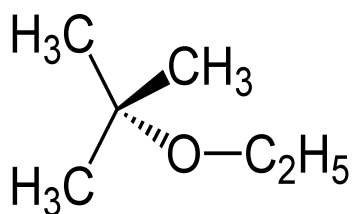
Jätteiden loppusijoitus on tullut entistä tärkeämmäksi kysymykseksi. Esimerkiksi monissa maissa ennen sallittu jätteiden poltto on nykyään kiellettyä, minkä lisäksi mm. sahojen valumavedet saastuttavat pohjavesiä samoin metsien hoitoon on kiinnitetty entistä enemmän huomiota. Harvennukset ja muut metsän hoitotavat estävät mm. puiden sairastumisia ja metsäpaloja säilyttäen silti metsien luonnollisen kasvutavan. Näistä ja monista muista mahdollisuuksista voidaan työstää biomassaa arvokkaiksi tuotteiksi, kuten etanoliksi, ja samalla saadaan ratkaisu kasvavaan jätepulmaan. Kyseinen näkökanta etanolin valmistuksessa on ollut aikaisemmin aliarvostettu ja siihen on uusissa tutkimushankkeissa kiinnitetty entistä enemmän huomiota.

1.4 Orgaanisten yhdisteiden ja nestemäisten polttoaineiden kestävä tuotanto

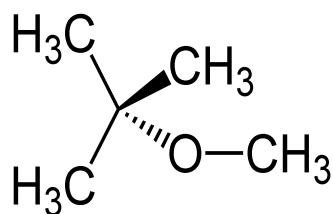
Kuten aikaisemmin mainittiin, pääasiallisesti (noin 97 %) kuljetuspolttoaineesta tuotetaan petrolista. Suurin osa orgaanisista kemikaaleista on petrolin lisäksi tuotettu muistakin uusiutumattomista raaka-aineista.⁵ Tämä yksipuolisuus on osoitus petrolille sopivien teknologisesti ja taloudellisesti houkuttelevien vaihtoehtojen puutteesta. Uusiutuvista luonnonvaroista kasvibiomassaa voidaan muuntaa nestemäiseksi polttoaineeksi sekä lukemattomiksi kemikaaleiksi elintarviketeollisuuden lisäaineiksi. Kyseinen ainutlaatuinen biomassan ominaisuus korostaa kehitystyön tärkeyttä täyttämään sekä polttoaineteollisuuden että kemikaaliteollisuuden tarpeita. Toisaalta, vaikka biomassaa voidaan muuntaa myös sähköksi, monet muut uusiutuvat energiamuodot (esim. fotosähköiset sekä tuuli- ja ydintekniikat) pystyvät täyttämään tätä tarvetta niiden kilpailematta toistensa kanssa muista käyttömuodoista. Biomassan hyödyntämisessä avainasemassa tulee olemaan kilpailukykyisten tuotteiden, kuten alkoholien, orgaanisten happojen ja luonnon polymeerien, kehittäminen. Nämä integroituvat toisiinsa samalla lailla kuin öljyyn pohjautuvien polttoaineiden, liuottimien ja muovien monimutkaiset perusrakenteet. Lisäksi biomassajohdannaisten hiilivetyjä parempi liukoisuus veden kanssa pitäisi lisätä näiden materiaalien ympäristöystävällisyyttä ja on siten erityisesti ”vihreän kemian” vahva todiste.

1.5 Ilmaston ja vesistöjen saastuminen

Bensiiniin sekoitettuna etanoli nostaa oktaanilukua ja tuottaa happea, jolloin palaminen on täydellisempää. Erityisesti vanhoissa kulkuneuvoissa pystytään näin täyttämään lisääntyvää polttoainetarvetta.^{2,3,9,10} Oktaaniluvun nostokyky vähentää lisäaineiden, kuten myrkyllisen ja usein karsinogeenisten bentseenin tai tetraetyylilyijyn, tarvetta. Hapentuottokyky puolestaan vähentää hiilimonoksidin ja palamattomien hiilivetyjen pakokaasupäästöjä. Hiilimonoksidia pidetään vakavana ongelmana useissa taajamissa ja käyttämällä etanolia — etanolin johdannaista etyyli-*tert*-butyylietteriä (ETBE, kuva 1) tai siihen rinnastettavaa yhdistettä, metanolin johdannaista metyyli-*tert*-butyylietteriä (MTBE, kuva 2) — saadaan hiilimonoksidipäästöjä vähennettyä. Näiden happikaasujen sanotaan vähentävän myös palamattomien hiilivetyjen pakokaasupäästöjä, jotka vaikuttavat otsonin määrään.



Kuva 1. ETBE:n ($C_6H_{14}O$)
rakennekaava.¹¹



Kuva 2. MTBE:n ($C_5H_{12}O$)
rakennekaava.¹²

MTBE ei ole biohajoava ja säilyy pitkään ympäristössä, mistä syystä sen terveysvaikutukset ovat kyseenalaisia.¹³ MTBE:n käyttöä on joissakin maissa vähennetty, koska pelätään sen imeytymistä pohjavesiin. Etanolin käytölle tällä seikalla ei ole suoranaista vaikutusta, koska sitä käytetään juomissa jo muutenkin. Kuitenkin ETBE:llä voi olla samanlaisia vaikutuksia kuin MTBE:llä. Taulukossa 1 on esitetty vertailua bioetanolin ja raakabensiinin välillä suhteessa kasviuonepäästöihin.

Taulukko 1. Kasviuonekaasupäästöt suhteessa raakabensiiniin¹⁰

Polttoaineen ainesosat	Muutos
MTBE (metyyli- <i>tert</i> -butyylietteri)	- 4 % → + 8 %
Etanoli: maissi ja hiili	- 35 % → - 0 %
Etanoli: maissi ja luonnonkaasu	- 40 % → - 10 %
Etanoli: maissi ja sen olki	- 60 % → - 40 %
Etanoli: selluloosa ja biomassa	- 100 % → - 70 %

Puhtaan etanolin suurimmat hyödyt koskevat ilman ja veden saastumista.¹⁴ Etanolin alhainen höyrynpaine (noin neljäsosa bensiinin höyrynpaineesta) ja sen huono fotokemiallinen reaktiivisuus vähentävät sen potentiaalia muodostaa otsonia. Lisäksi etanoli liukenee täysin veteen. Vaikka etanoli on vain kaksikolmasosaa bensiinin energiatiheystilavuudesta, moottorin säädöillä voidaan silti hyödyntää sen ylivoimaiset polttoaineominaisuudet (esim. korkea oktaanisuus ja höyrystymislämpö) ja saavuttaa yli 80 %:n taso verrattuna samaan määrään polttoainetta.¹⁴ Lupauksia on herättänyt myös etanolin käyttö polttokennoissa, joissa se on saavuttanut erittäin korkean hyötysuhteen ja erittäin alhaiset päästöt. Etanoli tarjoaa monipuolisen poltto- ja lisäaineen, joka haastaa suorituskyvyssä ja ominaisuuksissa bensiinin. On kuitenkin huomattava, että jatkuvaa bensiinin uudelleenformulointia on tehty sen kilpailukykyyn säilyttämiseksi ja vaihtoehtoisten polttoaineiden, kuten etanolin, etujen hämärtämiseksi.

2 ETANOLITEKNOLOGIA – valmistusprosessi lyhyesti

Lignoselluloosan jalostaminen etanoliksi käsittää neljä yksittäistä työvaihetta:¹⁵ esikäsittely, hydrolyysi, fermentointi ja tuotteen eristäminen/puhdistus. Esikäsittely vaaditaan muuttamaan biomassan niin makro- ja mikroskooppinen koko ja rakenne kuin kemiallinen koostumus ja rakenne siten, että hiilihydraattifraktion monomeeristen sokereiden hydrolyysi tapahtuu entistä nopeammin sekä suuremmilla saannoilla. Hydrolyysissä hiilihydraattien polymeeriset jakeet muuttuvat monomeerisiksi sokereiksi. Erilaisia selluloosapitoisen biomassan konversion prosessikonfiguraatioita on tutkittu laajasti. Selluloosan entsymaattinen hydrolyysi antaa kuitenkin suurimmat mahdollisuuden parantaa teknologiaan siten, että biomassaperäinen etanoli tulee olemaan kilpailukykyinen verrattuna muihin nestemäisiin polttoaineisiin suuressa mittakaavassa.

Selluloosa voidaan hydrolysoimalla hajottaa glukoosiksi joko sellulaasilla entsymaattisesti tai kemiallisesti rikkihapolla tai muilla vahvoilla hapoilla. Hemisellulaasit tai happohydrolyysi hajottavat myös hemiselluloosapolymeerit sokerikomponentteikseen. Glukoosi, galaktoosi ja mannoosi (kuusihiiliset sokerit, heksaanit) voidaan fermentoida helposti etanoliksi monilla luonnossa esiintyvällä organismilla, mutta viisihiiliset pentoosit (ksyloosi ja arabinoosi) fermentoituvat vain muutamilla luonnollisilla eliökannoilla ja yleensä saannot ovat pieniä. Vaikka pentoosit eivät ole helposti fermentoitavissa, ksyloosi voidaan muuntaa etanoliksi hiivoilla, kuten *Schizosaccharomyces pombe*, *S. cerevisiae*, *S. amucae* ja *Kluveromyces lactis*.¹⁶ Ksyloosia ja arabinoosia esiintyy yleensä huomattavina pitoisuuksina lehtipuissa, maatalousjätteissä ja ruohoissa (taulukko 2) ja ne tulisi hyödyntää, jotta biomassan prosessointi olisi taloudellista.¹⁷

Taulukko 2. Lignoselluloosamateriaalien prosentuaaliset^a kuiva-ainekoostumukset⁹

Raaka-aine	Glukaani (selluloosa)	Ksylaani (hemiselluloosa)	Ligniini
Maissin olki	37,5	22,4	17,6
Maissikuitu ^b	14,3	16,8	8,4
Mänty	46,4	8,8	29,4
Vehnän olki	38,2	21,2	23,4
Lännehirssi	31	20,4	17,6
Toimistopaperi	68,6	12,0	11,3

^a Koostumuksista puuttuvat vähäisemmät muiden hiilihydraattien pitoisuudet, jolloin yhteismäärä ei ole 100 %.

^b Sisältää myös tärkkelystä 23,7 p - %.

Bakteerien geneettinen modifiointi^{18,19} ja hiivat^{20,21} ovat tuottaneet kantoja, jotka pystyvät sekä pentoosien että heksoosien yhteisfermentointiin etanoliksi ja muiksi hyödynnettäviksi tuotteiksi suurilla saannoilla.

Entsyyminen hydrolyysi suoritettuna erillisenä fermentointivaiheena tunnetaan nimellä SHF (separate hydrolysis and fermentation). Jos selluloosan hydrolyysi suoritetaan fermentoivan mikro-organismien avulla, menetelmää kutsutaan lyhenteellä SSF (simultaneous saccharification and fermentation). Sekä selluloosan että hemiselluloosan yhtäaikaista sokeroitumista ja fermentoitumista glukoosiksi ja ksyloosiksi tunnetaan puolestaan lyhenteenä SSCF (simultaneous saccharification and co-fermentation) ja voidaan suorittaa geneettisesti suunnitelluilla mikrobeilla, jotka pystyvät fermentoimaan selluloosan glukoosin ja hemiselluloosan ksyloosin samasta liemestä. SSF- ja SSCF-menetelmiä pidetään toisistaan riippumattomina, yksittäisinä tapahtumina ja ne voidaan siten suorittaa samassa kasvatusalustassa, mikä puolestaan vähentää kustannuksia.²²

Etanoli otetaan talteen fermentointiliemestä tislamalla tai yhdistämällä tislauksella ja adsorptio.^{23,24} Jäännösligniini, reagoimaton selluloosa ja jäännöshemiselluloosat, tuhka, organismit ja muut yhdisteet päätyvät tislaukskolonnin pohjalle. Nämä materiaalit voidaan väkevöidä ja polttaa energiaksi tai muuntaa eri sivutuotteiksi.^{1,25,26}

2.1 Ligniinipitoinen biomassa

Vaikka kaupallisesti ei vielä pystytä hyödyntämään vaikeammin hajotettavaa biomassaa, etanolia voidaan valmistaa moninaisista lignoselluloosaa sisältävistä materiaaleista, kuten metsänhoidon ja maatalouden jätteistä, huomattavasta osasta kiinteästä jätteestä (esim. kierrätyspaperista ja puutarhajätteestä) sekä kasvinosista (esim. vehnän olki). Näiden raaka-aineiden saatavuus on huomattavasti suurempaa, kuin elintarviketuotantoon tarkoitettujen raaka-aineiden, jolloin biomassalla ei ole kilpailevaa käyttötarkoitusta. Biomassan sivutuotteiden odotetaan olevan yhteensopiva etanolintuotannon vaatimuksien kanssa, joten bioetanolilla voidaan vaikuttaa huomattavasti liikennepolttoainemarkkinoihin.

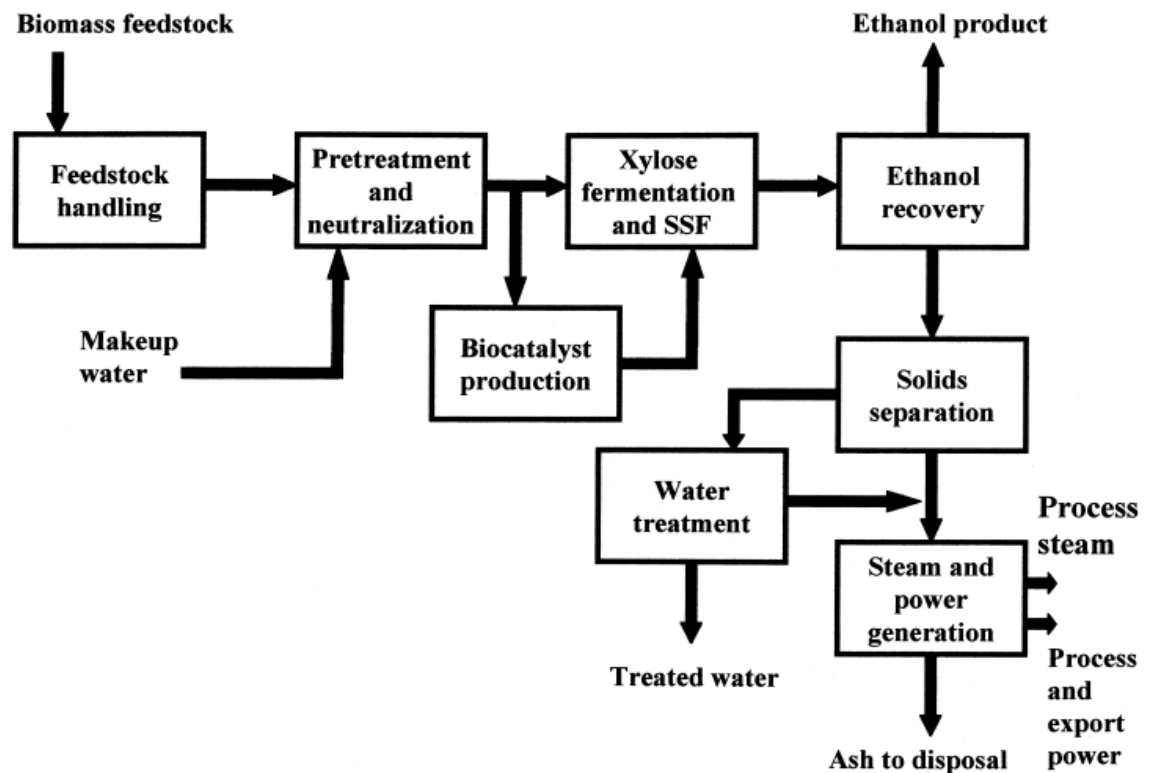
Biomassa on rakenteeltaan monimutkainen materiaali koostuen kolmesta suuresta orgaanisesta fraktiosta, joiden likimääräiset arvot ovat seuraavat perustuen materiaalin kuiva-ainepitoisuuteen:⁹ 35 – 50 % selluloosaa, 20 – 35 % hemisellulooseja ja 12 – 20 % ligniiniä. Biomassa sisältää myös pieniä määriä mineraaleja (tuhka) ja vaihtelevan määrän ns. uuteaineita. Selluloosan glukoosisokeri voidaan hajottaa edellä mainitun mukaisesti hydrolyysireaktiolla vedessä sellulaasientsyymien katalyyysillä tai happojen avulla. Selluloosan kiteinen rakenne pysyy tiukasti koossa vetysidosten avulla ja sen hajottaminen glukoosiksi on siten vaikeaa. Hemiselluloosat ovat puolestaan amorfisia polysakkarideja, jotka yleensä sisältävät arabinoosia, galaktoosia, glukoosia, mannoosia ja ksyloosia sekä näitä vähäisemmissä määrin esiintyviä muita aineosia, kuten etikka-happoa. Hemiselluloosaketjut hajoavat helpommin kuin selluloosa muodostaen sokerikomponentteja. Heterogeenisellä ligniinillä ei ole hiilihydraattipohjaista rakennetta ja se koostuu fenolipropaniyksiköistä.

2.2 Entsymaattinen valmistus

Tämän kappaleen pääasiallinen tarkoitus on esittää tiivis läpileikkaus selluloosan entsyymaattisesta hydrolyysistä. Nykyaikaisen bioteknologian sovellusten on havaittu tarjoavan suurimmat potentiaaliset vaihtoehdot kustannusten pienentämiseksi etanolin tuotannossa. Tässä yhteydessä keskitytään vain tekniikoihin, menetelmävaiheisiin ja konfiguraatioihin, joita käytetään vastaavissa tutkimuksissa ja jotka noudattavat mm. NREL (National Renewable Energy Laboratory) ja Chem Systems – määritelmiä.^{1,15} Vaikka

nämä systeemiä ovat alan pioneereja, on esitetty useita muitakin vaihtoehtoja, jotka voivat olla taloudellisesti toteutettavissa.

Entsymaattisen hydrolyysin kokonaisprosessi voidaan esittää lyhyesti kuvan 3 mukaisesti. Ensin raaka-aine tuodaan tehtaalle, jossa se varastoidaan ja valmistellaan tuotantoon. Raaka-aineen käsittelyyn tulee kiinnittää huomiota, koska virheet tässä vaiheessa voivat vaarantaa koko tehtaan toiminnan. Biomassan varastointitilat on suunniteltava toimimaan siten, että raaka-aine säilyttää alkuperäisen koostumuksensa mukaiset selluloosa- ja hemiselluloosapitoisuutensa.²⁷



Kuva 3. NREL-prosessikonfiguraation kaaviokuva biomassan muuttamisessa etanoliksi (SSF-menetelmä).¹⁵

Seuraavassa vaiheessa biomassa käsitellään sen rakenteen purkamiseksi ja biologisen hajoamisen nopeuttamiseksi. Ensin biomassa jauhetaan partikkelikokoon 1 – 3 mm, jotta esikäsittelyvaiheessa lämpö jakautuisi massaun tasaisesti. Jauhatuskuluu kolmannes koko tuotantolaitoksen energiasta ja siksi biomassaa ei kannata hienontaa liikaa. Tämän jälkeen hienonnetut hakkeet upotetaan laimeaan rikkihappoon 10 minuutiksi lämpötilassa 100 °C ja käsittelyä jatketaan lämpötilassa 160 °C saman ajan.

Jatkolämmittämisen tarkoitus on hemiselluloosarakenteiden hajottaminen sokerikomponenteiksi. Esikäsitellyn biomassan nestemäinen hydrolysaatti neutralisoidaan ja käsitellään kaikkien massasta luonnollisesti vapautuneiden aineiden (esim. ligniini) tai muodostuneiden yhdisteiden (esim. etikkahappo ja furfuraali) poistamiseksi tai passivoimiseksi.

Vaikka historiallisesti hemiselluloosien hydrolyysi pentoosien tuottamiseksi ei ole tuottanut korkeita etanolisaantoja käymisen avulla, on nykyisin geenitekniikan avulla tuotettu useita geenimuunneltuja bakteereita, jotka pystyvät fermentoimaan kaikki nämä sokerit.^{28,29} Näin hydrolysaatti johdetaan pentoosisokereiden käymisvaiheeseen, jossa geenimuunneltu *Escherichia coli* tai muu sopiva organismi muuntaa vapaat sokerit etanoliksi.

Osa hydrolysaatista johdetaan erilliseen entsyymien tuotantovaiheeseen, jossa >2 % kokonaissokereista kuluu organismiin, kuten *Trichoderma reesei*, sellulaasien tuotantoon. Koko entsyymien tuotantoliemi, mukaan lukien sellulaasi, organismi, joka tuotti sen ja muuntumattomat alustan ainekset, siirtyvät selluloosan hydrolyysiin. Poistamalla entsyymiprosessin vaiheita vähennetään häiritsevien organismien haitallista vaikutusta, liitetään entsyymi biomassaan ja pystytään muuntamaan selluloosa, joka jää sellulaasin hyödyntämättömäksi, etanoliksi.³⁰

Kuten edellä mainittiin, sellulaasi katalysoi selluloosan jakautumista vapauttaen glukoosia, jonka monet organismit, mukaan lukien yleiset hiivat, fermentoivat etanoliksi. Vaikka hydrolyysivaihe voidaan suorittaa ensin ja sen jälkeen fermentoida erillisellä alustalla, useimmat tuottajat alalla suosivat SSF-reittiä, jossa entsyymi ja fermentoiva organismi lisätään samanaikaisesti tuottaakseen etanolia sokereista heti, kun ne ovat vapautuneet.^{31,32} Koska hydrolyysissä muodostuvat glukoosi ja selluloosa ovat voimakkaampi entsyymi-inhibiittoreita kuin etanoli, on SSF-kokoonpanon reaktionopeus todellisuudessa nopeampi kuin SHF-menetelmän, vaikka lämpötilaa on vähennettävä optimaalisesta sellulaasin toimintatasosta fermentointiorganismille sopivaksi.³¹⁻³³ Lisäksi SSF-menetelmä vähentää laite- ja muita kustannuksia noin puoleen. Etanolin läsnäolo fermentoinnissa estää haitallisten organismien vaikutusta, jotka muuntavat laimeassa sokeriliemessä sokereita ei-toivottuihin tuotteiksi, kuten maitohapoksi.

NREL:n ja Chem Systems:n malleissa, SSF-menetelmän liemi siirretään useisiin vesitislaukolonniehin ja muodostunut etanoli poistetaan atseotrooppisena seoksena (noin 5 % vettä) kolonnin yläosasta, käytettäväksi ns. nettopolttoaineena. Ligniini, vesi, entsyymit, organismit ja muut kolonnin pohjalle jäävät aineosat sekä kiinteä aines kuivataan ja poltetaan kattilassa lämmön ja sähkön tuottamiseksi koko prosessiin. Muita sivutuotteita ei hyödynnetä. Kattilassa muodostuva tuhka käytetään lopuksi maa-alueiden täyteaineena.

2.3 Taloudellisuusnäkökohdat

Bioetanolin tuotannon kustannuksista esitetään NREL:n ja Chem Systems:n referenssitutkimuksen arviot denaturoidun etanolin (90,3 p-% etanolia, 4,7 p-% vettä ja 5,0 p-% bensiiniä) tuotantokustannuksista määrällä yli 58.000.000 gal/vuosi 1920 kuivapuu-tonnista/päivä¹. Tätä varten heidän tutkimuksessa kehitettiin materiaali- ja energiataseet edellä esitetylle konfiguraatiolle. Raaka-ainekustannukset, apuohjelmat, työvoima- ja muut tuotantokustannukset perustuvat tarvittavien aineiden määriin ja julkaistuihin tutkimuksen tekohetkellä voimassaoleviin hintoihin. Kyseiset tulokset oli koottu antamaan näkökulmaa tuotantokustannuksista etanolin valmistamiseen biomassasta. Laitteiden kustannukset oli arvioitu pohjatason etanolitehtaalle. Tutkimuksen määrittelemät kustannukset on esitetty taulukossa 3.

Taulukon 3 tarvikkeet sisältävät kaikkien osa-alueiden tarvikkeet. Tuloksena saatiin kiinteiksi pääomakustannuksiksi 128,4 miljoonaa dollaria ja kokonaiskustannuksiksi 141,2 miljoonaa dollaria tai 2,41 \$/gal.¹

Tutkimuksessa¹ arvioitiin myös samaisen konfiguraation tuotantokustannuksia (taulukko 4). Raakamateriaalin kustannuksiin sisällytettiin mm. arvo 42 \$/kuiva puutonne, esikäsittelyn rikkihappo, kaikki hapon neutralisointi- ja käsittelyaineet sekä ravinteet organismeille ja jätteenkäsittely.

Taulukko 3. Arvioitu bioetanoli tuotannon investointikustannukset (NREL-referenssitutkimus)¹

Tuotantoalue	M\$
Puun käsittely	7,16
Esikäsittely	23,68
Ksyloosin fermentointi	6,16
Sellulaasin tuotanto	2,76
SSF	20,93
Etanolin talteenotto	3,99
Varastointi	4,09
Ympäristöjärjestelmät	3,96
Tarvikkeet	53,14
Sekalaiset	<u>2,52</u>
Kiinteät pääomakustannukset	128,39
Käynnistyskulut	6,42
Ylläpitokustannukset	<u>6,40</u>
Kokonaisinvestointikustannukset	141,22

Taulukko 4. Arvioitu bioetanolin valmistusprosessin tuotantokustannukset (NREL-referenssitutkimus)¹

Tarvike	M\$/vuosi	Senttiä/gal
Puu	26,88	45,9
Muu raaka-aine	8,14	14,1
Kipsin hävittäminen	0,40	0,7
Sähkö	(4,15)	(7,1)
Vesi	0,14	0,2
Työntekijät/ohjaus	1,57	2,7
Ylläpito	3,85	6,6
Suorat kustannukset	0,71	1,2
Yleiset kustannukset	3,52	6,0
Vakuutukset, verot	<u>1,93</u>	<u>3,3</u>
Kokonaiskustannukset	42,99	73,4
Vuotuinen pääomavaraus	28,24	<u>48,3</u>
Tuotannon kokonaiskustannus	71,23	121,7

Tuloksena saatiin denaturoidun bioetanolin valmistuskustannuksiksi 0,734 \$/gal. ja pääomavaraukseksi 0,483 \$/gal., joista yhteensä saatiin kokonaiskustannuksiksi ja myyntihinnaksi 1,22 \$/gal.¹ Tutkimuksessa todettiin, että tähän hintaan lignoselluloosapohjainen bioetanolli olisi kilpailukykyinen nykyisillä markkinoilla verrattuna

maissista valmistetulle bioetanolille. Lisäksi tutkimuksessa todettiin, että jätteiden käyttö, muodostuvien sivutuotteiden valmistus ja integrointi jo olemassa oleviin tuotantolaitoksiin pudottaisi kustannuksia lisää. Arviot tehtiin olettaen tuotantolaitoksen olevan ”n’s laitos” eli ei-ensimmäiseksi rakennettu laitos ja lisäksi oletettiin, että teknologia on tarpeeksi kehittynyt ja aikaisempien tuotantolaitosten käytöstä saatu kokemus alentaa riskejä. Arvioiden todettiin kuitenkin olevan käyttökelpoisia erillisten yksiköiden, kuten biologisten komponenttien ja rakennemateriaalien, kohdalla.

3 BIOETANOLITEKNOLOGIAN KAUPALLISTAMISEN HAASTEET

Vaikka bioetanoliteknikka on edennyt siihen pisteeseen, että sillä on valtavat mahdollisuudet kaupallistamiseen, bioetanolilaitoksilla pitää todellisuudessa rakentaa ennen kuin sen huomattavat ympäristövaikutukset, taloudelliset ja strategiset edut ihmiskunnalle voidaan toteuttaa. Teknologian käyttöönotolle on annettu jo paljon aikaa ja nyt olisi tarve siirtyä nopeasti seuraavaan teknologian kehitysvaiheeseen Toisaalta tarvitaan enemmän kuin pelkästään teknologian ymmärtäminen edellyttäen myös sen kaupallisen menestyksen tiedostamista. Seuraavaksi käsitellään lyhyesti muutama olennainen vaatimus, joiden on täytyttävä ennen kuin laajamittainen bioetanoliteknologia voi toteutua.

Termillä ”biomassa” tarkoitetaan yleisesti uusiutuvia, luonnosta saatavia raaka-aineita, kuten peltokasveja, puuta tai levää, mutta myös esimerkiksi biojätteitä, maa- ja metsätalouden ylijäämämateriaaleja sekä metsäteollisuuden jäteliemiä.

Termiä ”biojalostus” on puolestaan alettu käyttää varsinkin, kun puhutaan näiden raaka-aineiden jatkojalostamisesta vaikkapa energiaksi, polttoaineiksi, kemikaaleiksi tai muoviksi.

3.1 Raaka-aineen laatu

Raaka-aineen koostumus on etanolin tuotannossa erittäin tärkeää. Tämän lisäksi tarvitaan perusteellista tietoa vakuuttamaan rahoituslaitokset siitä, että raaka-aineen laatu pystytään ennustamaan kasvin koko sen talouselämän ajan. Bioetanolille, selluloosa- ja hemiselluloosapitoisuuden ylläpitäminen on ratkaisevan tärkeää asetetuille saantotavoitteille. Sen sijaan muutokset ligniinin ja tuhkan pitoisuuksissa voivat vaikuttaa prosessin loppupäähän, kuten polttokattilaan ja generaattoreihin. Suuri raaka-aineen kosteuspitoisuus kasvattaa toimitus- ja käsittelykuluja ja voi nopeuttaa hajoamista. Raaka-aineen varastointia tarvitaan toimittamaan materiaalia laitoksille ympärivuotisesti. Kuitenkin biomassan laatu todennäköisesti kärsii säilytyksen aikana ja on välttämätöntä saada tutkimustietoa raaka-aineen vaadittujen laatuodotusten ympärivuotisesta täyttymisestä.

3.2 Raaka-ainelähteet

Etanolin tuotantoon sopivaa lignoselluloosapohjaista biomassaa saadaan kolmesta eri lähteestä:³⁴ taloudellisesti vähäarvoinen puukasvillisuus, viljelykasvien biomassassa ja jätebiomassassa. Erityisesti ruokohelpi (*Phalaris arundinacea*, kuva 4), lännenhirssi (*Panicum virgatum*, kuva 5), makea durra (*Sorghum bicolor* (L.) Moench, kuva 6) ja sinimailanen (alfalfa, *Medicago sativa*, kuva 7) ovat tunnistettu taloudellisesti hyödynnettäviksi viljelykasveiksi. Kyseiset kasvit kasvavat marginaalisilla viljelyalueilla ja estävät samalla eroosiota. Lännenhirssin ja ruokohelpin etuina ovat korkea kuitupitoisuus ja alhainen ligniinipitoisuus. Lisäksi molemmat ovat erittäin tuottoisia, eivätkä vaadi juuri lainkaan lannoitusta. Vaikka sinimailanen on kaikista tuottoisin, se vaatii kuitenkin suurta hoitoa ja menestyäkseen suotuisan kasvupaikan. Suomessa ruokohelpi kasvaa luonnonvaraisena, mutta sitä viljellään myös rehuksi ja polttoaineeksi. Tämä parimetriseksi kasvava heinäkasvi on tutkituista peltoenergian tuotantokasveista sekä lupaavin ja tuottavin. Sitä voidaan käyttää joko suoraan polttoaineena lämmön- tai sähköntuotannossa tai raaka-aineena biokaasuntuotannossa. Sellun raaka-aineena ruokohelpi on koivukuidun veroista lyhytkuitua, mutta tällä hetkellä teollista sovellutusta tälle käyttötavalle ei ole. Ruokohelpin toistaiseksi suurin käyttökohde onkin poltto suurissa polttolaitoksissa sekoitettuna muihin polttoaineisiin, kuten turpeeseen. Polton haasteena

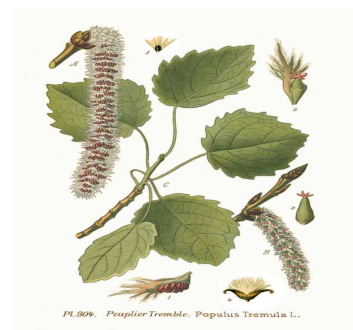
Lyhyen kierron tehoviljely (short rotation intensive culture, SRIC) tai puun kasvatusta ovat parhaiten tunnettuja biomassan tuotantomuotoja ja tarjoavat melkein äärettömät mahdollisuudet biomassan tuotannolle.³⁹ SRIC-viljelysmetsässä on geneettisesti muunneltuja, intensiivisesti viljeltyjä ja lähekkäin olevia, yleensä suurilehtisiä puita, joista voidaan kerätä satoa toistuvasti lyhyellä aikavälillä, kierto on yleensä 1 - 4 vuotta. Tehoviljelyssä pääasiallisesti viljeltyjä puita ovat paju (*Salix*, kuva 8), poppeli (*Populus*, kuva 9), eukalyptus (*Eucalyptus*, kuva 10), leppä (*Alnus*, kuva 11), vaahtera (*Acer plantanoides*, kuva 12) ja mustapoppeli (*Populus trichocarpa*, kuva 13).

Mustapoppeli on yleisin, suurin ja nopeimmin kasvava pajujen sukuun kuuluva puu, joka kasvaa Pohjois-Amerikan länsiosissa.⁴⁰ Tällä puulla on monia ominaisuuksia, joiden ansiosta se sopii hyvin geenimuunteluun: lajien suuri monimuotoisuus, korkea lajinsisäinen risteytyminen ja helppous, jolla kasveja voidaan uudistaa kudoksista ja soluista sekä helppous kasvullisen lisäyksen.

Pajut ovat Suomessa edellä mainituista puista tunnetuimpia. Paju kuuluu puuvartisten kasvien sukuun ns. pajukasvien (*Salicaceae*) heimoon, jonka lajeista Pohjoismaissa tavataan usein alalajeja ja muunnoksia.⁴¹ Pajujen suvussa on noin 450 kaksikotista varpu-, pensas- tai puumaista lajia. Suomessa eri pajulajeja kasvaa noin 20 ja niitä kasvaa varsin runsaslukuisena vesistöjen varsilla ja hakkuuaukoilla. Pajut risteytyvät helposti keskenään ja risteytymät muistuttavat vaihtelevasti kantalajejaan.



Kuva 8. Paju, *Salix*⁴²



Kuva 9. Poppeli, *Populus*⁴³



Kuva 10. Eucalyptus,
*Eucalyptus*⁴⁴



Kuva 11. Harmaaleppä,
*Alnus incana*⁴⁵



Kuva 12. Vaahtera,
*Acer platanoides*⁴⁶



Kuva 13. Mustapoppeli,
*Populus trichocarpa*⁴⁷

Nopeakasvuisuutensa vuoksi pajuja hyödynnetään energiapuuna ja soveltuen siten hyvin tehoviljelyyn. Pajun kuoressa olevien salisylaattien vuoksi sitä on käytetty myös lääkekasvina.

3.3 Sivutuotteet

Bioetanoli-prosessin aikana muodostuvat sivutuotteet voivat olla merkittävässä asemassa energialaitoksen tuottavuudelle. Markkinat vaativat kuitenkin tilauksia näille tuotteille etukäteen, jotta niiden tuottaminen olisi laitoksille taloudellisesti perusteltua. Tällaiset vaatimukset voivat olla hyvin vaikeita täyttää ja ne asettavat lisärasitteita. Tämän takia erityisesti tutkijat joutuvat todistamaan, että tuotteen laatuodotukset voidaan saavuttaa ja että oheistuotteiden määrä sekä ajoittaminen ovat yhdenmukaisia koko laitoksen strategioiden kanssa.

3.4 Jätteet

Biomassajätteet jaetaan primaarisiin ja sekundaarisiin jätteisiin. Primaarisia jätteitä syntyy perinteisistä maa- ja metsätalouden toimista ja näihin luetaan mm. hakkuujätteet, sahanpuru, sellunkeittoliemet ja oljet. Osa hakkuu- ja sadonkorjuujätteistä on yleisesti jätetty maanparannusaineina maatumaan paikoilleen. Sellutehtaiden jätteitä käytetään polttamalla osana tehtaiden omaa energiantuotantoa. Tietyillä alueilla on metsätalouden jätteitä kuljetettu poltettavaksi alueellisen energiantuotannon raaka-aineiksi erityisiin polttolaitoksiin. Samalla tavoin näitä metsätalouden jätteitä voitaisiin vähäisin kustannuksin kuljettaa myös bioetanolin valmistuksen raaka-aineiksi.

Sekundaarisiin lignoselluloosapohjaisiin jätteisiin luetaan puolestaan kotitalouksien, kaupanalan ja teollisuuden eri toiminnoista syntyvät jätteet. Näihin sisältyy kunnallijätteet, kuten paperi, pakkausmateriaalit ja puutarhajätteet sekä vaatteet ja purkupuut. Suomessa kyseisten jätteiden kierrätys on hoidettu suhteellisen hyvin, mutta näin ei ole kaikissa maissa; jätteet päätyvät yleisesti kaatopaikoille, mikä varsinkin tiheästi asutetuissa teollisuusmaissa on tilanpuutteen vuoksi kasvava ongelma lisäten samalla jälkisijoituskustannuksia. Lignoselluloosapohjaiset jätteet käytettynä puu-etanoli-teollisuuden raaka-aineiksi alentaisi näitä kustannuksia ja ratkaisisi tilanpuutteesta syntyviä ongelmia. Kierrätyspaperin käyttökelpoisuutta etanolin raaka-aineeksi ei kuitenkaan saa kannatusta sen erittäin alhaisen kuitupitoisuuden vuoksi. Kasvava kierrätyspaperin määrä on kuitenkin jättänyt käsittelemättömän kuidun vapaaksi muille käyttösovelluksille, mikä puolestaan laskee kuidun hintaa ja voi muodostua edulliseksi etanoli-teollisuudelle.

3.5 Biomassan koostumuksen ja rakenteen vaikutus hydrolyysiin

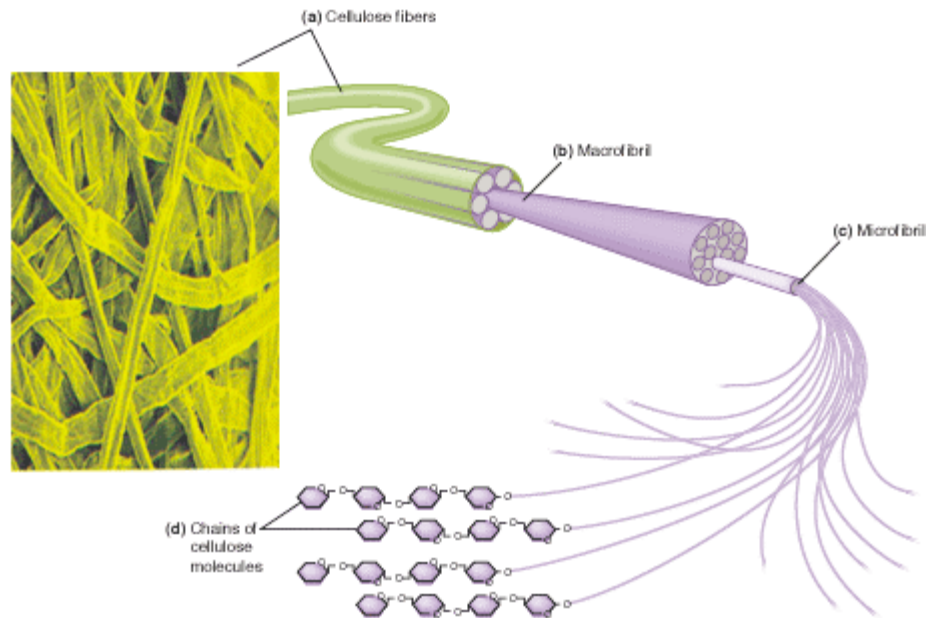
Käsittelemättömän biomassan selluloosan entsyymattainen pilkkoutuminen selluloosan rakenteen vuoksi on erittäin alhaista (alle 20 %:n saanto) ilman suurta määrää entsyymejä.²² Lignoselluloosapitoinen biomassa on hiilihydraattipolymeerien ja ligniinin heterogeeninen kompleksi, monimutkainen fenyylipropanoidiyksiköiden polymeeri, jonka kuivapainosta hiilihydraattien pitoisuus on tyypillisesti 55 – 75 % (taulukko 2). Selluloosa on tärkkelyksen tavoin glukaanipolymeeri. Kuitenkin tärkkelyksestä poiketen selluloosan rakenne suosii polymeeriketjujen tiivistä pakkautumista, mistä johtuen

selluloosan rakenne on kiteinen, veteen liukenematon ja depolymerisaatiolle vastustuskykyinen. Osa lignoselluloosan, erityisesti ruohokasvien, ligniinin sivuketjuista voi sisältää myös ferulaatin asetyyliryhmiä.⁴⁸ Hemiselluloosa muodostaa selluloosan kanssa vetysidoksin kasvin soluseinän rakenteen, jolle ligniini antaa lisää vahvuutta, suojellen kasvia tuholaisilta ja sairauksilta. Fermentointiin soveltuvat hiilihydraattikomponentit kasveissa ovat erityisesti selluloosa ja hemiselluloosa.^{20,49-51} Ligniinin läsnäolo kasvin soluseinämässä estää hiilihydraattien entsyymaattista hydrolyysiä.

Selluloosan kiteisyys, saavutettavissa oleva pinta-ala, ligniinin läsnäolo, biomassa-partikkeleiden heterogeenisuus ja selluloosaa ympäröivä hemiselluloosa vaikuttavat kaikki lignoselluloosamassan kykyyn vastustaa hydrolyysiä.^{9,52-54} Kiteinen rakenne yksinään on riittämätön estämään entsyymaattista hydrolyysiä. Esimerkiksi Ladisch *et al.*⁵⁵ hydrolysoivat mikrokiteistä selluloosaa (Avicel) kuuden päivän ajan Genencor Cytolaasi (CL) sellulaasilla (72 yksikköä/gramma), jolloin hydrolyysi saatiin etenemään 80 %:sesti. Lignoselluloosamateriaalin rakenteellisten ja sisällöllisten tekijöiden väliset suhteet kuvastavat hyvin materiaalin monimutkaisuutta. Tämä materiaalin moninaisuus johtaa eri raaka-aineiden erilaiseen käyttäytymiseen hydrolyysin aikana. Käytännössä tehokas esikäsitely vähentää kuitenkin näitä rakenteellisia esteitä (kuva 18, vrt. jäljempänä kohta 4 Puun esikäsitely), jolloin hydrolyyttiset entsyymit kykenevät tunkeutumaan tehokkaasti materiaalin rakenteisiin tuottaen jatkohydrolyysin ja samalla minimoivat hiilihydraattien kokonaispilkkoutumista.^{2,56,57}

3.6 Puumateriaali

Puiden kemiallinen rakenne on suurimmalta osalta käsitelty jo edellisessä luvussa, koska sen rakenne ei juuri poikkea muiden lignoselluloosapohjaisten biomassojen rakenteesta. Tässä yhteydessä rakennetta (kuva 14) kuitenkin tarkastellaan erillisenä kappaleena, koska työssä on käytetty raaka-aineena myös puita.



Kuva 14. Keltamännyn (*Pinus ponderosa*) selluloosan rakenne:⁵⁸ (a) Selluloosa-kuitu, (b) makrofibrilli, (c) mikrofibrilli ja (d) selluloosaketjuja.

Puut ovat monivuotisia, siemeniä tuottavia kasveja ja ne jaotellaan yleisesti havu- ja lehtipuihin. Eri puulajit eroavat toisistaan paitsi ulkonäkönsä, myös kuituominaisuuksien ja kemiallisen koostumuksen puolesta. Saman puulajin sisälläkin voi olla runsaasti eroavaisuuksia johtuen geeniperimästä ja ympäristötekijöistä, joita ovat kaikki kasvin kasvuun liittyvät ulkoiset tekijät, kuten maaperän koostumus, ilmasto, maasto sekä sijainti auringon ja tuulen suhteen. Lisäksi itse puun sisällä kuituominaisuudet (dimensiot) ja kemiallinen koostumus vaihtelevat. Tämän vuoksi puu on epähomogeeninen materiaali.

3.6.1 Rakenne

Puun ominaisuudet, jotka tekevät siitä kestävä ja erinomaisen rakennusmateriaalin, muodostavat siitä samalla vastustuskykyisen hydrolyysissä käytettäville substraateille etanolin valmistuksessa.^{22,25} Puun kuiva-aineen pääkomponentit ovat selluloosa (40 – 50 %), hemiselluloosat (20 – 25 %), ligniini (20 – 25 %) ja uuteaineet (5 %). Muiden pääkomponenttien pitoisuudet tyypillisimmässä maa- ja metsätalouden tuotteissa ja jätteissä on esitetty taulukossa 5.

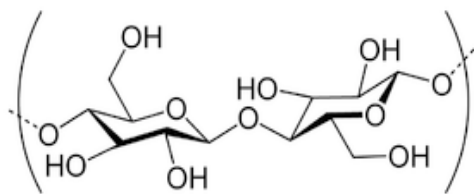
Taulukko 5. Selluloosan, hemiselluloosan ja ligniinin pitoisuudet tyypillisimmissä maa- ja metsätalouden tuotteissa ja jätteissä prosentteina kuiva-aineesta⁵⁹

Lignoselluloosamateriaali	Selluloosa	Hemiselluloosat	Ligniini
Lehtipuu	40 – 50	24 – 40	18 – 25
Havupuu	45 – 50	25 – 35	25 – 35
Pähkinän kuoret	25 – 30	25 – 30	30 – 40
Maissintähkä	45	35	15
Ruohot	25 – 40	35 – 50	10 – 30
Paperi	85 – 99	0	0 – 15
Vehnän olki	30	50	15
Lajiteltu jäte	60	20	20
Kasvin lehdet	15 – 20	80 – 85	0
Puuvilla	80 – 95	5 – 20	0
Sanomalehti	40 – 55	25 – 40	18 – 30
Kemiallisen sellun jätepaperit	60 – 70	10 – 20	5 – 10
Jätevesien kiintoaines	8 – 15	NA	24 – 29
Liete (maatalousjäte, sika)	6,0	28	NA
Kiinteä maatalousjäte	1,6 – 4,7	1,4 – 3,3	2,7 – 5,7
Sormiheinä	25	35,7	6,4
Lännehirssi	45	31,4	12,0

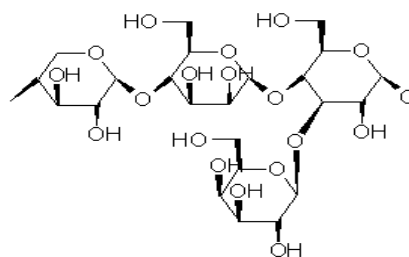
NA = ei saatavilla (not available).

Selluloosa (kuvat 14 ja 15) on lineaarinen molekyyli, joka koostuu toistuvista sellobioosiyksiköistä, jotka sitoutuvat toisiinsa β -(1 \rightarrow 4)-glykosidisin sidoksien.⁶⁰ Selluloosamolekyylien ryhmät muodostavat mikrofibrillejä, jotka puolestaan muodostavat fibrillejä ja lopullisesti selluloosa kuituja. Selluloosan lopullisen lujan mikrokiteisen rakenteen muodostavat näiden lineaaristen molekyylien väliset vetysidokset.

Hemiselluloosat (kuva 16) muodostavat amorfisen, heterogeenisen ja haaroittuneiden polysakkaridien ryhmän, joka ympäröi selluloosakuituja tunkeutuen selluloosaan huokosten kautta.⁶⁰ Ksyloosi, arabinoosi, mannoosi, glukoosi, glukuronihappo ja galaktoosi ovat pääasialliset hemiselluloosien hiilihydraattikomponentit. Hemiselluloosien rakenteita voidaan kuvata pitkällä, lineaarisilla ketjuilla, joissa toistuvat hiilihydraattiryhmät esiintyvät vapaina, substituoituneina tai asetyloituneina riippuen kasvilajista.

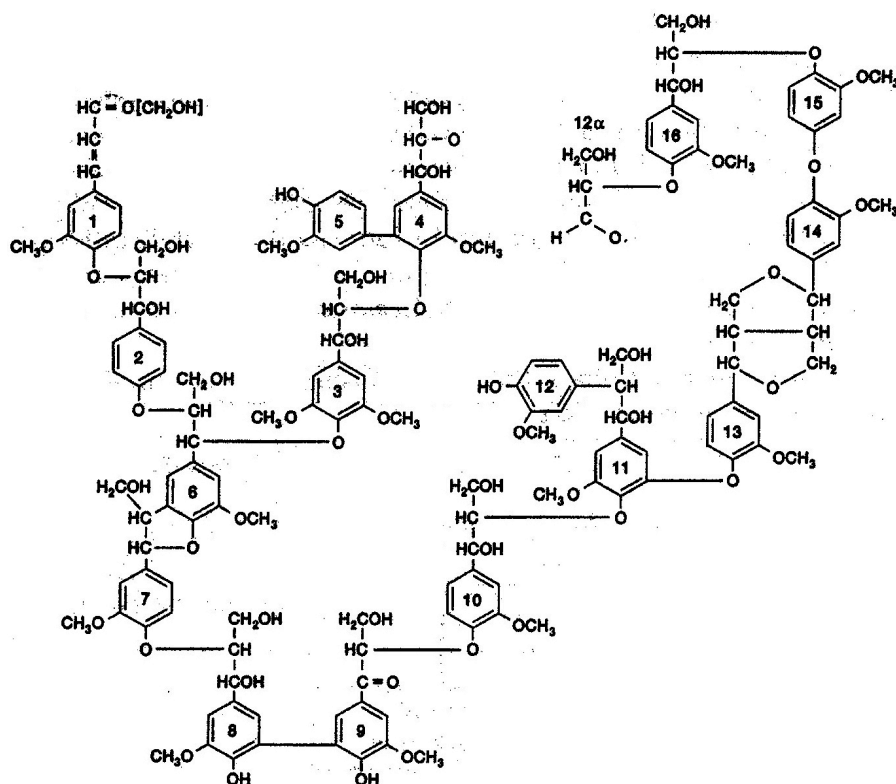


Kuva 15. Selluloosa.⁶¹



Kuva 16. Hemiselluloosa.⁶²

Ligniini (kuva 17) on monimutkainen fenyylipropaanipolymeeri, joka ympäröi ja vahvistaa selluloosa-hemiselluloosarunkoa.⁶⁰ Amorfisen ligniinin biosynteettiset prekursorit *trans*-koniferyyialkoholi (guajasyyli), *trans*-sinapyyialkoholi ja *trans*-*p*-kumaryyialkoholi polymerisoituvat sattumanvaraisesti entsyymikatalysoidussa dehydrogenaatioreaktiossa.⁶³ Torrie⁶⁴ toteaa kuitenkin, että hemiselluloosat toimivat selluloosa- ja ligniinifraktioiden välisinä sitoja-aineina.



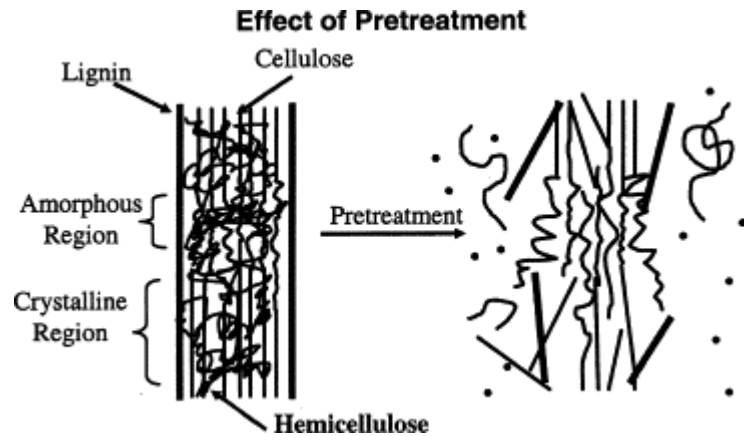
Kuva 17. Ligniinin osarakenne.⁶⁵

3.6.2 Partikkelikoko

Ennen kuin puun selluloosafraktiota voidaan käyttää substraattina etanolin tuotantoon, se on erotettava sitä suojaavasta hemiselluloosat-ligniini-vaipasta ja on lisättävä tehokasta pinta-alaa sellulaasientsyymien käyttöön.⁶⁶ Puuhakkeiden partikkelikoon pienentäminen sopivaksi myöhempää käsittelyä varten on ensimmäinen esikäsittelyvaihe. Vaikka partikkelikoon pienentäminen ei tuo käytännössä lisäarvoa itse raaka-aineeseen, jauhatuksen vaatima suuri energiantarve on merkittävä lisä koko prosessin kustannuksiin. Bridgeman *et al.*⁶⁷ tutkivat lännenhirssin ja ruokohelpin partikkelikoon vaikutusta raaka-aineen analyttisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin. Heidän mukaansa raaka-aineen haketus erilaiseen partikkelikokoon aiheuttaa epäorgaanisen ja orgaanisen aineen jakautumisen partikkelikoon mukaisesti. Suuri partikkelikoko (>90 µm) sisälsi suuremman hiilipitoisuuden, herkästi haihtuvien yhdisteiden pitoisuuden, ja suuremman kalorimetrisen arvon. Toisaalta se sisälsi myös suuremman orgaanisten ainesosien, kuten selluloosa-, ligniini- ja hemiselluloosapitoisuudet. Näin ollen on syytä kiinnittää runsaasti huomiota siihen, kumpaa käsittelyä, haketus tai jauhaminen, käytetään tuottamaan jatkokäsittelyyn soveltuva partikkelikoko.⁶⁸

4 PUUN ESIKÄSITTELY

Selluloosan pinta-alan lisääminen energiaa kuluttavalla ja kalliilla mekaanisella esikäsittelyllä ei lisää tehokkaasti materiaalin huokoskokoja, jota sellulaasi toimiakseen tarvitsee. Sen sijaan monet kemialliset esikäsittelymenetelmät ovat kustannuksiltaan tätä halvempia ja tuottavat entsyymaattiseen hydrolyysiin käyttökelpoista selluloosaa. Suurin osa potentiaalisista teollisuuteen käyttökelpoisista kemiallisista esikäsittelymenetelmistä toteutetaan organosolv-, 'höyryräjäytys-' (autohydrolyysiprosessi) ja laimean hapon esikäsittelymenetelmillä.⁶⁹



Kuva 18. Kaaviokuva esikäsitelyn tarkoituksesta lignoselluloosamateriaalissa.⁹

4.1 Esikäsitelyn merkitys

Esikäsitelyn merkitys lignoselluloosamateriaaleille on tunnettu jo kauan.⁶⁹ Esikäsitelyn tarkoituksena on ligniinin ja hemiselluloosien poistaminen, selluloosan kiteisyyden vähentäminen sekä materiaalin huokoisuuden kasvattaminen (kuva 18). Esikäsitelyssä pyritään saavuttamaan seuraavat vaatimukset:^{9,69} (1) parantaa sokereiden muodostumista tai niiden muuttamista sellaiseen muotoon, jotta entsyymaattinen hydrolyysi mahdollistuisi, (2) hiilihydraattien hävikin ja hajoamisen välttäminen, (3) jatkoikäsitelyssä tai fermentoinnissa inhibiittoreina esiintyvien sivutuotteiden muodostumisen välttäminen ja (4) menetelmän tulee olla taloudellinen. Lignoselluloosamateriaaleille tunnettuja esikäsitelymenetelmiä ovat fysikaaliset, fysikaaliskemialliset, kemialliset ja biologiset prosessit. Esikäsitelymenetelmät ovat joko fysikaalisia tai kemiallisia, joissakin menetelmissä yhdistyvät molemmat. Jaottelun kannalta höyryä ja vettä pidetään kemiallisina esikäsitelyaineina, koska muita kemikaaleja ei lisätä biomassaan. Fysikaaliset esikäsitelymenetelmät sisältävät puolestaan murskaamisen (mekaaninen biomassan partikkelikoon pienentäminen), 'höyryräjäytys' ja hydrotermolyysi. Esikäsitelyssä yleisimmin käytettyjä kemikaaleja ovat rikkihappo (H_2SO_4) ja natriumhydroksidi (NaOH). Kemiallisen esikäsitelyn tarkoituksena on glukoosin erottaminen selluloosasta mahdollisimman korkealla saannolla poistamalla biomassasta ensin ligniini ja hemiselluloosat.

Kemiallisilla lisäaineilla, jotka liuottavat selluloosaa, on saavutettu jopa 90 %:n glukoosisaannot sokeriruokojätteestä, maissin korsista, ruokonatasta (*Festuca arundi-*

naceae) ja koiranheinästä (*Dactylis glomerata*).^{70,71} Alkaalinen vetyperoksidi (H_2O_2), organosolv-menetelmä (sisältäen Lewis-hapot, rauta(III)kloridin ($FeCl_3$), alumiini-sulfaatin ($Al_2(SO_4)_3$)), otsoni, glyseroli, dioksaani, fenoli tai etyleeniglykoli ovat esimerkkejä tunnetuista selluloosarakenteen liuottimista ja edistävät hydrolyysiä.⁷² Väkevät mineraalihapot (H_2SO_4 ja vetykloridi (HCl)), ammoniakkipohjaiset liuottimet (ammoniakki (NH_3) ja hydratsiini (N_2H_2)), approottiset liuottimet (dimetyylisulfoksidi (DMSO)) ja metallikompleksit vähentävät myös selluloosan kiteisyyttä, rikkovat ligniinin ja selluloosan välisiä sidoksia sekä liuottavat hemisellulooseja. Nämä menetelmät, vaikka ovatkin tehokkaita, ovat silti yleisesti liian kalliita.

Esikäsittelymenetelmiä käydään seuraavaksi lyhyesti läpi. Höyryräjäytys sekä kuuman veden, laimean hapon, kalkin ja ammoniakkin käyttö ovat edullisia esikäsittelymenetelmiä, joista avainkohdat on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. Eri käsittelymenetelmien vaikutus lignoselluloosapohjaisen biomassan kemialliseen koostumukseen kemiallis-fysikaaliseen rakenteeseen⁷³

	Kasvattaa käytettävää pinta-alaa	Liuottaa selluloosaa	Poistaa hemiselluloosaa	Poistaa ligniiniä	Vaikuttaa ligniinin rakenteeseen
Höyryräjäytys, ei katalyyttiä	■		■		○
Kuuma vesi, neste	■	ND	■		○
Kuuma vesi, pH-kontrolli	■	ND	■		ND
Kuuma vesi, neste, läpivirtaus	■	ND	■	○	○
Laimea happo	■		■		■
Happo, läpivirtaus	■		■	○	■
AFEX ^a	■	■	○	■	■
ARP ^b	■	■	○	■	■
Kalkki	■	ND	○	■	■

■ : Merkittävä vaikutus.

○ : Vähäinen vaikutus.

ND : Ei määritelty (not determined), ^a: ammonia fiber expansion (vrt. luku 4.3.2) ja ^b: ammonia recycle percolation, ei käsitellä lähemmin.

4.2 Fysikaaliset menetelmät

Kun biomassaa käytetään raaka-aineena etanolinvalmistusprosessissa, esikäsittelyllä käytännössä tarkoitetaan mekaanisia ja fysikaalisia työvaiheita biomassan puhdistamiseen ja partikkelikoon määräämiseen sekä biomassan solurakenteen hajottamiseksi muotoon, johon jatkokäsittelyt, kemialliset tai biologiset menetelmät pystyvät paremmin vaikuttamaan. Hemiselluloosien hydrolyysi luetaan usein myös esikäsittelymenetelmäksi. Jokainen raaka-aine, oli se sitten puuperäinen, maissi tai sokerijuurikas, vaatii yksityiskohtaisen esikäsittelymenetelmän minimoidakseen substratin hajoamisen samalla maksimoiden sokerisaantoa.

4.2.1 Mekaaninen jauhatus

Selluloosan kiteisyyttä voidaan pienentää mekaanisesti mm. massan jauhatuksella ja hakettamisella. Tässä työssä tutkitun massan partikkelikoko oli tavallisesti 10 – 30 mm haketuksen ja 0,2 – 2 mm jauhatuksen jälkeen. Käytettävä lopullinen partikkelikoko riippuu biomassasta ja massan murskaamiseen käytettävästä laitteistosta. Jauhatuksessa värähtelevän/täristävän rumpujauhimen käytön on havaittu olevan perinteistä rumpujauhatusta tehokkaampi hajottamaan kuusi- ja haapahakkeen selluloosan kiteisyyttä ja lisäämään biomassan hajoamista.⁷⁴ Mekaanisen jauhatuksen energiavaatimukset riippuvat puolestaan lopullisesta partikkelikoosta ja käytettävän biomassan ominaisuuksista.⁶⁸ Vertailu mekaanisten esikäsittelymenetelmien energiavaatimuksista on esitetty taulukossa 7.

Taulukko 7. Mekaanisen esikäsittelyn energiavaatimuksen riippuen partikkelikoosta⁶⁸

Raaka-aine	Lopullinen koko (mm)	Energian kulutus (kWh/h)	
		Haketus	Murskaus
Lehtipuu	1,60	130	130
	2,54	80	120
	3,20	50	115
	6,35	24	95
Viljan olki	1,60	7,5	42
	2,54	6,4	29
Maissin olki	1,60	NA	14
	3,20	20	9,6
	6,35	15	NA
	9,50	3,2	NA

4.2.2 Pyrolyysi

Lignoselluloosamateriaalin esikäsittelyyn on käytetty myös pyrolyysiä. Kun materiaalia käsitellään korkeissa lämpötiloissa (yli 300 °C), selluloosa hajoaa nopeasti muodostaen kaasuja ja hiiltä.^{75,76} Tätä alhaisemmissa lämpötiloissa hajoaminen on hitaampaa, eikä haihtuvia tuotteita synny yhtä paljon. Jatkokäsittelmällä pyrolyysijäännöstä laimealla hapolla (1 N H₂SO₄, 97 °C, 2,5 h) on saatu 80 – 85 % selluloosasta muunnettua sokeiksi, josta yli 50 % on ollut glukoosia.⁷⁷ Vastaavanlaisia menetelmiä on mm. hapen lisääminen⁷⁶ ja puhtaan selluloosan hajoaminen on saavutettu lisäämällä sinkkiä katalyytiksi alhaisemmissakin lämpötiloissa.⁷⁸

4.3 Fysikaaliskemialliset menetelmät

Edellä on esitelty fysikaaliset esikäsittelymenetelmät erillisinä menetelminä. Jatkossa käsitellään ne fysikaaliskemialliset menetelmät, joissa fysikaalisiin menetelmiin on yhdistetty kemiallinen käsittely.

4.3.1 Höyryräjäytys (autohydrolyysi)

Höyryräjäytys edustaa eniten käytettyä lignoselluloosamassojen esikäsittelymenetelmää.⁶⁹ Tässä menetelmässä haketettu biomassa käsitellään saturoidulla höyryllä korkeassa paineessa, jolloin massa imeytyvä höyry saa aikaiseksi ns. autohydrolyysin. Painetta vähitellen alentamalla saavutetaan massan räjähdysmäinen hajoaminen. Höyryräjäytys suoritetaan yleisesti lämpötilassa 160 – 260 °C (vastaa painetta 0,69 – 4,83 MPa) muutamista sekunneista minuutteihin ennen kuin massa altistetaan normaalille ilmanpaineelle. Menetelmällä hajotetaan hemiselluloosat ja muokataan ligniiniä kovan lämpötilan avulla sekä lisätään selluloosan hydrolysoitumisen mahdollisuutta.

Tärkeimmät muuttujat höyryräjäytyksessä ovat aika, lämpötila, hakekoko ja kosteuspitoisuus.⁷⁸ Hyviä tuloksia on saavutettu joko korkeissa lämpötiloissa ja lyhyellä käsittelyajolla (270 °C, 1 min) tai alhaisilla lämpötiloilla ja pitkällä käsittelyajolla (190 °C, 10 min). Höyryräjäytyksessä hakepartikkeleiden koko vaihtelee välillä 3,5 mm ja 32 mm.^{22,79-83} Yleisesti käytettäessä suurta hakekokoja keittoaikaa pidennetään ja lämpötilaa lasketaan, jotta ylikeittämistä ei tapahtuisi (eikä inhibiittoreita muodostuisi). Tärkeää on myös biomassan alhainen kosteuspitoisuus. Mikäli massan huokokset sisältävät vettä, höyry ei pääse imeytymään ja lämmönsiirto vaikeutuu, mikä puolestaan hidastaa autohydrolyysiä.⁶⁸

Höyryräjäytys on tunnetusti yksi edullisimmista esikäsittelymenetelmistä lehtipuille ja maatalousjätteille, mutta se ei ole kovin tehokas havupuille.⁸² Muita menetelmän rajoituksia on mm. ksylaanifraktion osittainen hajoaminen, ligniini-hiilihydraattimatriisin epätäydellinen rikkoutuminen ja inhibiittoriyhdisteiden muodostuminen.⁸⁰ Rikkidioksidin lisääminen höyryräjäytyksen aikana on todettu kasvattavan mm. hiilihydraattisaantoja. Höyryräjäytyksen suurimmat edut ovat:^{79,84,85} (1) se tuottaa lignoselluloosamateriaalia, joka on suhteellisen herkkä entsyymaattiselle hydrolyysille, (2) siihen tarvittava energiamäärä on huomattavasti vähäisempi kuin mekaanisilla menetelmillä ja (3) kemialliseen esikäsittelyyn verrattuna siinä ei tarvita kierrätystä, eikä se rasita ympäristöä.

4.3.2 Ammoniakkiräjätys (AFEX)

AFEX on fysikaaliskemiallisista esikäsittelyistä toinen, jossa lignoselluloosamassa altistetaan nestemäiselle ammoniakille korkeassa lämpötilassa ja paineessa tietyn ajanjakson ajan, minkä jälkeen paine nopeasti vähennetään. Tyypillisessä AFEX-menetelmässä nestemäisen ammoniakin annostus on 1 – 2 kg ammoniakkia/kg kuivaa biomassaa, lämpötila 90 °C ja käsittelyaika 30 min. AFEX-esikäsittely voi parantaa huomattavasti sokeroitumisnopeutta useille ruohomaisille materiaaleille ja se soveltuu hyvin mm. alfalfalle, vehnän oljelle ja akanoille,⁸⁶ ohran oljelle, rehumaissille, riisin oljelle,⁸⁷ kiinteille kunnallisjätteille, havupuuperäiselle kierrätyspaperille ja sokeriruokojätteelle.⁸⁸ Menetelmä soveltuu suhteellisen hyvin lehtipuumassoille, mutta ei ole kovin tehokas havupuumassoille.⁷⁰ AFEX ei juuri liuota hemisellulooseja samoin kuin happoesikäsittely ja happokatalysoitu höyryräjätys.^{86,87}

Ympäristön suojelemiseksi ja kulujen pienentämiseksi, ammoniakki tulee esikäsittelyn jälkeen kierrättää. AFEX-esikäsittelymenetelmässä ei synny sivutuotteena inhibiittoreita, eikä menetelmä vaadi raakamassalta pientä partikkelikokoa.^{86,89}

4.3.3 CO₂-räjätys

CO₂-räjätysmenetelmää käytetään samoin kuin aikaisemmin mainittuja menetelmiä lignoselluloosamateriaalien esikäsittelyyn. Oletuksena on se, että CO₂ muodostaisi hiilihappoa ja siten nopeuttaisi hydrolyysiä. Dale ja Moreira⁹⁰ käyttivät menetelmää alfalfan esikäsittelyyn (4 kg CO₂/kg kuitua, paine 5,62 MPa) ja saavuttivat glukoosin teoreettisesta saannosta 75 % 24 tunnin entsyymaattisen hydrolyysin aikana. Aikaisemmin mainittuihin räjäytysmenetelmiin verrattuna saannot ovat verrattain alhaisia, mutta korkeita verrattuna esikäsittelemättömän massan entsyymaattiseen hydrolyysiin. Zheng *et al.*⁹¹ vertasivat räjäytysmenetelmiä käyttäen materiaaleinaan mm. kierrätyspaperia ja sokeriruokojätettä ja havaitsivat CO₂-räjättyksen olevan taloudellisempi, eikä sen aikana syntynyt inhibiittoriyhdisteitä, joita muodostuu höyryräjättyksen aikana.

4.4 Kemialliset menetelmät

Kemialliset biomassan esikäsittelyt käsittävät pelkästään kemikaaleilla suoritettavat menetelmät.

4.4.1 Otsonolyysi

Otsonia voidaan käyttää ligniinien ja hemiselluloosien hajottamiseen monille lignoselluloosamateriaaleille, kuten vehnänojelle,⁹² sokeriruokojätteelle, tuoreelle heinälle, pähkinöille, männylle,⁹³ puuvillalle⁹⁴ ja poppelligille.⁹⁵ Otsonin vaikutus keskittyy ligniinien hajoamiseen ja sillä on pieni vaikutus hemisellulooseihin, mutta selluloosaan se ei tehoa. Otsonolyysillä on havaittu seuraavia etuja:⁹⁵ (1) se poistaa tehokkaasti ligniiniä, (2) se ei tuota myrkyllistä jätettä jatkokäsittelyihin ja (3) reaktiot voidaan suorittaa huonelämpötilassa ja normaalissa ilmanpaineessa. Menetelmä vaatii kuitenkin suuria määriä otsonia ja ei ole tämän takia edullinen.

4.4.2 Happohydrolyysi

Väkeviä happoja, kuten H_2SO_4 ja HCl , on myös käytetty lignoselluloosamateriaalien esikäsittelyyn.⁹⁶ Vaikka ne ovat tehokkaita apuaineita selluloosan hydrolysoimiseen, ne ovat myös myrkyllisiä, syövyttäviä ja vaarallisia sekä vaativat hapon kestäviä reaktioastioita. Lisäksi väkevät hapot on hydrolyysin jälkeen kierrätettävä, jotta menetelmä olisi taloudellisesti toteutettavissa. Rikkihapon lisäämistä on alunperin sovellettu hemiselluloosien poistamiseen joko selluloosan glukoosiksi hajoamisen yhteydessä tai ennen selluloosan happohydrolyysiä.^{97,98} Hemisellulooseja poistuu, kun rikkihappo lisätään ja tämä muuttaa selluloosan hajoamista jäännösmateriaalissa.^{99–102} Eniten käytetty ja testattu menetelmä perustuu laimeaan rikkihappoon.^{103–106} Lisäksi on kokeiltu typpihappoa,¹⁰⁷ suolahappoa^{108,109} ja fosforihappoa.¹⁰⁸

Laimean hapon hydrolyysimenetelmän kehittäminen lignoselluloosamateriaalien esikäsittelyyn on ollut menestys. Esikäsittelemällä biomassaa laimealla rikkihapolla voidaan saavuttaa nopeita reaktionopeuksia ja se parantaa huomattavasti selluloosan hydrolyysiä.¹¹⁰ Alhaisissa lämpötiloissa hiilihydraattien hajoamisen vuoksi suora sokeroitu-

minen tapahtuu alhaisilla saannoilla. Korkeissa lämpötiloissa laimea hapon hydrolyysi suosii selluloosan hydrolysoitumista.⁶⁹ Suoritettaessa laimean hapon hydrolyysi alhaisissa lämpötiloissa saadaan tuotettua erityisesti ksyloosille korkeat saannot, jotka vastaavat kokonaishiilihydraattien määrästä noin kolmannesta lähes kaikille lignoselluloosamateriaaleille.¹ Laimean hapon hydrolyyzejä on pääasiassa kahta eri tyyppiä: korkea lämpötila ($T > 160$ °C), jatkuvavirtausmenetelmä alhaisella kiinteän materiaalin määrällä (5 – 10 % (substraatin massa/reaktioseoksen massa))^{111,112} ja alhainen lämpötila ($T < 160$ °C), eräkeitto suurella kiinteän materiaalin määrällä (10 – 40 %).^{110,113}

Happoesikäsittelyyn sisältyy korroosio-ongelman lisäksi muita huomioon otettavia seikkoja:^{1,26} happo tulee neutraloida ennen sokereiden fermentointia, hydrolyysissä syntyy muita hajoamistuotteita, vapautuu fermentointia inhiboivia yhdisteitä ja massan jauhatus partikkelikoon pienentämiseksi kuluttaa jopa 33 % koko prosessiin vaaditusta energiämäärästä.

Happoa on kokeiltu hemiselluloosien poistamiseen useille materiaaleille lehtipuista ruohoihin ja maatalousjätteisiin.^{99–104,114–116} Useimmille materiaaleille happoesikäsittely toimii hyvin, mutta erityisesti maissin tähkien ja rehumaissin hemiselluloosien hydrolysointiin tämän menetelmän on havaittu toimivan hyvin.¹¹⁶ Haapapuun ja vehnän olkien esikäsittelyä on tutkittu suurella (20 – 40 %) kiinteän aineen väkevyyksillä lämpötiloissa 140 ja 160 °C.¹¹⁷ Tässä samassa tutkimuksessa rikkihappotasot (pH 1,1 – 1,5) haapapuulle oli 0,45 – 0,85 %, mutta vastaava neutralisointitaso vaati vehnänojelle rikkihappotason 2,0 %. Hapon käyttö katalysoimattoman hydrolyysin aikana vapautuvien oligomeerien hydrolysoimiseen tuottaa melkein täydellisen monomeereiksi hydrolysoitumisen, mutta samalla muodostuu myös aldehydejä.^{118,119}

Kuten jo aikaisemmin todettiin, selluloosan happohydrolyysi synnyttää osittain pilkkoutuneita polysakkarideja. Reaktio mallinnetaan homogeeniseksi reaktioksi, jossa happo katalysoi selluloosan hajoamista glukoosiksi, josta muodostuu 5-(hydroksimetyyli)furfuraalia (HMF) ja muita hajoamistuotteita.¹²⁰ Tämä heijastaa myös näiden polymeerien glykosididosten lähes samankaltaista reaktiivisuutta hydrolyysissä.

Oligosakkaridit ovat yleisesti jätetty huomiotta monista mallinuksista, koska niiden katsotaan olevan liian lyhytikäisiä ollakseen merkittäviä.^{121–123} Osa tutkijoista¹²⁴ havait-

si oligomeerien läsnäolon eräkeittomenetelmässä ja huomattavan oligosakkaridien väkevyyden tuotteessa hyvin laimeissa happo- ja vesikeitoissa läpivirtausmenetelmissä.^{125–128} Kineettisiä malleja on modifioitu sisältämään hemiselluloosien hydrolyysin oligosakkarideiksi, joista hajoaminen jatkuu monosakkarideiksi ja nämä tuottavat hajotessaan furfuraalia ja muita yhdisteitä menetelmissä, joissa käytetään laimeata happokatalyyttiä.¹²⁹

Menetelmään on saavutettu parannuksia huomaamalla, että lisähapon lisääminen kompensoi substraatin mineraalien happoa neutraloivaa kapasiteettia^{110,113,130} ja havaitsemalla, että vetyionin väkevyyden voi määrittää liuoksen pH:sta matemaattisesti laskemalla.¹³¹ Kineettisiin malleihin on lisätty pH-tason vaikutus ja oletuksena on, että suurimmat sokerisaannot saavutetaan pH-alueella 2,0 – 2,5.^{132,133} Vaikka laimean hapon esikäsitely voi parantaa huomattavasti selluloosan hydrolyysiä, se on yleisesti ottaen kalliimpi kuin tietyt muut fysikaaliskemialliset menetelmät, kuten höyryräjäytys tai AFEX.

4.4.2.1 Läpivirtausmenetelmä

Läpivirtausmenetelmä on tehokas hyvin laimeilla happopitoisuuksilla (noin 0,07 %, laimean hapon tyypillinen pitoisuus 0,7 – 3,0 %). Alhaisissa lämpötiloissa saavutetaan reaktiivisten hemiselluloosien hydrolysointi. Heikosti hajoavan hemiselluloosajakeen hydrolysointiin tarvitaan kuitenkin tätä kovemmat olosuhteet.

Menetelmässä tuore happo/vesi-virtaus ohjataan ensin korkean lämpötila-alueen läpi alemman lämpötilan alueeseen, mikä vähentää sokereiden altistumista kovalle olosuhteille ja lisää saantoja. Torget *et al.*^{128,134,135} käyttivät ensimmäisessä vaiheessa lämpötiloja 140, 150 ja 174 °C ja toisessa vaiheessa lämpötiloja 170, 180, 190, 200 ja 204 °C. Keittoaikojen ollessa 10, 15 ja 20 min ja vastaavat rikkihappotasot 0,0735, 0,4015 ja 0,735 p-%. Tällöin 83,0 % kaikesta hemisellulooseista ja 26,3 – 52,5 % ligniinistä liukeni. Saadusta hemiselluloosajakeesta 79,6 % esiintyi sokerimonomeereinä ja 15,6 % oligomeereinä. Esikäsitelty selluloosa oli lisäksi helposti jatkokäsiteltävissä entsymaattisella hydrolyysillä.

Vaikkakin menetelmällä saavutetaan erinomaiset hemiselluloosan sokerisaannot ja helposti jatkokäsiteltävää selluloosaa, laitteistokokoonpanot ja käytettävän veden suuri määrä muodostavat menetelmän ongelmakohdat. Käytännöllisiä ja kaupallisia sovelluksia ei kuitenkaan ole vielä esitetty.

4.4.2.2 Höyrymenetelmä

Tässä esikäsitteilymenetelmässä puu jauhetaan ensin karkeaksi jauheeksi, optimaalisen partikkelikoon ollessa 0,25 – 1,00 mm.^{116,136–138} Yleisesti käsittely suoritetaan jatkuva-virtauksellisessa laitteistossa, jossa 5 – 10 %:nen puupartikkelisuspensio on 1,00 %:ssa rikkihapossa. Reaktorin tavalliset lämpötilat ja paineet ovat 180 – 220 °C ja 3,45 – 4,14 MPa. Suspensiovirtaan ohjattu kuuma höyry nostaa suspension nopeasti reaktiolämpötilaan. Suspensio altistetaan normaalille ilmanpaineelle tämän jälkeen nopeasti ja lämpötila alennetaan lämmönvaihtimessa. Menetelmän avulla vain pieni osa selluloosasta liukenee, mutta hemiselluloosat saadaan lähes kokonaan liuotettua ja poistettua.⁶⁶

Edellisestä käy hyvin ilmi, että laimean hapon esihydrolyysi on pääasiallisesti samanlainen kuin höyrymenetelmä, jossa happo toimii autohydrolyysireaktion katalyyttinä. Suurin ero menetelmissä on se, että laimean hapon menetelmässä lignoselluloosapartikkelit ovat suspentoituneena nestemäiseen happoliuokseen ja partikkelikoko on paljon pienempi.

4.4.3 Alkalinen hydrolyysi

Tiettyjä emäksiä voidaan käyttää lignoselluloosapohjaisen massan esikäsitteilyyn.^{69,84} Alkalisen esikäsitteilyn vaikutus riippuu materiaalin ligniinipitoisuudesta. Alkalisen hydrolyysin toimimismekanismin on oletettu perustuvan molekyylien välisten esterisidosten saippuoitumiseen. Kyseiset esterisidokset ristosivat ksylaanin muihin komponentteihin, esimerkiksi ligniiniin. Materiaalin huokoisuus kasvattaa näiden ristosidosten poistumista.¹³⁹ Materiaalin laimea NaOH-käsittely aiheuttaa mm. turpoamista (jolloin pinta-ala kasvaa), polymerisaatioasteen pienenemistä, kiteisyyden vähenemistä ja ligniinirakenteen rikkoutumista.¹¹² NaOH-käsitellyn lehtipuun sulavuus lisääntyi 41 %

samalla ligniinipitoisuuden vähetessä viidennekseen. Kuitenkin laimealla NaOH-esikäsitteilyllä ei havaittu olevan vaikutusta havupuille, joissa ligniinipitoisuus on suurempi kuin 26 %.⁷⁴ Laimea NaOH-esikäsitteily on tehokas myös oljille, joiden ligniinipitoisuus suhteellisen alhainen, 10 – 18 %.¹⁴⁰

Alkalisessa esikäsitteilymenetelmässä käytetään alhaisempaa lämpötilaa ja painetta kuin muissa esikäsitteilymenetelmissä.⁵⁴ Alkalinen esikäsitteily voidaan suorittaa myös huoneenlämpötilassa, mutta esikäsitteilyaika määritetään tällöin lähinnä tunteina tai päivinä kuin minuutteina tai sekunteina. Toisin kuin happokatalysoiduissa esikäsitteilymenetelmissä, alkalisella esikäsitteilyllä on rajoituksensa, koska osa alkalista muuntuu esikäsitteilyreaktiossa palautumattomiksi tai kiinteiksi suoloiksi biomassaan.

Alkaliset esikäsitteilymenetelmät ovat melkein samanlaisia kuin sulfaattikeitto- menetelmät.⁵⁴ Alkalisen esikäsitteilymenetelmän tehokkuus perustuu ligniinin poistamiseen biomassasta ja siten polysakkaridien parantuneeseen reaktiivisuuteen. Lisäksi käsitteily poistaa biomassasta asetyyli- ja uronihapporyhmiä, jotka huonontavat entsyymien reagoitokykyä hemiselluloosan ja selluloosan pinnalla.

4.4.4 Organosolv-menetelmä

Organosolv-menetelmässä käytetään orgaanista tai orgaanisten liuosten seosta yhdessä epäorgaanisen happokatalyytin (HCl tai H₂SO₄) kanssa rikkomaan ligniinin ja hemiselluloosien välisiä sidoksia.^{141,142} Orgaanisia liuottimia, jotka soveltuvat käytettäväksi menetelmässä on mm. metanoli, etanoli, asetoni, etyleeniglykoli, trietyleeniglykoli ja tetrahydrofurfuryylialkoholi. Orgaanisia happoja, kuten oksali-, asetyylisalisyyli- ja salisylihappoa, voidaan myös käyttää katalyyttinä organosolv-menetelmässä.¹⁴³ Korkeissa lämpötiloissa (yli 185 °C) katalyytin lisääminen on delignifioitumisen kannalta tarpeellista.^{143,144} Yleisesti happoa lisäämällä saadaan suuret ksyloosisaannot.²²

Organosolv-menetelmällä saadaan sekä osa hemisellulooseista että ligniinistä liukenemaan selluloosan jäädessä reagoimatta.^{141,142} Liukenemisen jälkeen orgaaninen fraktio kuivataan, haihdutetaan, kondensoidaan ja liuotin kierrätetään. Liuottimien poisto on tarpeen siksi, että liuottimet voivat toimia inhibiittoreiden tavoin organismien kasvuille, entsyymaattisissa hydrolyysissä ja fermentoinnissa. Käytettäessä esikäsitteilymenetel-

mänä organosolv-menetelmällä saavutetaan kolme erillistä fraktiota: kuiva ligniini, nestemäinen hemiselluloosajae ja suhteellisen puhdas selluloosafraktio.

Polttoaine-etanolin tuotanto hemiselluloosajakeen pentooseista tulee olemaan huomattavasti taloudellisempaa kuin selluloosasta. Ennen kuin tämä tulee olemaan mahdollista, pitää pystyä määrittelemään uusien, geneettisesti modifioitujen organismien kyky fermentoida pentooseja ja inhibiittoreiden, kuten etikkahappo ja furaanit, sietäminen suurten mittakaavojen prosesseissa.^{145–147} Organosolv-menetelmän tekee taloudelliseksi myös se, että kaikki menetelmässä käytetyt orgaaniset liuottimet voidaan kierrättää.

Tässä yhteydessä mainitaan vielä lyhyesti happokatalysoitu organosolv-menetelmä (acid-catalyzed organosolv process, ACOS).^{148,149} Tätä ei kuitenkaan pidetä esikäsitteilymenetelmänä, vaan käytetään lähinnä selluloosan hydrolysoimiseen fermentoitaviksi sokereiksi. Menetelmän väitetään muuntavan selluloosasubstraatin glukoosiksi suurella saannoilla.

4.4.5 Vesiesikäsitteily

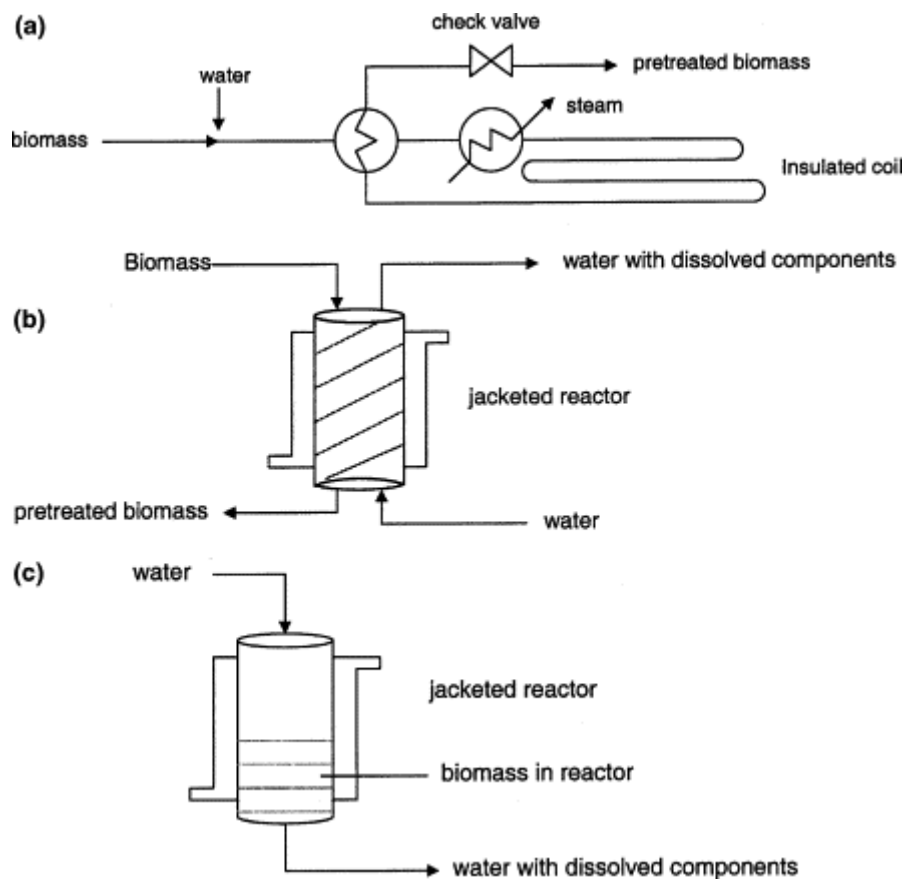
Vesiesikäsitteilyssä pidetään paineen avulla vesi nestemäisessä muodossa korkeassa lämpötilassa. Menetelmää kutsutaan myös nimillä vesitermolyysi, vesi- tai höyry/vesierottelu, katalysoimaton solvolyyysi ja aquasolv.^{123–127,150–152}

Vesiesikäsitteilyssä kuumen, paineistetun, nestemäisen veden ja biomassan annetaan reagoida 15 minuuttia lämpötilassa 200 – 230 °C. Prosessissa 40 – 60 % biomassasta liukenee, selluloosasta 4 – 22 %, ligniinistä 35 – 60 % ja kaikki hemiselluloosat saadaan poistettua. Hemisellulooseista yli 90 % esiintyvät monomeerisinä sokereina, kun happoa käytetään liuoksen jatkohydrolysoinnissa. Esikäsitteilymenetelmän on havaittu olevan näennäisesti riippumaton lämpötilasta ja käsitteilyajasta. Tulosten vaihtelevuus johtuu käsiteltävän biomassan koostumuksesta.^{126,153}

Vesiesikäsitteilyreaktoreita on kirjallisuudessa esitetty kolmea eri tyyppiä: myötävirtaus-, vastavirtaus- ja läpivirtausreaktorit (kuva 19). Myötävirtausesikäsitteilyssä biomassaliemi lämmitetään haluttuun lämpötilaan, jota ylläpidetään haluttu käsitteilyaika ennen jäädyttämistään. Vastavirtausesikäsitteilyssä vesi ja lignoselluloosa liikkuvat eri suuntiin

reaktorin läpi ja läpivirtauksen tapauksessa kuuma vesi virtaa stationaarisen lignoselluloosakerroksen läpi hydrolysoiden ja liuottaen lignoselluloosakomponentit samalla kuljettaen ne mukanaan pois reaktorista.

Läpivirtausmenetelmässä kuuma vesi (180 – 220 °C) läpäisee paineessa (24 – 28 bar) stationaarisen massan (kuva 19(c)). Tällöin saavutetaan jopa 96 %:n kokonaisokerisaantoja, mutta menetelmä kärsii alhaisista hemiselluloosasokereiden väkevyydestä (0,6 – 5,8 g/L). Kiinteä aines on käsittelyn jälkeen paremmin hajotettavissa ja huomattava osa ligniinistä saadaan poistettua. Vastavirtausmenetelmässä biomassaliemi ja vesi kulkevat erisuuntiin esikäsitelyreaktorissa (kuva 19(b)). Lämpötila, paine ja käsittelyajat ovat samanlaisia kuin edellä.



Kuva 19. Kaaviokuvat myötävirtaus-, vastavirtaus- ja läpivirtausesikäsitelymenetelmistä.⁷³ (a) Myötävirtaus, nestemäinen kuuma vesisikäsitely, (b) vastavirta-reaktori ja (c) läpivirtausreaktori.

Vesiesikäsitteilyn etu on se, ettei neutralisointiin ja muuhun käsitteelyyn tarvita kemikaaleja. Biomassan partikkelikokoa ei myöskään tarvitse pienentää, koska lignoselluloosapartikkelit hajoavat vesikeitossa.^{151,154-156} Käsitteelyllä saadaan *O*-asetyyli- ja uronihapporyhmät lohkeamaan hemisellulooseista muodostaen etikkahappoa ja muita orgaanisia happoja. Tämä on toisaalta sekä etu että haitta. Näiden happojen vapautuminen auttaa katalysoimalla oligosakkaridien muodostumista ja poistoa. Samalla polysakkaridit, erityisesti hemiselluloosat, voivat hydrolysoitua edelleen monomeerisiksi sokereiksi jatkaen hajoamistaan osittain aldehydeiksi hapon ollessa mukana. Nämä aldehydrit, erityisesti furfuraali ja HMF, ovat mikrobisen fermentoinnin inhibiittoreita.¹⁵⁷

Veden pK_a -arvoon vaikuttaa lämpötila siten, että puhtaan veden pH lämpötilassa 200 °C on noin 5,0.¹⁵⁴ Vedellä on epätavallisen korkea dielektrisyysvakio, joka vaikuttaa ionisten ainesosien hajoamiseen. Vesi pystyy liuottamaan kaiken hemiselluloosan. Kun materiaalia käsitellään lämpötilassa 220 °C 2 minuutin ajan puolesta kaksikolmasosa ligniinistä saadaan liukenemaan useimmista biomassoista. Kuuma vesi pilkkoo hemiasetaalisidoksia ja vapauttaa happoja hydrolyysissä samalla helpottaen eetterisidosten hajoamista.¹⁵⁸ Menetelmä ei vielä tuntemattomista syistä liuota merkittävästi havupuumassoja.

4.5 Biologiset menetelmät

Biologisissa esikäsitteilymenetelmissä käytetään mikro-organismeja, kuten rusko-, valko- ja pehmytlahosieniä ligniinin ja hemiselluloosan hajottamiseen jätemateriaaleista.¹⁵⁹ Ruskolahot vaikuttavat lähinnä selluloosaan, kun taas valko- ja pehmytlahot vaikuttavat sekä selluloosaan että ligniiniin. Valkolahosieni on tehokkain itiökantaisista lignoselluloosamateriaalin biologiseen esikäsitteelyyn.⁸⁴ Biologisen esikäsitteilymenetelmän edut ovat alhainen energiankulutus ja lievät olosuhteet. Huonona puolena on hydrolyysinopeuden hitaus.

5 JATKOKÄSITTELY

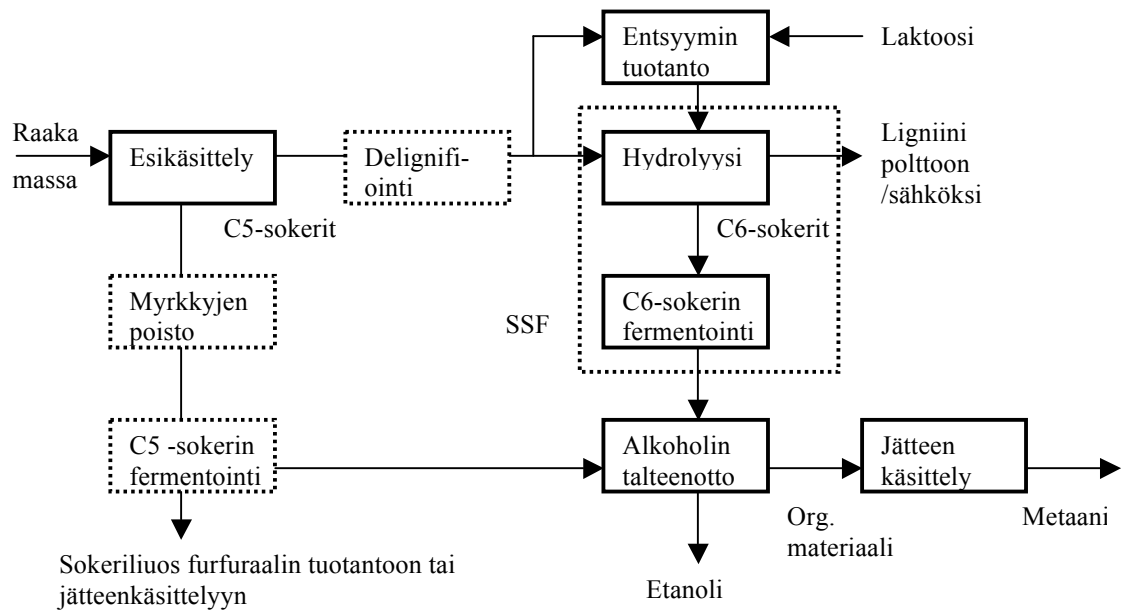
Eri esikäsitteilyjen jälkeen saatu massa tai liuos on jatkokäsiteltävä ennen sen lopullista fermentointia, inhibiittoreiden ja esimerkiksi hapon poistamiseksi. Jatkokäsitteilynä

pidetään lisäksi ns. jälkihydrolyysiä, joka voidaan suorittaa eri menetelmillä riippuen halutusta lopputuotteesta.

5.1 Entsymaattinen hydrolyysi

Selluloosan entsyymaattinen hydrolyysi suoritettuna sellulaasientsyymeillä on erittäin spesifinen.¹⁶⁰ Hydrolyysituotteet ovat tavallisesti pelkistettyjä sokereita sisältäen glukosia. Entsyymaattisen hydrolyysin etu on sen taloudellisuus verrattuna happo- tai alkaliseen hydrolyysiin, koska entsyymaattinen hydrolyysi suoritetaan lievissä olosuhteissa (pH 4,8, lämpötila 45 – 50 °C), eikä korroosio-ongelmaa esiinny.¹⁶¹ Sekä bakteerit että sienet tuottavat sellulaasia lignoselluloosamateriaalin hydrolysointiin. Kyseiset mikro-organismit voivat olla aerobisia tai anaerobisia, mesofiilisiä tai termofiilisiä. *Clostridium*-, *Cellulomonas*-, *Bacillus*-, *Thermomonospora*-, *Ruminococcus*-, *Bacteroides*-, *Erwinia*-, *Acetovibrio*-, *Microbispora*- ja *Streptomyces*-heimoihin kuuluvat bakteerit voivat tuottaa sellulaasia.¹⁶² *Cellulomonas fimi* ja *Thermomonospora fusca* ovat lajeja, joita on laajasti tutkittu sellulaasin tuotantoon. Vaikkakin monet sellulolyytisistä ja anaerobisista bakteereista, kuten *Clostridium thermocellum* ja *Bacteroides cellulosolvens*, tuottavat sellulaasia suurella spesifisellä aktiivisuudella, ne eivät vapauta sellulaasia entsyymiliuokseen, vaan syntynyt sellulaasi sitoutuu substraatin pinnalle.¹⁶¹ Koska anaerobiset mikro-organismit kasvavat hyvin hitaasti ja vaativat hapettomat olosuhteet, tutkijoiden kiinnostus kaupallisen sellulaasin tuotannossa on kohdistuneet sieniin.¹⁶¹

Entsymaattinen menetelmä¹⁶¹:



Sieniä, joiden on raportoitu tuottavan sellulaasia, ovat mm. *Sclerotium rolfisii*, *P. chrysosporium* ja *Trichoderma*-, *Aspergillus*-, *Schizophyllum*- ja *Penicillium*-lajit.^{84,161,163} Kaikista näistä sienisuvuista *Trichoderma*-lajia on tutkittu laajimmin sellulaasin tuotantoon.¹⁶³

Sellulaasit ovat yleisesti eri entsyymien seos. Sellulaasientsyymien lisäksi on olemassa useita muita liitännäisentsyymejä, jotka vaikuttavat hemiselluloosaan, kuten glukuronidaasi, asetyyliesteraasi, ksylanaasi, β -ksylosidaasi, galaktomannanaasi ja glukomannanaasi.¹⁶¹ Entsymaattisen hydrolyysin aikana sellulaasi hajottaa selluloosan tuottaen sokereita, jotka voidaan fermentoida hiivojen tai bakteerien avulla etanoliksi.

5.2 Happohydrolyysi

Selluloosa voidaan hydrolysoida glukoosiksi joko happohydrolyysillä tai entsyymaattisella hydrolyysillä. Puun happohydrolyysiä käytettiin joissakin maissa toisen maailmansodan aikoihin paikkaamaan valtavaa kemiallisen raaka-aineen tarvetta. Viime aikoina väkeviä happoja (HCl, fluorivetyhappo (HF·H₂O), rikkihappo (H₂SO₄)) käyttävien menetelmien yhteyteen on kehitelty laimeiden happojen hydrolyysilaitteistoja. Happohydrolyysimenetelmällä on useita haittapuolia, jotka rajoittavat niiden kaupallista

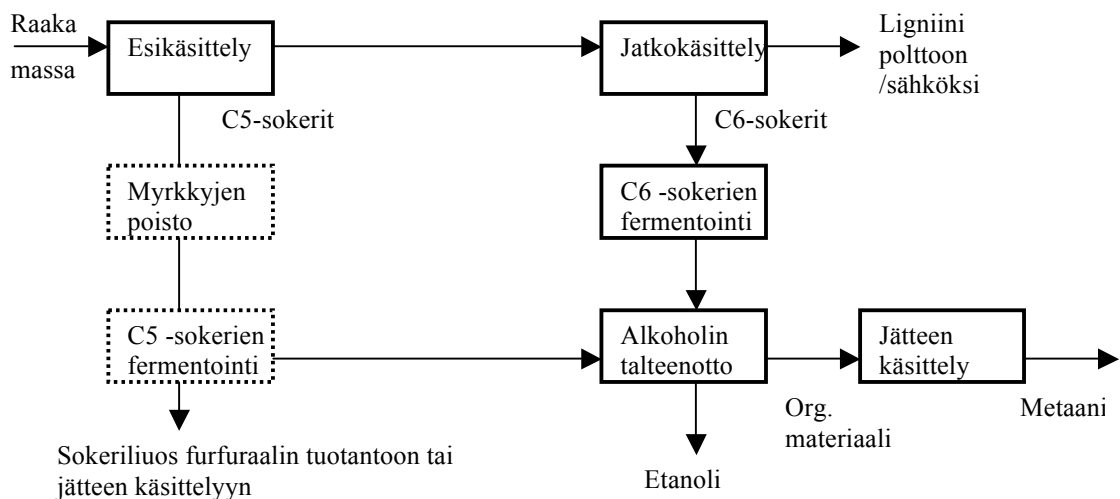
käyttöönottoa. Sokereiden hajoaminen ja suhteellisen alhaiset saannot rajoittavat taloudellista hyötyä laimeiden happojen hydrolyysissä. Vaikka väkevien happojen hydrolyysi ei juuri hajota sokereita ja saannot ovat jopa 100 %, ympäristö- ja korroosio-ongelmat sekä hapon kulutuksen ja kierrätyksen aiheuttamat korkeat kustannukset ovat suurimmat esteet sen taloudelliseen tuloksellisuuteen. Nykyisin tiukat ympäristönsuojelulliset vaatimukset aiheuttavat ongelmia sivutuotteista muodostuneen jätteen käsittelylle ja väkevän hapon kierrätykseen, mistä seuraa se, ettei happohydrolyysiä todennäköisesti tulla ottamaan käyttöön tulevaisuudessa.

5.2.1 Väkevä happo

Väkevähappohydrolyysissä raaka-aine kuivataan ensin alle 10 %:n kosteuspitoisuuteen, jotta happo ei laimentuisi hydrolyysissä. Hydrolyysi suoritetaan tavallisesti alhaisessa lämpötilassa (<35 °C) ja lyhyillä käsittelyajoilla (5 – 60 min) käyttämällä yleensä happoa HCl tai vedetöntä HF:a.

Yhdessä tutkimuksessa,¹⁶⁴ käytettiin kaasumaista suolahappoa ja hyödynnettiin hieman erilaista hydrolyysimuotoa. Puu kyllästettiin ensin hapolla normaalissa ilmanpaineessa, minkä jälkeen hydrolyysiä jatkettiin korkeassa paineessa (25 bar) tunnin ajan.

Väkevän hapon menetelmä:¹⁶¹



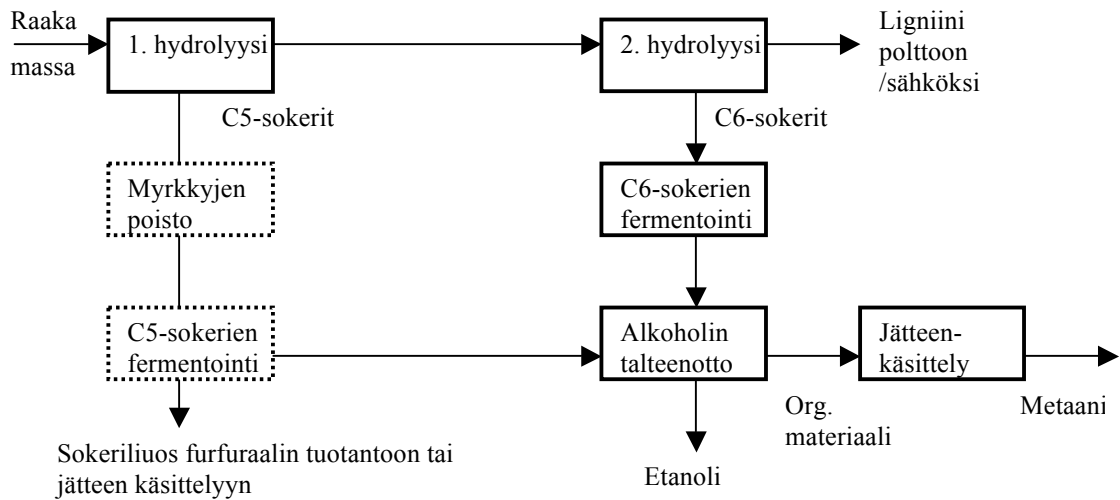
Tutkimuksissa Wright ja Power¹⁶⁶ sekä Lambert *et al.*¹⁶⁶ hydrolyysi suoritettiin kahdessa vaiheessa kierrättämällä rikkihappo-sokeriliuos toiseen hydrolyysivaiheeseen katalyytiksi. Ensimmäinen hydrolyysivaihe suoritettiin lämpötilassa 100 °C kahden tunnin ajan. Ensimmäisen vaiheen jälkeen sokerijae erotettiin kiinteästä materiaalista ja myöhemmin liuos jatkohydrolysoitiin tuoreella rikkihapolla muutamien minuuttien ajan alhaisessa lämpötilassa. Ensimmäisessä hydrolyysivaiheessa saavutetut oligomeeriset sokerit pilkkoutuvat monomeerisiksi sokereiksi jatkohydrolysointivaiheessa (60 – 140 °C, 1 h). Hydrolysaatti neutraloitiin kalkilla ennen fermentointia, samoin kuin laimean hapon tapauksessa.

Jotta väkevän hapon menetelmä olisi taloudellisesti toteutettavissa, happo on otettava talteen hydrolyysin jälkeen.^{96,165} Kyseinen hapon talteenotto tekee väkevän hapon menetelmästä kalliin ja on eniten energiaa kuluttava vaihe.

5.2.2 Laimea happo

Laimean hapon menetelmässä käytetään kahta erilaista hydrolyysivaihetta.¹⁶¹ Ensimmäisessä hydrolyysivaiheessa hemiselluloosafraktio muunnetaan sokereiksi ja sivutuotteiksi laimean hapon ja höyryn avulla. Happoina on yleisesti käytetty mineraalihappoja (esim. rikkihappoa) ja jopa rikkidioksidia. Ensimmäinen hydrolyysivaihe on lähes samanlainen, kuin jo aiemmin kerrottiin, mutta lämpötila on alhaisempi (130 – 190 °C) ja käsittelyaika toisaalta pitempi (10 – 30 min). Toisessa vaiheessa käytetään myös laimeaa happoa ja höyryä, mutta korkeampaa lämpötilaa (190 – 265 °C) ja hyvin lyhyttä käsittelyaikaa; muutamia sekunteja. Näistä kahdesta hydrolyysivaiheesta saatu sokeriliuos neutraloidaan kalkilla tai sen lisäksi pienellä lisäyksellä natriumsulfiittia ennen fermentointia. Neutraloinnin avulla pyritään poistamaan myös inhiboivia aineita. Yhdessä tutkimuksessa¹⁶⁷ happo regeneroitiin elektrodialyysillä ilman neutralisointiaan kalkilla.

Laimean hapon menetelmä:¹⁶¹



5.2.3 Jälkikäsittely

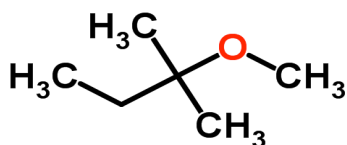
Happokäsittelymenetelmä vaatii jälkikäsittelyn ennen fermentointia. Tässä kappaleessa käsitellään lyhyesti kaksi yleisesti käytössä olevaa jälkikäsittelymenetelmää.

Etanolin valmistukseen raaka-aineena yleisemmin käytetyn sokeriruokojätteen hemiseluloosafraktio sisältää hiilihydraattien kokonaismäärästä jopa 35 % ja se voidaan hydrolysoida monomeerisiksi sokereiksi laimealla rikkihapolla.¹⁶⁸ Hydrolysaatin pelkistyneiden sokereiden väkevyys on kuitenkin suhteellisen alhainen johtuen korkeasta kiinteä/neste-suhteesta happohydrolyysin aikana. Hydrolysaatti tulee siten väkevoidä ennen fermentointia. Happohydrolysoinnin aikana syntyvät inhibiittorit voidaan poistaa kalkkikäsittelyllä,¹⁶⁹ jonka aikana rikkihappo ja etikkahappo poistuvat, pH tasaantuu ja kalkki saostuu kipsinä. Kalkitsemisen jälkeen happoa ei voida enää käyttää uudelleen.¹⁷⁰

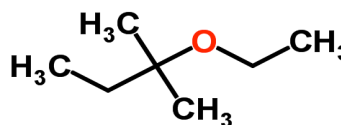
Elektrodialyysi (ED) on sähkökemiallinen erottelumenetelmä, jossa sähköisesti varatut kalvot ja niiden potentiaaliero erottelevat nestemäisen liuoksen ionit varautumattomista komponenteista.¹⁷¹ Viimeaikoina sovellusta on käytetty paljon luonnon veden ja suolaliuosten suolojen poistoon sekä pöytäsuolan valmistuksen lisäksi orgaanisten happojen, kuten maito-, sitruuna-, etikkahapon ja niiden suolojen erotteluun.^{172–174} ED-tekniikkaa on sovellettu myös asetaatin poistoon glyserolista.¹⁷⁵

6 ALKOHOLIT POLTTOAINEENA

Alkoholit sopivat ominaisuuksiensa puolesta bensiinin korvaajiksi joko sellaisenaan tai erilaisina eetteriyhdisteinään, joista käytetyin on ollut metanolista valmistettava ja lyijyttömän bensiiniin oktaaniluvun korottajaksi kehitetty MTBE (kuva 2). Viime aikoina TAME (*tert*-amyyylimetyylieetteri, kuva 20) ja etanolista valmistettavat ETBE (kuva 1) ja TAEE (*tert*-amyylietyylieetteri, kuva 21) ovat syrjäyttämässä MTBE:n lähinnä Yhdysvalloissa sattuneiden pohjavesisaastumisten takia. Näitä tuotteita valmistetaan biopohjaisista alkoholeista toistaiseksi vain vähäisiä määriä.



Kuva 20. TAME:n ($C_6H_{14}O$)
rakennekaava ¹⁷⁶



Kuva 21. TAEE:n ($C_7H_{16}O$)
rakennekaava ¹⁷⁷

Tällä hetkellä EU rajoitetaan alkoholien pitoisuutta bensiinissä happipitoisuuden takia, sallitun enimmäismäärän ollessa direktiivin mukaan 5 %.¹⁷⁸ Tällainen ns. matalaseos- teinen polttoaine ei vaadi erillistä jakelujärjestelmää, vaan on osa normaalia bensiini- kauppaa. Tätä korkeampia seossuhteita tavoiteltaessa tarvitaan jo muutoksia autokalus- toon. Esimerkiksi Ruotsissa on käytettävissä kulkuneuvoja, joissa voidaan käyttää polttoaineena jopa 85 %:n alkoholilisäystä (E85). Kyseisille kulkuneuvoille on nykyään tarjolla runsaat 100 tankkauspistettä ympäri Ruotsia ja pisteiden määrää pyritään vielä lisäämään entisestään.

Mikäli etanolia haluttaisiin tuottaa suuria määriä edes likimain kilpailukykyisellä kustannusrakenteella raakaöljyjälöstuksen kanssa, raaka-aineeksi on otettava puu- pohjainen biomassa. Tällöin kyseessä on lignoselluloosan eli selluloosan, hemiselluloos- sien ja ligniinin muodostaman massan sisältämien sokerien hyödyntäminen. Koska puupohjaisen biomassan sokeriyhdisteiden rakenteet ovat tietyiltä osin erilaisia kuin peltokasvien sisältämien sokerikomponenttien rakenteet, on käytettävä erityyppisiä kemi- allisia prosesseja. Perinteisen käymisreaktion sijasta sovelletaan hydrolyysireaktiota,

joilla sokerit pilkotaan ligniinin erottamisen jälkeen. Hydrolyysin tuloksena muodostuu lukuisia eri sokeriyhdisteitä, joista osa vaatii etanolituotannossa nykyisin käytetyistä poikkeavia hiivakantoja. Puuraaka-aineen käyttökustannukset ovat kuitenkin niin alhaiset verrattuna peltoviljelyllä tuotettuihin biomassoihin, että mielenkiinto tämän tyyppiin tutkimukseen on laajaa. Puuraaka-aineen käytön etuja on mm. se, että puhtaiden hemiselluloosien jatkojalostus on peltomassapohjaisia hemisellulooseja helpompaa ja tähän perustuvien tuotantoprosessien kehittämien on edistynyt. Vaikeammin hyödynnettävän lignoselluloosajakeen osalta työ on kuitenkin vasta alullaan. Tutkimus keskittyy merkittävässä määrin entistä huokeampien ja tehokkaampien entsyymien kehittämiseen.

7 YHTEENVETO

Biomassasta valmistettu etanoli on monipuolinen polttoaine ja polttoaineen lisäaine, joka voi maailmanlaajuisesti tuottaa poikkeuksellisia ympäristöllisiä, taloudellisia sekä strategisia etuja. Bioetanolilla on erityisen suuri merkitys kasvihuonepäästöjen vähentämisessä, joka muilla polttoaineilla on suorastaan mahdotonta. Biomassan suuren saatavuuden vuoksi bioetanoli pystyy korvaamaan maailmanlaajuisesti kasvavan polttoainekysynnän tarpeet ja tasapainottamaan energiatasetta erityisesti kehitysmaissa. Bioetanolin valmistaminen jätteistä on lisäksi tärkeä jätteiden hävitystapa, joka noudattaa nykyisiä tiukkoja vaatimuksia. On myös huomattavaa, että bioetanoli tarjoaa yhden harvan vaihtoehdon jatkuvaan nestemäisen polttoaineen tuotantoon.

Bioetanolin tuotantoon kehitettyjen entsyymipohjaisten menetelmien kustannuksia on nykyisin saatu merkittävästi pienennettyä; jolloin nykyisillä kustannuksilla arvioiden teknologia on tällä hetkellä kilpailukykyinen varsinkin kapean sektorin markkinoilla. Tämän kehityksen avaimina ovat olleet suurten saantojen ja nopeiden reaktioaikojen saavuttaminen kehittämällä esikäsittelymenetelmiä ja entistä tehokkaampia sellulaasi-entsyymejä sekä yhdistämällä toisiinsa selluloosan hydrolyysi- ja fermentointivaiheet. Lisäksi bakteerien geneettinen muuntelu, jotta lignoselluloosamateriaalista saataisiin fermentoitua sokereita laaja-alaisemmin bioetanoliksi suurilla saannoilla, on ollut taloudellisuuden kannalta välttämätöntä.

Vaikka kehitys on ollut vaikuttavaa, tulee bioetanolin tuotannon kustannusten laskea edelleen, jotta sen kilpailukykyä polttoainemarkkinoilla ei tarvitse edistää erityisillä verohelpotuksilla. Koska entsyymipohjaisia menetelmiä voidaan rakentaa kehittyvän bioteknologian avulla, se näyttäisi olevan lupaavin menetelmä kustannusten pienentämiseksi. Huolelliset tutkimukset, menetelmien mallinnukset ja makroskooppiset talousanalyysit paljastavat, ettei kuitenkaan ole olemassa mitään perustavaa laatua olevaa estettä teknologian edelleen kehittämiseksi. Kustannuksia arvioitaessa on todettu esikäsittelyn olevan erityisen kalliin vaiheen vastaten noin kaksikolmasosaa kustannuksista. Näin esikäsittelyn ja biokonversion konfiguraatioiden parantamisella voidaan saavuttaa huomattavat kustannussäästöt. Itse asiassa on havaittu, että jatkuva biomassan käsitteilyyn tarkoitettujen esikäsittely- ja bioprosessointikokoonpanojen kehittyminen on alentanut bioetanolin tuotannon kustannuksia tasolle, jolla se voi kilpailla korkotuetuilla markkinoilla.

On myös tärkeää ottaa seuraava askel ja kaupallistaa bioetanoliteknikka siten, että sen valtavat hyödyt voidaan saavuttaa. Toisaalta bioetanolilaitokset ovat toistaiseksi varsin suuria ollakseen kannattavia. Tällöin vaaditaan merkittäviä pääomakustannuksia, mikä ei välttämättä houkuttele sijoittajia rahoittamaan kyseistä 'first-of-a-kind'-tekniikkaa. Edellytyksenä olisi eri asiantuntijatahojen yhteistyö pyrittäessä ymmärtämään bioetanolin jalostuksen keskeiset vaiheet teknologian edelleen kehittämiseksi.

KOKEELLINEN OSA

8 TYÖN TARKOITUS

Tämän lisensiaattityön kokeellisen osan tarkoituksena oli tutkia kuumavesikäsitteilyn ohella sekä laimean että väkevän rikkihappoesikäsitteilyolosuhteiden vaikutusta eri lignoselluloosapohjaisiin raaka-aineisiin. Tutkimuksessa tarkasteltiin eri esikäsitteilymenetelmien vaikutusta raaka-aineen hydrolyysiin eli selvitettiin, kuinka paljon materiaalia poistui lähtöaineista, ja minkälainen kemiallinen koostumus muodostuvilla massoilla (BISE-projekti) ja hydrolysaateilla (Suomen Akatemian projekti) oli.

Raakamateriaalista analysoitiin kuiva-aine-, uuteaine-, ligniini- ja hiilihydraattipitoisuudet. Esikäsitteilyliuoksista analysoitiin pitoisuudet hiilihydraateista, muodostuneista inhibiittoreista eli furaaneista sekä hapoista ja ligniinistä. Kemiallisen koostumuksen lisäksi määritettiin fysikaalisina ominaisuuksina liuosten pH, tiheys ja kuiva-ainepitoisuus. Raaka-aineesta analysoitiin uuteaineet ennen ja jälkeen esikäsitteilyä. Näin menettelemällä saatiin kuva materiaalista esikäsitteilyn aikana poistuneesta uuteainepitoisuudesta.

Työn edetessä keskityttiin tarkemmin esikäsitteilymenetelmän vaikutuksesta muodostuvien sivutuotteiden lisäksi hiilihydraattisaantojen analysointiin liuoksista. Päämääränä oli optimaalisten esikäsitteilyolosuhteiden kartoittaminen, jotta pystyttiin arvioimaan liuoksen mahdollinen potentiaali käymispohjaisen bioetanolin valmistukseen.

9 TARVIKKEET JA OHJELMISTOT

Osa työssä käytetyistä laitteistoista ja tietokoneohjelmista, sekä niiden valmistajat ja tyypit on esitetty taulukossa 8 yhdessä muiden tarviketietojen kanssa.

Taulukko 8. Laitteistot sekä tietokoneohjelmat

Laitteisto	Valmistaja	Tyyppi
Analyysivaaka	Mettler Toledo	AB104
Analyysivaaka	Sartorius	BP 211D
Autoklaavi	Melag	Autoklav 23
Automaattipipetti	Thermo Labsystems	Finnpipette 1 - 5 µL
Automaattipipetti	Thermo Labsystems	Finnpipette 200 - 1000 µL
Automaattipipetti	Thermo Labsystems	Finnpipette 20 - 200 µL
Injektori	Hewlett Packard	7673 GC/SFC
IR-kuivain	Dewler Instruments	IR-200
Jauhatusmylly	Tecator	Cyclotec 1093 Sample mill
Kaasukromatografi	Hewlett Packard	5890 Series II Plus GC
Kolonni	Restek	RTX-5
Kolonni	J & W Scientific, Agilent Technologies	DB-1701
Magneettisekoitin	IKA Labor Technik	KMO 2 basic
Ohjausohjelmisto	Hewlett Packard	3365 Series II Chemstation
Ohjausohjelmisto	Hewlett Packard	3365 Series II Chemstation
pH-mittari	MeterLab	PHM210
pH-mittari	Orion Research	410 A
Pullonsekoittaja	Stuart Scientific	Flask shaker SF1
Pyörivä keitin	Haato Tuote Oy	18 L
Pyöröhaihdutin	Heindolph	WB 2000
Pyöröhaihdutin	Buchi	R-114
Soxhlet -uuttolaite	Gerhardt	
Ultraäänihaude	Grant	XB14
UV/VIS	Beckman	Du 640

10 REAGENSIT JA LIUOTTIMET

Työn kemikaalit ja niiden valmistajat sekä puhtausasteet on esitetty taulukossa 9.

Taulukko 9. Kemikaalit ja niiden valmistajat ja puhtausasteet

Reagenssi	Valmistaja	Puhtausaste %
Arabinoosi	Fluka	99,5
Asetoni	Prolabo	99,8
Asetyylikloridi	Fluka	>98
Galaktoosi	Fluka	99
Galakturonihappo	Fluka	99
Glukoosi	Fluka	99,5
Glukuronihappo	Fluka	>97
Glyseroli	Prolabo	>99,5
Ksylitoli	Fluka	>99
Ksyloosi	Fluka	99
Mannoosi	Fluka	99
Metanoli	J. T. Baker	>99,8
<i>Myo</i> -inositoli	Fluka	≥99,5
Pyridiini	LabScan	>99,5
Rikkihappo	Fluka	95 – 97
Silylointireagenssi	Regisil	>99
Sorbitoli	Fluka	>98
UHQ-vesi	Millipore	sisäinen vastus 18.2 M

11 KUUMAVESIKÄSITTELY

Kuumavesikäsitteily suoritettiin Jyväskylän yliopiston soveltavan kemian osaston öljylämmitteisellä sarjakeittimellä, johon sopi kerrallaan 8 reaktoria. Yhden reaktorin tilavuus oli 2 L ja enimmäistäyttömäärä 1,67 L. Kaikista näytteistä tehtiin kaksi rinnakaista keittoa. Käsitteilyn neste-hakesuhde oli 5 L/kg. Käsitteilylämpötilat olivat 140, 150 ja 170 °C sekä käsitteilyaika muutettiin halutun P-tekijän arvon (200 – 800) mukaan. P-tekijän arvoa vastaavat keittoajat on esitetty taulukossa 10. Lisäksi määritettiin paine-

mittarin avulla paineaika, jolloin paine tasaantui ja lämpötila reaktorin sisällä oli haluttu.

Taulukko 10. Vesiesikäsitteilyajat minuutteina

P-tekijä	Käsittelyaika		Käsittelyaika 170 °C
	140 °C	150 °C	
200	240	100	
300	360	150	30
400	480	200	40
500		250	50
800		400	

11.1 Paineajan määrittäminen

Reaktori täytettiin UHQ-vedellä (810 mL) ja suljettiin tiiviisti kannella, johon oli asennettu painemittari. Öljyhauteen lämpötilan tasaannuttua haluttuun keittolämpötilaan asetettiin reaktori ja vastapaino paikoilleen. Painemittauksen aikana ei käytetty sekoitusta. Tämän jälkeen mitattiin sekuntikellolla aika, joka kului paineen tasaantumiseen reaktorin sisällä. Esikäsitteilyjen paineajaksi määritettiin noin 30 minuuttia, joka lisättiin käsittelyaikoihin. Paineajan määrittäminen perustui painemittarin mitta-asteikkoon (väli 0,25 bar) ja kirjallisuudesta saatuihin haluttua lämpötilaa vastaaviin painearvoihin vedelle.

11.2 Hakkeiden kuumavesikäsitteily sarjakeittimellä

Öljyhaudekeitin asetettiin kuumenemaan haluttuun käsittelylämpötilaan ja sekoitus käynnistettiin. Reaktoriin punnittiin noin 135 g kuivaa lignoselluloosapohjaista raaka-ainetta ja lisättiin UHQ-vettä halutussa suhteessa (5 L/kg). Reaktorit suljettiin tiiviisti ja asetettiin keittimeen, kun öljyhaude oli saavuttanut halutun lämpötilan. Sekoitus käynnistettiin uudelleen. Käsittelyn lopuksi reaktorit jäähdytettiin kylmällä vedellä (10 min), jonka jälkeen käsitelty raaka-aine erotettiin liuoksesta suodattamalla. Rinnakkaisten keittojen hydrolyysiliuokset yhdistettiin, liuos pullotettiin muovipulloihin ja pakastettiin. Käsittelystä saatu massa pestiin juoksevan kuumen veden (20 min) ja kylmän

veden (10 min) alla. Lopuksi massa lingottiin (7 min) kuivaksi ja punnittiin. Käsitelty massa ilmakeivattiin ja kuiva-ainepitoisuuden jälkeen varastoitiin minigrip -pusseissa.

11.3 Kuumavesikäsitely eräkeittimellä

Sarjakeittimellä tehtyjen kuumavesikäsitelyjen lisäksi suoritettiin näitä isompi käsittelyerä (koivu) sähkölämmitteisellä eräkeittimellä. Pyörivän keittimen (Haato) tilavuus oli 18 L. Hakkeen kuiva-ainepitoisuus määritettiin IR-kuivattimella. Kuivaa haketta punnittiin tarkasti 1,7 kg ja UHQ-vettä lisättiin keittimeen 8,5 L. Kansi suljettiin ja keitto aloitettiin (150 °C). Käsittelyaika oli 2 tuntia 31 minuuttia (P = 300). Käsittelyn lopuksi keittimen paineventtiili avattiin ja paineen poistuttua massa erotettiin liuoksesta. Massan pesu, kuivaus ja saannon määrittäminen tehtiin samoin kuin sarjakeittimellä suoritetuissa keitoissa. Käsittelystä saatu hydrolyysiliuos lähetettiin Lappeenrannan teknilliseen yliopistoon fraktiointijatkotutkimuksia varten, eikä sille tehty vastaavia analyysejä.

12 RIKKIHAPPOESIKÄSITTELY

Rikkihappoesikäsitely suoritettiin kahdella erilaisella esikäsitelytavalla yhteensä viidellä eri happopitoisuudella alla olevan esityksen mukaisesti. Käsittelyt 1 – 3 tehtiin lasiastiassa lämmittäen keittolevyllä vesihautessa. Käsittely 4 suoritettiin, kuten vesi-esikäsitely, sarjakeittimellä (vrt. kohta 11).

- Käsittely 1:

- Happopitoisuus: 30 % H₂SO₄/H₂O
- Kolme raaka-ainetta: kuusi, koivu ja ruokohelmi
- Kolme lämpötilaa: 60, 70 ja 80 °C
- Kolme käsittelyaikaa: 30, 60 ja 90 minuuttia
- Liuokset lähetettiin Lappeenrannan tekniseen yliopistoon jatkokäsittelyä varten

- Käsittely 2:
 - Happopitoisuus: 54 % $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ -> laimennus 24 % $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$
 - Kaksi raaka-ainetta: koivu ja ruokohelpi
 - Lämpötila 50 °C → nosto 80 °C
 - Käsittelyaika: hapon lämmitys 50 °C, raaka-aineen lisäys 45 min, pito 60 min, hapon laimennus ja lämpötilan nosto 80 °C, minkä jälkeen pito 180 min
 - Liuokset lähetettiin Lappeenrannan tekniseen yliopistoon jatkokäsittelyä varten

- Käsittely 3:
 - Happopitoisuus: 70 % $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ → laimennus 30 % $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$
 - Kaksi raaka-ainetta: koivu ja ruokohelpi
 - Lämpötila 50 °C → nosto 80 °C
 - Käsittelyaika: hapon lämmitys 50 °C, raaka-aineen lisäys 45 min, pito 60 min, hapon laimennus ja lämpötilan nosto 80 °C, minkä jälkeen pito 180 min
 - Liuokset lähetettiin Lappeenrannan tekniseen yliopistoon jatkokäsittelyä varten

- Käsittely 4:
 - Happopitoisuus: 1 ja 3 % $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$
 - Kolme raaka-ainetta: kuusi, koivu ja ruokohelpi
 - Kaksi lämpötilaa: 170 ja 190 °C
 - Seitsemän käsittelyaikaa: 10, 20, 30, 60, 90, 120 ja 150 minuuttia
 - Liuokset lähetettiin Lappeenrannan tekniseen yliopistoon jatkokäsittelyä varten

Käsittely 1: Esikäsittely suoritettiin neste-massa-suhteella 10 L/kg, jotta saataisiin mahdollisimman suuri määrä analysoitavaa liuosta. Ruokohelpi annosteltiin esikäsittelyyn jauhattuna jauhona, koivu ja kuusi puruna. Esikäsittelyn rikkihappoliuos lämmitettiin ensin sekoituksella haluttuun lämpötilaan, minkä jälkeen massa lisättiin liuokseen samalla sekoittaen. Käsittelyn lämmitysaika aloitettiin, kun kaikki lisätty massa oli saatu sekoitettua tasaiseksi pastaksi happoliuokseen. Käsittelyn jälkeen massa jäähdy-

tettiin jää/vesihauteessa ja suodatettiin. Liuos pulloettiin välittömästi suodatuksen jälkeen ja laitettiin kylmiöön jäähtymään lisää, minkä jälkeen liuos siirrettiin pakkaseen. Massa pestiin ensin kuumalla vedellä ja sen jälkeen kylmällä vedellä, kunnes massasta irtoava neste oli kirkasta. Tämän jälkeen massaa kuivattiin imulla, kunnes nestettä ei enää irronnut. Massa punnittiin, pussitettiin minigrip-pusseihin ja siirrettiin kylmiöön. Jatkossa massat ilmakeivattiin ja niistä määritettiin kuiva-ainepitoisuudet.

Käsittelyt 2 ja 3 suoritettiin samalla laitteistolla kuin käsittely 1, vain rikkihappoliuoksen pitoisuus ja käsittelyajat/-lämpötilat olivat erilaiset. Käsittelyssä käytetty rikkihappoliuos lämmitettiin aloituslämpötilaan (50 °C), minkä jälkeen massa lisättiin sekoitteen. Massaa sekoitettiin, jotta saatiin aikaiseksi homogeeninen pasta, jota lämmitettiin tässä lämpötilassa 60 min. Tämän jälkeen lämpötilaa kohotettiin ja liuos laimennettiin UHQ-vedellä haluttuun happopitoisuuteen. Käsittelyä jatkettiin tässä lämpötilassa 180 min, seos jäädytettiin vesi-jäähauteessa ja suodatettiin imulla. Liuokset pulloettiin, massa pestiin samoin kuin käsittelyssä 1 ja tuotteet siirrettiin kylmiöön. Lopuksi liuokset pakastettiin ja massat ilmakeivattiin.

Käsittely 4 suoritettiin öljykeittimellä samoin kuin vesiesikäsitelyssä. Reaktoreihin annosteltiin ainekset neste-massa-suhteessa 5 L/kg. Massojen partikkelikoko oli samat kuin käsittelyissä 1 – 3. Käsittelyssä noudatettiin vesiesikäsitelystä saatuja paineennostoaikoja, jotka lisättiin varsinaisiin käsittelyaikoihin. Näin siksi, että laimean rikkihappoliuoksen tiheys ei juuri poikennut UHQ-veden tiheydestä, eikä siten katsottu sen olennaisesti vaikuttavan paineennostoaikoihin. Käsittely kokonaisuudessaan suoritettiin vesiesikäsitelyn mukaisesti sarjakeittimellä (vrt. kohta 11).

13 RAAKA-AINEEN VALMISTELU

Lignoselluloosapohjaisena lähtöaineena työssä käytettiin valmiiksi hakettua mänty-, kuusi- ja koivuhaketta sekä ruokohelpiä, joka jauhettiin erikseen. Koivuhake saatiin Imatran Kaukopään Stora Enso Oyj:n tehtaalta. Mänty- ja kuusihake saatiin Kotkan Sunila Oy:n tehtaalta. Ruokohelpi haettiin Vapon Äänekosken keskustoimistolta. Raakamateriaali seulottiin, ilmakeivattiin ja analysoitiin; ruokohelpi jauhettiin esikäsitelyyn. Puuaineksen partikkelikoko vesiesikäsitelyssä ja laimeassa rikkihappoesikäsitelyssä oli noin 13 x 8 x 35 mm, ja väkevässä rikkihappoesikäsitelyssä noin 3 x 1 x 5

mm. Ruokohelpijauheen partikkelikoko oli kaikissa raaka-aineen esikäsittelyissä noin 1 x 0,2 x 2 mm. Raaka-aineista analysoitiin kuiva-ainepitoisuus, uuteaine- , ligniini- ja hiilihydraattipitoisuudet ennen esikäsittelyä.

13.1 Seulonta

Hake seulottiin laitteella, jossa oli ylinnä reikäseula (45 mm), seuraavana rakoseula 8 mm, reikäseulat 13, 7 ja 3 mm sekä alimpana purulaatikko. Seulonta-aika/hake-erä oli 10 minuuttia. Esikäsittelyihin tarvittava hake otettiin talteen seulojen 7 – 13 mm välistä. Kuoret, oksat ja muut epäpuhtaudet poistettiin käsin. Lopuksi hake ilmakeivattiin.

13.2 Hakkeen kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen

Upokasta kuivattiin uunissa (105 °C, 30 min) ja jäähdytettiin eksikaattorissa (30 min). Tyhjän upokkaan massa punnittiin. Tämän jälkeen toistettiin upokkaan kuivaus, jäähdytys ja punnitus samalla tavalla. Näin taarattuun upokkaaseen punnittiin ilmakeivattua raaka-ainetta noin 3 g, kuivattiin uunissa (105 °C) yön yli, jäähdytettiin eksikaattorissa (60 min) ja lopuksi punnittiin. Näytettä kuivattiin uudelleen uunissa (120 min), jäähdytettiin (60 min) ja punnittiin kuivatun näytteen massa. Kuiva-ainepitoisuus laskettiin kaavalla:

$$X = \frac{b - a}{m} * 100 \quad , \quad (1)$$

missä

X on näytteen kuiva-ainepitoisuus (%),

a on taaratun upokkaan massa (g),

b on taaratun upokkaan + kuivan näytteen kokonaismassa (g) ja

m on punnitun näytteen massa (g).

Kuiva-ainepitoisuuden määritettiin jokaiseen käsittelysarjaan erikseen.

14 ANALYYSIT

Esikäsitellyistä (30 %, H₂SO₄) massoista ja puhtaista raaka-aineista määritettiin uuteaineet, ligniini ja hiilihydraatit. Kaikista massoista määritettiin kuiva-ainepitoisuudet sekä ennen että jälkeen esikäsitelyyn. Esikäsitellyistä saaduista liuoksista määritettiin hiilihydraatit ja inhibiittorit (HMF, furfuraali, sekä etikka- ja muurahaishappo). Osasta liuoksista (vesiesikäsitely) määritettiin lisäksi pH, tiheys ja kuiva-ainepitoisuus. Tiheyden ja kuiva-aineen määrittämistä varten liuokset yhdistettiin eri keitoista, mutta vastaavista olosuhteista ja sekoitettiin mahdollisimman homogeeniseksi. Analyysissä käytettiin HPLC-, IC- ja GC-kromatografisia menetelmiä sekä UV/VIS-spektrofotometriä (ligniininmääritys).

14.1 Uuteaineiden gravimetrinen määrittäminen

Raaka-aineesta osa jauhettiin ja tästä jauheesta otettiin näyte (1 g), josta määritettiin kuiva-ainepitoisuus. Kuivaa jauhetta punnittiin noin 2,0 g asetonipestyyn uuttohylsyyn (Macherey-Nagel Extraction Thimbles, MN 645, 22 mm x 80 mm) ja näyte peitettiin asetonipestyllä pumpulilla. Uttokolviin (250 mL) lisättiin asetonia (150 mL) ja muutama asetonipesty kiehumakivi. Uttokolvit ja -hylsyt asetettiin Soxhlet-uuttolaitteistoon (30 mL) ja uuttonopeus säädettiin siten, että uuttohylsy tyhjeni 6 – 10 kertaa tunnissa neljän tunnin aikana.

Uuton jälkeen näyte haihdutettiin lähes kuivaksi pyöröhaihduttimella ja jäännös siirrettiin taarattuun (105 °C, 30 min; jäähdytys 30 min eksikaattorissa; punnitus) Kimax-putkeen. Uttokolvi huuhdottiin tarkasti puhtaalla asetonilla ja huuhteluliukset yhdistettiin näytteeseen. Kimax-putkessa oleva näyte haihdutettiin tämän jälkeen kuivaksi typpivirtauksella yön aikana ja kuivattu näyte punnittiin. Jokaisesta lähtöaineesta tehtiin kolme rinnakkaismääritystä, joiden keskiarvona saatiin asetoniin uuttuneiden yhdisteiden kokonaismäärä. Uuteainepitoisuus laskettiin kaavalla:

$$U = \frac{m_{uute}}{m} * 100, \quad (2)$$

U on asetoniin uuttuneiden yhdisteiden osuus näytteestä (%),

m_{uute} on uutteen massa (g) ja

m on kuivan näytteen massa (g).

14.2 Ligniiniipitoisuuden määrittäminen

14.2.1 Klason–ligniini

Uuteainepitoisuuden määrittämisen jälkeen punnittiin näytteestä noin 200 mg koeputkeen. Tämän jälkeen punnittuun näytteeseen lisättiin täyspipetillä 4 mL viileää 72 %:sta rikkihappoa. Koeputki siirrettiin vakio­lämpötilaiseen (30 °C) vesihauteseen tunniksi ja näytettä sekoitettiin lasisauvalla muutaman minuutin välein. Koeputkesta näyte huu­hdeltiin säilöpulloon (250 mL) UHQ-veden avulla siten, että liuksen kokonaistilavuudeksi tuli 116 mL. Säilöpullo suljettiin ja laitettiin autoklaaviin (1 bar, ~ 121 °C, 1 h).

Näyte jää­hdytettiin huoneen­lämpöön ja happoon liukenematon, saostunut ligniini erotettiin vaku­umis­uodattamalla taaratulla sintterillä (nro 4). Saatu saostuma pestiin kuumalla UHQ-vedellä ja suodos siirrettiin mittapulloon (500 mL). Sintteri ja saostuma kuivattiin uunissa (105 °C) yön yli, jää­hdytettiin eksikaattorissa (30 min) ja punnittiin. Happoon liukenematon ligniini määritettiin kaavalla:

$$L_K = \frac{m_{\text{saostuma}} - m_t}{m} * 100 \quad , \quad (3)$$

missä

L_K on happoon liukenemattoman ligniinin osuus näytteestä (%),

m_{saostuma} on taaratun sintterin ja kuivan saostuman yhteismassa (g),

m_t on taaratun sintterin massa (g) ja

m on kuivan näytteen massa (g).

14.2.2 Rikkihappoon liukeneva ligniini

Rikkihappohydrolyysistä saatu suodos laimennettiin ($A = 0,3 - 0,8$) UHQ-vedellä ja liuoksen ligniinipitoisuus määritettiin UV/VIS-spektrofotometrillä ($\lambda = 205 \text{ nm}$). Nollanäytteenä käytettiin rikkihappoliuosta (1 %) ja rikkihappoon liunneen ligniinin pitoisuus, c (g/L), laskettiin kaavalla:

$$c = \frac{A}{ab} \quad , \quad (4)$$

missä

A on näytteen absorbanssi aallonpituudella 205 nm,

a on absorptiviteetti (110 L/(gcm) koivulle ja ruokohelpille sekä 120 L/(gcm) havupuille) ja

b on kyvetin optinen matka (cm).

Kokonaisligniini määritettiin laskemalla yhteen Klason-ligniini ja rikkihappoon liunnut ligniini. Jokaisesta näytteestä tehtiin kolme rinnakkaismäärittystä, joista laskettiin keskiarvo.

14.3 Hiilihydraattipitoisuuden määrittäminen massoista

Uuteaineiden määrittämiseksi saatu suodos laimennettiin mittapullossa (500 mL) merkkiin. Pipetoitiin 20 mL:n mittapulloon 2,0 mL sisäistä standardia (\rightarrow fukoosi 50 ppm), täytettiin merkkiin happohydrolysoidulla näytteellä (tai standardiliuoksella) ja sekoitettiin ravistamalla. Tämän jälkeen siirrettiin kyseistä näyteliuosta noin 1,5 mL ionikromatografian (IC) näytepulloon. Standardinäytteet valmistettiin näytteitä vastaavilla pitoisuuksilla samassa rikkihappopitoisuudessa kalibrointia varten. Analysoitavat hiilihydraatit olivat arabinoosi, galaktoosi, glukoosi, ksyloosi ja mannoosi. Analyysiin käytetyt laitteisto ja ajo-olosuhteet on esitelty taulukossa 11.

Ajoliuksina käytettiin degassoitua ($\geq 18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}$) ja helium-paineistettua UHQ-vettä, NaOH-liuosta (100 mmol), natriumasetaattiliuosta (CH_3COONa , 1 M) ja natrium-

asettaatti (500 mM) - NaOH (100 mM) -liuosta. Post column-liuoksena käytettiin NaOH-liuosta (300 mmol).

Taulukko 11. Ionikromatografinen analyysi, hiilihydraatit

Analyttinen erottelu ja detekointi	<ul style="list-style-type: none"> - Ajoliuoksen virtaus 0,3 mL/min ajo-ohjelman mukaisesti - GS50 gradienttipumppu - Kolonni CarboPac PA1 + Quard PA1 - Detekointi ED50, hiilihydraattipulssitus
Kolonnin jälkeinen ajoliuoksen syöttö (post-column)	<ul style="list-style-type: none"> - IC25 isokraattinen pumppu - liuos 300 mM NaOH - virtaus 0,1 mL/min

14.4 Hiilihydraattipitoisuuden määrittäminen liuoksista

Vesiesikäsitteystä saadusta hydrolyysiliuoksesta analysoitiin hiilihydraatit ja uronihapot sekä haihtuvat hapot kaasukromatografialla. Rikkihappoesikäsitteelyn liuoksien kaikki analyysit suoritettiin neste- ja ionikromatografialla. Analysoitava liuos suodatettiin tarpeen vaatiessa hiilihydraattianalyysiin ruiskusuodattimella (nylon, 0,45 µm).

14.4.1 GC-analyysi

Hydrolyysiliuos laimennettiin suhteessa 1/10 ja kyseistä laimennosta pipetoitiin 2 mL kolviin ja haihdutettiin kuiviin. Tämän jälkeen näytteet silyloitiin valmistamalla näytteistä silyylijohtannaiset. Ennen silylointia kuivaksi haihdutettuihin huoneenlämpöisiin näytteisiin lisättiin 2 mL metanolyysireagenssia (16 mL asetyylikloridia + 100 mL kylmää metanolia). Näytettä sekoitettiin muutama minuutti ultraäänihauteessa ja pidettiin uunissa (100 °C, 3 h) tiiviisti suljettuna. Kolvi jäädytettiin ja siihen lisättiin vedetöntä pyridiiniä (kuivattu KOH-rakeilla, 0,80 mL) ja 1 mL sisäistä standardia (sorbitoli, 0,535 g/L) ja haihdutettiin kuivaksi. Tämän jälkeen lisättiin 0,500 µL pyridiiniä ja 0,250 mL silylointireagenssia (99 % BSFTA + 1 % TMCS), sekoitettiin ultraäänihauteessa muutama minuutti ja ravisteltiin (40 min). Näyte suodatettiin vialliin pasteurpipetin (+ pum-

puli) läpi ja analysoitiin kaasukromatografilla.

Standardit valmistettiin punnitsemalla noin 1000 mg jokaista monosakkaridia, jotka liuotettiin UHQ-veteen. Määritettävät hiilihydraatit olivat arabinoosi, glukoosi, galaktoosi, ksyloosi, mannoosi sekä galakturonihappo ja glukuronihappo. Standardiliuos laimennettiin pitoisuuteen 100 mg/L. Laimennettu standardiliuos käsiteltiin samoin kuin näyte. Näytteet analysoitiin vuorokauden sisällä kaasukromatografilla (taulukko 12).

Taulukko 12. Kaasukromatografinen analyysi, hiilihydraatit

Kolonne	DB-1701 (60 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
Injektorin lämpötila	290 °C
Detektorin (FID) lämpötila	300 °C
Näyteohjelma	100 °C (2 min) → 2 °C/min 100 °C → 185 °C (27 min) → 39 °C/min 185 °C → 280 °C (15 min)

Rikkihappohydrolyysissä muodostuvien monosakkaridien pitoisuudet laskettiin kromatogrammin piikkien pinta-aloista suhteessa sisäisen standardin piikin pinta-alaan. Standardinäytteen avulla laskettiin jokaiselle monosakkaridille responsisokeroin (R) seuraavalla kaavalla 5:

$$R = \frac{m_{\text{sokeri}} * a_{\text{istd}}}{m_{\text{istd}} * a_{\text{sokeri}}}, \quad (5)$$

missä

m_{sokeri} on standardisokerin massa (mg),

a_{istd} on sisäisen standardin piikin pinta-ala,

m_{istd} on sisäisen standardin massa (mg) ja

a_{sokeri} on standardisokerin piikkien kokonaispinta-ala.

Jokaisesta näytteestä tehtiin kolme rinnakkaismäärittystä, joista laskettiin keskiarvo. Hiilihydraatti-/uronihappopitoisuudet (mg/mL) laskettiin responsikertoimien avulla kaavalla 6. Kaavoja 5 ja 6 käytettiin myös haihtuvien happojen GC-analyysin tulosten laskemiseen.

$$c_{\text{sokeri}} = R_{\text{sokeri}} * \frac{m_{\text{istd}} * A_{\text{sokeri}}}{A_{\text{istd}} * V_{\text{näyte}}}, \quad (6)$$

missä

c_{sokeri} on monosakkaridin/uronihapon pitoisuus (mg/mL),

R_{sokeri} on monosakkaridin/uronihapon responstikerroin,

m_{istd} on sisäisen standardin massa (mg) ja

$V_{\text{näyte}}$ on analyysiin otettu näytemäärä (mL).

14.4.2 IC–analyysi

Analysoitava näyteliuos laimennettiin ja valmisteltiin samoin kuin massoille (vrt. luku 14.3) tai IC–laitteisto ohjelmoitiin suorittamaan laimennos, sisäisen standardin lisäys ja saadun liuoksen sekoitus ennen injektointia kolonniin. Ajoliuokset ja analyysiohjelma olivat samoja kuin massojen vastaavassa määrittelyssä. Osa analysoitavista liuoksista (30 %:nen rikkihappokäsittely) autoklavioitiin ennen analyysiä sen lisäksi, että niistä ajettiin analyysit myös ilman autoklaviointia. Näin pyrittiin määrittelemään autoklavioinnin vaikutusta analyysituloksiin.

Hiilihydraattien pitoisuudet (mg/mL) laskettiin lopuksi prosentteina kuivaa haketta kohden alla esitetyllä kaavalla 7:

$$H = \frac{cV_{\text{liuos}}}{m_{\text{r-a}}} * 100\% , \quad (7)$$

missä

H on hiilihydraatin pitoisuus kuivaa haketta kohden (%),

c on hiilihydraatin pitoisuus (mg/mL),

V_{liuos} esikäsittelyssä käytetyn liuos tilavuus (mL) ja

$m_{\text{r-a}}$ esikäsittelyyn punnitun kuivan raaka-aineen massa (mg).

14.5 Inhibiittoreiden analysointi

14.5.1 Furfuraali ja HMF

Näytteet laimennettiin käytetyn esikäsittelymenetelmän käsittelyolosuhteista riippuen ultrapuhtaalla vedellä haluttuun happopitoisuuteen ja suodatettiin ruiskusuodattimen (PVDF; 0,45 µm) läpi HPLC-näytepulloihin. Kalibrointiliuokset (furfuraali: 5, 10, 15, 20 ja 25 ppm ja HMF: 1, 2, 3, 4 ja 5 ppm) valmistettiin vastaamaan matriisina olleen liuoksen happopitoisuutta.

Furfuraali ja HMF määritettiin hydrolysaateista HPLC-menetelmällä (Waters 510 pumpput, 717 näytteensyötin ja 996 diodirividetektorin, kolonni Phenomenex Gemini C18 (100 mm x 4,6 mm)). Määrittämissä käytettiin gradienttiajua eluenteina A: UHQ-vesi/ACN 900/90 ja C: ACN, virtausnopeudella 1,0 mL/min. Injektiotilavuus 30 µL ja detektointi tapahtui UV-alueella aallonpituudella 280 nm.

14.5.2 Haihtuvat hapot

14.5.2.1 IC-analyysi

Haihtuvien happojen IC-analyysi suoritettiin Dionex kromatografimenetelmällä, jossa oli AS50 autosampleri, LC25 kromatografiuuni, EG40 eluettigeneraattori ja IC25 ionikromatografi. Menetelmä oli sama, jota ovat käyttäneet Käkölä *et al.*¹⁷⁹ ja on esitetty taulukossa 13. Ennen liuosten injektointia vialleihin, näytteet laimennettiin tehtyjen koeajojen antamien kalibrointiarvojen mukaisesti. Analyysiin käytetty UHQ-vesi degassoitiin ultraäänellä noin 30 min ennen käyttöä.

Taulukko 13. Ionikromatografinen analyysi, haihtuvat hapot

Kolonnit:	
– Analyyttinen	IonPac AS 11-HC (250 mm x 4 mm)
– Rajoittava	IonPac AS 11-HC (50 mm x 4 mm)
– Keräävä	IonPac ATC-1 (24 mm x 9 mm)
Kolonnin lämpötila(°C)	25
Injektio-tilavuus (µL)	25
Liutotin	KOH/UHQ-vesi
Virtausnopeus (mL/min)	1
Vaimennin	Dionex ASRS Ultra II Self-Regenerating (4 mm)
Vaimentimen virta (mA)	149
Ohjelmisto	Dionex Chromeleon 6.50

14.5.2.2 GC-analyysi

Ennen analyysiä vesiesikäsittelyistä saatujen liuosten sisältämät haihtuvat hapot vapautettiin suoloistaan ioninvaihdolla. Näytteet laimennettiin ja liuoksista pipetoitiin ioninvaihtimeen (H^+ -hartsia) 1 mL ja 0,5 mL sisäistä standardia (krotonihappo, 1 mg/mL). Näyte ja sisäinen standardi eluoiitiin pylvään läpi dekantterilasiin MQ-vedellä (tiputusnopeus noin 2 mL/min (~ 1 tippa 4 sekunnin välein) ja eluentin kokonaistilavuus oli 30 – 40 mL. Vapaita happoja sisältävä liuos titrattiin tämän jälkeen välittömästi 0,02 M tetra-*n*-butyyliammoniumhydroksidin vesiliuoksella (TBAH x 30 H₂O; 1,6 g/100 mL vettä) pH-arvoon 8, minkä jälkeen näyte haihdutettiin kuiviin pyöröhaihduttimella (hauheen lämpötila 35 – 40 °C). Haihdutusjäännökseen lisättiin asetonia (noin 2 mL) ja haihdutettiin täysin kuivaksi. Tarvittaessa toistettiin asetonin lisäys ja haihdutus kuiviin. Happojen tetrabutyyliammonium(TBA)-suolat esteröitiin bentsyylibromidi-asetoni-seoksella (1:20; 0,25 mL) ja lisättiin vielä 0,75 mL asetonia sekä ravisteltiin 2 tuntia. Jos näytteessä esiintyi sakkaa, näyte suodatettiin seuraavaan vaiheeseen käyttäen pasteur-pipettiä, jossa oli suodattimena pieni pumpulituppo. Näyte laimennettiin (1/2) analyysiä varten GC-näytepulloon ja analysoitiin kaasukromatografilla (taulukko 14).

Taulukko 14. Kaasukromatografisen analyysi, haihtuvat hapot

GC	Agilent 6850 Series
Kolonne	Agilent HP-5 nro HP 19091J-413E (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
Injektori	
– Lämpötila (°C)	280
– Paine	4,26
– Injektio-tilavuus (µL)	1,0
Detektori/(°C)	Liekki-ionisaatiodetektori (FID)/ 280
Metodi; näyteajo	VOLACID [60 °C (3 min) → 3 °C/min → 150 °C → 15 °C/min → 230 °C (5 min)]

Näytteiden kanssa analysoitiin standardinäyte, joka sisälsi muurahaishappoa (0,204 mg), etikkahappoa (0,201 mg) ja krotonihappoa (0,506 mg). Standardiliuos käsiteltiin samoin kuin varsinaiset näytteet. Standardin perusteella laskettiin muurahaishap- ja etikkahapolle responssikertoimet krotonihapon suhteen kaavoilla 5 ja 6 (vrt. kohta 14.4.1.).

14.6 Liuoksen pH, tiheys ja kuiva-aine

Liuoksen pH mitattiin huonelämpötilassa jatkuvalla sekoituksella. Liuoksen tiheys ja kuiva-ainepitoisuus määritettiin pipetoimalla liuosta (10 mL) täyspipetillä taarattuun haihdutusmaljaan, näyte punnittiin (tiheys) ja haihdutettiin kuivaksi uunissa (105 °C) yön yli. Haihdutusmalja jäähdytettiin eksikaattorissa (1 h) ja punnittiin (kuiva-aine). Kuiva-aine ja tiheysmäärittämiä varten rinnakkaiset liuokset (3 kpl) yhdistettiin sekä sekoitettiin ja tulokset ilmoitettiin kahden rinnakkaisen näytteen keskiarvona.

15 TYÖN TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Tässä työssä keskityttiin pääasiassa esikäsittelyistä saatujen liuosten koostumuksen analysointiin. Tietyistä esikäsittelyistä analysoitiin myös massojen koostumus. Vaikka edellä on suoritettu analyysit myös uronihappojen pitoisuuksien osalta, näitä tuloksia ei tässä yhteydessä esitetä. Tämä siksi, ettei kaikista näytteistä (rikkihappokäsittelyt)

vastaavia pitoisuuksia ollut mahdollista analysoida ja siten verrattavuutta esikäsitteilyjen vaikutuksesta ei olisi voinut muodostaa.

15.1 Raakahake

Raakamateriaalin kuiva-ainepitoisuudet on esitetty taulukossa 15. Näytteestä tehtiin kolme rinnakkaismäärittystä, joista laskettiin keskiarvo. Raaka-aineen kuiva-ainemääritykset suoritettiin aina ennen uuden esikäsitteilyserjan aloittamista. Mäntyä käytettiin raaka-aineena vain vesiesikäsitteilyssä.

Taulukko 15. Raakamateriaalien kuiva-aine pitoisuudet

Materiaali	Kuiva-ainepitoisuus (%)
Mänty	94,2
Kuusi	94,5 - 95,3
Koivu	94,8 - 95,9
Ruokohelpi	91,4 - 92,7

Raaka-aineiden kemiallinen koostumus määritettiin, jotta saataisiin vertailupohjaa esikäsitteilyistä saatujen liuosten tuloksille. Koostumukset on esitetty taulukossa 16.

Taulukko 16. Raakamateriaalin kemiallinen koostumus

Komponentti	(% raaka-aineen kuivapainosta)			
	Mänty	Kuusi	Koivu	Ruokohelpi
Hiilihydraatit	63,3	63,9	66,7	59,7
Selluloosa	44,0	46,4	42,9	39,8
Glukomannaani	13,2	11,8	2,3	2,1
Ksylaani	6,2	5,8	21,5	17,8
Ligniini	25,8	26,8	22,3	27,5
Uuteaineet	2,7	2,7	2,8	1,8
Muut	8,1	6,7	8,1	11,1
Yhteensä	100,0	100,0	100,0	100,0

15.2 Vesiesikäsitely

Vesiesikäsitellyistä massojen ainesosista analysoitiin vain uuteaineet.

15.2.1 Massat

Vesiesikäsitellyistä massoista määritettiin uuteaineet gravimetrisesti ja niiden tulokset ilmoitetaan prosentteina raaka-aineen kuivapainosta. Tuloksista ilmeni, ettei vesiesikäsitely juurikaan vaikuttanut uuteaineiden liukenevuuteen, vaan sitä sitoutui massoihin jopa suhteessa alkuperäistä koostumusta enemmän (taulukko 17). Vesiesikäsitelyjen massojen uuteainepitoisuuksien osalta koivumassojen uuteainepitoisuudet olivat suu-rimmat esikäsitelyolosuhteista riippuen 4 – 10 % ja kuusella pienimmät 2 – 3 %. Männyllä vastaavat tulokset olivat välillä 3 – 4 %.

Taulukko 17. Vesiesikäsitelyjen massojen uuteainepitoisuudet (%:a raaka-aineen kuivapainosta)

Puulaji	P -tekijä	140 °C	150 °C	170 °C
Mänty	200	2,9	2,9	
	300	2,8	3,1	3,4
	400	2,7	3,2	3,6
	500		3,2	3,8
	800		3,2	
Kuusi	200	2,0	2,1	
	300	2,0	2,4	2,7
	400	2,1	2,5	2,8
	500		2,5	2,9
	800		2,5	
Koivu	200	3,6	5,1	
	300	4,9	6,9	8,9
	400	6,1	7,7	9,2
	500		7,8	9,4
	800		8,1	

15.2.2 Liuokset

Vesiesikäsittelyliuosten, kuten jäljempänä rikkihappokäsittelyliuostenkin, analyysitulokset hiilihydraattien osalta ilmoitettiin saantoina. Saannot laskettiin ensin suhteuttamalla analyysitulokset (ppm) prosentteina puun kuivapainosta ja tästä prosentteina raaka-aineen alkuperäisestä koostumuksesta. Näin saatiin mahdollisimman realistinen kuva siitä, miten paljon kyseistä yhdistettä alkuperäisestä massasta kukin esikäsittelymenetelmä liuotti. Taulukoissa 18 – 20 ilmoitetut polysakkaridien yhteissaannot laskettiin myös suhteuttamalla liuenneiden yhdisteiden kokonaispitoisuus vastaavaan alkuperäiseen, raakamassan prosentuaaliseen kokonaispitoisuuteen. Liuosten analyyseissä keskityttiin hiilihydraattien koostumukseen ja pitoisuuksiin sekä muodostuneisiin sivutuotteisiin (inhibiittorit). Ligniini analysoitiin vain liukenevan ligniinin osalta ja tulokset ilmoitettiin saantoina samoin kuin hiilihydraattien kohdalla. Inhibiittoreiden, haihtuvien happojen ja furaanien, pitoisuudet esitettiin prosentteina raaka-aineen kuivapainosta. Ruokohelpille vesiesikäsittely tehtiin ainoastaan lämpötilassa 170 °C ja saadut liuokset analysoitiin vain muodostuneiden yhdisteiden osalta. Hiilihydraattisaannot ilmoitettiin polysakkarideina. Monosakkaridien vastaavat tulokset esitettiin liitteissä 1 – 3. Huoneenlämpöisistä esihydrolyysiliuoksista mitattiin pH-arvot, joiden tulokset on esitetty taulukoissa 16 – 18. Liuokset ovat happamia ja niiden pH-arvo pysyi suhteellisen vakiona johtuen etikka- ja muurahaishapon liukenemisestä liuokseen.

Nämä tulokset eri käsittelyistä esitetään muista taulukoista poiketen kahden desimaalin tarkkuudella, jotta lukijalle muodostuu selkeä kuva muodostuneiden yhdisteiden pitoisuuseroista. Tiheys ilmoitetaan kolmen desimaalin tarkkuudella.

Taulukko 18. Vesiesikäsitteilyliuoksen koostumukset, käsitteilylämpötila 140 °C

Komponentti/ Raaka-aine	Pitoisuus/saanto								
	(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)								
	Mänty			Kuusi			Koivu		
140 °C/ min	240	360	480	240	360	480	240	360	480
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	5,00	5,28	5,55	3,14	3,50	3,86	1,86	1,90	1,95
Glukomannaani	23,48	29,40	35,33	20,03	27,83	35,63	32,76	36,62	40,48
Ksylaani	24,21	28,55	32,90	15,03	19,84	24,64	16,65	25,91	35,18
Yhteensä	10,70	12,55	14,40	7,33	9,46	11,60	7,70	10,84	13,99
Haihtuvat hapot (% kp:sta)									
Etikkahappo	0,33	0,39	0,45	0,31	0,43	0,54	0,68	1,08	1,47
Muurahaishappo	0,18	0,16	0,14	0,16	0,18	0,20	0,10	0,12	0,14
Yhteensä	0,51	0,55	0,59	0,47	0,60	0,74	0,79	1,20	1,62
Furaanit (% kp:sta)									
Furfuraali	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02	0,03	0,01	0,03	0,04
HMF	0,04	0,07	0,11	0,03	0,06	0,08	0,03	0,06	0,12
Yhteensä	0,05	0,09	0,14	0,04	0,08	0,11	0,04	0,09	0,16
Liennut ligniini (saanto %)	4,63	4,37	5,31	6,37	5,35	5,46	5,67	8,85	12,50
Kuiva-aine % (massa)	87,63	84,06	82,91	94,89	94,13	88,57	89,85	84,66	81,19
Kuiva-aine % (liuos)	2,00	2,43	2,68	1,55	2,15	2,34	1,84	2,81	3,31
pH	3,41	3,38	3,33	3,60	3,57	3,51	3,36	3,25	3,11
Tiheys (g/L) (liuos)	1,001	1,005	1,004	0,998	0,999	1,003	0,998	1,000	1,007
Yhteensä %	15,89	17,56	20,44	14,21	15,49	17,91	14,20	20,98	28,27

Kaikkien vesiesikäsitteilyiden (140 – 170 °C) tuloksista huomattiin, ettei vesiesikäsitteily ollut riittävä selluloosan liuottamiseen. Kaikissa tapauksissa polysakkaridisaannot lisääntyivät käsitteilyolosuhteiden voimakkuuden lisääntyessä. Tästä voitiin päätellä, että pelkkä vesi esikäsitteilyn liuottimena vaati erittäin voimakkaita olosuhteita pystyäkseen raaka-aineen kohtuulliseen hydrolysointiin. Liuenneen ligniini osuus esikäsitteilyissä 140 – 150 °C oli jopa yllättävän korkea verrattuna käsitteilylämpötilaan 170 °C, jossa tämä arvo jäi huomattavasti alhaisemmaksi ja jopa aleni esikäsitteilyajan kasvaessa. Inhibiittoreiden osuus kaikille puuraaka-aineille pysyi kohtuuden rajoissa esikäsitteilyolosuhteista riippumatta.

Taulukko 19. Vesiesikäsitteilyliuoksen koostumukset, käsitteilylämpötila 150 °C

Pitoisuus/saanto												
(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)												
Komponentti/ Raaka-aine	Mänty				Kuusi				Koivu			
150 °C/ min	100	200	250	400	100	200	250	400	100	200	250	400
Polysakkaridit (saanto %)												
Selluloosa	4,05	4,26	4,63	4,48	3,43	3,92	4,04	4,12	2,32	2,44	2,69	2,67
Glukomannaani	21,97	30,39	37,78	39,70	27,12	38,38	42,83	49,65	38,89	47,36	50,44	50,05
Ksylaani	18,29	22,43	27,00	26,43	17,38	24,03	26,60	28,12	22,97	34,49	35,68	46,79
Yhteensä	9,16	11,46	13,69	13,93	9,06	12,08	13,22	14,68	10,24	14,32	14,98	18,52
Haiht.hapot (% kp:sta)												
Etikkahappo	0,37	0,46	0,52	0,72	0,22	0,41	0,49	0,72	0,63	1,08	1,55	2,21
Muurahaihappo	0,20	0,21	0,17	0,22	0,13	0,20	0,18	0,21	0,11	0,15	0,18	0,23
Yhteensä	0,57	0,68	0,69	0,94	0,35	0,60	0,67	0,93	0,74	1,23	1,73	2,44
Furaanit (% kp:sta)												
Furfuraali	0,01	0,03	0,03	0,10	0,01	0,03	0,06	0,12	0,01	0,03	0,05	0,08
HMF	0,05	0,11	0,12	0,12	0,04	0,08	0,12	0,24	0,03	0,13	0,19	0,46
Yhteensä	0,06	0,13	0,15	0,15	0,05	0,11	0,18	0,35	0,04	0,16	0,23	0,54
Liennut ligniini (saanto %)	5,42	6,27	6,35	6,43	5,49	6,78	6,84	6,90	8,11	10,13	10,54	12,90
Kuiva-aine % (massa)	73,59	69,91	68,96	66,13	83,84	81,46	80,04	77,39	80,98	78,14	77,86	71,22
Kuiva-aine % (liuos)	2,41	3,37	3,49	3,69	1,98	2,24	3,04	3,14	1,89	3,56	3,76	3,98
pH	3,60	3,47	3,44	3,38	3,72	3,68	3,60	3,81	3,60	3,39	3,00	3,65
Tiheys (g/L) (liuos)	0,999	1,003	1,004	1,012	1,004	1,004	1,002	1,004	0,999	1,006	1,009	1,006
Yhteensä %	15,21	18,54	20,88	21,45	14,95	19,57	20,91	22,86	19,13	25,84	27,48	34,40

Ruokohelpille vesiesikäsitteily ei tuloksista päätellen ollut sopiva ajatellen etanolin valmistusta; vesiesikäsitteily tuotti korkeat saannot ainoastaan haihtuvien happojen osalta, mistä saatiin koko käsitteilyn suurin kokonaispitoisuus, noin 17 % (170 °C, 50 min) sisältäen myös eniten furaaneita, noin 0,50 % raaka-aineen kuivapainosta. Toisaalta ruokohelpin tuloksiin saattoi vaikuttaa sen muita käsitteilyraaka-aineita pienempi partikkelikoko, joka lisäsi huomattavasti liuottimen vaikutuspinta-alaa.

Kuten jo edellä mainittiin, ligniinin liukenevuus koivunäytteissä kasvoi alhaisissa lämpötiloissa käsitteilyajan funktiona toisin kuin havupuilla, joilla liuoksen ligniinipitoisuus näyttäisi pysyvän suhteellisen vakiona olosuhteista riippumatta. Ruokohelpin koostumuksen perusteella voitaisiin olettaa, sen käyttäytyvän samoin kuin koivunäytteet. Ruokohelpinäytteiden samankaltaisuus koivunäytteisiin oli nähtävissä vain liuenneen ligniinin, muodostuneiden furaanien ja toisaalta selluloosasaantojen osalta.

Taulukko 20. Vesiesikäsitteilyliuoksen koostumukset, käsittelylämpötila 170 °C

Pitoisuus/saanto												
(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)												
Komponentti/ Raaka-aine	Mänty			Kuusi			Koivu			Ruokohelpi		
170 °C/ min	30	40	50	30	40	50	30	40	50	30	40	50
Polysakkaridit (saanto %)												
Selluloosa	5,37	6,45	7,54	4,07	4,21	4,36	2,21	2,62	3,04	2,59	2,13	2,45
Gluk.mann.	39,59	48,37	57,15	39,28	44,79	50,30	42,55	57,24	71,92	11,99	11,89	17,68
Ksylaani	38,70	43,26	47,81	37,84	34,98	32,13	44,44	47,73	51,02	1,03	1,35	2,64
Yhteensä	15,72	18,74	21,76	13,62	14,54	15,33	17,21	19,05	20,89	2,46	2,25	3,05
Haihtuvat hapot (% kp:sta)												
Etikkahappo	0,32	0,46	0,45	0,34	0,40	0,46	1,05	1,27	1,49	9,05	12,47	13,26
Muur.happo	0,17	0,24	0,22	0,18	0,20	0,23	0,18	0,20	0,22	2,35	3,18	3,81
Yhteensä	0,49	0,70	0,67	0,52	0,60	0,69	1,22	1,47	1,71	11,40	15,65	17,07
Furaanit (% kp:sta)												
Furfuraali	0,14	0,19	0,24	0,10	0,13	0,16	0,19	0,29	0,38	0,20	0,32	0,41
HMF	0,05	0,06	0,09	0,03	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08
Yhteensä	0,19	0,25	0,33	0,13	0,18	0,18	0,23	0,33	0,43	0,26	0,39	0,49
Liennut ligniini (% kp:sta)	4,72	3,96	3,97	5,88	4,75	4,56	9,13	9,72	9,80	7,51	7,24	7,18
Kuiva-aine % (massa)	86,49	82,67	86,80	87,95	86,05	82,47	81,19	79,40	76,23	69,70	69,27	69,58
Kuiva-aine % (liuos)	3,10	3,27	3,54	2,45	2,77	2,90	3,53	3,91	4,00	nd	nd	nd
pH	3,30	3,28	3,32	3,52	3,46	3,45	3,09	3,06	3,09	nd	nd	nd
Tiheys (g/L) (liuos)	1,005	1,007	1,007	1,002	1,007	1,003	1,007	1,006	1,007	nd	nd	nd
Yhteensä %	21,13	23,65	26,73	20,15	20,07	20,76	27,79	30,57	32,83	21,63	25,53	27,79

nd = ei määritetty

Sekä tiheys että kuiva-ainepitoisuus kasvoivat käsittelyajan pidentyessä veteen liuke-
nevan materiaalin lisääntyessä. Ruokohelpinäytteistä ei tässä yhteydessä määritetty fyysi-
kaalisia parametrejä. Vaikka yksikään valituista esikäsitteilyolosuhteista ei tuottanut
hydrolyysiliuoksiin suuria inhibiittoripitoisuuksia, nämäkin pitoisuudet saattavat jo olla
varsin haitallisia fermentoinnissa. Valituilla vesiesikäsitteilyolosuhteilla ei myöskään
saatu tuotettua etanolin valmistusta ajatellen edes kohtuullisia hiilihydraattisaantoja.
Korkeimpaan selluloosasaantoon (noin 7,5 %) päästiin männyllä (170 °C, 50 min,
taulukko 20) polysakkaridien kokonaissaannon jäädessä silti vajaaseen 22 %:in, joka oli
toisaalta koko vesiesikäsitteilyjärjestelmän paras kokonaissaanto. Suurin ksylaanisäntö oli
odotetusti koivulla (noin 51 %,) esikäsitteilylämpötilassa 170 °C ja 50 minuutin käsit-
telyajalla, mutta vastaava polysakkaridien kokonaissaanto, noin 21 %, ei herättänyt
suuria odotuksia.

Kokonaisuudessaan tutkimuksen kohteena olleilla vesiesikäsitteilyolosuhteilla ei pystytä tuottamaan bioetanoliiteollisuuteen tarvittavan suuria hiilihydraattipitoisuuksia. Integroituna selluteollisuuteen tuotanto voisi kuitenkin toimia, mikäli raaka-aineista liuenneet yhdisteet eivät vaikuta happokäsittelystä hakkeesta valmistetun selluloosan laatuun merkittäväällä määrällä heikentävästi. Ruokohelpiä ei kuitenkaan käytetä nykypäivänä sellun valmistuksessa ja sen tapauksessa ajateltiin vain bioetanoliiteollisuutta, mihin vesiesikäsitteily ei toimi. Keskimääräisesti vesiesikäsitteilyllä saatiin raaka-aineesta, materiaalista ja olosuhteista riippumatta, liuotettua yhdisteitä noin 25 %, joista suurin osa puuraaka-aineelle oli polysakkarideja (7 – 14 %, 140 °C; 9 – 19 % 150 °C ja 13 – 22 % 170 °C) ja ruokohelpille haihtuvia happoja (11 – 17 %, 170 °C).

15.3 Väkevä rikkihappoesikäsitteily

Väkevässä rikkihappoesikäsitteilyssä raaka-aineina olivat puuaineksista koivu ja kuusi sekä ruohovartisista ruokohelpi. Käsitteily suoritettiin pääasiassa Lappeenrannan teknillisen korkeakoulun hiilihydraatti/riikkihappo-erottelun tutkimuksia varten. Tulokset esitetään tässä yhteydessä kuitenkin vain esikäsitteilymenetelmien verrattavuuden vuoksi.

Taulukossa 21 esitetään raaka-aineiden hiilihydraattikoostumukset monosakkarideineen. Esikäsitteilyn vaikutusta raaka-aineeseen analysoitiin pääasiassa hydrolyysiliuoksista. Osasta esikäsitteilyn (30 % H₂SO₄) jälkeisistä massoista analysoitiin myös uuteaineet ja ligniini.

Taulukko 21. Raaka-aineen hiilihydraattipitoisuudet prosentteina uuteainevapaasta kuivapainosta

Komponentti	Pitoisuus (% uuteainevapaasta kuivapainosta)		
	Kuusi	Koivu	Ruokohelpi
Monosakkaridit			
Arabinoosi	1,4	0,8	3,2
Galaktoosi	2,6	0,9	1,8
Glukoosi	50,1	46,9	41,1
Ksyloosi	6,6	24,4	20,2
Mannoosi	10,5	1,7	0,6
Yhteensä	71,2	74,7	66,8
Polysakkaridit			
Selluloosa	46,4	42,9	39,8
Glukomannaani	11,8	2,3	2,1
Ksylaani	5,8	21,5	17,8
Yhteensä	63,9	66,7	59,7

15.3.1 Massat

Analyysitulokset massoista ilmoitettiin polysakkaridien osalta saantoina eli tulos (ppm) laskettiin ensin prosentteina kuivapainosta ja sen jälkeen prosentteina raaka-aineen vastaavasta pitoisuudesta. Massojen tuloksia tarkasteltaessa tulee ottaa huomioon, että saantoprosentti oli se massaan jäänyt pitoisuusmäärä, jota esikäsittely ei ollut pystynyt liuottamaan (taulukko 22).

Taulukossa 22 on laskettu yhteistulos yhdisteistä, joita massassa esikäsittelyn jälkeen vielä löytyi. Tuloksena käytettiin polysakkaridien yhteistulosta laskettuna prosentteina kuivapainosta, ei saantoa. Vastaavat tulokset rikkihappoesikäsittelystä monosakkaridit/raaka-aine ovat liitteessä 4.

Taulukko 22. Väkevähappoesikäsittelyn, 30 % H₂SO₄, vaikutus massan koostumukseen

Komponentti/ Raaka-aine	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)								
	Ruokohelmi			Kuusi			Koivu		
60 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	70,84	64,04	57,23	54,88	52,73	50,58	53,10	50,45	47,80
Glukomannaani	30,12	23,44	16,77	50,72	48,11	45,50	50,34	44,81	39,26
Ksylaani	37,31	31,92	26,53	48,12	45,34	42,57	47,94	39,93	31,92
Yhteensä	59,39	53,01	46,63	53,50	51,20	48,91	51,34	46,87	42,39
Uteaineet (% kp:sta)	3,30	3,16	3,01	5,67	6,57	7,47	3,51	3,64	3,76
Kokonaisligniiini (% kp:sta)	27,35	29,88	32,42	26,56	26,89	27,22	26,75	26,09	25,44
Kuiva-aine % (massa)	84,64	94,67	94,58	88,75	93,32	89,10	91,09	92,25	91,53
70 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	69,42	66,08	2,74	39,78	44,55	49,32	50,14	50,87	51,60
Glukomannaani	19,00	15,11	11,22	36,86	35,77	34,68	42,46	39,24	36,01
Ksylaani	27,57	22,97	18,37	31,16	31,49	31,82	31,94	27,97	23,99
Yhteensä	55,13	51,40	47,66	38,46	41,75	45,03	44,02	43,09	42,17
Uteaineet (% kp:sta)	3,12	3,40	3,67	4,94	6,91	8,89	4,99	4,53	4,08
Kokonaisligniiini (% kp:sta)	28,95	30,81	32,66	28,95	29,51	30,06	39,10	39,01	38,91
Kuiva-aine % (massa)	81,47	90,82	91,71	93,67	93,37	93,15	93,66	92,87	94,27
80 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	36,67	65,17	66,67	49,05	50,12	51,19	54,38	58,18	61,98
Glukomannaani	14,29	11,07	7,85	33,12	30,33	27,54	38,26	36,70	35,13
Ksylaani	20,52	15,41	10,30	31,42	29,20	26,98	27,13	22,99	18,86
Yhteensä	49,03	48,40	47,76	44,52	44,58	44,64	45,05	46,11	47,17
Uteaineet (% kp:sta)	3,95	3,90	3,85	8,91	7,70	6,48	5,46	5,63	5,80
Kokonaisligniiini (% kp:sta)	29,63	31,82	34,01	28,85	29,37	29,90	29,44	29,55	29,66
Kuiva-aine % (massa)	88,19	80,93	95,87	90,93	93,34	94,06	91,72	93,10	94,25
Yhteensä (% kp:sta)									
60°C	66,09	64,68	63,26	66,42	66,19	65,95	64,51	61,00	57,48
70°C	64,98	64,88	64,78	58,47	63,10	67,73	73,46	72,29	71,12
80°C	62,85	64,61	66,37	66,21	65,56	64,91	64,95	65,94	66,93

Kokonaisuudessaan väkevä rikkihappoesikäsittely (30 % H₂SO₄) alhaisilla lämpötiloilla

ja lyhyillä käsittelyajoilla ei ollut toimiva yhdellekään tutkimuksen kohteena olleelle raaka-aineelle. Kaikilla massaan jääneiden polymeeristen yhdisteiden kokonaispitoisuus oli noin 60 % tai sen yli. Tämä johtui osittain siitä tosiasiasta, ettei käsittely saanut ligniiniä hajoamaan, mikä suojeli hiilihydraatteja. Ligniinin (ja uuteaineiden) osuuden näennäinen kasvu kuivapainosta verrattuna alkuperäiseen pitoisuuteen selittyi sillä, että osa massan hiilihydraateista ja muista yhdisteistä liukeni väkevässä rikkihappoesikäsitelyssä. Liuenneet hiilihydraatit olivat pääasiassa hemisellulooseja, selluloosan jäädessä reagoimatta.

15.3.2 Liukset

Väkevä rikkihappoesikäsitely suoritettiin kokonaisuudessaan kolmella eri väkevyydellä: 30 %, 54 % ja 70 % H_2SO_4 . Väkevimmät (54 % ja 70 % H_2SO_4) esikäsitellyt suoritettiin vain koivulle ja ruokohelpille. Väkevän rikkihappoesikäsitelyn liukset analysoitiin hiilihydraattien ja inhibiittoreista, furaanien osalta.

Laimea rikkihappoesikäsitely suoritettiin kahdella väkevyydellä (1 ja 3 % H_2SO_4) kaikille kolmelle (kuusi, koivu ja ruokohelpi) raaka-aineelle. Laimea rikkihappoesihydrolyysin liuksista analysoitiin hiilihydraatit ja inhibiittorit (haihtuvat hapot ja furaanit).

15.3.2.1 Väkevä rikkihappoesikäsitely

Väkevä rikkihappoesikäsitelystä (30 % H_2SO_4) saadut liukset analysoitiin sekä suoraan (vain laimentamalla sopivaan pitoisuuteen) että jatkokäsittelmällä liukset autoklaavissa (1 bar, ~ 121 °C, 1 h). Taulukossa 23 on esitetty hydrolyysiliuosten pitoisuudet polysakkaridien osalta saantoina. Tässä yhteydessä saannot ilmaisivat esikäsitelyn tehokkuutta eli sen kykyä liottaa hiilihydraatteja massasta. Vastaavat monosakkaridien pitoisuudet on esitetty liitteessä 5. Autoklavioinnin vaikutus hiilihydraattien kokonaissaantoon on esitetty taulukon 23 lopussa. Furaanien tulokset on ilmoitettu prosentteina raaka-aineen kuivapainosta.

Taulukko 23. Väkevä rikkihappoesikäsitteilyn, 30 % H₂SO₄, ja autoklavioinnin vaikutus liuoksen koostumukseen

Komponentti/ Raaka-aine	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)								
	Ruokohelpi			Kuusi			Koivu		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
60 °C/ min									
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	5,23	5,34	5,81	1,91	2,15	1,98	0,95	1,04	1,27
Glukomannaani	30,29	31,89	37,29	1,12	3,36	2,55	1,81	2,27	5,29
Ksylaani	15,13	22,38	30,73	3,01	11,16	8,81	0,98	1,96	13,18
Yhteensä	9,08	11,37	14,37	1,86	3,20	2,70	0,99	1,38	5,24
Inhibiittorit (% kp:sta)									
HMF	0,01	0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
Furfuraali	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
70 °C/ min									
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	6,08	6,33	8,18	2,12	2,60	2,60	1,34	1,50	1,76
Glukomannaani	44,22	45,68	63,11	3,01	12,47	13,22	6,11	8,91	15,77
Ksylaani	39,75	53,24	76,11	9,69	25,28	25,44	14,41	24,10	33,72
Yhteensä	17,49	21,73	30,41	2,97	6,48	6,63	5,71	9,03	12,53
Inhibiittorit (% kp:sta)									
HMF	0,03	0,03	0,08	-	-	-	-	-	-
Furfuraali	0,02	0,02	0,07	-	-	-	-	-	-
80 °C/ min									
Polysakkaridit (saanto %)									
Selluloosa	7,42	9,72	10,32	2,70	3,40	4,66	1,95	2,22	2,51
Glukomannaani	59,58	67,28	62,94	17,12	27,86	44,28	17,95	26,89	36,33
Ksylaani	55,94	64,67	66,83	26,81	33,91	42,65	39,28	47,47	55,39
Yhteensä	23,76	28,17	29,05	7,54	10,68	15,40	14,52	17,64	20,71
Inhibiittorit (% kp:sta)									
HMF	0,06	0,09	0,08	-	-	-	-	0,01	0,01
Furfuraali	0,06	0,20	0,43	-	-	-	-	0,01	0,01
Autoklavioinnin vaikutus (±saanto %)									
60 °C	10,22	8,96	7,70	1,92	2,47	3,02	-0,88	2,19	5,26
70 °C	5,60	0,52	-4,55	3,42	4,30	5,19	4,63	4,03	3,44
80 °C	2,38	1,12	-0,15	5,01	3,49	1,97	1,68	1,12	0,55

Kuten jo taulukosta 22 havaittiin, ei 30 %:nen rikkihappoesihydrolyysi alhaisilla lämpötiloilla ja käsitteleyajoilla ollut tarpeeksi tehokas liottamaan hiilihydraatteja lignoselluloosapohjaisesta massasta liuokseen. Autoklaviointi oli kuitenkin jokseenkin tehokas lisäämään (keskimäärin 9 %) kokonaissaantoja ruokohelpille alhaisimmassa lämpötilassa (60 °C). Parhaimmat saannot saavutettiin ruokohelpin tapauksessa, jonka kokonaishiilihydraattisaanto nousi jopa noin 30 %:in alkuperäisestä pitoisuudesta (lämpötilat

70 ja 80 °C, 90 min). Näille liuksille, kuten myös muissa tapauksissa autoklavioinnin vaikutus oli vähäinen tai jopa saantoa alentava.

Inhibiittoreiden osalta ruokohelpiliuosten furaanipitoisuudet olivat jopa huomattavan suuret verrattuna kuusen ja koivun liuksiin, joissa inhibiittoreiden pitoisuudet olivat erittäin vähäiset. Toisaalta suoritettu esikäsitteily ei tehonnut koivulla ja kuusella niiden hiilihydraattisaantoihin toivotulla tavalla.

Taulukoiden 22 ja 23 tulokset osoittivat edelleen saantojen jäävän kauaksi raaka-aineen alkuperäisestä pitoisuudesta. Kaikkien hiilihydraattipitoisuuksien tulokset laskettiin saantoina suhteutettuna alkuperäisen massan pitoisuuteen. Tällöin lähtökohtana oli kunkin polymeerin kohdalla 100 %. Taulukkoon 24 on koottu ns. menetettyjen hiilihydraattien osuudet. Nämä hiilihydraattimenetykset saattoivat johtua siitä, että niitä ei IC -analyysimenetelmällä ole pystynyt määrittelemään (vain vapaat hiilihydraatit) tai esikäsitteilymenetelmä on ollut liian raaka hajottaen osan hiilihydraateista joko analysoimattomaan muotoon tai muiksi tässä työssä analysoimattomiksi sivutuotteiksi.

Taulukko 24. Menetetyiden hiilihydraattien osuus raaka-aineen pitoisuudesta

Raaka-aine min	Ruokohelpi			Kuusi			Koivu		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
100-kok.saanto %									
60°C	31,5	35,6	39,0	44,6	45,6	48,4	47,7	51,8	52,4
70°C	27,4	26,9	21,9	58,7	51,8	48,3	50,3	47,9	45,3
80°C	27,9	23,4	23,2	47,9	44,8	40,0	40,3	36,3	32,1

Kokonaisuudessaan voidaan väkevä rikkihappoesikäsitteilyä, 30 % H₂SO₄, todeta sen toimivan parhaiten ruokohelpille olosuhteissa 70 °C ja 90 minuuttia. Tällöin hiilihydraattihävikki oli alhaisin. Väkevä rikkihappoesikäsitteily ei kuitenkaan olisi taloudellisesti kannattava liuottimen laitteistolle aiheuttavien korroosiovaurioiden vuoksi, mikä puolestaan asettaa laitteistolle kohtuuttoman suuret vaatimukset lisäten siten osaltaan esikäsitteilyn kustannuksia.

Väkevä rikkihappoesikäsitteilyn, 54 % H₂SO₄, liuksille suoritettiin myös autoklaviointi. Tulokset esitetään monosakkaridien kanssa saantoina ja autoklavioinnin vaikutus erona taulukossa 25.

Taulukko 25. Väkevä rikkihappoesikäsitteilyn, 54 ja 70 % H₂SO₄, sekä autoklavioinnin vaikutus liuoksen hiilihydraattisaantoihin

Raaka-aine Komponentti/ happopitoisuus %	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)					
	Koivu			Ruokohelpi		
	54 %	ero 54 %	70 %	54 %	ero 54 %	70 %
Monosakkaridit						
Arabinoosi	45,7	50,7	72,4	51,9	44,7	95,7
Galaktoosi	39,7	14,4	68,5	52,6	43,5	87,9
Glukoosi	1,2	0,3	65,6	3,9	2,6	73,5
Ksyloosi	37,0	8,7	67,6	42,4	28,0	74,8
Mannoosi	19,4	8,2	67,6	51,3	38,1	78,4
Yhteensä	14,2	3,9	66,4	19,5	13,7	75,4
Polysakkaridit						
Selluloosa	1,9	1,1	65,7	7,2	5,5	75,1
Glukomannaani	26,3	10,3	67,9	52,3	42,2	85,6
Ksylaani	37,0	8,7	67,6	42,4	28,0	74,8
Yhteensä	14,1	3,9	66,4	19,3	13,5	75,4

Väkevä rikkihappoesikäsitteystä, 70 % H₂SO₄, voidaan kokonaisuudessaan sanoa sen toimivan erittäin hyvin selluloosan pilkkojana. Selluloosasaannot olivat 70 % H₂SO₄-liuoksille noin 75 %:a ruokohelpille ja 66 %:a koivulle. Kokonaissaannot vastasivat selluloosan saantoja molemmille raaka-aineille ja kaikkien komponenttien saannot olivat erittäin hyvät (> 73 % ruokohelpi ja > 65 % koivu).

Autoklaviointi lisäsi hiilihydraattisaantoja 54 % H₂SO₄-esikäsitteilyliuoksille kokonaisuudessaan, mutta koivuliuoksille tämä vaikutus oli huomattavasti vähäisempi. Autoklaviointi lisäsi kokonaishiilihydraattisaantoa noin 14 % ruokohelpille, vastaavan vaikutuksen jäädessä koivulla 4 %:in. Kokonaisuudessaan hiilihydraattisaannot olivat puolestaan liian alhaiset kautta linjan 54 %:a H₂SO₄-esikäsitteilyliuoksille.

Väkevä rikkihappoesikäsitteily (70 % H₂SO₄) kykeni liuottamaan raaka-aineesta erittäin tehokkaasti hiilihydraatit ja erityisesti selluloosan. Tämän väkevyysasteen rikkihappo asettaa kuitenkin suuret vaatimukset esikäsitteilylaitteistolle, eikä sen nähdä olevan teollisuudessa niin taloudellisesti kuin käytännöllisestikään mahdollista. Laboratorio-

olosuhteissa, pienessä mittakaavassa (koeputki ja lasisauva), menetelmä toimii ja onkin yleisesti käytetty menetelmä raaka-aineiden komponenttien tutkimuksessa.

15.3.2.2 Laimea rikkihappoesikäsittely

Laimea rikkihappoesikäsittely suoritettiin samoin kuten väkevä rikkihappoesikäsittely 30 % kaikille kolmelle tutkittavalle raaka-aineelle (koivu, kuusi ja ruokohelpi). Rikkihappopitoisuutena oli 1 % ja 3 % kaikkiaan kuudella eri käsittelyajalla ja kahdessa eri lämpötilassa. Esikäsittelyliuoksista analysoitiin hiilihydraattien lisäksi inhibiittorit, (haituvat hapot ja furaanit). Analyysitulosten suuren määrän vuoksi, tässä yhteydessä esitetään tulokset kokonaisuudessaan ruokohelpille ja koivulle taulukoissa 26 – 29 ja polysakkaridipitoisuudet rikkihappopitoisuudelle 1 % lämpötilassa 170 °C lisäksi kuvaajien muodossa (kuvat 22 ja 23). Tuloksia vastaavat monosakkaridipitoisuudet ruokohelpille ja koivulle on esitetty liitteissä 6 – 11 yhdessä vastaavien kuvaajien kanssa. Kuusen vastaavat tulokset vain lämpötilasta 170 °C polymeerien kohdalta on esitetty taulukossa 30 ja kuvassa 24. Muut kuusen analyysitulokset ovat taulukoina liitteissä 12 – 15. Tulokset on taulukoissa esitetty hiilihydraattien osalta prosentteina raaka-aineen pitoisuudesta ja inhibiittorit prosentteina raaka-aineen kuivapainosta.

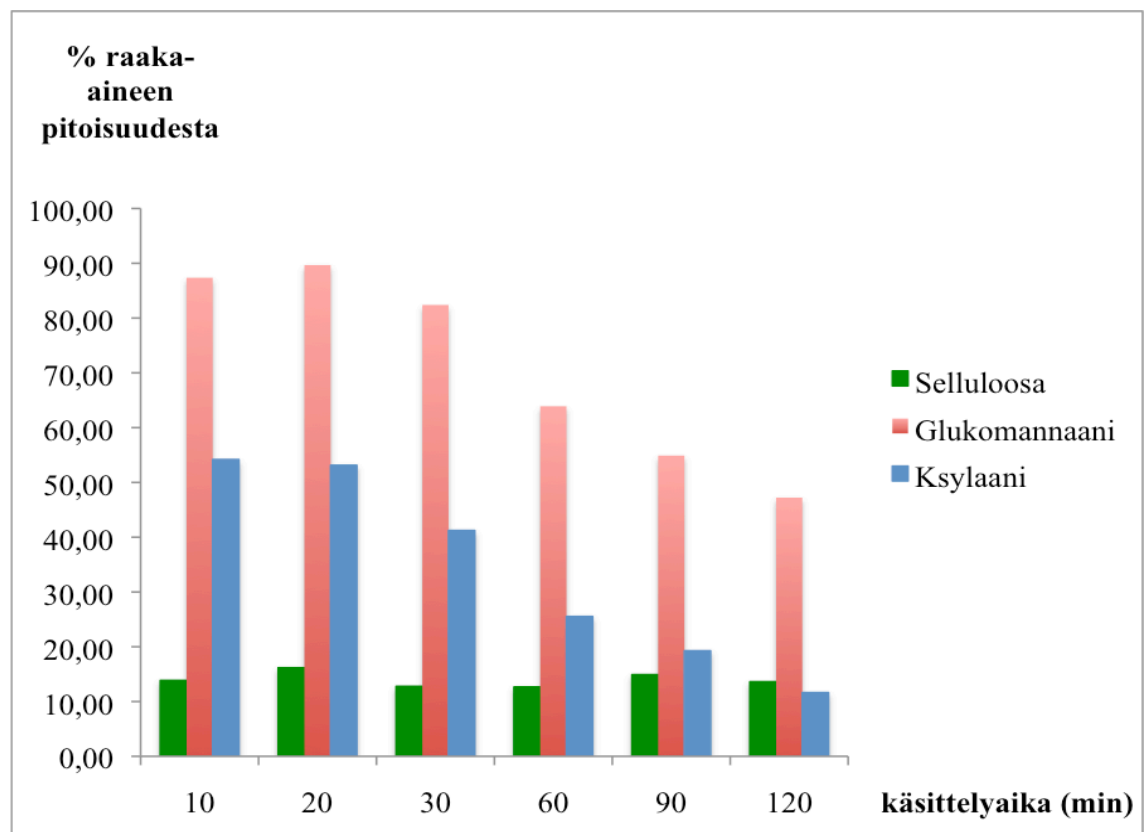
Taulukko 26. Laimea rikkihappoesikäsitteilyliuosten pitoisuudet lämpötilassa 170 °C, ruokohelppi

Pitoisuus/saanto						
1 % H₂SO₄	(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)					
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Polysakkaridit						
Selluloosa	13,9	16,2	12,8	12,7	14,9	13,6
Glukomannaani	87,4	89,7	82,4	63,9	54,9	47,2
Ksylaani	54,2	53,1	41,2	25,5	19,3	11,6
Yhteensä	28,5	29,8	23,8	18,3	17,6	14,2
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	2,3	2,1	2,2	2,2	2,2	2,5
Muurahaishappo	0,3	0,6	0,4	0,6	0,5	0,8
Furaanit						
HMF	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,7
Furfuraali	3,2	3,7	3,7	4,9	5,1	4,5
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Polysakkaridit						
Selluloosa	30,8	31,2	30,9	21,9	15,1	11,7
Glukomannaani	60,1	37,4	26,9	18,1	11,2	4,3
Ksylaani	10,6	3,4	1,8	0,6	0,3	0,1
Yhteensä	25,9	23,1	22,1	15,4	10,6	8,0
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	3,0	3,6	4,1	4,5	5,3	6,1
Muurahaishappo	1,3	1,6	2,0	2,3	3,1	3,9
Furaanit						
HMF	0,6	0,7	0,7	0,8	0,6	0,6
Furfuraali	4,4	4,2	3,4	3,2	1,7	1,5

Taulukosta 26 havaitaan, että rikkihappopitoisuuden ja käsitteilyajan kasvattaminen ei lisännyt polysakkaridisaantoa. Korkein polysakkaridien kokonaissaanto, noin 30 %, saatiin ruokohelпилle käsitteilyajalla 20 minuuttia, 1 % H₂SO₄. Korkein ksylaanipitoisuus saavutettiin puolestaan käsitteilyajalla 10 minuuttia (1 % H₂SO₄) jonka jälkeen sen

määrä liuoksessa alkoi pienentyä samalla, kun furfuraalin ja haihtuvien happojen pitoisuudet kasvoivat. Tämä oli seurausta ksyloosin hajoamista sivutuotteiksi. Selluloosan suurin saanto (noin 31 %) saatiin olosuhteilla 170 °C, 20 minuuttia, 3 % H₂SO₄, saannon ollessa kohtuullisen vakio aina 30 minuutin käsittelyajalle asti. Kokonaishiilihydraattisaanto puolestaan väheni käsittelyajan kasvaessa samoin kävi ksylaanin ja glukomannaanin saannoille.

Inhibiittoreista HMF-pitoisuus ei juurikaan olosuhteista riippumatta muuttunut, vaan pysyi kauttaaltaan kohtuullisen alhaisissa lukemissa. Furfuraalin pitoisuus oli puolestaan korkein olosuhteissa 170 °C, 20 minuuttia (3 % H₂SO₄), minkä jälkeen sen pitoisuus väheni. Laimeassa (1 % H₂SO₄) furfuraalin pitoisuus pysyi suhteellisen vakiona koko käsittelysarjan ajan, kuten oli myös haihtuvien happojen tapauksessa. Rikkihappopitoisuutta nostettaessa (→ 3 %) haihtuvien happojen pitoisuudet kasvoivat huomattavasti, polysakkaridisaantojen vastaavasti pienentyessä, mikä todisti sivureaktioiden voimistuvan huomattavasti.



Kuva 22. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 1 % H₂SO₄ ja 170 °C, ruokohelpi.

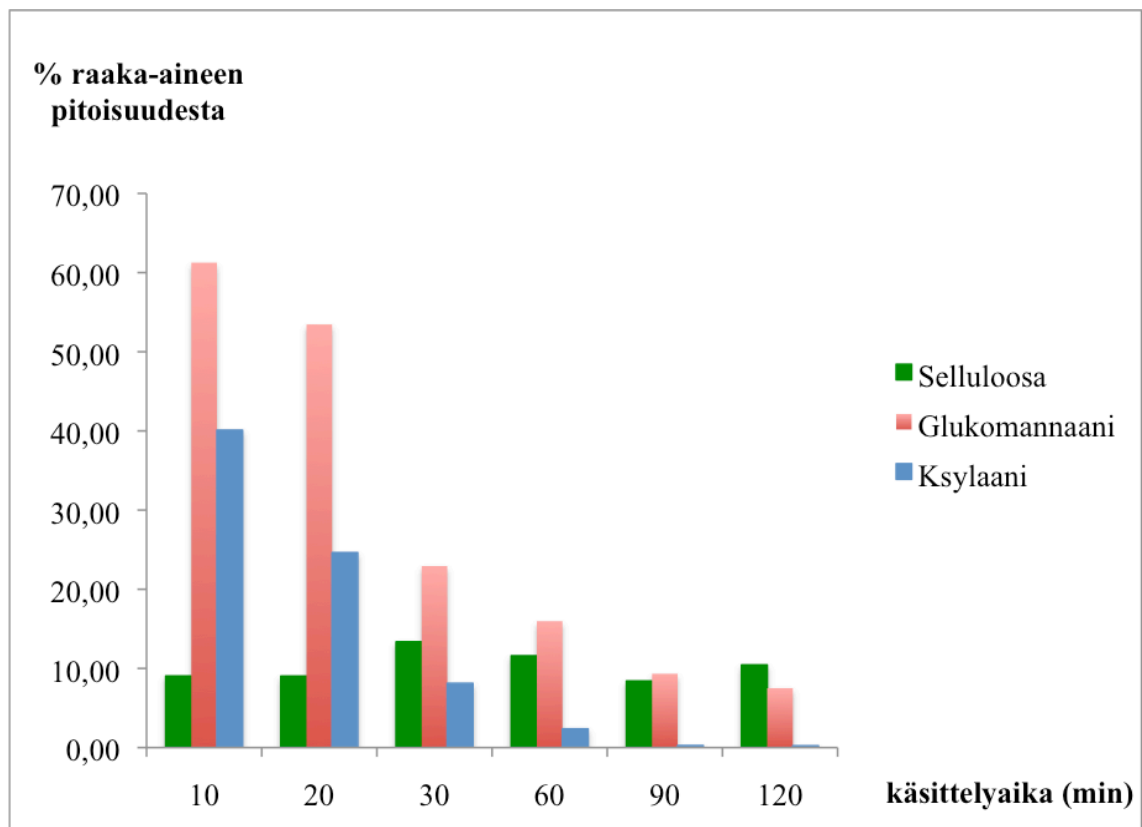
Käsittelylämpötilan lisäämisen vaikutus ruokohelpin esikäsittelyliuosten pitoisuuksiin on esitetty taulukossa 27. Tällöin havaittiin selkeästi, että olosuhteiden voimistaminen oli erittäin haitallinen niin polysakkaridisaannoille, kuin furaanienkin pitoisuuksille. Parhaimmillaankin saavutettiin vain hieman reilu 16 %:n kokonaishiilihydraattisaanto käsittelyajalla 10 minuuttia. Sitä vastoin haihtuvien happojen pitoisuudet olivat edelliseen käsittelyyn verrattuna huomattavasti suuremmat. Tuloksissa ei kuitenkaan ollut laimean esikäsittelyn tavoin selkeää lineaarisuutta, vaan tuloksissa esiintyi lievää heittelyä varsinkin haihtuvien happojen pitoisuuksissa. Tuloksista havaittiin lisäksi selkeästi olosuhteiden olleen liian voimakas hiilihydraateille, joista ei käsittelyajan kasvaessa jäänyt enää mitään jäljelle. Käsittelyjen aikana havaittiin myös voimakasta palaneen sokerin hajua sekä massojen raaka-ainehävikkiä. Raaka-aineen menetys oli vielä selkeämmin havaittavissa koivumassojen (taulukko 29) esikäsittelyssä, jonka aikana koivumassat sulivat melkein kokonaan. Materiaalien valtava tuhoutuminen käsittelyjen aikana voi osaltaan aiheuttaa myös tuloksiin virheitä.

Taulukko 27. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten pitoisuudet lämpötilassa 190 °C, ruokohelpi

Komponentti/ min	Pitoisuus/saanto							
	(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Polysakkaridit								
Selluloosa	21,1	18,9	19,2	16,4	0,9	0,0	0,0	0,0
Glukomannaani	29,6	20,0	13,1	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0
Ksylaani	3,8	1,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Yhteensä	16,2	13,6	13,2	11,3	0,6	0,0	0,0	0,0
Haihtuvat hapot								
Etikkahappo	3,6	3,9	2,9	1,8	6,1	7,7	11,6	6,4
Muurahaishappo	1,2	1,3	1,1	0,8	4,1	5,1	7,7	4,0
Furaanit								
HMF	1,3	1,4	1,3	1,2	0,1	0,0	0,0	0,0
Furfuraali	5,1	4,2	3,2	2,6	0,8	0,4	0,2	0,1

Taulukossa 28 on esitetty vastaavien esikäsittelyjen tulokset koivumassojen esikäsittelyliuoksille. Vaikka ruokohelpi muistutti koivua eniten raaka-ainekoostumukseltaan,

olivat koivun tulokset huomattavasti heikommät verrattuna ruokohelpin vastaaviin. Koivun esikäsitteilyliuokset sisälsivät huomattavasti enemmän haihtuvia happoja, hiilihydraattipitoisuuksien jäädessä varsin vaatimattomiksi. Furaanien pitoisuudet olivat suunnilleen samoissa lukemissa, kuin ruokohelpillä. Suurin polymeerien kokonaissaanto koivumassoille, noin 21 %, saatiin olosuhteilla 170 °C, 10 minuuttia ja 1 % H₂SO₄, minkä jälkeen saanto väheni merkittävästi. Kokonaisuudessaan koivumassojen esikäsitteily näissä olosuhteissa ei ollut onnistunut. Tuloksissa esiintyi myös samaa vähäistä epälineaarisuutta, mitä havaittiin ruokohelpin vastaavan esikäsitteilyn tuloksissa. Tällä kertaa vaihtelu kohdistui selluloosan pitoisuuksiin rikkihappopitoisuudella 1 %.



Kuva 13. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 1 % H₂SO₄ ja 170 °C, koivu.

Taulukko 28. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten pitoisuudet lämpötilassa 170 °C, koivu

1 % H ₂ SO ₄ Komponentti/ min	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)					
	10	20	30	60	90	120
	Polysakkaridit					
Selluloosa	9,0	9,0	13,4	11,6	8,4	10,4
Glukomannaani	61,3	53,5	22,9	16,0	9,3	7,5
Ksylaani	40,1	24,6	8,1	2,4	0,3	0,2
Yhteensä	20,9	15,6	12,0	8,8	5,8	7,1
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	5,0	5,2	5,2	5,2	5,2	6,1
Muurahaishappo	0,5	0,5	0,7	1,3	1,3	1,9
Furaanit						
HMF	0,3	0,5	0,8	0,3	0,9	0,9
Furfuraali	4,8	6,3	7,3	4,8	6,1	4,6
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Polysakkaridit						
Selluloosa	20,5	23,3	23,3	12,1	8,0	3,8
Glukomannaani	21,7	21,7	12,0	4,8	3,5	2,1
Ksylaani	4,0	1,5	0,3	0,2	0,1	0,1
Yhteensä	15,3	16,2	15,5	8,0	5,3	2,6
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	5,9	6,6	6,2	6,4	8,0	9,9
Muurahaishappo	1,6	2,1	2,3	3,8	4,4	5,4
Furaanit						
HMF	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,3
Furfuraali	5,0	5,2	2,8	5,0	1,4	1,0

Kuten jo aiemmin mainittiin olosuhteiden voimistuessa koivun massan rakenna kärsi huomattavasti. Taulukosta 29 havaittiin myös selkeästi, ettei koivun esihydrolyysi-liuokset sisältäneet analysoiduista yhdisteistä juurikaan muuta, kuin haituvia happoja. Tässä vaiheessa koejärjestelyitä luovuttiin esikäsittelymassojen analysoinnista, koska

koivun massoja ei jäänyt tarpeeksi jatkokäsittelyjä varten, eikä vertaaminen muiden esikäsittelymassojen tuloksiin olisi ollut mahdollista.

Taulukko 29. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten pitoisuudet lämpötilassa 190 °C, koivu

Komponentti/ min	Pitoisuus/saanto							
	(% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Polysakkaridit								
Selluloosa	5,3	1,1	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Glukomannaani	1,7	0,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ksylaani	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Yhteensä	3,5	0,8	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Haihtuvat hapot								
Etikkahappo	8,3	8,8	8,9	8,9	8,0	7,6	7,2	6,4
Muurahaishappo	4,3	4,8	4,8	4,8	4,6	4,3	4,0	3,5
Furaanit								
HMF	0,6	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Furfuraali	2,5	1,7	1,4	1,3	0,3	0,1	0,1	0,1

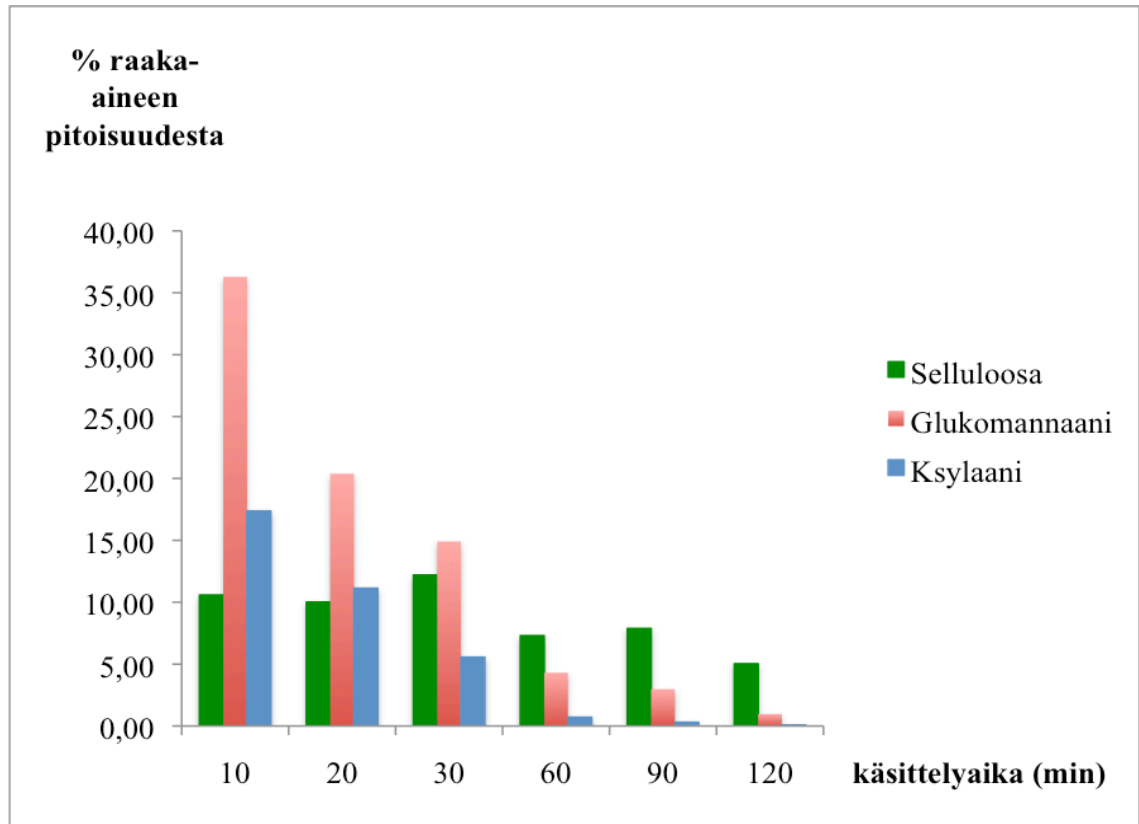
Kuusen vastaavista tuloksista esitetään tässä yhteydessä polysakkaridien pitoisuudet kuvaajan muodossa (kuva 24) esikäsittelyolosuhteille 170 °C, 1 % H₂SO₄, ja vastaavan lämpötilan monosakkaridipitoisuudet taulukoituna (taulukko 30). Vastaavat muut kuusen tulokset löytyvät taulukoituna liitteistä 8 – 10 yhdessä vastaavien kuvaajien kanssa.

Taulukko 30. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten pitoisuudet lämpötilassa 170 °C, kuusi

1 % H ₂ SO ₄ Komponentti/ min	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)					
	10	20	30	60	90	120
Polysakkaridit						
Selluloosa	10,6	10,0	12,2	7,3	7,9	5,0
Glukomannaani	36,3	20,4	14,9	4,3	3,0	1,0
Ksylaani	17,4	11,1	5,6	0,7	0,0	0,1
Yhteensä	15,9	12,0	12,1	6,2	6,3	3,8
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	1,3	2,6	3,4	3,8	4,0	4,1
Muurahaishappo	0,5	1,2	1,9	2,4	2,6	2,8
Furaanit						
HMF	1,5	1,6	1,6	1,3	1,1	0,9
Furfuraali	1,8	2,0	2,2	2,0	1,7	1,3
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Polysakkaridit						
Selluloosa	18,9	18,8	13,5	11,3	6,2	4,8
Glukomannaani	18,7	10,5	2,8	1,5	0,8	0,5
Ksylaani	3,4	1,1	0,1	0,2	0,0	0,0
Yhteensä	17,5	15,6	10,3	8,5	4,6	3,6
Haihtuvat hapot						
Etikkahappo	1,9	4,6	6,0	5,9	6,2	6,5
Muurahaishappo	1,2	3,0	4,4	4,4	4,8	5,1
Furaanit						
HMF	0,9	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3
Furfuraali	2,0	1,5	0,8	0,5	0,4	0,3

Kuusen liuoksista analysoitujen yhdisteiden pitoisuudet eivät aivan yltäneet edes koivun tulosten tasalle, vaikka selluloosan saanto olikin esikäsittelyn alussa korkeampi. Selluloosan ja ksylaanin saannot olivat suhteellisen korkeita havupuulle (11 % ja 18 %, 10 minuuttia, 170 °C, kuva 24, taulukko 30) ja saannot kasvoivat olosuhteiden voimak-

kuuden vähentyessä. Hiilihydraattien kokonaissaanto olivat jopa korkeampi kuin koi-
vulla rikkihappopitoisuudessa 3 %. Samoin furaanien määrät olivat kuuselle mitättömiä,
kun puolestaan haihtuvien happojen yhteismäärät lähestyivät jopa 50 % voimakkaim-
missa olosuhteissa.



Kuva 24. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsitteily-
olosuhteissa 1 % H_2SO_4 ja 170 °C, kuusi.

16 YHTEENVETO

Työssä suoritettiin lingoselluloosamateriaaleille esikäsittelyjä erilaisissa olosuhteissa ja käyttämällä erilaisia happamia liuottimia. Tavoitteena oli tutkia olosuhdevaihtelujen vaikutusta liukenevan materiaalin sisältöön lähinnä hiilihydraattisaantoihin, mutta myös fermentointi-inhibiittoreiden pitoisuuksiin. Vaikka kokeellinen osuus suoritettiin osana kahta eri projektia, kaikkia tuloksia tarkasteltiin bioetanolin valmistusta silmälläpitäen. Projektien tuloksien yhdistävänä tekijänä olivat raaka-aineet, joista ruokohelpi lisättiin vesiesikäsittelyihin ja mänty jätettiin pois rikkihappoesikäsittelyistä. Saadut tulokset tukivat hyvin sekä toisiaan että jo aikaisempaa käsitystä suoritettujen esikäsittelyiden vaikutuksista. Kaikki tulokset olivat, muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta, myös johdonmukaisia.

Työvaiheista vesiesikäsittelyn tarkoituksena oli bioetanolivalmistuksen mahdollinen integrointi nykyaikaisen sellutehtaan yhteyteen. Väkevän rikkihappoesikäsittelyn tarkoituksena oli tuottaa mahdollisimman suuri hiilihydraattisaanto Lappeenrannan teknillisen yliopiston erottelukokeita varten. Laimean rikkihappoesikäsittelyn avulla pyrittiin kartoittamaan olosuhteiden ja liuottimen pitoisuuden vaikutusta tuotetun hydrolysaatin hiilihydraattien ja inhibiittoreiden pitoisuuksiin varsinaista bioetanolin valmistusta fermentoinnin kautta ajatellen. Kaikki työvaiheet olivat siten perusteltuja ja tarpeellisia.

Esikäsittelyissä muuttujina olivat lämpötila ja käsittelyaika, jotka molemmat olivat ratkaisevassa asemassa oikeiden olosuhteiden määrittämisessä. Tulokset osoittivat kauttaaltaan, että sekä lämpötilan nosto ja käsittelyajan lisääminen vaikuttivat toisistaan riippumatta muutoksia analysoitavien yhdisteiden pitoisuuksiin. Tietyissä tilanteissa näiden muuttujien yhteisvaikutus vaikutti tuloksiin jopa merkittävästi.

Suoritetuista esikäsittelymenetelmistä parhaimmat mahdollisuudet teolliseksi esikäsittelymenetelmän liuottimeksi olivat vesi ja laimea rikkihappo. Näistä liuottimista vesi vaati mahdollisimmat kovat olosuhteet; korkean lämpötilan ja pitkän käsittelyajan, kun taas puolestaan rikkihappo vaikutti päinvastoin; korkea lämpötila ja pitkä käsittelyaika tuhosi raaka-aineen komponentit lähes kokonaan.

Kokonaisuudessaan suoritetusta laimean rikkihapon esikäsittelystä voitiin tulosten perusteella todeta, että olosuhteiden voimakkuutta voitaisiin alentaa vieläkin lisää ja

käsittelyaikoja lyhentää. Tämä olisi sekä taloudellisesti suositeltavampaa että myöskin esikäsittelymassojen analysointi olisi mahdollista. Kirjallisuudesta voitiin löytää monia tutkimuksia jopa 0,1 %:n tai alhaisimmillakin rikkihappopitoisuuksilla suoritetuista esikäsittelyistä.

Tuloksista ei löytynyt yhdellekään esikäsittelymenetelmälle varmaa hiilihydraattisaannon maksimipistettä, vaikka ruokohelpin esikäsittelyliuokset tulosten mukaan saavuttivatkin huippusaannon olosuhteilla 1 % H₂SO₄, 170 °C ja 20 minuuttia (saanto 30 %). Tämän maksimipisteen varmistamiseksi ja mahdollisen virheen poissulkemiseksi tulisi suorittaa lisätutkimuksia aikavälillä 1 – 10 minuuttia. Vesiesikäsittelyistä tulokset olivat kauttaaltaan suhteellisen lupaavia jo senkin vuoksi, ettei vesi liuottimena ole kustannuksia lisäävä tekijä, eikä myöskään aiheuta investointeja laitteistomuutosten kautta. Vaikka hiilihydraattisaannot eivät olleet varsinaisesti tuotannollisesti lupaavia (noin 20 %) inhibiittoreiden pitoisuudet olivat erittäin alhaiset ja siten saatu liuos on fermentointia ajatellen lähes suoraan jatkokäsittelykelpoista.

Tuotannollisista suuntauksista riippuen, edellä esitettyjä esikäsittelymenetelmiä voitaisiin käyttää hyväksi eri yhdisteiden valmistuksessa. Tuloksista havaittiin haihtuvia happoja muodostuvan suurina pitoisuuksina (saanto 17 %) ruokohelpin tapauksessa olosuhteissa 170 °C ja 50 minuuttia, liuottimena vesi ja kuuselle olosuhteilla 3 % H₂SO₄, 190 °C ja 120 minuuttia (saanto 45 %). Esihydrolyysiliuosten lisätutkiminen pitoisuuksien ja yhdisteiden selvittämiseksi varsinkin koivulle voisi myös olla erittäin kiinnostavaa olosuhteilla 190 °C ja 3 % H₂SO₄.

LÄHDELUETTELO

1. N. D. Hinman, D. J. Schell, J. Riley, P. W. Bergeron ja P. J. Walter, Preliminary estimate of the cost of ethanol production for ssf technology, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1992**, 34-35(1), 639-649.
2. L. R. Lynd, J. H. Cushman, R. J. Nichols ja C. E. Wyman, Fuel ethanol from cellulosic biomass, *Science*, **1991**, 251, 1318-1323.
3. L. R. Lynd, Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: Technology, economics, the environment, and policy, *Annu. Rev. Energy Environ.*, **1996**, 21, 403-465.
4. C. E. Wyman ja N. D. Hinman, Ethanol: fundamentals of production from renewable feedstocks and use as a transportation fuel, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1990**, 24/25, 735-753.
5. Anon., US Dep. Energy, *Annual Energy Review 1997, Rep. DOE/EIA-0384(97)*, Washington, DC: Energy Inf. Admin., US Dep. Energy, USA, 1998.
6. Anon., World Wildlife Fund, *New Mellman poll shows overwhelming support for international efforts to halt global warming: Americans expect politicians, business, and technology to solve threat*, Press Release, <http://www.wwf.org/new/news/pr125.htm>, 1997.
7. R. J. Beck, *Worldwide Petroleum Industry Outlook: 1998–2002 Projections to 2007*, 14th ed., Tulsa, OK: Pennwell, USA, 1997, s. 25–28.
8. <http://www.history.com/topics/energy-crisis>; 28.04.2013.
9. C. E. Wyman, *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*, Applied Energy Technology Series, Taylor & Francis, Washington, DC, USA, 1996, s. 424.
10. I. Ahmed ja D. Morris, Greenhouse gas emissions from ethanol and MTBE – A

Comparision, Draft Institute for Local Self-Reliance – Environmentally Sound Economic Development, Minneapolis, MN, USA, 1994.

11. http://www.territorioscuola.com/wikipedia/pt.wikipedia.php?title=Ficheiro:ETBE_Structural_Formulae.png, 28.08.2012.
12. http://commons.wikimedia.org/?title=File:MTBE_structural_formulae.png, 28.08.2012.
13. S. Tidenberg, T. Taipale ja J. Gustafsson, *MTBE ja TAME pohjavesiriskinä Suomessa*, Suomen ympäristö 29, Suomen Ympäristökeskus, Helsinki, Suomi, 2009.
14. B. K. Bailey, Performance of ethanol as a transportation fuel, vrt. ref. 9, Washington, DC, USA, 1996, s. 37–58.
15. C. E. Wyman, Biomass ethanol: technical progress, opportunities, and commercial challenges, *Annu. Rev. Energy Environ.*, **1999**, 24, 189–226.
16. C. S. Gong, Recent advances in D-xylose conversion by yeasts, Julkaisussa: G. T. Tsao (toim.), *Annu. Rep. Ferment. Processes*, Academic Press, **1983**, 6, 253-291.
17. L. R. Lynd, C. E. Wyman ja T. U. Gerngross, Biocommodity engineering, *Biotechnol. Prog.*, **1999**, 15(5), 777–793.
18. L. O. Ingram, P. F. Gomez, X. Lai, M. Moniruzzaman, B. E. Wood, L. P. Yomano ja S. W. York, Metabolic engineering of bacteria for ethanol production, *Biotechnol. Bioeng.*, **1998**, 58, 204–214.
19. L. O. Ingram, H. C. Aldrich, A. C. C. Borges, T. B. Causey, A. Martinez, F. Morales, A. Saleh, S. A. Underwood, L. P. Yomano, S. W. York, J. Zaldivar ja S. D. Zhou, Enteric bacterial catalysts for fuel ethanol production, *Biotechnol. Prog.*, **1999**, 15, 855–866.
20. N. W. Y. Ho, Z. Chen ja A. Brainard, Genetically engineered *Saccharomyces*

- yeast capable of effective co-fermentation of glucose and xylose, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1998**, *64*, 1852–1859.
21. N. W. Y. Ho, Z. Chen, A. P. Brainard ja M. Sedlak, Successful design and development of genetically engineered *Saccharomyces* yeasts for effective cofermentation of glucose and xylose from cellulosic biomass to fuel ethanol, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, **1999**, *65*, 163–192.
 22. J. D. Wright, Ethanol from lignocellulosics: an overview, *Energy Prog.*, **1988**, *84*(8), 71–80.
 23. M. Gulati, P. J. Westgate, M. Brewer, R. Hendrickson ja M. R. Ladisch, Sorptive recovery of dilute ethanol from distillation column bottoms stream, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1996**, *57/58*, 103–119.
 24. M. R. Ladisch, M. Voloch, J. Hong, P. Bienkowski ja G.T. Tsao, Cornmeal adsorber for dehydrating ethanol vapors, *Ind. Eng. Process Des. Dev.*, **1984**, *23*, 437–443.
 25. C.E. Wyman, Ethanol from lignocellulosic biomass: technology, economics, and opportunities, *Bioresour. Technol.*, **1995**, *50*, 3–15.
 26. R. Wooley, M. Ruth, D. Glassner ja J. Sheehan, Process design and costing of bioethanol technology: a tool for determining the status and direction of research and development, *Biotechnol. Prog.*, **1999**, *15*, 794–803.
 27. F. A. Agblevor, B. Rejai, D. Wang, A. Wiselugel ja H. L. Chum, Influence of storage conditions on the production of hydrocarbons from herbaceous biomass, *Biomass and Bioenergy*, **1994**, *7*(1-6), 213-222.
 28. L. O. Ingram, T. Conway, D. P. Clark, G. W. Sewell ja J. F. Preston_Genetic engineering of ethanol production in *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1987**, *53*, 2420-2425.
 29. B. E. Wood ja L. O. Ingram, Ethanol production from cellobiose, amorphous

- cellulose, and crystalline cellulose by recombinant *Klebsiella oxytoca* containing chromosomally integrated *Zymomonas mobilis* genes for ethanol production and plasmids expressing thermostable cellulase genes from *Clostridium thermocellum*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1992**, *58*, 2103-2110.
30. D. J. Schell, N. D. Hinman ja C. E. Wyman, Whole broth cellulase production for use in simultaneous saccharification and fermentation, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1990**, *24/25*, 287–97.
 31. J. D. Wright, C. E. Wyman ja K. Grohmann, Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose: process evaluation. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1988**, *18*, 75–90.
 32. C. E. Wyman, D. D. Spindler ja K. Grohmann, Simultaneous saccharification and fermentation of several lignocellulosic feedstocks to fuel ethanol, *Biomass Bioenergy*, **1992**, *3(5)*, 301–7.
 33. D. D. Spindler, C. E. Wyman, A. Mohagheghi ja K. Grohmann. Thermotolerant yeast for simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to ethanol, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1988**, *17*, 279–93.
 34. J. H. Cherney, J. Lowenberg-DeBoer, K. D. Johnson ja J. J. Volenec, Evaluation of grasses and legumes as energy resources, D. L. Klass (toim.), *Energy from Biomass and Wastes XII*, Institute of Gas Technology, Chicago, USA, 1989, 289–325.
 35. http://www.biologie.uni-hamburg.de/bonline/thome/band1/tafel_087_small.jpg, 28.08.2012.
 36. <http://www.museum.state.il.us/ismdepts/botany/collections/herbarium/kuhnia-veronica/Panicum-virgatum-28051.jpg>, 28.08.2012.
 37. http://intermountainbiota.org/imglib/seinet/Poaceae/herbarium_sheets/SOBI_6917_3_M.jpg, 28.08.2012.
 - 38.

- 21-ALFALFA-or-LOCERNE-Medicago-sativa-1.jpg, 28.08.2012.
39. B. E. Foody ja K. J. Foody, Development of an integrated system for producing ethanol from biomass, D.L. Klass (Toim.), *Energy from Biomass and Wastes*, Institute of Gas Technology, Chicago, USA, 1991, 1225–1243.
 40. O. Kuusi, S. Kurppa ja J. Pakkasvirta (toim.), *LÖYTÖRETKIÄ BIOPOLITIIK-KAAN Suomen biopolitiikan haasteita ja näkökulmia globaaleissa puitteissa 2010-2050*, Eduskunnan tulavaisuusvaliokunnan julkaisu 1/2010, Teknologian arviointeja 27, Töölön Kirjapaino, Helsinki, Suomi, 2010.
 41. V. Pohjonen, *Selection of species and clones for biomass willow forestry in Finland - Biomassan viljelyyn sopivien pajulajien ja –kloonien valinta Suomessa*, Acta Forestalia Fennica 221, The Society of Forestry in Finland, The Finnish forest research institute, Helsinki, Suomi, 1991.
 42. http://uk.shram.kiev.ua/img/health/images/stories/travnik/image1/salix_alba_1.jpg, 28.08.2012.
 43. http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8c/304_Populus_tremula_L.jpg, 28.08.2012.
 44. <http://i85.servimg.com/u/f85/11/55/43/18/eucrad10.jpg>, 28.08.2012.
 45. <http://www.puuproffa.fi/proffin/images/stories/puulajit/lehdet2008/harmaaleppalehti.jpg>, 28.08.2012.
 46. http://www.puuproffa.fi/proffin/images/stories/puulajit/_vaahteran-lehdet2.jpg, 28.08.2012.
 47. <http://www.arborday.org/trees/whattree/graphics/W68E.jpg>, 28.08.2012
 48. N. Carpita ja D. M. Gibeaut, Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth, *The Plant Journal*, **1993**, 3(1), 1–30.
 49. N. D. Hinman, J. D. Wright, W. Hoagland ja C. E. Wyman, Xylose fermentation:

- an economic analysis, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1989**, 20/21, 391–410.
50. M. J. Taherzadeh, C. Niklasson ja G. Lidén, Conversion of dilute-acid hydrolyzates of spruce and birch to ethanol by fed-batch fermentation, *Bioresour. Technol.*, **1999**, 69, 59–66.
 51. H. K. Sreenath ja T. W. Jeffries, Production of ethanol from wood hydrolyzate by yeasts, *Bioresour. Technol.*, **2000**, 72, 253–260.
 52. S. A. Rydholm, *Pulping Processes*, Interscience Publishers, John Wiley & Sons, New York, USA, 1965, s. 3–90.
 53. H. F. Wenzel, *The Chemical Technology of Wood*, Academic Press, New York, USA, 1970, s. 32–245.
 54. V. S. Chang ja M. T. Holtzaple, Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2000**, 84, 5–37.
 55. M. R. Ladisch, L. Waugh, P. Westgate, K. Kohlmann, R. Hendrickson, Y. Yang ja C. M. Ladisch, Intercalation in the pretreatment of cellulose, M.R. Ladisch, A. Bose (toim.), *Harnessing Biotechnology for the 21st Century*, American Chemical Society, USA, 1992, s. 510–518.
 56. M. R. Ladisch, K. W. Lin, M. Voloch ja G. T. Tsao, Process considerations in enzymatic hydrolysis of biomass, *Enzyme Microb. Technol.*, **1983**, 5, 82–102.
 57. N. S. Mosier, P. Hall, C. M. Ladisch ja M. R. Ladisch, Reaction kinetics, molecular action, and mechanisms of cellulolytic proteins, *Adv. Biochem. Eng.*, **1999**, 65, 24–40.
 58. <http://nutrition.jbpub.com/resources/images/images/fiber.gif>, 20.07.2011.
 59. Y. Sun ja J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol.*, **2002**, 83, 1-11.

60. M. Vanninen, *Tyypillisten biomassamateriaalien kemiallinen koostumus*, pro gradu tutkielma, Jyväskylän yliopisto, soveltavan kemian laboratorio, Jyväskylä, Suomi, 2009.
61. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3e/Cellulose-2D-skeletal.png/300px-Cellulose-2D-skeletal.png>, 06.05.2013.
62. <http://theadiokecenter.files.wordpress.com/2012/03/200px-xylan-svg.png?w=750>, 28.08.2012.
63. K. P. Kringstad and K. Lindstrom, Spent liquors from pulp bleaching, *Environ. Sci. Technol.*, **1984**, *18*, 236A–248A.
64. J. Torrie, *Extracellular β -d-Mannanase Activity from Trichoderma harzianum E58*, väitöskirja, University of Ottawa, Kanada, 1991.
65. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Hemicellulose.png>, 28.06.2013.
66. H. E. Grethlein, D. C. Allen ja A. O. Converse, Common aspects of acid prehydrolysis and steam explosion for pretreating wood. *Bioresour. Technol.*, **1991**, *36*, 77-82.
67. T. G. Bridgeman, L. I. Darwell, J. M. Jones, P. T. Williams, R. Fahmi, A. V. Bridgwater, T. Barraclough, I. Shield, N. Yates, S. C. Thain ja I. S. Donnison, Influence of particle size on the analytical and chemical properties of two energy crops, *Fuel*, **2007**, *86*(1-2), 60-72.
68. L. Cadoche ja G. D. Lopez, Assesment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biol. Wastes*, **1989**, *30*, 153-157.
69. J. D. McMillan, Pretreatment of lignocellulosic biomass. Kirjassa: M. E. Himmel, J. O. Baker and R. P. Overend (toim.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, American Chemical Society Symposium Series 566, Washington DC, USA, 1994, s. 292–324.

70. M. R. Ladisch, C. M. Ladisch ja G. T. Tsao, Cellulose to sugars: New path gives quantitative yield, *Science*, **1978**, *201*, 743–745.
71. T. J. Hamilton, B. E. Dale, M. R. Ladisch ja G. T. Tsao, Effect of ferric tartrate/sodium hydroxide solvent pretreatment on enzyme hydrolysis of cellulose in corn residue, *Biotechnol. Bioeng.*, **1984**, *26*, 781–787.
72. T. M. Wood ja J. N. Saddler, Increasing the availability of cellulose in biomass materials, *Methods in Enzymology 160*, W. A. Wood ja S. T. Kellogg (toim.), 1988, s. 3–11.
73. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple ja M. R. Ladisch, *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*, *Bioresour. Technol.*, **2005**, *96*(6), 673–686.
74. M. A. Millet, A. J. Baker ja L. D. Scatter, Physical and chemical pretreatment for enhancing cellulose saccharification, *Biotech. Bioeng. Symp.*, **1976**, *6*, 125–153.
75. F. J. Kilzer ja A. Broido, Speculations on the nature of cellulose pyrolysis, *Pyrodynamics*, **1965**, *2*, 151–163.
76. F. Shafizadeh ja A. G. W. Bradbury, Thermal degradation of cellulose in air and nitrogen at low temperatures, *J. Appl. Poly. Sci.*, **1979**, *23*, 1431–1442.
77. L. T. Fan, M. M. Gharapuray ja Y. H. Lee, *Cellulose Hydrolysis Biotechnology Monographs*, Springer, Berlin, Saksa, 1987, s. 57-66.
78. F. Shafizadeh ja Y. Z. Lai, Thermal degradation of 2-deoxy-D-arabino-hexonic acid and 3-deoxy-D-ribo-hexono-1,4-lactone, *Carbohydr. Res.*, **1975**, *42*, 39–53.
79. J. N. Saddler, L. P. Ramos ja C. Breuil, Steam pretreatment of lignocellulosic residues. In: J.N. Saddler, Editors, *Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Wastes*, C.A.B. International, Wallingford, UK, 1993, s. 73–92.

80. K. L. Mackie, H. H. Brownell, K. L. West ja J. N. Saddler, Effect of sulphur dioxide and sulphuric acid on steam explosion of aspenwood, *J. Wood Chem. Technol.*, **1985**, 5, 405–425.
81. H. Brownell ja J. Saddler. Steam pretreatment of lignocellulosic material for enhanced enzymatic hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng.*, **1987**, 29(2), 228-235.
82. T. A. Clark ja K. L. Mackie, Steam explosion of the soft-wood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. I. Process optimization, *J. Wood Chem. Technol.*, **1987**, 7, 373–403.
83. K. K. Y. Wong, K. F. Deverell, K. L. Mackie, T. A. Clark ja L. A. Donaldson, The relationship between fiber porosity and cellulose digestibility in steam-exploded *Pinus radiata*, *Biotechnol. Bioeng.*, **1988**, 31, 447–456.
84. M. Holtzapple, J. Lundeen, R. Sturgis, J. Lewis ja B. Dale, Pretreatment of lignocellulosic municipal solid waste by ammonia fiber explosion (AFEX). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1992**, 34(1), 5-21.
85. L. P. Walker ja D. B. Wilson, Enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview, *Biores. Technol.*, **1991**, 36, 3–14.
86. M. Mes-Hartree, B. E. Dale ja W. K. Craig, Comparison of steam and ammonia pretreatment for enzymatic hydrolysis of cellulose, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1988**, 29, 462–468.
87. E. Y. Vlasenko, H. Ding, J. M. Labavitch ja S. P. Shoemaker, Enzymatic hydrolysis of pretreated rice straw, *Bioresour. Technol.*, **1997**, 59, 109–119.
88. M. T. Holtzapple, J. H. Jun, G. Ashok, S. L. Patibandla ja B. E. Dale, The ammonia freeze explosion (AFEX) process: a practical lignocellulose pretreatment, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1991**, 28/29, 59–74.
89. M. T. Holtzapple, J. H. Jun, G. Ashok, S. L. Patibandla ja B. E. Dale, *Ammonia fiber explosion (AFEX) pretreatment of lignocellulosic wastes*, American Institute of Chemical Engineers National Meeting, Chicago, IL, USA, 79, 1990.

90. B. E. Dale ja M. J. Moreira, A freeze-explosion technique for increasing cellulose hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1982**, *12*, 31–43.
91. Y. Z. Zheng, H. M. Lin ja G. T. Tsao, Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion, *Biotechnol. Prog.*, **1998**, *14*, 890–896.
92. D. Ben-Ghedalia ja J. Miron, The effect of combined chemical and enzyme treatment on the saccharification and in vitro digestion rate of wheat straw, *Biotechnol. Bioeng.*, **1981**, *23*, 823–831.
93. W. C. Neely, Factors affecting the pretreatment of biomass with gaseous ozone, *Biotechnol. Bioeng.*, **1984**, *20*, 59–65.
94. D. Ben-Ghedalia ja G. Shefet, Chemical treatments for increasing the digestibility of cotton straw, *J. Agric. Sci.*, **1983**, *100*, 393–400.
95. P. F. Vidal ja J. Molinier, Ozonolysis of lignin – improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust, *Biomass*, **1988**, *16*, 1–17.
96. M. V. Sivers ja G. Zacchi, A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine, *Bioresour. Technol.*, **1995**, *51*, 43–52.
97. W. L. Faith ja J. A. Hall, Ethyl alcohol from waste wood by a modified Scholler process, *Chem. Eng. News*, **1944**, *22*, 525–526.
98. E. E. Harris, E. Begliner, G. J. Hajny ja E. C. Sherrard, Hydrolysis of wood. Treatment with sulfuric acid in a stationary digester, *Ind. Eng. Chem.*, **1945**, *37*(1), 12–23.
99. H. Knappert, H. Grethlein ja A. Converse, Partial acid hydrolysis of poplar wood as a pretreatment for enzymatic hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1981**, *11*, 67–77.
100. H. H. Brownell ja J. N. Saddler, Steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1984**, *14*, 55–68.

101. A. O. Converse ja H. E. Grethlein, Process for hydrolysis of biomass, *US Pat.*, 4,556,430 91, 1985.
102. W. R. Grous, A. O. Converse ja H. E. Grethlein, Effect of steam explosion pretreatment on pore size and enzymatic hydrolysis of poplar, *Enzyme Microb. Technol.*, **1985**, 8, 274–280.
103. K. Grohmann, R. Torget ja M. Himmel, Dilute acid pretreatment of biomass at high solids concentrations, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1985**, 15, 59–80.
104. R. Torget, M. Himmel ja K. Grohmann, Dilute-acid pretreatment of two short-rotation herbaceous crops, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1992**, 34/35, 115–123.
105. Q. A. Nguyen, M. P. Tucker, F. A. Keller ja F. P. Eddy, Two-stage dilute-acid pretreatment of softwoods, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2000**, 84–86, 561–576.
106. J. S. Kim, Y. Y. Lee ja S. C. Park, Pretreatment of wastepaper and pulp mill sludge by aqueous ammonia and hydrogen peroxide, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2000**, 84/86, 129–139.
107. D. L. Brink, Method of treating biomass material. *US Pat.*, 5,366,558, 1994.
108. C. J. Israilides, G. A. Grant ja Y. W. Han, Sugar level, fermentability, and acceptability of straw treated with different acids, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1978**, 36(1), 43–46.
109. I. S. Goldstein ja J. M. Easter, An improved process for converting cellulose to ethanol, *TAPPI Journal* **1992**, 75(8), 135–140.
110. A. Esteghlalian, A. G. Hashimoto, J. J. Fenske ja M. H. Penner, Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass, *Bioresour. Technol.*, **1997**, 59, 129–136.
111. A. H. Brennan, W. Hoagland ja D. J. Schell, High temperature acid hydrolysis of

- biomass using an engineering-scale plug flow reactor: result of low solids testing, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1986**, *17*, 53–70.
112. A. O. Converse, I. K. Kwarteng, H. E. Grethlein ja H. Ooshima, Kinetics of thermochemical pretreatment of lignocellulosic materials, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1989**, *20/21*, 63–78.
113. D. R. Cahela, Y. Y. Lee ja R. P. Chambers, Modeling of percolation processes in hemicellulose hydrolysis, *Biotech. Bioeng.*, **1983**, *25*, 3–17.
114. Y. Y. Lee, C. M. Lin, T. Johnson ja R. P. Chambers, Selective hydrolysis of hardwood hemicellulose by acids, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1978**, *8*, 75–88.
115. R. Torget, P. Werdene, M. Himmel ja K. Grohmann, Dilute acid pretreatment of short rotation woody and herbaceous crops, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1990**, *24/25*, 115–126.
116. R. Torget, P. Walter, M. Himmel ja K. Grohmann, Dilute acid pretreatment of corn residues and short-rotation woody crops, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1991**, *28/29*, 75–86.
117. K. Grohmann, R. Torget ja M. Himmel, Dilute acid pretreatment of biomass at high solids concentrations, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1986**, *17*, 135–151.
118. G. Garotte, H. Dominguez ja J. C. Parajo, Generation of xylose solutions from *Eucalyptus globules* wood by autohydrolysis–posthydrolysis processes: posthydrolysis kinetics, *Bioresour. Technol.*, **2001**, *79*, 155–164.
119. S. M. Shevchenko, K. Chang, J. Robinson ja J. N. Saddler, Optimization of monosaccharide recovery by post-hydrolysis of the water-soluble hemicellulose component after steam explosion of softwood chips, *Bioresour. Technol.*, **2000**, *72(3)*, 207–211.
120. J. F. Saeman, Kinetics of wood saccharification: Hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature, *Ind. Eng. Chem.*, **1945**, *37*, 42–52.

121. S. Ranganathan, D. S. MacDonald ja N. N. Bakhshi, Kinetic-studies of wheat straw hydrolysis using sulfuric-acid, *Can. J. Chem. Eng.*, **1985**, *63*, 840–844.
122. N. Bhandari, D. S. MacDonald ja N. N. Bakhshi, Kinetic-studies of corn stover saccharification using sulfuric-acid, *Biotechnol. Bioeng.*, **1984**, *26*, 320–327.
123. M. T. Maloney, T. W. Chapman ja A. J. Baker, Dilute acid-hydrolysis of paper birch-kinetics studies of xylan and acetyl-group hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng.*, **1985**, *27*, 355–361.
124. S. B. Kim ja Y. Y. Lee, Kinetics in acid-catalyzed hydrolysis of hardwood hemicelluloses, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1987**, *17*, 71–84.
125. O. Bobleter, H. Binder, R. Concin ja E. Burtscher, The conversion of biomass to fuel raw material by hydrothermal pretreatment, W. Palz, P. Chartier, D. O. Hall (toim.), *Energy from Biomass*, Applied Science Publishers, London, UK, 1981, s. 554–562.
126. W. S. L. Mok ja M. J. Antal Jr., Uncatalyzed solvolysis of whole biomass hemicellulose by hot compressed liquid water, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1992**, *31*, 1157–1161.
127. S. G. Allen, L. C. Kam, A. J. Zemann and M. J. Antal Jr., Fractionation of sugar cane with hot, compressed, liquid water, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1996**, *35*, 2709–2715.
128. R. Torget, C. Hatzis, T. K. Hayward, T. A. Hsu ja G. P. Philippidis, Optimization of reverse-flow, two-temperature, dilute-acid pretreatment to enhance biomass conversion to ethanol, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1996**, *57/58*, 85–101.
129. R. Chen, Y. Y. Lee ja R. Torget, Kinetic and modeling investigation on two-stage reverse-flow reactor as applied to dilute-acid pretreatment of agricultural residues, *Biochem. Biotechnol.*, **1996**, *57/58*, 133–146.
130. A. H. Conner, B. F. Wood, C. G. Hill ja J. F. Harris In: R. A. Young and R. M.

Rowe (Toim.), *Cellulose: Structure, Modification, and Hydrolysis*, Wiley, New York, USA, 1986, ss. 281–296.

131. I. A. Malester, M. Green ja G. Shelef, Kinetics of dilute acid-hydrolysis of cellulose originating from municipal solid-wastes, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1992**, *31*, 1998–2003.
132. K. D. Baugh, J. A. Levy ja P. L. McCarty, Thermochemical pretreatment of lignocellulose to enhance methane fermentation: I. Monosaccharide and furfurals hydrothermal decomposition and product formation Rates, *Biotechnol. Bioeng.*, **1988**, *31*, 50–61.
133. K. D. Baugh, J. A. Levy ja P. L. McCarty, Thermochemical pretreatment of lignocellulose to enhance methane fermentation: II. Evaluation and application of pretreatment model, *Biotechnol. Bioeng.*, **1988**, *31*, 62–70.
134. R. W. Torget, K. L. Kidam, T. A. Hsu, G. P. Philippidis ja C. E. Wyman, Prehydrolysis of lignocellulose. *US Pat.*, 5,705,369, 1998.
135. R. W. Torget, N. Nagle, E. Jennings, K. Ibsen ja R. Elander, Novel pilot scale reactor for the aqueous fractionation of hardwood for the improved production of ethanol, *21st Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, Fort Collins, Colorado, USA, 1999.
136. H. E. Grethlein, D. C. Allen ja A. O. Converse, A comparative study of the enzymatic hydrolysis of acid-pretreated white pine and mixed hardwood, *Biotechnol. Bioeng.*, **1984**, *26*, 1498-1505.
137. H. E. Grethlein, The effect of pore size distribution on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulosic substrates, *Bio/Technology*, **1985**, *3*, 155–160.
138. D. J. Schell, R. Torget, A. Power, P. J. Walter, K. Grohmann ja N. D. Hinman, A technical and economic analysis of acid-catalysed steam explosion and dilute sulphuric acid pretreatment using wheat straw or aspen wood chips, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1991**, *28/29*, 87-98.

139. H. Tarkow ja W. C. Feist, A Mechanism for Improving the Digestibility of Lignocellulosic Materials with Dilute Alkali and Liquid NH₃, *Advance Chemistry Series 95*, American Chemical Society, Washington DC, USA, 1969, s. 197–218.
140. A. B. Bjerre, A. B. Olesen ja T. Fernqvist, Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicelluloses, *Biotechnol. Bioeng.*, **1996**, *49*, 568–577.
141. H. L. Chum, D. K. Johnson ja S. Black, Organosolv pretreatment for enzymatic hydrolysis of poplars: 1. enzyme hydrolysis of cellulosic residues, *Biotechnol. Bioeng.*, **1988**, *31*, 643–649.
142. R. W. Thring, E. Chorent ja R. Overend, Recovery of a solvolytic lignin: effects of spent liquor/acid volume ration, acid concentration and temperature, *Biomass*, **1990**, *23*, 289–305.
143. K. V. Sarkanen, Acid-catalyzed delignification of lignocellulosics in organic solvents, *Prog. Biomass Convers.*, **1980**, *2*, 127–144.
144. S. Aziz ja K. Sarkanen, Organosolv pulping – a review, *Tappi J.*, **1989**, *72*, 169–175.
145. L. O. Ingram ja J. B. Doran, Conversion of lignocellulosic residues to ethanol, *FEMS Microbiol. Rev.*, **1995**, *16*, 235–241.
146. M. Zhang, C. Eddy, K. Deanda, M. Finkelstein ja S. Picataggio, Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*, *Science*, **1995**, *267*, 240–243.
147. R. J. A. Gosselink, J. E. G. van Dam ja F. H. A. Zomers, Combined HPLC analysis of organic acids and furans formed during organosolv pulping of fibre hemp, *J. Wood Chem. Technol.*, **1995**, *15*, 1–9.
148. L. Paszner ja H. J. Cho, High efficiency conversion of lignocellulosics to sugars for liquid fuel production by the ACOS process, *Energy Exploitation Exploration*,

- 1988**, 6, 39–60.
149. L. Paszner ja H. J. Cho, Organosolv pulping: Acidic catalysis options and their effect on fibre quality and delignification, *Tappi J.*, **1989**, 72, 135–142.
150. O. Bobleter ja R. Concin, Degradation of poplar lignin by hydrothermal treatment, *Cellul. Chem. Technol.*, **1979**, 13, 583–593.
151. K. L. Kohlmann, A. Sarikaya, P. J. Westgate, J. Weil, A. Velayudhan, R. Hendrickson ja M. R. Ladisch, Enhanced enzyme activities on hydrated lignocellulosic substrates, J. N. Saddler ja M. H. Penner (toim.), *Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates*, ACS Publishing, USA, 1995, s. 237–255.
152. G. P. van Walsum, S. G. Alien, M. J. Spencer, M. S. Laser, M. J. Antal Jr. ja L. R. Lynd, Conversion of lignocellulosics pretreated with liquid hot water to ethanol, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1996**, 57/58, 157–170.
153. W. S. L. Mok ja M. J. Antal Jr., Biomass fractionation by hot compressed liquid water, A.V. Bridgewater (toim.), *Advances in Thermochemical Biomass Conversion*, vol. 2, Blackie Academic & Professional Publishers, New York, USA, 1994, ss. 1572–1582.
154. J. R. Weil, A. Sarikaya, S. L. Rau, J. Goetz, C. M. Ladisch, M. Brewer, R. Hendrickson ja M. R. Ladisch, Pretreatment of corn fiber by pressure cooking in water, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1998**, 73, 1–17.
155. N. S. Mosier, R. Hendrickson, G. Welch, R. Dreschel, B. Dien ja M. R. Ladisch, Corn fiber pretreatment scale-up and evaluation in an industrial corn to ethanol facility, Paper 6A-04, *25th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, Breckenridge, CO, USA, s. 147, 2003.
156. J. R. Weil, A. Sarikaya, S. L. Rau, J. Goetz, C. M. Ladisch, M. Brewer, R. Hendrickson ja M. R. Ladisch, Pretreatment of yellow poplar sawdust by pressure cooking in water, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1997**, 68(1–2), 21–40.

157. E. Palmqvist ja B. Hahn-Hagerdal, Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition, *Biores. Technol.*, **2000**, 74(1), 25–33.
158. M. J. Antal Jr., Water: A traditional solvent pregnant with new applications, H.J. White Jr. (toim.), *Proceedings of the 12th International Conference on the Properties of Water and Steam*, Begell House, New York, USA, 1996, s. 24–32.
159. J. Schurz, T. K. Ghose (toim.), *Bioconversion of Cellulosic Substances into Energy Chemicals and Microbial Protein Symposium Proceedings*, IIT, New Delhi, India, 1978, s. 37.
160. P. Béguin ja J. P. Aubert, The biological degradation of cellulose, *FEMS Microbiol. Rev.*, **1994**, 13, 25–58.
161. S. J. B. Duff ja W. D. Murray, Bioconversion of forest products industry waste celluloses to fuel ethanol: a review, *Bioresour. Technol.*, **1996**, 55, 1–33.
162. V. S. Bisaria, Bioprocessing of Agro-residues to glucose and chemicals, A.M Martin (toim.), *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*, Elsevier, London, UK, 1991, ss. 210–213.
163. D. Sternberg, Production of cellulase by *Trichoderma*, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **1976**, 6, 35–53.
164. J. D. Wright, A. J. Power ja P. W. Bergeron, Evaluation of concentrated halogen acid hydrolysis process for alcohol fuel production, *SERI Report*, SERI/TR-232-2386, 1985.
165. J. D. Wright ja A. J. Power, Comparative technical evaluation of acid hydrolysis processes for conversion of cellulose to alcohol, *Energy from Biomass and Wastes 10*, Washington DC, USA, 1986, s. 949-971.
166. R. O. Lambert, M. R. Moore-Bulls ja J. W. Barrier, An evaluation of two acid hydrolysis processes for the conversion of cellulosic feedstocks to ethanol and

- other chemicals. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1990**, 24/25, 773-783.
167. K. K. Cheng, B. Y. Cai, J. A. Zhang, H. Z. Ling, Y. J. Zhou, J. P. Ge ja J. M. Xu, Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process, *Biochem. Eng. J.*, **2008**, 38(1), 105–109.
168. B. Saha and R. J. Bothast, Pretreatment ja enzymatic saccharification of corn fiber, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1999**, 76, 65–77.
169. A. Martinez, M. E. Rodriguez, M. L. Wells, S. W. York, J. F. Preston ja L. O. Ingram, Detoxification of dilute acid hydrolysates of lignocellulose with lime, *Biotechnol. Prog.*, **2001**, 17, 287–293.
170. M. Ali, R. Mark ja J. S. Daniel, Conditioning hemicellulose hydrolysates for fermentation: effects of overliming pH on sugar and ethanol yields, *Process Biochem.*, **2006**, 41, 1806–1811.
171. <http://admin.wsms.dk/upload/172/Electro%20Dialysis.pdf>, 02.05.2013.
172. E. G. Lee, S. H. Moon ja Y. K. Chang, Lactic acid recovery using two-stage electrodialysis and its modeling, *J. Membr. Sci.*, **1998**, 145, 53–66.
173. U. N. Chukwu ja M. Cheryan, Electrodialysis of acetate fermentation broths, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **1999**, 77, 485–499.
174. Y. Gong, Y. Tang, X. L. Wang, L. X. Yu ja D. H. Liu, The possibility of the desalination of actual 1,3-propanediol fermentation broth by electrodialysis, *Desalination*, **2004**, 161, 169–178.
175. K. K. Cheng, J. A. Zhang, D. H. Liu, Y. Sun, M. D. Yang ja J. M. Xu, Production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* from glycerol broth, *Biotechnol. Lett.*, **2006**, 28, 1817–1821.
176. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.55188.html?rid=391e48f1-a819-42ac-a644-6ea6ab71c468>, 28.08.2012.

177. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.12939.html?rid=13dc1765-986e-4c21-ae76-9cc658a7db87>, 28.08.2012.
178. J. Hietanen, *Vaihtoehtoiset polttoaineet ja moottoritekniikka*, tutkintotyö, Tampereen ammattikoulu, Oulu, Suomi, 2007.
179. J. M. Käkölä, R. J. Alén, J. P. Isoaho ja R. B. Matilainen, Determination of low-molecular-mass aliphatic carboxylic acids and inorganic anions from black liquors by ion chromatography, *J. Chromatogr. AQ*, **2008**, *1190*, 150-156.

LIITTEET

Liite 1. Vesiesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 140 °C

Liite 2. Vesiesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 150 °C

Liite 3. Vesiesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C

Liite 4. Väkevän rikkihappoesikäsitteilyn (30 % H₂SO₄) monosakkaridipitoisuudet massassa

Liite 5. Väkevän rikkihappoesikäsitteilyn (30 % H₂SO₄) ja autoklavioinnin vaikutus liuoksen monosakkaridien pitoisuuteen

Liite 6. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, ruokohelpi

Liite 7. Kuvat:

25. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, ruokohelpi

26. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, ruokohelpi

Liite 8. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, ruokohelpi ja kuva 27. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, ruokohelpi

Liite 9. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, koivu

Liite 10. Kuvat:

28. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, koivu

29. Laimean rikkihappoesikäsitteilyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, koivu

Liite 11. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, koivu ja kuva 30. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, koivu

Liite 12. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, kuusi

Liite 13. Kuvat:

31. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, kuusi

32. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, kuusi

Liite 14. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten pitoisuudet ja monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, kuusi ja kuva 33. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, kuusi

Liite 15. Laimean rikkihappoesikäsittelyliuosten pitoisuudet lämpötilassa 190 °C, kuusi

Taulukko 31. Vesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 140 °C

Saanto									
(% raaka-aineen pitoisuudesta)									
Komponentti/ Raaka-aine	Mänty			Kuusi			Koivu		
140 °C/ min	240	360	480	240	360	480	240	360	480
Monosakkaridit									
Arabinoosi	80,7	76,9	73,1	68,4	68,6	68,7	56,8	57,1	57,3
Galaktoosi	50,4	59,9	69,4	26,8	34,8	42,8	49,4	53,8	58,2
Glukoosi	1,7	2,1	2,6	1,3	1,7	2,0	1,0	1,0	1,1
Ksyloosi	24,2	28,6	32,9	15,0	19,8	24,6	16,7	25,9	35,2
Mannoosi	19,0	24,3	29,6	18,4	26,1	33,9	24,1	27,7	31,3
Yhteensä	10,8	12,6	14,5	7,4	9,5	11,7	7,8	11,0	14,2

Taulukko 32. Vesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 150 °C

Saanto												
(% raaka-aineen pitoisuudesta)												
Komponentti/ Raaka-aine	Mänty				Kuusi				Koivu			
150 °C/ min	100	200	250	400	100	200	250	400	100	200	250	400
Monosakkaridi												
Arabinoosi	62,7	54,7	54,3	44,8	70,8	70,1	63,2	52,8	74,6	87,4	92,6	92,6
Galaktoosi.	41,0	49,5	61,9	61,4	28,8	39,7	44,0	45,1	54,1	63,1	69,9	74,4
Glukoosi	1,5	2,0	2,4	2,7	1,5	2,1	2,4	2,8	1,2	1,1	1,2	1,2
Ksyloosi	18,3	22,4	27,0	26,4	17,4	24,0	26,6	28,1	23,0	34,5	35,7	46,8
Mannoosi	18,8	27,2	33,7	36,1	26,7	38,1	42,6	50,8	31,0	39,2	40,4	37,4
Yhteensä	9,2	11,5	13,6	14,0	9,1	12,1	13,3	13,7	10,4	14,5	15,1	18,8

Taulukko 33. Vesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C

Saanto												
(% raaka-aineen pitoisuudesta)												
Komponentti / Raaka-aine	Mänty			Kuusi			Koivu			Ruokohelpi		
170 °C/ min	30	40	50	30	40	50	30	40	50	30	40	50
Mono- sakaridit												
Arabinoosi	60,9	67,9	74,9	66,0	65,5	59,1	68,8	84,1	99,4	27,3	24,7	27,8
Galaktoosi	60,3	74,0	87,6	33,7	37,4	41,2	56,9	65,4	73,8	12,4	13,4	20,0
Glukoosi	2,9	3,7	4,6	2,3	2,6	2,8	1,1	1,3	1,5	0,7	0,4	0,5
Ksyloosi	38,7	43,3	47,8	37,8	35,0	32,1	44,4	47,7	51,0	1,0	1,4	2,6
Mannoosi	36,1	44,1	36,1	40,7	46,6	52,5	35,1	53,0	70,9	11,0	7,4	10,6
Yhteensä	15,8	18,8	21,9	13,7	14,5	15,4	17,4	19,3	21,1	2,5	2,3	3,1

Taulukko 34. Väkevähappoesihydrolyysin, 30 % H₂SO₄, monosakkaridipitoisuudet massassa

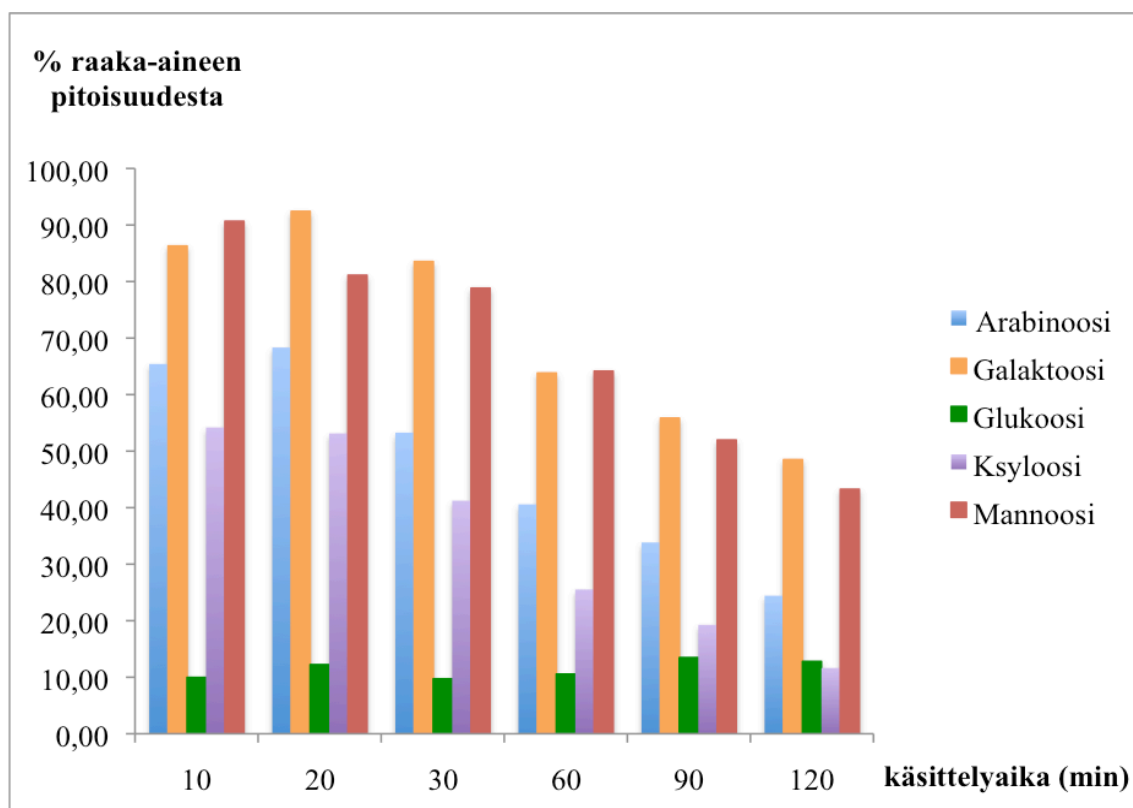
Komponentti/ Raaka-aine	Saanto (% raaka-aineen pitoisuudesta)								
	Ruokohelpi			Kuusi			Koivu		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
60 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	12,8	11,0	9,2	4,9	4,3	3,7	15,6	10,9	6,2
Galaktoosi	20,5	15,2	9,9	42,0	38,7	35,3	42,5	33,2	23,8
Glukoosi	75,2	68,0	60,9	56,3	54,1	51,9	53,7	51,1	48,5
Ksyloosi	37,3	31,9	26,5	48,1	45,3	42,6	48,0	39,9	31,9
Mannoosi	60,1	49,1	38,1	52,9	50,4	48,0	54,4	50,9	47,3
Yhteensä	59,2	52,8	46,5	53,5	51,2	48,9	51,3	46,8	42,3
70 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	9,3	8,5	7,7	2,1	1,9	1,6	6,1	4,3	2,5
Galaktoosi	10,5	7,9	5,3	25,3	21,2	17,0	22,4	16,5	10,6
Glukoosi	74,0	70,4	66,9	40,8	45,8	50,7	50,9	51,6	52,4
Ksyloosi	27,6	23,0	18,4	31,2	31,5	31,8	32,0	28,0	24,0
Mannoosi	45,4	37,5	29,6	39,7	39,4	39,0	52,9	51,1	49,2
Yhteensä	54,9	51,2	47,4	38,4	41,7	45,0	43,9	43,0	42,0
80 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	8,8	7,0	5,1	1,7	0,8	-0,1	2,2	0,6	-0,9
Galaktoosi	8,8	6,3	3,7	14,3	10,4	6,6	12,5	8,7	4,9
Glukoosi	67,8	69,6	71,3	50,4	51,5	52,6	55,2	59,1	63,0
Ksyloosi	20,5	15,4	10,3	31,4	29,3	27,0	27,1	23,0	18,9
Mannoosi	31,3	26,0	20,8	37,7	35,2	32,7	51,6	51,2	50,8
Yhteensä	48,8	48,1	47,5	44,5	44,5	44,6	44,9	45,9	47,0

Taulukko 35. Väkevähappoesihydrolyysin, 30 % H₂SO₄, ja autoklavioinnin vaikutus liuoksen monosakkaridien pitoisuuteen

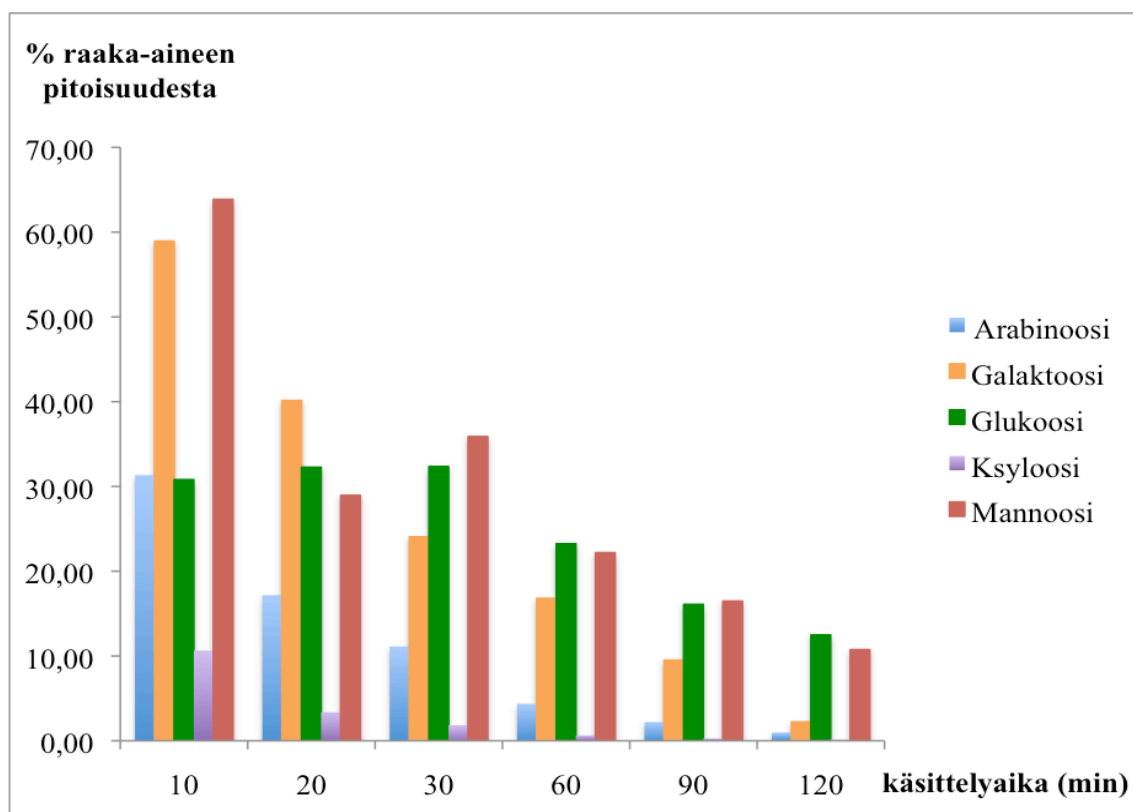
Komponentti/ Raaka-aine	Saanto (% raaka-aineen pitoisuudesta)								
	Ruokohelmi			Kuusi			Koivu		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
60 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	67,7	68,8	72,9	67,7	72,6	67,3	54,8	59,3	68,5
Galaktoosi	36,4	42,2	49,3	4,1	10,1	8,2	4,5	5,7	14,0
Glukoosi	0,5	0,6	0,7	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2
Ksyloosi	15,1	22,4	30,7	3,0	11,2	8,8	1,0	2,0	13,2
Mannoosi	11,2	-	-	0,4	1,7	1,2	0,4	0,5	0,8
Yhteensä	9,2	11,5	14,5	1,9	3,2	2,8	1,0	1,4	5,3
70 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	74,4	77,5	85,5	71,8	75,4	74,0	71,9	76,5	80,5
Galaktoosi	58,5	60,4	83,4	9,1	26,5	28,2	16,2	23,4	39,7
Glukoosi	0,9	1,0	2,4	0,2	0,6	0,6	0,2	0,3	0,5
Ksyloosi	39,8	53,2	76,1	9,7	25,3	25,4	14,4	24,1	33,7
Mannoosi	-	-	-	1,5	9,0	9,6	0,9	1,4	3,3
Yhteensä	17,7	22,0	30,8	3,0	6,6	6,7	5,8	9,2	12,7
80 °C/ min	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Monosakkaridit									
Arabinoosi	80,6	86,6	85,5	72,2	78,6	86,0	87,1	88,7	86,9
Galaktoosi	78,8	88,9	83,2	32,0	49,1	71,4	40,6	59,0	74,0
Glukoosi	1,9	3,9	4,6	0,7	1,3	2,4	0,6	0,8	1,2
Ksyloosi	55,9	64,7	66,8	26,8	33,9	42,7	39,3	47,5	55,4
Mannoosi	-	-	-	13,5	22,6	37,6	6,2	10,2	16,8
Yhteensä	24,0	28,5	29,4	7,6	10,8	15,5	14,7	17,9	21,0
Autoklavioinnin vaikutus (±saanto %)									
60°C	10,3	9,0	7,8	1,9	3,4	5,0	-0,9	4,7	1,7
70°C	5,6	0,5	-4,7	2,5	4,3	3,5	2,2	4,1	1,1
80°C	2,4	1,1	-0,2	3,0	5,2	2,0	5,3	3,5	0,6

Taulukko 36. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, ruokohelpi

Saanto						
1 % H₂SO₄	(% raaka-aineen pitoisuudesta)					
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	65,4	68,3	53,3	40,6	33,8	24,4
Galaktoosi	86,3	92,4	83,5	63,8	55,8	48,5
Glukoosi	10,0	12,2	9,7	10,6	13,5	12,8
Ksyloosi	54,2	53,1	41,2	25,5	19,3	11,6
Mannoosi	90,7	81,1	78,8	64,2	52,0	43,3
Yhteensä	28,7	30,0	23,9	18,4	17,7	14,2
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	31,3	17,2	11,1	4,4	2,2	1,0
Galaktoosi	59,0	40,1	24,1	16,8	9,5	2,2
Glukoosi	30,8	32,3	32,4	23,3	16,1	12,5
Ksyloosi	10,6	3,4	1,8	0,6	0,3	0,1
Mannoosi	63,9	29,0	35,9	22,2	16,5	10,8
Yhteensä	25,8	23,0	21,9	15,3	10,5	7,9



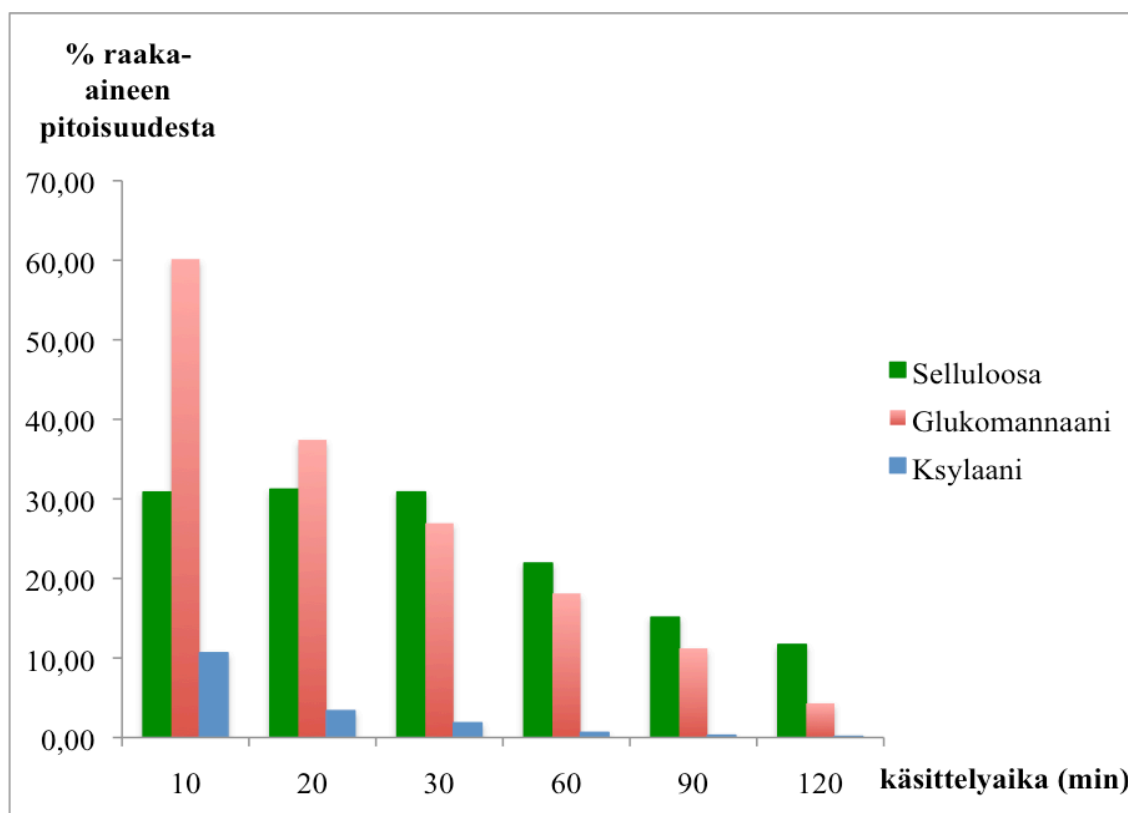
Kuva 25. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, ruokohelppi.



Kuva 26. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, ruokohelppi.

Taulukko 37. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, ruokohelppi

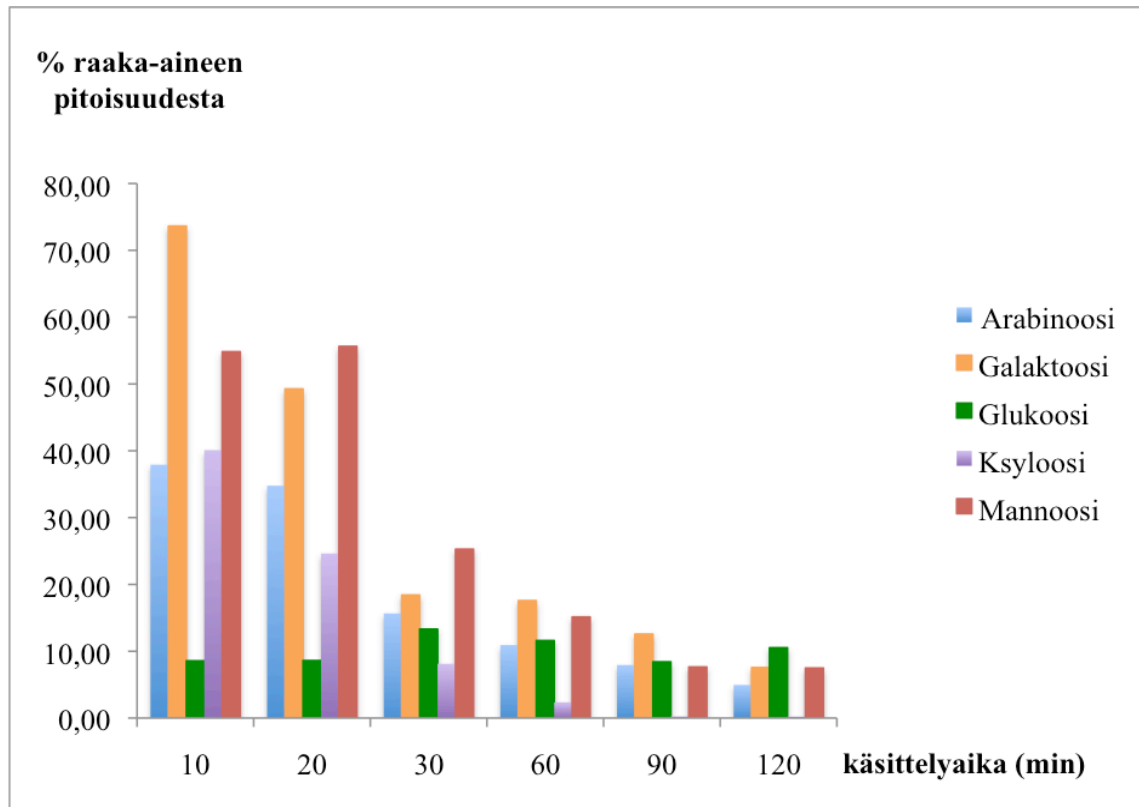
Komponentti/ min	Saanto (% raaka-aineen pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Monosakkaridit								
Arabinoosi	11,1	5,4	2,2	0,7	12,3	0,4	0,2	0,0
Galaktoosi	30,6	20,0	12,2	9,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Glukoosi	21,8	19,9	20,5	17,6	0,0	0,0	0,0	0,0
Ksyloosi	3,8	1,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Mannoosi	26,3	20,0	15,6	7,1	0,1	0,1	0,1	0,0
Yhteensä	16,1	13,5	13,1	11,2	0,6	0,0	0,0	0,0



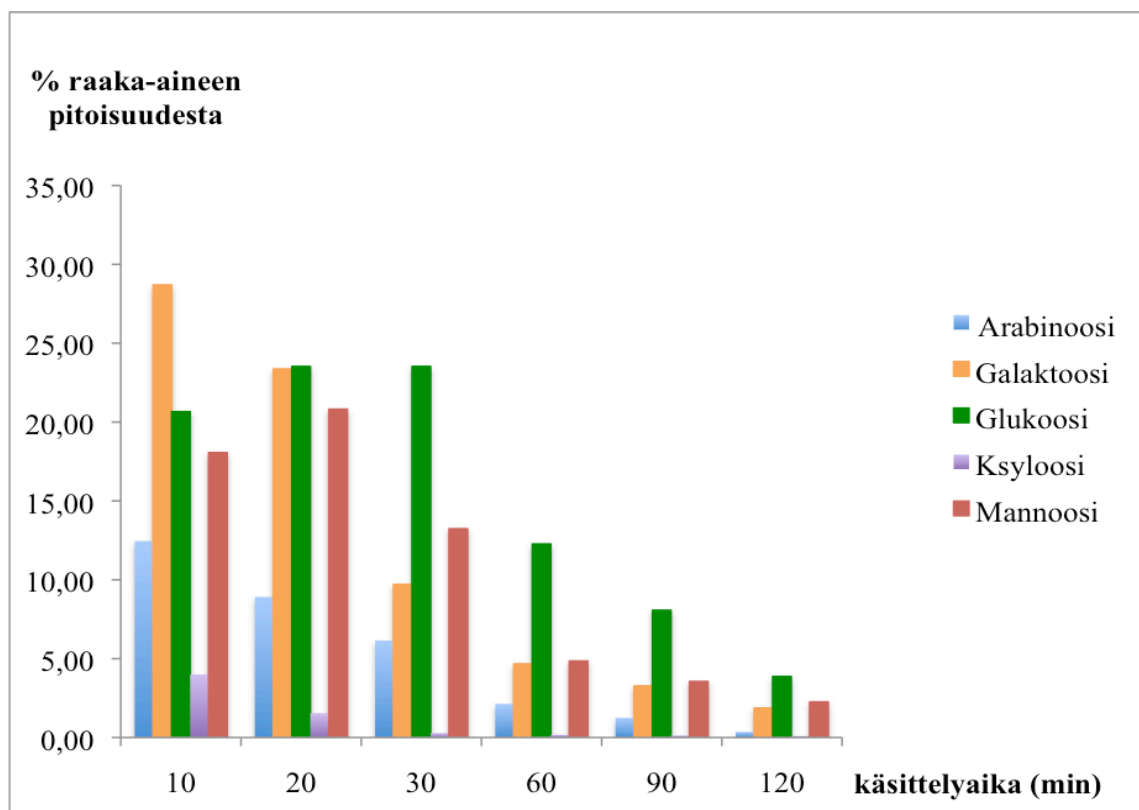
Kuva 27. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, ruokohelppi.

Taulukko 38. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, koivu

Saanto						
1 % H₂SO₄	(% raaka-aineen pitoisuudesta)					
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	37,9	34,8	15,7	10,9	7,9	5,0
Galaktoosi	73,6	49,3	18,4	17,6	12,6	7,6
Glukoosi	8,6	8,6	13,3	11,6	8,4	10,5
Ksyloosi	40,1	24,6	8,1	2,4	0,3	0,2
Mannoosi	54,9	55,6	25,3	15,1	7,7	7,5
Yhteensä	21,0	15,7	12,0	8,7	5,8	7,0
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	12,5	8,9	6,2	2,1	1,2	0,4
Galaktoosi	28,7	23,4	9,7	4,7	3,3	1,9
Glukoosi	20,7	23,5	23,5	12,3	8,1	3,9
Ksyloosi	4,0	1,5	0,3	0,2	0,1	0,1
Mannoosi	18,1	20,8	13,2	4,9	3,6	2,3
Yhteensä	15,2	16,1	15,4	8,0	5,3	2,5



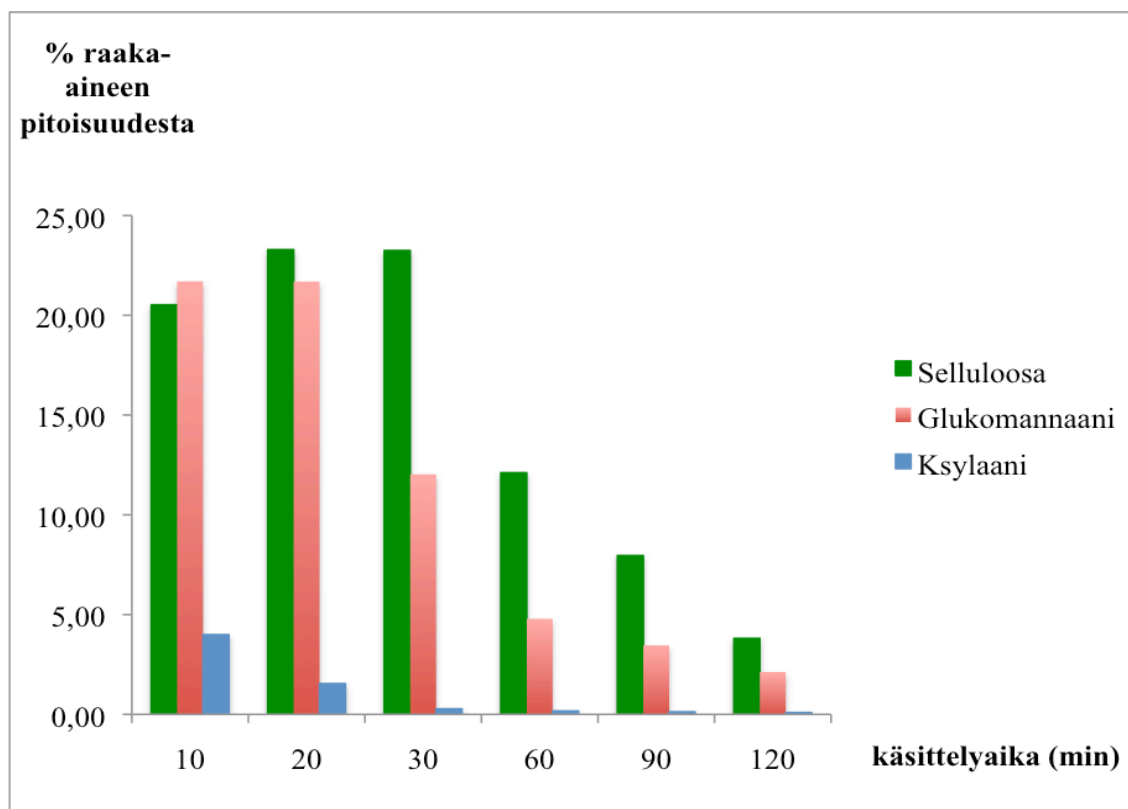
Kuva 28. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, koivu.



Kuva 29. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, koivu.

Taulukko 39. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, koivu

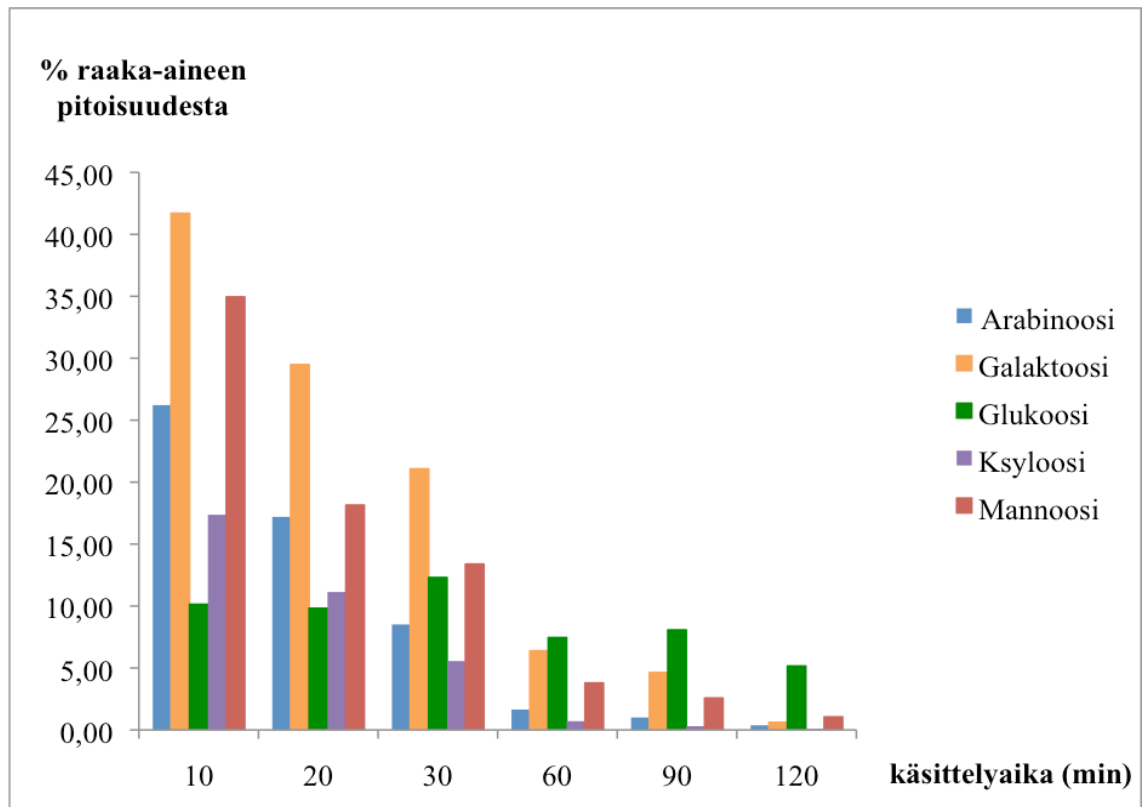
Komponentti/ min	Saanto (% raaka-aineen pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Monosakkaridit								
Arabinoosi	2,1	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Galaktoosi	0,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Glukoosi	5,4	1,1	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Ksyloosi	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mannoosi	2,2	1,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Yhteensä	3,5	0,8	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0



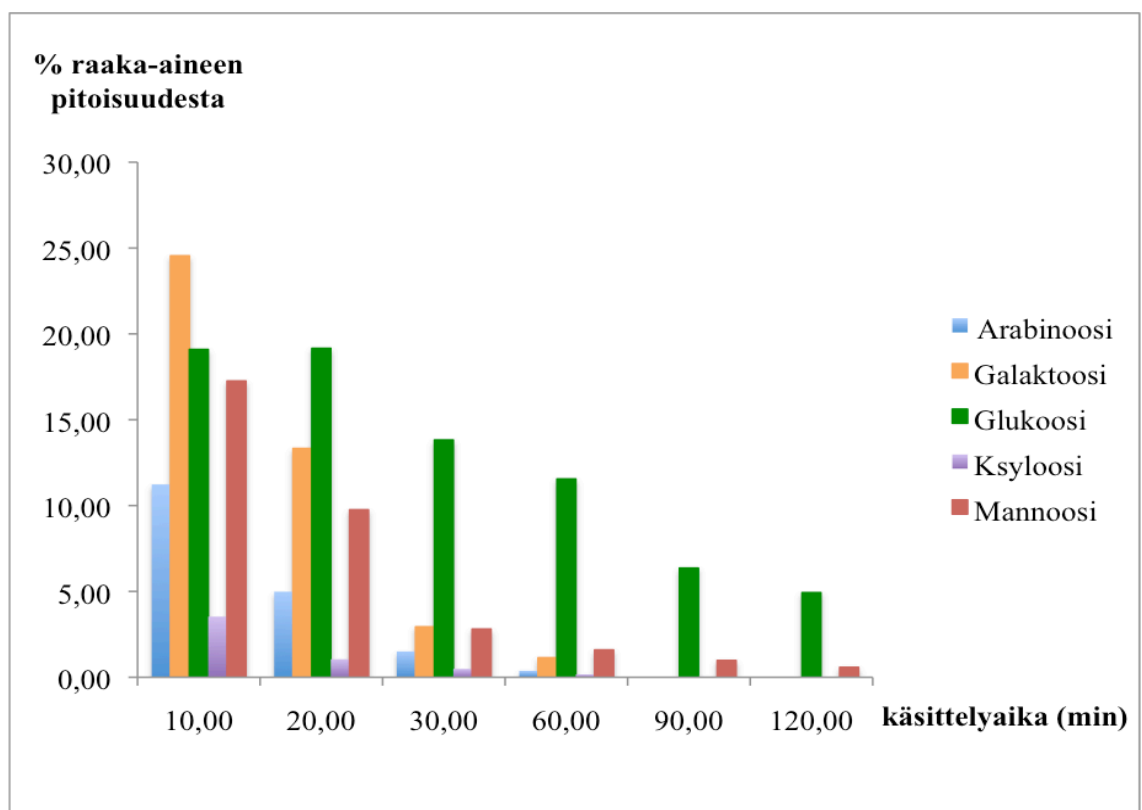
Kuva 30. Laimea rikkihappoesikäsitteilyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsitteilyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, koivu.

Taulukko 40. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 170 °C, kuusi

		Saanto				
1 % H₂SO₄		(% raaka-aineen pitoisuudesta)				
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	26,2	17,2	8,5	1,6	1,0	0,4
Galaktoosi	41,7	29,5	21,1	6,4	4,6	0,6
Glukoosi	10,1	9,8	12,3	7,5	8,1	5,2
Ksyloosi	17,4	11,1	5,6	0,7	0,3	0,1
Mannoosi	35,0	18,2	13,4	3,8	2,6	1,1
Yhteensä	15,9	12,0	12,1	6,1	6,3	3,8
3 % H₂SO₄						
Komponentti/ min	10	20	30	60	90	120
Monosakkaridit						
Arabinoosi	11,2	5,0	1,5	0,4	0,0	0,0
Galaktoosi	24,6	13,3	2,9	1,1	0,0	0,0
Glukoosi	19,1	19,2	13,8	11,6	6,4	4,9
Ksyloosi	3,5	1,1	0,5	0,2	0,0	0,0
Mannoosi	17,3	9,8	2,8	1,6	1,0	0,6
Yhteensä	17,4	15,6	10,3	8,4	4,6	3,6



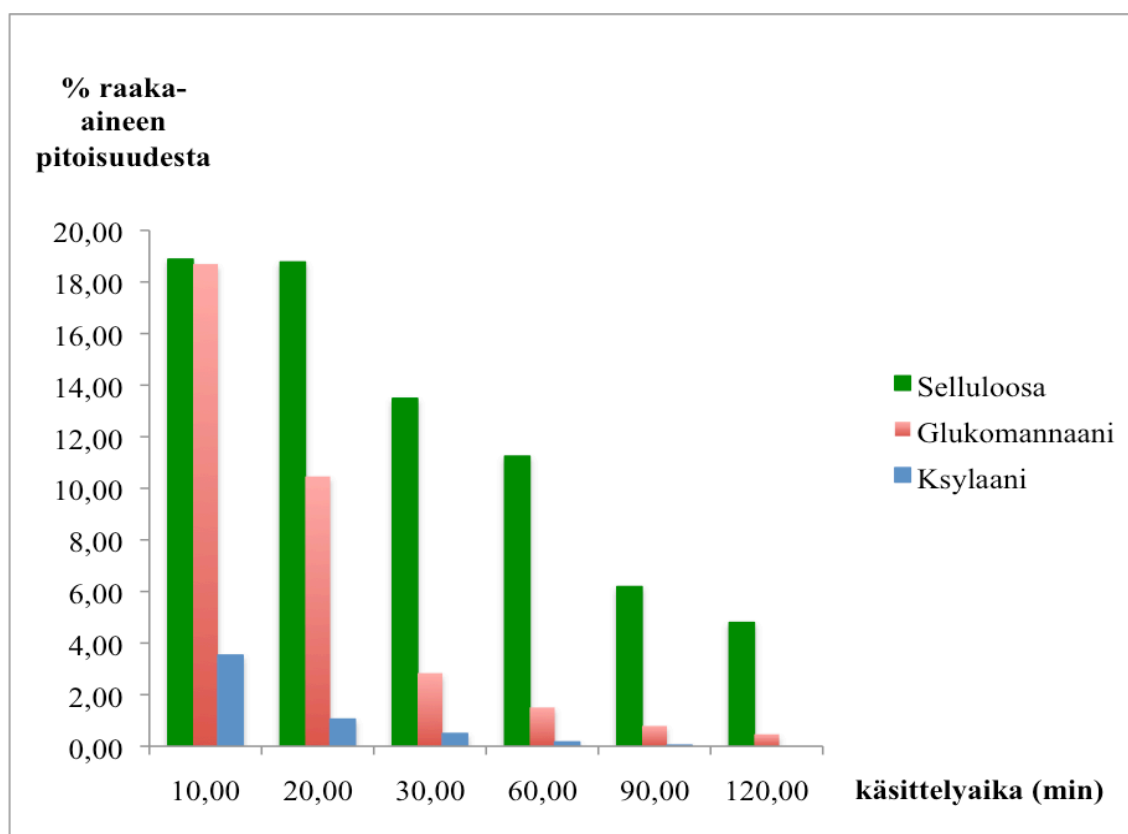
Kuva 31. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 1% H₂SO₄, kuusi.



Kuva 32. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten monosakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, kuusi.

Taulukko 41. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten monosakkaridipitoisuudet lämpötilassa 190 °C, kuusi

Komponentti/ min	Saanto (%:a raaka-aineen pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Monosakkaridit								
Arabinoosi	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Galaktoosi	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Glukoosi	4,9	1,7	1,1	0,8	0,1	0,1	0,0	0,0
Ksyloosi	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mannoosi	0,6	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Yhteensä	3,5	1,2	0,8	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0



Kuva 33. Laimea rikkihappoesikäsittelyliuosten polysakkaridipitoisuudet esikäsittelyolosuhteissa 170 °C; 3% H₂SO₄, kuusi.

Taulukko 42. Laimeahappoesihydrolyysiliuosten pitoisuudet lämpötilassa 190 °C, kuusi

Komponentti/ min	Pitoisuus/saanto (% raaka-aineen kuivapainosta/pitoisuudesta)							
	1 % H ₂ SO ₄				3 % H ₂ SO ₄			
	30	60	90	120	30	60	90	120
Polysakkaridit								
Selluloosa	4,7	1,6	1,1	0,7	0,1	0,1	0,0	0,0
Glukomannaani	0,5	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ksylaani	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Yhteensä	3,5	1,2	0,8	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0
Haihtuvat hapot								
Etikkahappo	5,9	2,7	2,1	1,6	7,5	12,3	17,1	26,7
Muurahaishappo	4,6	2,1	1,7	1,2	5,9	9,4	12,8	19,7
Furaanit								
HMF	0,7	0,7	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Furfuraali	0,8	0,9	0,4	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0