

Tekniikan kandidaatintyö

**Lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydro-
lysaattien kromatografinen fraktiointi**

Lappeenranta 2016

Vesa Mantsinen

LAPPEENRANNAN TEKNILLINEN YLIOPISTO

LUT School of Engineering Science

Kemiantekniikan koulutusohjelma

Vesa Mantsinen

**LIGNOSELLULOOSAPOHJAISTEN VÄKEVÄHAPPOHYDROLYSAATTIEN
KROMATOGRAFINEN FRAKTOINTI**

Työn ohjaaja ja tarkastaja:

TkT Jari Heinonen

TIIVISTELMÄ

Lappeenrannan teknillinen yliopisto

LUT School of Engineering Science

Kemiantekniikan koulutusohjelma

Vesa Mantsinen

Lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien kromatografinen fraktiointi

Kandidaatintyö, 2016

Työn ohjaaja ja tarkastaja: TkT Jari Heinonen

61 sivua, 12 kuvaa, 7 taulukkoa ja yksi liite

Hakusanat: kromatografinen erotus, happoretardaatio, elektrolyyttiekskluusio

Väkevän hapon katalysoiman hydrolyysin avulla lignoselluloosasta on mahdollista valmistaa arvokkaita sokereita. Katalyyttinä toimiva happo voidaan käyttää uudelleen hydrolyysissä, jos se saadaan erotettua sokereista ilman neutralointia. Tämän kandidaatintyön tavoitteena oli selvittää, soveltuuko happoretardaatiotekniikka väkevähappohydrolysaatin fraktiointiin. Työssä verrattiin happoretardaatiotekniikkaa elektrolyyttiekskluusiotekniikkaan.

Työn kirjallisuusosassa käsiteltiin happoretardaation ja elektrolyyttiekskluusion teoriaa. Lisäksi esiteltiin elektrolyyttiekskluusioon ja happoretardaatioon liittyviä tutkimuksia. Työn kokeellisessa osassa suoritettiin panoskromatografiakokeita käyttäen syöttöliuoksena rikkihappoa, etikkahappoa, glukoosia ja ksyloosia sisältävää synteettistä liuosta. Erotusmateriaaleina käytettiin neljää eri anionin- ja yhtä kationinvaihtohartsia. Kokeiden perusteella tutkittiin anioninvaihtohartsin tyyppin ja kolonnin latauksen vaikutusta happoretardaatiotekniikalla saavutettavaan erotustulokseen sekä verrattiin elektrolyyttiekskluusiota happoretardaatioon.

Työn tulosten perusteella rikkihappo laimeni happoretardaatiotekniikalla jopa 20-kertaisesti kromatografiakoloniin syötettyyn liuokseen verrattuna, riippumatta kolonnin latauksesta ja anioninvaihtohartsista. Rikkihapon laimenemisen vuoksi happoretardaatio ei soveltunut lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin. Elektrolyyttiekskluusiotekniikalla rikkihapon laimeneminen oli merkittävästi vähäisempää, minkä vuoksi elektrolyyttiekskluusion todettiin soveltuvan happoretardaatiota paremmin lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin.

ABSTRACT

Lappeenranta University of Technology
LUT School of Engineering Science
Degree Program of Chemical Engineering
Vesa Mantsinen

Chromatographic fractionation of lignocellulose-based concentrated acid hydrolysates

Bachelor's thesis, 2016

61 pages, 12 figures, 7 tables, 1 appendix

Supervisor & Examiner: D. Sc. (Tech.) Jari Heinonen

Keywords: chromatographic separation, acid retardation, electrolyte exclusion

Valuable sugars can be produced from lignocellulosic materials using concentrated acid catalysed hydrolysis. The acid can be reused in the hydrolysis if it is separated from the sugars without neutralization. The aim of this bachelor's thesis was to evaluate whether acid retardation is a suitable technique for the fractionation of concentrated acid hydrolysates. Acid retardation was compared to electrolyte exclusion.

Theory and phenomena regarding acid retardation and electrolyte exclusion were reviewed in the literature part of this work. Earlier studies dealing with acid retardation and electrolyte exclusion were also introduced. In the experimental part, batchwise separation experiments were done using a chromatographic column packed with ion exchange resin. Four different types of anion and one cation exchange resin were used as separation materials. A synthetic solution containing sulfuric acid, acetic acid, glucose and xylose was used as feed. The effect of column loading and the properties of ion exchange resins on the separation by acid retardation was studied. Comparison of acid retardation and electrolyte exclusion was done based on the obtained results.

Acid retardation was found to be poorly suitable for the fractionation of lignocellulose-based concentrated acid hydrolysates. The main issue with acid retardation was the up to 20-fold dilution of sulfuric acid, regardless of column loading or the type of anion exchange resin used. It can be concluded that electrolyte exclusion is a more efficient technique for the fractionation of lignocellulose-based concentrated acid hydrolysates than acid retardation.

SISÄLLYSLUETTELO

I KIRJALLINEN OSA	6
1 JOHDANTO	6
2 PUUN HYDROLYYSI.....	7
2.1 Entsymaattinen hydrolyysi	8
2.2 Puun hydrolyysi laimean hapon katalysoimana.....	9
2.3 Puun hydrolyysi väkevän hapon katalysoimana.....	10
3 NESTEKROMATOGRAFIA	11
3.1 Adsorptio	13
3.2 Ioninvaihto	14
3.3 Turpoaminen	15
3.4 Kokoekskluusio	16
3.5 Ulossuolaus.....	17
3.6 Elektrolyyttiekskluusio	18
3.7 Happoretardaatio.....	19
4 IONINVAIHTOHARTSIT	20
4.1 Kationinvaihtohartsit	21
4.2 Anioninvaihtohartsit	22
4.3 Amfoteeriset ioninvaihtohartsit	23
5 VÄKEVÄHAPPOHYDROLYSAATTIEN KROMATOGRAFINEN FRAKTIOINTI..	24
5.1 Fraktiointi elektrolyyttiekskluusiolla.....	24
5.2 Fraktiointi happoretardaatiolla.....	26
5.3 Tekniikoiden vertailu	28
5.4 Tutkittavien tekijöiden valinta	29
II KOKEELLINEN OSA.....	31
6 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	31
6.1 Hydrolysaattiliuosten valmistus ja hartsien esikäsittely	31
6.2 Kromatografiakokeissa käytetty laitteisto	33
6.3 Panoskromatografiakokeet.....	34
6.4 Näytteiden analysointi	36
7 KÄYTETYT YHTÄLÖT	37
8 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	39
9 YHTEENVETO.....	55
LÄHDELUETTELO	58
LIITTEET	
LIITE I Panoskromatografiakokeiden kuvaajia	

SYMBOLIT JA LYHENTEET

Symboli	Suure	yksikkö
BV	hartsipedin tilavuus	-
c	yhdisteen pitoisuus nestefaasissa	mol/L
$C_i^{\text{syöttö}}$	yhdisteen i konsentraatio kolonniin syötettävässä pulssissa	mol/L
EC	eluentin kulutus	m ³ /mol
n_i^{ulos}	yhdisteen i ainemäärä kolonnista ulostulevassa fraktiossa	mol/L
K_a	happovakio	mol/L
Pr_{sokeri}	tuottavuus monosakkaridien suhteen	mol/m ³ s
Pu_i	yhdisteen i puhtaus kolonnista ulostulevassa fraktiossa	-
q	yhdisteen pitoisuus kiintoainefaasissa	mol/L
t_{sykli}	yhden syklin pituus	s
\dot{V}	eluentin virtausnopeus	m ³ /s
$V_{i, e}$	kolonniin syötetty nestetilavuus fraktion i keräyksen lopetushetkellä	m ³
$V_{i, s}$	kolonniin syötetty nestetilavuus fraktion i keräyksen aloitushetkellä	m ³
V_{peti}	hartsipedin tilavuus kolonnissa	m ³
$V_{\text{piikki}, i}$	detektorin i signaalin huipun kohtaa vastaava laitteistoon syötetty nestetilavuus	m ³
$V^{\text{syöttö}}$	syötetyn näytepulssin tilavuus	m ³
Y_i	yhdisteen i saanto	-
ε	hartsipedin huokoisuus	-

I KIRJALLINEN OSA

1 JOHDANTO

Biomassan hydrolyysi rikkihapon katalysoimana on tunnettu prosessina jo lähes 200 vuotta [1]. Prosessin avulla on mahdollista valmistaa puusta tai muista kasvipohjaisista biomassoista monosakkarideja, kuten glukoosia, ksyloosia, galaktoosia, arabinoosia ja mannoosia [2,3]. Monosakkaridit, eli yksinkertaiset sokerit ovat arvokkaita peruskemikaaleja, joista voidaan valmistaa kemikaaleja korvaamaan öljypohjaisia tuotteita [3,4]. Niistä voidaan valmistaa mm. aminohappoja, alkoholeja ja polymeerejä [4]. Ennen sokereiden hyödyntämistä täytyy ne kuitenkin erottaa katalyyttinä käytetystä rikkihaposta [4]. Alun perin erotus on tehty neutraloimalla rikkihappo kalkilla. Tämä aiheuttaa suuren kemikaalien kulutuksen, sillä prosessiin täytyy tällöin syöttää runsaasti tuoretta rikkihappoa ja kalkkia. Lisäksi neutraloinnissa syntyy sivutuotteena kipsiä, jonka käsittely kasvattaa kustannuksia entisestään. Suuren kemikaalikulutuksen ja rikkihapon aiheuttamien korroosio-ongelmien vuoksi hydrolyysiprosessi ei ole saavuttanut kaupallista menestystä [3].

Prosessin kustannuksia voidaan pienentää merkittävästi, jos rikkihappo saadaan erotettua hydrolysaatista ilman neutralointia siten, että se voidaan käyttää uudelleen hydrolyysissä. Tämä vähentäisi merkittävästi rikkihapon kulutusta ja lisäisi näin ollen taloudellisuutta. Yksi lupaavimmista tekniikoista rikkihapon erottamiseksi hydrolysaateista on kromatografinen erotus, jota on tutkittu jonkin verran viime vuosina [4–9]. Kromatografisista tekniikoista perusteellisimmin on tutkittu elektrolyyttiekskluusiota [4,5,9]. Toinen mahdollinen tekniikka hydrolysaatin fraktiointiin on happoretardaatio, jonka käyttöä tähän tarkoitukseen on tutkittu suppeasti [6–8]. Happoretardaatiota ei ole verrattu elektrolyyttiekskluusioon vastaavissa olosuhteissa, eikä eri tekijöiden, kuten happoretardaatiossa käytettävän ioninvaihtohartsin ominaisuuksien vaikutusta happoretardaatioon ole tutkittu laajasti [6–8].

Tämän työn tavoitteena onkin selvittää happoretardaation soveltuvuutta väkevän rikkihapon ja sokereiden erotukseen sekä tutkia erotusprosessin tehokkuuteen vaikuttavia tekijöitä. Lisäksi tavoitteena on vertailla happoretardaatiota ja elektrolyyttiekskluusiota. Työ koostuu kirjallisesta ja kokeellisesta osasta.

Kirjallisessa osassa käydään läpi lignoselluloosapohjaisten raaka-aineiden hydrolyysin ja kromatografian teoriaa ja ilmiöitä. Erityisesti perehdytään ioninvaihtohartseihin, elektrolyyttiekskluusioon ja happoretardaatioon sekä niihin vaikuttaviin mekanismeihin ja ilmiöihin. Lisäksi esitellään lignoselluloosapohjaisten happohydrolysaattien fraktiointiin liittyviä aiempia tutkimuksia ja niiden tuloksia. Aiempien tutkimusten perusteella rajataan kokeellisessa osassa tutkittavia asioita.

Kokeellisessa osassa tutkitaan eri ioninvaihtohartsien ominaisuuksien ja olosuhteiden vaikutusta väkevähappohydrolysaatin fraktiointiin. Kokeissa käytetään syöttöliuoksina kahta eri synteettistä liuosta, joista toinen sisältää rikkihappoa ja toinen suolahappoa. Liuosten yhdisteiden pitoisuudet valitaan aiempien tutkimusten perusteella siten, että liuoksen koostumus vastaa lignoselluloosapohjaista väkevähappohydrolysaattia. Kokeita suoritetaan panostoisesti kromatografisessa kolonnissa ensin kolmella erilaisella anioninvaihtohartsilla ja yhdellä snake-cage -hartsilla käyttäen fraktioitavana liuoksena rikkihappoa sisältävää hydrolysaattia. Kyseisistä hartseista valitaan suoritettujen kokeiden tulosten perusteella happoretardaatioon parhaiten soveltuva hartsi, jolla tutkitaan kolonnin latauksen vaikutusta rikkihapon ja monosakkaridien erotukseen. Myös yhdellä kationinvaihtohartsilla, jolla erotus perustuu elektrolyyttiekskluusioon, suoritetaan koe, jonka perusteella happoretardaatiota verrataan elektrolyyttiekskluusioon. Lopuksi tutkitaan suolahappoa sisältävällä hydrolysaatilla hydrolysaatin sisältämän hapon vaikutusta molempien tekniikoiden erotustulokseen. Kokeellisen osan tulosten perusteella arvioidaan happoretardaation soveltuvuutta lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin sekä esitellään sen mahdollisia etuja ja puutteita elektrolyyttiekskluusioon nähden.

2 PUUN HYDROLYYSI

Puun hydrolyysin keksi ensimmäisenä ranskalainen Henri Braconnot vuonna 1819 [1]. Hydrolyysireaktiossa puun sisältämä selluloosa ja hemiselluloosa reagoivat pääasiassa monosakkarideiksi [10]. Hydrolyysiä voidaan käyttää myös muihin kasvipohjaisiin biomassoihin, mutta Suomen kannalta ehdottomasti yleisin ja mielenkiintoisin raaka-aine on puu. Biomassan hydrolyysireaktio vaatii yleensä ulkoisen katalyytin, vaikka ilman ulkoista katalyyttiä

tapahtuvaa hydrolyysiäkin on kehitetty [11]. Yleisimmin käytettyjä katalyyttejä ovat entsyymit sekä heikot ja vahvat mineraalihatot [12].

Lignoselluloosan hydrolyysiä on tutkittu runsaasti varsinkin viime vuosina lähinnä siksi, että se mahdollistaa etanolin valmistuksen biomassasta. Kiinnostus etanolin valmistusta kohtaan johtuu mahdollisuudesta käyttää etanolia bensiiniä korvaavana polttoaineena [13] ja siitä, että etanolin valmistus erilaisista sokereista fermentoimalla on hyvin tunnettu prosessi [4]. Hydrolyysin tuotteina saaduista monosakkarideista voidaan kuitenkin valmistaa etanolin lisäksi myös monia muita kemikaaleja. Erityisen lupaavia tuotteita ovat meripihkahappo [13], maitohappo [13] ja 1,4-butaanidioli [14]. Lisäksi hapon katalysoiman hydrolyysin sivutuotteina saadaan arvokkaita peruskemikaaleja, joista tärkeimpiä ovat etikkahappo, furfuraali ja hydroksimetyylifurfuraali [4,12].

Kaiken kaikkiaan lignoselluloosan hydrolyysin avulla voidaan korvata öljypohjaisia tuotteita uusiutuvista raaka-aineista valmistetuilla tuotteilla. Sen avulla on mahdollista pienentää teollisuuden kasvihuonekaasupäästöjä, lisätä jätevirtojen hyötykäyttöä ja luoda uutta liiketoimintaa [13].

2.1 Entsymaattinen hydrolyysi

Entsymaattisessa hydrolyysissä hydrolyysireaktion katalyytteinä toimivat selektiiviset sellulaasi- ja hemisellulaasientsyymit [3]. Ennen entsyymattista hydrolyysiä täytyy raaka-aineena käytettävää lignoselluloosaa kuitenkin esikäsitellä, sillä luonnollisessa muodossaan selluloosa vastustaa entsyymattista hajoamista [12]. Toisaalta puun sisältämä ligniini sitoo sellulaasientsyymejä itseensä ja estää entsyymien reagoitua selluloosan kanssa, joten ligniinin poisto on tärkeää ennen hydrolyysiä [3]. Mahdollisia esikäsitelytapoja ovat mm. murskaus, höyryräjäytys ja kemiallinen käsittely hapolla [3,12].

Entsyymattinen hydrolyysi on erittäin selektiivinen prosessi ja sen avulla on mahdollista saavuttaa korkea, tyypillisesti n. 70 %:n [15] ja parhaillaan jopa 90 %:n [3] monosakkariidisaanto ilman sivutuotteiden muodostumista [15]. Prosessiin ei myöskään liity vaarallisia kemikaaleja, eikä se vaadi korkeaa lämpötilaa [3]. Näin ollen myöskään prosessilaitteilta ei vaadita kovien olosuhteiden kestoa.

Prosessin huonona puolena on entsyymaattisille reaktiolle tyypillinen hitaus. Entsyymien aktiivisuuden aleneminen ja sitoutuminen ligniiniin reaktion edistyessä hidastavat reaktiota entisestään [3,12]. Panosreaktorissa suoritettuna reaktio voi kestää 3–4 vuorokautta [15] ennen kuin tyydyttävä sokerisaanto on saavutettu. Myös entsyymien erottaminen reaktioseoksesta ja niiden uudelleenhyödyntäminen on osoittautunut vaikeaksi, minkä vuoksi prosessin entsyymien kulutus on yleensä korkea [16]. Hydrolyysin hitauden, esikäsittelyn tarpeen ja entsyymien kalleuden vuoksi puun entsyymaattista hydrolyysiä ei käytetä teollisessa mittakaavassa [3].

2.2 Puun hydrolyysi laimean hapon katalysoimana

Lignoselluloosan käsittely laimealla hapolla on yleinen esikäsittelytapa ennen entsyymaattista hydrolyysiä [13]. Kuitenkin myös varsinainen hydrolyysi voidaan toteuttaa laimealla hapolla ilman entsyymiä. Yleisimmin käytetty happo on rikkihappo, mutta myös suolahappoa [3], vetyfluoridia [3] ja karboksyylihappoja [10] on käytetty. Prosessissa lignoselluloosamassaa käsitellään pitoisuudeltaan n. 0,5–1,0 m-% rikkihapolla noin 200 °C:n lämpötilassa [3,12,17] ja yli 10 barin paineessa [17]. Korkea paine ja lämpötila ovat välttämättömiä, jotta monosakkaridisaanto olisi riittävä ja reaktioaika kohtuullinen [3]. Heikon hapon katalysoimassa hydrolyysissä syntyy aina runsaasti sivutuotteita, sillä korkea lämpötila ja paine edistävät monosakkaridien hajoamista mm. furaaneiksi ja karboksyylihapoiksi [12].

Laimean hapon katalysoiman hydrolyysin vahvuus verrattuna entsyymaattiseen hydrolyysiin on sen suurempi nopeus (muutaman minuutin viipymäaika tulppavirtausreaktorissa) ja pienemmät kemikaalikustannukset, sillä rikkihappo on varsin edullista verrattuna entsyymeihin [3]. Monosakkaridisaanto on kuitenkin perinteisiä reaktorityyppejä käytettäessä selvästi pienempi (noin 50–60 %) kuin entsyymaattisessa hydrolyysissä [13]. Toisaalta, toisin kuin entsyymaattisessa hydrolyysissä, prosessissa syntyy runsaasti sivutuotteita, jotka täytyy erottaa sokereista ennen näiden jatkokäsittelyä [12]. Sivutuotteista mm. furfuraali, hydroksimetyylifurfuraali ja karboksyylihapot ovat arvokkaita raaka-aineita erilaisten kemikaalien, kuten polttoaineiden valmistukseen [4]. Lisäksi happamista olosuhteista ja korkeasta lämpötilasta ja paineesta johtuen prosessi asettaa suuria vaatimuksia reaktorin ja muiden prosessilaitteiden materiaaleille. Prosessissa käytetään myös paljon vettä suhteessa kiintoaineeseen, minkä

vuoksi prosessista saatavien sokereiden konsentraatio on varsin pieni, tyypillisesti alle 5 m-% [3].

2.3 Puun hydrolyysi väkevän hapon katalysoimana

Hydrolyysi väkevän hapon katalysoimana vastaa periaatteeltaan laimean hapon katalysoimaa hydrolyysiä, mutta käytettävän hapon pitoisuus on korkea. Puun väkevän hapon katalysoimaa hydrolyysiä hyödyntäviä teollisen mittakaavan laitoksia on ollut mm. toisen maailmansodan aikaan Saksassa ja Neuvostoliitossa [3,13]. Väkevän hapon katalysoima hydrolyysi suoritetaan yleensä kahdessa vaiheessa [8]. Ensimmäisessä vaiheessa käytetään korkeaa happopitoisuutta (noin 65–85 m-%) ja matalaa lämpötilaa (30–55 °C) [4]. Ensimmäisen vaiheen tarkoitus on hajottaa selluloosan kiderakenne helpommin liukenevaan muotoon [8]. Panosreaktorissa ensimmäisen vaiheen kesto on noin yksi tunti [8]. Toinen vaihe on varsinainen hydrolyysivaihe, jossa hapon konsentraatiota pienennetään noin 20–30 m-%:in lisäämällä reaktioseokseen vettä [8]. Lämpötila toisessa vaiheessa on korkeampi (80–100 °C) [4] ja reaktioaika lyhyempi (n. 30–60 min) [3,8] kuin ensimmäisessä vaiheessa.

Väkevän hapon katalysoimalla hydrolyysillä on mahdollista saavuttaa korkea monosakkariidisaanto, jopa 85–90 % teoreettisesta maksimisaannosta [3], joka on korkeampi kuin laimean hapon katalysoimassa hydrolyysissä [3]. Lisäksi syntyvien sivutuotteiden määrä on pienempi kuin laimealla hapolla katalysoidussa hydrolyysissä [3,4] johtuen matalammasta lämpötilasta ja paineesta (1 atm). Reaktion nopeus on myös huomattavasti suurempi kuin entsyymaattisessa hydrolyysissä. Näin ollen puun hydrolyysi väkevän hapon katalysoimana on tehokas tapa tuottaa monosakkarideja puusta ja on siksi kaupallisesti kiinnostava prosessi.

Väkevä rikkihappo on kuitenkin vaarallinen ja syövyttävä kemikaali, jonka käyttö hydrolyysissä vaatii mm. reaktorilta suurta korroosionkestävyyttä. Lisäksi hapon katalysoimassa hydrolyysissä syntyy sivutuotteita, jotka täytyy erottaa hydrolysaatista ennen sokereiden jatkojalostusta [4,12]. Väkevän hapon katalysoiman hydrolyysin suurin ongelma on kuitenkin hapon käsittely hydrolyysin jälkeen, sillä happo täytyy erottaa monosakkarideista ennen niiden hyödyntämistä [4]. Hapon erotus voidaan tehdä neutraloimalla se kalkilla (Ca(OH)_2), joka muodostaa rikkihapon kanssa reagoidessaan kipsiä (CaSO_4). Tämä kuitenkin johtaa suureen hapon ja kalkin kulutukseen, sillä molempia täytyy syöttää tuoreena prosessiin. Näin

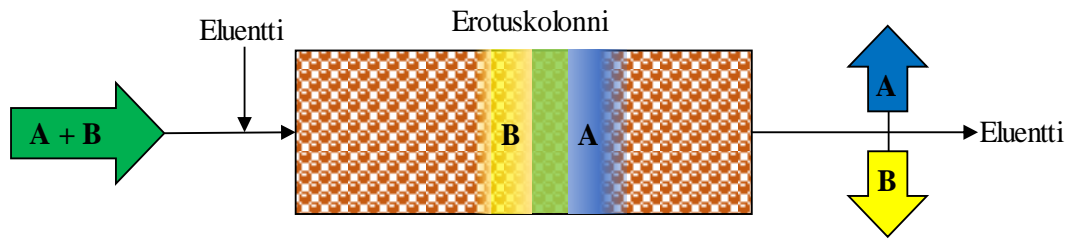
ollen on ilmeistä, että happo on järkevämpää erottaa muulla tavalla ja kierrättää takaisin hydrolyysissä käytettäväksi. Usein hapon erotusta on kuitenkin pidetty vaikeana, kalliina ja paljon energiaa vaativana [3,10], minkä vuoksi väkevän hapon katalysoima hydrolyysi on tuomittu kannattamattomaksi prosessiksi. Rikkihapon erotus monosakkarideista voidaan kuitenkin tehdä hyödyntämällä kromatografista erotusta, mikä parantaa väkevähappohydrolyysin taloudellisuutta [4–9].

3 NESTEKROMATOGRAFIA

Kromatografiassa tarkoituksena on erottaa yksittäisiä yhdisteitä monien yhdisteiden seoksesta. Kromatografiset tekniikat voidaan jakaa liikkuvan faasin olotilan mukaan kaasukromatografiaan ja nestekromatografiaan [18]. Lisäksi on olemassa neste-nestekromatografia [18]. Tässä työssä keskitytään vain nestekromatografiaan, koska tarkoituksena on tutkia rikkihapon ja monosakkaridien erotusta niiden vesiliuoksesta kiinteän erotusmateriaalin avulla.

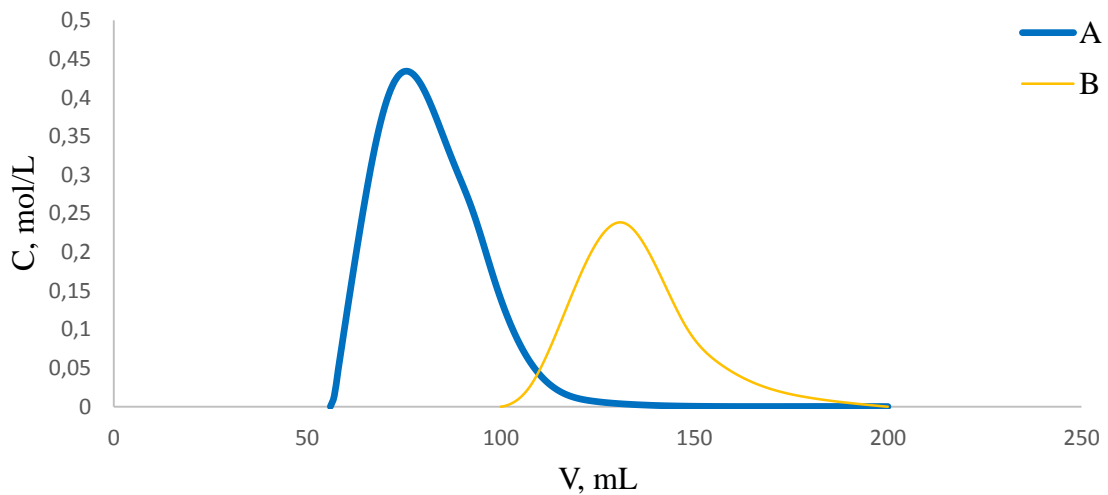
Kromatografinen erotus perustuu erotettavien yhdisteiden ja erotusmateriaalin välisiin erilaisiin vuorovaikutuksiin. Vuorovaikutukset koostuvat molekyylien välisistä sähköisistä vuorovaikutuksista, yhdisteiden erilaisesta diffuusiosta faasien välillä sekä yhdisteiden ja kiintoaine faasin välille syntyvistä väliaikaisista kemiallisista sidoksista [19]. Näiden lisäksi voidaan hyödyntää yhdisteen kokoon perustuvaa erotusta [18].

Nestekromatografiassa erotussysteemi muodostuu kahdesta osasta: erotusmateriaalina toimivasta kiintoaine faasista ja liikkuvasta faasista. Kiintoaine faasi on pakattu kolonniin ja liikkuva faasi johdetaan sen läpi. Liikkuva faasi koostuu kantaja-aineesta, joka kuljettaa erotettavat yhdisteet kiintoaine faasin läpi. Kantajaa kutsutaan eluentiksi. Eluentti voi olla esimerkiksi vettä tai orgaanista liuotinta. Panostoimisessa nestekromatografiassa eluenttia johdetaan jatkuvasti kolonnin läpi, kun taas erotettavia yhdisteitä syötetään tietyn kokoinen pulssi kerrallaan kolonniin. Johtuen eri yhdisteiden erilaisista vuorovaikutuksista kiintoaine faasin kanssa, nämä kulkeutuvat kiintoaine faasin läpi eri nopeuksilla. Näin ollen heikommin vuorovaikuttavat yhdisteet läpäisevät kromatografisen kolonnin nopeammin ja erottuvat vahvemmin vuorovaikuttavista yhdisteistä. Kuvassa 1 on havainnollistettu nestekromatografiassa tapahtuvan erotuksen periaatetta.



Kuva 1 Kahden yhdisteen (A ja B) kromatografisen erotuksen periaate panostoimissa nestekromatografiassa. Erotuskolonne on täytetty kiintoaineella, jonka kanssa yhdisteet A ja B vaikuttavat eri tavoin.

Jos kuvan 1 yhdisteiden A ja B pitoisuuksia kolonnista ulostulvassa nesteessä mitataan eri ajanhetkinä, voidaan mittausten perusteella piirtää kromatogrammi. Kromatogrammi on kuvaaja, jossa kromatografisesta kolonnista ulos tulevien yhdisteiden pitoisuudet on esitetty joko ajan tai kolonniin syötetyn nestetilavuuden funktiona. Kuvassa 2 on esitetty esimerkki kromatogrammista.



Kuva 2 Esimerkki kromatogrammista. Sininen käyrä kuvaa yhdisteen A konsentraatiota ja keltainen käyrä yhdisteen B konsentraatiota.

Kiintoainefaasi valitaan nestekromatografiassa sen perusteella, millaisia yhdisteitä liikkuva faasi sisältää ja millaiset vuorovaikutukset ovat hallitsevia. Nestekromatografiassa kiintoainefaasi on yleensä huokoista materiaalia, kuten zeoliitti, silikaatti, aktiivihiili tai ioninvaihtohartsit [18,20]. Huokoisuuden vuoksi kiintoainefaasin pinta-ala on suuri ja yhdisteet pääsevät näin helposti vuorovaikuttamaan sen kanssa. Jos kiintoainefaasin huokoskokojakauma

on kapea ja kaikki huokoset ovat samanmuotoisia, voidaan yhdisteet erottaa toisistaan niiden koon perusteella [20]. Esimerkiksi zeoliiteillä on hyvin symmetrinen ja jäykkä kiderakenne, jonka sisään pääsevät vain tiettyä kokoa pienemmät molekyylit [20]. Suuremmat molekyylit eivät yksinkertaisesti mahdu kiderakenteen sisään ja näin ollen erottuvat pienemmistä molekyyleistä. Seuraavissa luvuissa esitellään tärkeimpiä mekanismeja, joilla yhdisteet erottuvat toisistaan nestekromatografiassa.

3.1 Adsorptio

Adsorptio tarkoittaa nestekromatografiassa yhdisteiden kiinnittymistä kiintoainefaasin pintaan kiintoainefaasin huokosissa. Erotettavien yhdisteiden jakaantuminen liikkuvan faasin ja kiintoainefaasin välille riippuu niiden konsentraatiosta ja vuorovaikutusten voimakkuudesta. Tätä jakaumaa tasapainotilassa kuvaavat adsorptioisotermit [19]. Adsorptioisotermin kuvaava yhdisteen pitoisuutta kiintoainefaasissa liikkuvan faasin pitoisuuden funktiona.

$$q = f(c) \tag{1}$$

jossa q yhdisteen pitoisuus kiintoainefaasissa
 c yhdisteen pitoisuus nesteessä.

Adsorptioisotermin funktio voi saada monenlaisia muotoja tilanteesta riippuen. Jos adsorboituvan aineen pitoisuus on pieni, on adsorptioisotermin lineaarinen [19]. Suuremmissa konsentraatioissa kaikille molekyyleille kuitenkin ei riitä paikkoja, mikä johtaa isotermin epälineaarisuuteen [19,21]. Toisaalta usean yhdisteen tapauksessa myös muiden yhdisteiden konsentraatiot vaikuttavat usein toisten yhdisteiden adsorptioon, jos konsentraatiot ovat suuria [19,20].

Adsorptiolle vastakkainen ilmiö on desorptio. Nestekromatografiassa hyödynnetään molempia ilmiötä, sillä adsorboituvien yhdisteiden ei yleensä haluta pysyvästi jäävän kiinni kiintoainefaasiin, vaan ne halutaan irrottaa hallitusti. Irrottaminen saadaan aikaan johtamalla kiintoainefaasin läpi puhdasta liuotinta, jolloin liuotinmolekyylit syrjäyttävät kiintoainefaasiin

adsorboituneet yhdisteet, jotka näin ollen desorboituvat liuottimeen [20]. Koska kiintoaine-faasiin tarttuneet yhdisteet täytyy välillä huuhdella pois kiintoaineesta, syötetään panostoimisessa nestekromatografiassa erotettavia yhdisteitä pulsseittain erotuskolonneihin.

3.2 Ioninvaihto

Nestekromatografiassa kiintoaine-faasi voi sisältää vapaasti vaihdettavia ioneja [20]. Tällaisia erotusmateriaaleja kutsutaan ioninvaihtajiksi. Ioninvaihtajia voidaan valmistaa monista eri materiaaleista, kuten mm. zeoliiteista, selluloosasta, aktiivihiilestä ja polymeereistä [20,22]. Nykypäivänä suurin osa ioninvaihtomateriaaleista on erilaisia ioninvaihtohartseja [20,22]. Ioninvaihtohartseista kerrotaan tarkemmin luvussa 4.

Kaikissa ioninvaihtajissa on vaihdettavia ioneja, eli vastaioneja, jotka voivat vaihtua stoikiometrisesti vastaavaan määrään varaukseltaan saman merkkisiä ioneja [20]. Lisäksi ioninvaihtajan rungossa on vastaioneille vastakkaismerkkisiä kiinteitä varauksia [20]. Ioninvaihtaja voidaankin ajatella suurikokoiseksi polyelektrolyytiksi [20]. Jos vastaionit ovat kationeja, on kyseessä kationinvaihtaja ja jos puolestaan vastaionit ovat anioneja, on kyseessä anioninvaihtaja [20]. Jos ioninvaihtajan vastaionit ovat esimerkiksi Na^+ -ioneja, sanotaan ioninvaihtajan olevan natrium-muodossa.

Suurin ero adsorption ja ioninvaihdon välillä on se, että ioninvaihto on stoikiometrinen prosessi [20]. Ioninvaihtaja luovuttaa tietyn määrän ioneja jokaista vastaanottamaansa ionia kohti. Adsorptiossa puolestaan kiintoaine voi ottaa vastaan ja luovuttaa molekyyliä tai ioneja eri suhteessa.

Vastaioneja voi siirtyä ioninvaihtajaan myös enemmän kuin tarvitaan ioninvaihtajan kiinteiden varausten kumoamiseen [20]. Tällöin elektroneutraalisuuden säilyttämiseksi ioninvaihtajaan täytyy siirtyä myös kiinteiden varausten kanssa saman merkkisiä ioneja [20]. Lisäksi liuotinta siirtyy nestefaasista ioninvaihtajaan [20]. Liuottimeen ja ionien siirtyminen aiheuttaa usein ioninvaihtajan turpoamista, joka vaikuttaa sen ominaisuuksiin [20].

3.3 Turpoaminen

Kiinteät erotusmateriaalit pystyvät imemään itseensä liuotinta ja turpoamaan [20,22]. Erityisen merkittävää turpoaminen on geelityyppisissä ioninvaihtohartseissa, sillä niiden joustava kolmiulotteinen rakenne mahdollistaa turpoamisen [20]. Ioninvaihtohartsit voivat sopivissa olosuhteissa myös kutistua [20]. Hartsin tilavuuden muutoksilla on vaikutusta hartsin ominaisuuksiin ja erotuskykyyn [22].

Turpoaminen johtuu poolisten liuotinmolekyylien siirtymisestä ioninvaihtohartsin sisään [20]. Kun kuiva ioninvaihtohartsi asetetaan pooliseen liuottimeen, hartsin rungon kiinteät ionit ja vastaionit pyrkivät solvatoitumaan [20], eli muodostamaan ioni-dipolisidoksia liuotinmolekyylien kanssa. Toisaalta ioninvaihtohartsin sisällä elektrolyyttikonsentraatio on korkea ja konsentraation pienentämiseksi hartsiin siirtyy liuotinta [20]. Liuotinta, joka ei ole kiinni ionin solvatoitumiskehässä kutsutaan vapaaksi liuottimeksi [20].

Hartsiin siirtyvät liuotinmolekyylit vievät tilaa ja saavat aikaan hartsin turpoamista. Hartsi ei kuitenkaan liuottimesta huolimatta liukene, sillä hartsin lineaariset polymeeriketjut ovat kiinni toisissaan divinyylibentseenisiltojen avulla [20]. Siltojen vuoksi hartsi pystyy turpoamaan rajallisesti, sillä ioninvaihtohartsin sillat vetävät hartsia kokoon [20,22]. Hartsin ollessa poolisessa liuottimessa hartsi saavuttaa lopulta tasapainotilan, jossa hartsin siltojen elastiset voimat kumoavat hartsin taipumuksen imeä liuotinta [20].

Ioninvaihtohartsin turpoaminen riippuu useasta eri tekijästä. Liuottimen poolisuuden kasvaminen kasvattaa turpoamista, sillä poolisempi liuotin vuorovaikuttaa voimakkaammin hartsin ionien kanssa [20]. Korkeamman kapasiteetin hartsit turpoavat enemmän, sillä ne sisältävät enemmän solvatoituvia ioneja [20]. Hartsin silloitusasteen kasvaessa turpoaminen puolestaan vähenee, sillä korkeamman silloitusasteen hartsin rakenne on jäykempi ja näin ollen vastustaa voimakkaammin turpoamista [20,22]. Hartsin rungon kiinteät varaukset vaikuttavat myös turpoamiseen, sillä ionit, joilla on voimakkaampi taipumus ympäröidä itsensä liuotinmolekyyleillä, aiheuttavat enemmän turpoamista [20].

Myös vastaionit vaikuttavat merkittävästi turpoamiseen. Vastaionien vaikutus riippuu hartsin silloitusasteesta [20]. Matalan silloitusasteen hartseissa turpoaminen kasvaa, kun vastai-
onin solvatoituneen muodon koko kasvaa [20], mikä johtuu ionin suuremmasta tilantar-
peesta. Korkean silloitusasteen hartseissa turpoaminen voi sen sijaan vähentyä solvatoitu-
neen ionin koon kasvaessa, sillä ionit eivät välttämättä pysty liuottimen pienen määrän
vuoksi solvatoitumaan kokonaan [20]. Jos taas hartsin kiinteät ionit ja vastaionit muodosta-
vat ionipareja, komplekseja tai assosioituvat toistensa kanssa, turpoaminen vähenee [20].

Ioninvaihtohartsin ulkopuolella olevan liuoksen konsentraatio vaikuttaa hartsin turpoami-
seen [20]. Yleisesti ulkoisen liuoksen elektrolyytin konsentraation kasvaessa hartsin turpoa-
minen vähenee, sillä elektrolyyttien konsentraatioero liuoksen ja hartsin välillä pienenee,
minkä vuoksi osmoottinen paine-ero niiden välillä pienenee [20,22]. Toisaalta liuoksen
elektrolyyttikonsentraation ollessa korkea, hartsi voi alkaa kutistua [22]. Tällöin elektrolyy-
tin konsentraatio hartsin ulkopuolella on korkeampi kuin hartsin sisällä ja liuotinta alkaa
siirtyä pois hartsista konsentraatioeron tasoittamiseksi [20]. Liuottimen vähentyessä hartsi
kutistuu.

Hartsin tilavuuden muutokset vaikuttavat hartsin huokosten kokoon, mikä puolestaan vai-
kuttaa yhdisteiden diffuusion ja yhdisteiden profiilien muotoon kromatogrammissa [4].
Hartsin turvotessa huokosten koko kasvaa ja näin ollen myös yhdisteiden diffuusio nopeutuu
[4]. Hartsin kutistuessa diffuusio hidastuu, minkä vuoksi yhdisteet siirtyvät hitaammin hart-
sin sisälle ja ulos hartsista [4]. Hartsin huokosten kutistuminen voi myös johtaa yhdisteiden
erottumiseen niiden koon perusteella.

3.4 Kokoekskluusio

Kromatografisessa systeemissä yhdisteiden erotus voi perustua yhdisteiden kokoon. Kokoon
perustuvaa erotusta eli kokoekskluusiota voi tapahtua myös ioninvaihtohartseissa, vaikka
niiden huokokset olisivat suurempia kuin erotettavat yhdisteet [20]. Kokoekskluusiolla on
merkitystä elektrolyyttien ja neutraalien yhdisteiden erotuksessa [4,20,22].

Turvonneen ioninvaihtohartsin sisällä vallitsee korkea turpoamispaine [20], joka johtuu edellisessä luvussa mainituista elastisista voimista. Turpoamispaine pyrkii puristamaan liuotinta ja liuenneita molekyylejä pois hartsista [20]. Paine vaikuttaa voimakkaammin suurempiin molekyyleihin kuin pieniin ja näin ollen suuremmat molekyylit jäävät hartsin ulkopuolelle. Toisaalta hartsin silloitusasteen ollessa matala, ovat elastiset voimat pienempiä ja näin ollen myös turpoamispaine on pienempi. Tällöin muut vuorovaikutukset, kuten adsorptio, ovat kokoekskluusiota merkittävämpiä, eikä kokoekskluusiota välttämättä havaita [20].

Yleisesti hartsin silloitusasteen ja erotettavan molekyylin koon kasvaessa kokoekskluusion merkitys kasvavaa [20]. Kun molekyyli on riittävän iso, voi huokosen koko estää molekyylin pääsyn huokoseen. Myös elektrolyyteillä voidaan havaita turpoamispaineeseen perustuvaa kokoekskluusiota, mutta sen merkitys muihin, erityisesti sähköisiin vuorovaikutuksiin nähden, on pieni [20].

3.5 Ulossuolaus

Kuten luvussa 3.3 mainittiin, osa ioninvaihtohartsin sisältämästä liuottimesta on vapaata liuotinta, joka ei ole kiinni solvatoituneessa ionissa. Vain vapaa liuotin voi vastaanottaa ja liuottaa neutraaleja molekyylejä ioninvaihtohartsissa [20]. Molekyylien konsentraatiot hartsin vapaassa liuottimessa ja hartsin ulkopuolisessa liuottimessa pyrkivät tasoittumaan. Jos eri yhdisteiden pitoisuudet ulkopuolisessa liuottimessa eivät ole suuria, on ulkopuolinen liuotin lähes kokonaan vapaata. Koska ulkopuolista liuotinta on huomattavasti enemmän kuin hartsin vapaata liuotinta, vain pieni osa ulkopuolisen liuottimen molekyyleistä voi siirtyä hartsiin [20]. Tätä ilmiötä kutsutaan ulossuolaukseksi [20,23].

Ilmiö on sitä voimakkaampi, mitä vähemmän hartsissa on vapaata liuotinta [23]. Näin ollen ilmiö korostuu hartsin silloitusasteen ja hartsin vastaionien solvatoitumisasteen kasvaessa [20]. Ioninvaihtohartseissa ilmiö voi kuitenkin tapahtua myös toiseen suuntaan. Jos ulkoiseen liuokseen lisätään elektrolyyttiä, se pyrkii solvatoitumaan ja vähentää vapaan liuottimen määrää hartsin ulkopuolisessa liuoksessa. Jos elektrolyytin konsentraatio on riittävän suuri ja hartsissa on riittävästi vapaata liuotinta, alkavat neutraalit molekyylit siirtyä ulkopuolisesta liuoksesta hartsiin [20].

Turpoaminen, kokoekskluusio ja ulossuolaus liittyvät kiinteästi toisiinsa, sillä ulossuolaus vaikuttaa turpoamiseen ja turpoaminen ulossuolaukseen. Lisäksi turpoaminen vaikuttaa kokoekskluusioon. Lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien kromatografisessa fraktioinnissa kaikilla kolmella ilmiöllä on suuri vaikutus erotustulokseen [4]. Ilmiöitä hyödyntäviä kromatografisia tekniikoita on kehitetty elektrolyyttien ja varauksettomien yhdisteiden erotukseen [4–9]. Seuraavissa luvuissa esitellään tämän työn kannalta kaksi tärkeintä tekniikkaa.

3.6 Elektrolyyttiekskluusio

Elektrolyyttiekskluusio on kromatografinen erotustekniikka, jonka on todettu soveltuvan elektrolyyttien ja varauksettomien yhdisteiden, kuten rikkihapon ja sokereiden erotukseen [4,5,9]. Tekniikassa käytetään erotusmateriaalina ioninvaihtohartsia, mutta varsinaista ioninvaihtoa ei periaatteessa tapahdu [20]. Ioninvaihtohartsi on samassa ionimuodossa kuin elektrolyytti [4,20]. Rikkihapon tapauksessa kationinvaihtajan tulee siis olla H^+ -muodossa.

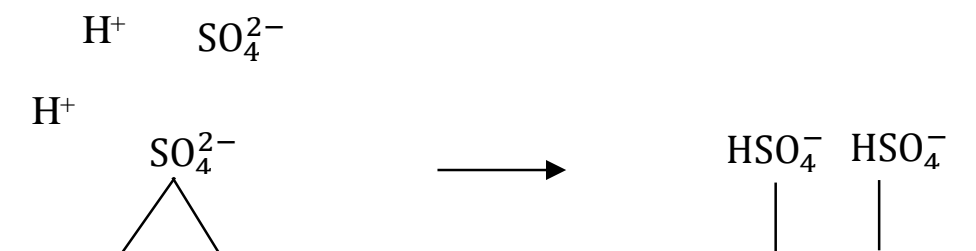
Elektrolyyttiekskluusiota voidaan selittää ns. Donnanin potentiaalilla. Kun vahvaa elektrolyyttiä, kuten rikkihappoa, sisältävää liuosta johdetaan kosketuksiin kationinvaihtajan kanssa, liuoksen ja ioninvaihtajan ionien konsentraatioissa on eroja. Vapaiden kationien konsentraatio on suurempi ioninvaihtajassa, kun taas vapaiden anionien konsentraatio on suurempi liuosfaasissa. Varauksettomien yhdisteiden tapauksessa konsentraatioerot tasoittuisivat. Ionien tapauksessa konsentraatioerojen tasoittuminen kuitenkin rikkoo elektroneutraalisuuden. Jos siis anioneja siirtyy liuoksesta ioninvaihtajaan ja vastaavasti kationeja ioninvaihtajasta liuokseen, saa ioninvaihtaja negatiivisen varauksen ja liuos positiivisen varauksen. Näin ollen ensimmäisten ionien siirtyessä faasista toiseen ne aikaansaavat sähköisen potentiaalieron faasien välille. Tätä potentiaalia kutsutaan Donnanin potentiaaliksi. Ioninvaihtajaan syntyvä negatiivinen varaus vetää kationeja puoleensa ja liuoksen positiivinen varaus vetää anioneja puoleensa, mikä estää konsentraatioerojen tasoittumisen. Systemi saavuttaa lopulta tasapainotilan, jossa pyrkimys konsentraatioerojen tasoittumiseen kumoutuu sähköisen potentiaalieron vaikutuksesta. Tasapainotilassa vain hyvin pieni osa anioneista on siirtynyt ioninvaihtajaan. Näin ollen vahva elektrolyytti siis ei käytännössä tartu ollenkaan ioninvaihtajaan. [20]

Edellä kuvattua ilmiötä ei esiinny varauksettomilla yhdisteillä, joten ne voivat adsorboitua ioninvaihtajaan normaalisti [4,20]. Toisaalta lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien tapauksessa liuoksen elektrolyyttikonsentraatio on korkea ja näin ollen varauksettomat yhdisteet siirtyvät edellisessä luvussa kuvatun ulossuolauksen vuoksi liuoksesta hartsiin [4]. Koska siis vahva elektrolyytti ei adsorboidu ioninvaihtajaan, mutta varauksettomat adsorboituvat, erottuvat ne toisistaan. Elektrolyytin konsentraatio vaikuttaa erotuksen tehokkuuteen siten, että mitä pienempi konsentraatio on, sitä vähemmän elektrolyyttiä siirtyy ioninvaihtajaan ja sitä paremmin yhdisteet erottuvat toistaan [4,9,20]. Varauksettomien yhdisteiden konsentraatio ei juurikaan vaikuta erotukseen [20].

3.7 Happoretardaatio

Happoretardaatio on ioniretardaation sovellus. Sen nimesivät vuonna 1962 Hatch ja Dillon [24] tutkiessaan suolahapon ja rikkihapon erotusta niiden suoloista. Aiemmin tunnettiin jo ioniretardaation periaate, joka on samankaltainen kuin elektrolyyttiekskluusiolla [20]. Perinteisessä ioniretardaatiossakaan ei tapahdu ioninvaihtoa, vaikka siinä käytetään erotusmateriaalina ioninvaihtohartsia [20]. Toisin kuin elektrolyyttiekskluusiolla, ioniretardaatiossa elektrolyytti tarttuu ioninvaihtajaan voimakkaammin kuin varaukseton yhdiste [20]. Näin ollen varaukseton yhdiste läpäisee ioninvaihtajan nopeammin kuin elektrolyytti. Ioniretardaatiossa hyödynnetään snake-cage -ioninvaihtohartseja [20], joista kerrotaan luvussa 4.3.

Ennen Hatchia ja Dillonia [24], rikkihapon erotusta sulfaattimuodossa olevan anioninvaihtohartsin avulla olivat tutkineet Anderson *et al.* [25]. Anderson *et al.* [25] esittivät, että rikkihappo tarttuu kiinni sulfaattimuodossa olevaan ioninvaihtohartsiin muodostaen bisulfaatti-ioneja. Ilmiötä voidaan havainnollistaa kuvan 3 mukaisesti.



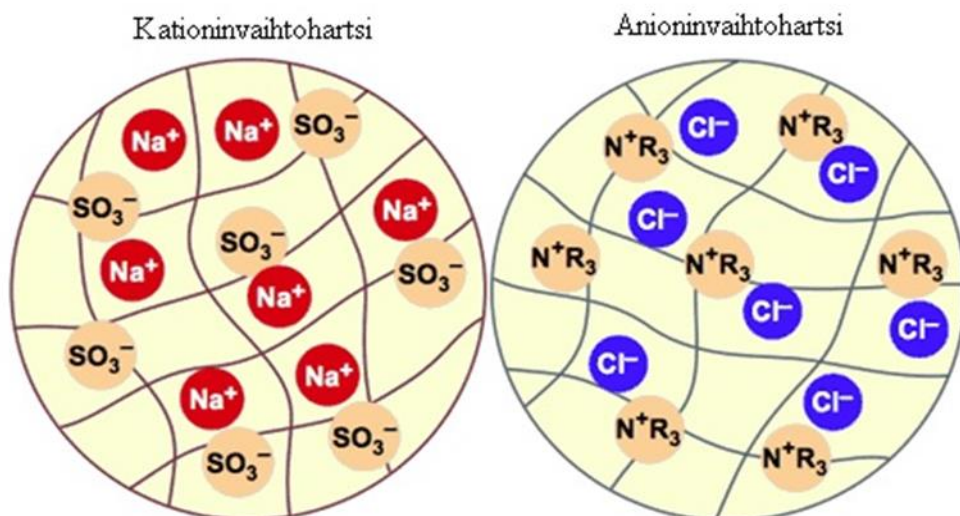
Kuva 3 Periaate, jolla rikkihappo tarttuu sulfaattimuodossa olevaan anioninvaihtohartsiin [25]. Vaakaviiva kuvaa ioninvaihtohartsin pintaa.

Rikkihappo siis tarttuu ioninvaihtohartsiin ja poistuu liuosfaasista. Happo voidaan irrottaa, eli eluoida pois hartsista vedellä, jolloin kuvan 3 reaktio etenee oikealta vasemmalle. Tällöin hartsi regeneroituu, eli palautuu alkuperäiseen ionimuotoonsa.

Hatch ja Dillon [24] huomasivat kuitenkin tutkimuksissaan, että happo erottui voimakkaammin kuin yllä kuvatulla mekanismilla oli mahdollista selittää. He myös huomasivat, että rikkihappo erottui suolastaan, vaikka ioninvaihtohartsi oli bisulfaattimuodossa. Tarkkaa mekanismia erotukseen ei osattu antaa, mutta he päättelivät, että erotus ja hapon hitaampi kulkeutuminen hartsipedin läpi johtui hapon adsorboitumisesta ioninvaihtohartsiin [24]. Kuvassa 3 esitetty tekniikka nimettiin anioni-sulfaatti -tekniikaksi erotuksena adsorptioon perustuvasta happoretardaatiosta [24].

4 IONINVAIHTOHARTSIT

Synteettiset ioninvaihtohartsit ovat nykyisin tärkeimpiä ioninvaihtomateriaaleja [20,22]. Niiden runko muodostuu pitkistä makromolekulaarisista hiilivetyketjuista, jotka ovat järjestäytyneet epäsäännölliseksi kolmiulotteiseksi rakenteeksi [20,22]. Hiilivetyketjuissa on kiinteitä ioniryhmiä, jotka vaativat ympärilleen varaukseltaan vastakkaismerkkisiä vastaioneja [20,22]. Kuvassa 4 on esitetty sekä anionin- että kationinvaihtohartsin periaatekuva.



Kuva 4 Periaatekuva ioninvaihtohartseista. Käyrät kuvaavat ioninvaihtohartsin hiilivetyketjuja, ruskeat pallot hartsin kiinteitä varauksia ja punaiset sekä siniset pallot vastaioneja. Kuva on muokattu lähteestä [26].

Kuten kuvasta 4 nähdään, hiilivetyketjut ovat kiinnittyneet toisiinsa luvussa 3.3 mainituilla silloilla. Hiilivetyketjut ovat yleensä joko polystyreeniä tai polyakryyliä ja ketjujen väliset sillat divinyylibentseeniä [22]. Koska hiilivetyketjut ovat järjestäytyneet epäsäännöllisesti, ioninvaihtohartsin huokokset eivät ole tasakokoisia [22]. Siltojen määrällä eli silloitusasteella voidaan vaikuttaa huokosten kokoon ja luvussa 3 esitettyihin turpoamis-, kokoekskluusio-, ja ulossuolausilmiöihin.

Ioninvaihtohartsit voidaan jakaa niiden fyysisten ominaisuuksien perusteella geelityypisiin ja makrohuokosiin hartseihin [22]. Geelityypin hartsit ovat elastisia ja niiden huokosten koko riippuu voimakkaasti silloitusasteesta ja turpoamisesta [20]. Tyypillisesti huokosten koko geelityypin hartseissa on 0,5–10 nm [20,22]. Makrohuokoisen hartsin huokosten koko puolestaan on tyypillisesti useita kymmeniä nanometrejä [20,22] ja hartsin hiukkaset ovat kooltaan ja muodoltaan yhtenäisiä [22]. Makrohuokoisten hartsien ioninvaihtokapasiteetti on pienempi kuin geelityypin hartsien ja niiden regenerointi on vaikeampaa [22].

Fysikaalisten ominaisuuksien lisäksi ioninvaihtohartsit voidaan jakaa niiden toiminnan perusteella anioninvaihto-, kationinvaihto-, ja amfoteerisiin hartseihin [22]. Seuraavissa luvuissa esitellään kaikkien kolmen hartsityypin rakennetta ja ominaisuuksia.

4.1 Kationinvaihtohartsit

Kationinvaihtohartsin runko sisältää kuvan 4 mukaisesti negatiivisesti varautuneita kiinteitä ioniryhmiä, joiden ympärillä on positiivisesti varautuneita vastaioneja. Vastaionit pystyvät vaihtumaan saman merkkisiin ioneihin, eli tässä tapauksessa kationeihin, minkä vuoksi tällaisia hartseja kutsutaan kationinvaihtohartseiksi.

Yleisimmät kiinteät ioniryhmät kationinvaihtohartseissa ovat sulfonihappo- ($-\text{SO}_3^-$) ja karboksyyli- ($-\text{COO}^-$) [20,22]. Lisäksi on olemassa fosfori-, arseeni- ja seleenihapporyhmiä sisältäviä hartseja [20,22], mutta niiden merkitys teollisten sovellusten kannalta on pienempi kuin kahdella aiemmin mainitulla happoryhmällä [22].

Kationinvaihtohartsit voidaan jakaa kiinteän ioniryhmän perusteella vahvoihin ja heikkoihin kationinvaihtohartseihin [20]. Vahvojen kationinvaihtohartsien vastaionit ovat voimakkaammin dissosioituneita kuin heikkojen kationinvaihtohartsien ja pysyvät dissosioituneina myös happamissa olosuhteissa, toisin kuin heikkojen kationinvaihtohartsien vastaionit [20]. Näin ollen sulfonihapporyhmiä sisältävät hartsit ovat vahvoja ja karboksyyliiryhmiä sisältävät hartsit heikkoja kationinvaihtohartseja. Vahvoja kationinvaihtohartseja on hyödynnetty hyvin tuloksin rikkihapon ja monosakkaridien erotukseen käyttäen elektrolyyttiekskluusiotekniikkaa [4,5]. Elektrolyyttiekskluusioon liittyvistä tutkimuksista kerrotaan tarkemmin luvussa 5.1.

4.2 Anioninvaihtohartsit

Anioninvaihtohartsit sisältävät kuvan 4 mukaisesti kiinteitä positiivisesti varautuneita ioniryhmiä, joiden ympärillä on negatiivisesti varautuneita vastaioneja. Yleensä anioninvaihtohartsin kiinteät ioniryhmät ovat erilaisia aminoryhmiä, mutta myös fosfori- ja rikki-ioneja sisältäviä hartseja on valmistettu [20]. Kuten kationinvaihtohartsit, myös anioninvaihtohartsit voidaan jakaa vahvoihin ja heikkoihin niiden sisältämien kiinteiden ioniryhmien perusteella. Kvartäärisiä aminoryhmiä sisältävät hartsit ovat vahvoja anioninvaihtohartseja [20,22], koska ne pysyvät ionisoituneena pH:sta riippumatta. Primäärisiä ($-\text{NH}_3^+$), sekundäärisiä ($=\text{NH}_2^+$) ja tertiäärisiä ($\equiv\text{NH}^+$) aminoryhmiä sisältävät hartsit ovat puolestaan heikkoja anioninvaihtohartseja, koska ne assosioituvat emäksisissä olosuhteissa [20,22].

Vahvat anioninvaihtohartsit voidaan jakaa tyyppin 1 ja tyyppin 2 anioninvaihtohartseihin sen perusteella, millaisia ryhmiä kvartääriseen tyypiatomiin on kiinnittynyt [20]. Tyyppin 1 hartseissa kvartäärisessä tyypissä on kiinni kolme metyyliiryhmää kun taas tyyppin 2 hartsin tyypissä on kiinni kaksi metyyliiryhmää ja yksi hydroksietyyliiryhmä [20]. Tyyppin 1 hartsit ovat hieman voimakkaammin emäksisiä, kemiallisesti vakaampia ja ne sietävät paremmin korkeita lämpötiloja kuin tyyppin 2 hartsit [27]. Tyyppin 2 hartsiin regenerointi on kuitenkin yleensä helpompaa [22,27], niiden kapasiteetti on korkeampi [27] ja niiden turpoaminen ja kutistuminen elektrolyyttiliuoksissa on vähäisempää kuin tyyppin 1 hartseilla [27].

Vahvojen anioninvaihtohartsien hyödyntämistä monosakkaridien ja rikkihapon erotukseen happoretardaatiotekniikalla on tutkittu [6,7,8]. Tutkimuksissa on käytetty sekä tyyppin 1 [7,8]

että tyyppin 2 [6] vahvoja anioninvaihtohartseja. Kyseisistä tutkimuksista kerrotaan tarkemmin luvussa 5.2.

4.3 Amfoteeriset ioninvaihtohartsit

Amfoteeriset ioninvaihtohartsit sisältävät sekä kiinteitä positiivisesti varautuneita ioniryhmiä että kiinteitä negatiivisesti varautuneita ioniryhmiä [20]. Niitä voidaankin pitää eräänlaisena kationin- ja anioninvaihtohartsien yhdistelmänä [20]. Amfoteeristen hartsien käyttö on kuitenkin paljon vähäisempää verrattuna kationin- tai anioninvaihtohartseihin [20].

Tärkeimpiä amfoteerisiä hartseja ovat niin sanotut snake-cage -tyyppiset hartsit [20]. Tällainen hartsi koostuu tavallisesta kationin- tai anioninvaihtohartsin rungosta, jonka sisälle on polymeroimalla tehty lineaarisia polyvastaioneja [20,22,28]. Jos kyseessä on alun perin kationinvaihtohartsi, sen sisälle polymeroidaan polyanioneja ja anioninvaihtohartsin sisälle puolestaan polykationeja. Hartsityypin nimi johtuu siitä, että hartsin sisälle tehtyä lineaarista polymeeriä voidaan verrata käärmeeseen, joka on loukussa hartsin rungon muodostamassa kolmiulotteisessa häkissä [20,22,28].

Snake-cage -hartsit eroavat muista amfoteerisistä hartseista ennen kaikkea sen vuoksi, että polyvastaionit pääsevät liikkumaan jonkin verran hartsin sisällä, sillä ne eivät ole kiinteästi kiinni hartsin rungossa [20,22]. Näin ollen polyvastaionit ja hartsin rungon kiinteät varaukset pystyvät neutraloimaan toistensa varaukset, eikä vapaita vastaioneja tarvita varauksien tasottamiseksi [20]. Kun snake-cage -hartsi asetetaan elektrolyyttiliuokseen, luvussa 3.6 mainittua Donnanin potentiaalia ei pääse syntymään, koska polyvastaioni ei pysty poistumaan hartsista [20]. Koska hartsin sisällä vallitsee elektroneutraalisuus [28], voivat hartsin ulkopuolella olevan liuoksen ionit siirtyä vapaasti hartsiin. Toisaalta vaikka hartsin rungon kiinteät varaukset ja polyvastaioni ovat neutraloineet toistensa varaukset, vetävät ne silti heikosti puoleensa vastakkaisen varauksen omaavia ioneja [28]. Niinpä liuoksen vapaat ionit voivat adsorboitua hartsiin ilman, että hartsi luovuttaa liuokseen ioneja [28]. Koska ionien adsorboituminen hartsiin on reversiibeli prosessi, voidaan adsorboituneet ionit irrottaa hartsista puhtaalla liuottimella [28].

Periaatteessa snake-cage -hartsien pitäisi soveltua hyvin käytettäväksi happoretardaatiotekniikassa, sillä ne pystyvät tehokkaasti adsorboimaan elektrolyyttejä [20]. Kooltaan elektrolyyttejä suuremmat varauksettomat yhdisteet eivät pääse hartsin sisälle kokoekskluusion vuoksi. Polyvastaionit vievät tilaa hartsin huokosista, mikä tehostaa kokoekskluusion vaikutusta verrattuna vastaaviin kationin- tai anioninvaihtohartseihin [28]. Näin ollen snake-cage -hartseja voidaan hyödyntää lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktioinnissa happoretardaatiotekniikalla [7]. Toistaiseksi snake-cage -hartsien käyttöä tähän tarkoitukseen on tutkittu vain vähän [7], mikä johtuu osittain siitä, että tämän tyyppisiä hartseja on saatavilla varsin niukasti [7,20].

5 VÄKEVÄHAPPOHYDROLYSAATTIEN KROMATOGRAFINEN FRAKTIOINTI

Kuten jo johdantoluvussa mainittiin, lignoselluloosapohjaisten happohydrolysaattien kromatografista fraktiointia on tutkittu jonkin verran viime vuosina [4–9]. Sekä elektrolyyttiekskluusio- [4,5,9] että happoretardaatiotekniikan [6–8] käyttöä rikkihapon ja monosakkaridien erotukseen on tutkittu. Seuraavissa luvuissa esitellään muutamia kumpaankin tekniikkaan liittyviä tutkimuksia ja niiden tuloksia sekä vertaillaan kyseisiä tekniikoita keskenään tulosten perusteella.

5.1 Fraktiointi elektrolyyttiekskluusiolla

Neuman *et al.* [5] tutkivat vahvan H^+ -muodossa olevan kationinvaihtohartsin hyödyntämistä glukoosin ja rikkihapon erotukseen. He käyttivät erotettavana näytteenä liuosta, joka sisälsi 7,7 m-% rikkihappoa ja 1,0 m-% glukoosia [5]. He tutkivat kolonnin latauksen, eli kolonniin syötettävän erotettavia aineita sisältävän pulssin suuruuden, ja lämpötilan vaikutusta rikkihapon ja glukoosin erotukseen [5].

Neuman *et al.* [5] huomasivat lämpötilan vaikuttavan rikkihapon ja glukoosin erotukseen siten, että erotus oli parhaimmillaan, kun lämpötila oli 55 °C. Kolonnin latauksen kasvaessa glukoosin ja rikkihapon profiilien havaittiin menevän kromatogrammissa enemmän toisensa päälle ja molempien profiilien leveyden kasvavan. Paras erotustulos saavutettiin, kun

kolonnin lataus oli 10 % hartsipedin tilavuudesta ja lämpötila 55 °C. Tällöin rikkihapon saanto oli 100 % ja glukoosin saanto 94 %. [5]

Heinonen ja Sainio [9] tutkivat kolonnin latauksen, hartsin silloitusasteen ja fraktiotavan hydrolysaatin koostumuksen vaikutusta erotustulokseen. Heinonen ja Sainio käyttivät kolmea eri H⁺-muodossa olevaa vahvaa kationinvaihtohartsia. Käytetyt liuokset oli valmistettu kuusesta ja koivusta luvussa 2.3 esiteltyä väkevän hapon katalysoimalla hydrolyysillä ja ne sisälsivät rikkihapon ja glukoosin lisäksi muita monosakkarideja (ksyloosia, galaktoosia, mannoosia ja arabinoosia), etikkahappoa, furfuraalia ja hydroksimetyylifurfuraalia. Rikkihapon pitoisuus hydrolysaateissa oli n. 30 m-% ja monosakkaridien pitoisuus 7–8 m-%. [9]

Heinonen ja Sainio [9] huomasivat furfuraalin ja hydroksimetyylifurfuraalin adsorboituvan voimakkaasti ioninvaihtohartsiin ja erottuvan täydellisesti muista komponenteista. Voimakkaan adsorption vuoksi niiden eluoiminen pois kolonnista vaatisi suurta määrää eluenttia. Niinpä prosessin kannattavuuden pääteltiin parantuvan, jos furfuraali ja hydroksimetyylifurfuraali erotetaan hydrolysaatista ennen muiden komponenttien erottamista [9]. Rikkihapon ja monosakkaridien profiilit kromatogrammeissa olivat Neumanin *et al.* [5] tutkimuksia vastaavia. Johtuen korkeammasta rikkihapon pitoisuudesta, rikkihapon ja monosakkaridien profiilit menivät hieman enemmän päällekkäin [9]. Etikkahapon huomattiin eluoituvan kolonnista rikkihapon ja monosakkaridien jälkeen [9].

Hartsin silloitusasteen pienentyessä elektrolyyttiekskluusion havaittiin heikkenevän ja rikkihapon profiilin levenevän. Monosakkaridien ja etikkahapon adsorption puolestaan havaittiin kasvavan silloitusasteen pienentyessä, koska tällöin varauksettomien yhdisteiden kokema kokoeksklusio heikkenee. Korkein monosakkaridien saanto saavutettiin hartsilla, jonka silloitusaste oli 6,0 %. [9]

Kun rikkihapon saantovaatimus oli 95 % ja monosakkaridifraktion puhtausvaatimus alle 1,0 g/L inhibiittoreita (rikkihappoa, etikkahappoa, furfuraalia ja hydroksimetyylifurfuraalia), saatiin 6,0 % silloitusasteen hartsilla monosakkaridien saannoksi koivuhydrolysaatilla noin 65 % ja kuusihydrolysaatilla noin 82 % [9]. Monosakkaridien saannot olivat pienempiä verrattuna Neumanin *et al.* [5] tutkimukseen, mikä johtuu suuremmasta rikkihappopitoisuudesta ja etikkahapon läsnäolosta.

5.2 Fraktiointi happoretardaatiolla

Liu *et al.* [6] tutkivat happoretardaatiotekniikan käyttöä maissin korjuutähteistä valmistetun happohydrolysaatin fraktiointiin. Hydrolysaattia vastaavana liuksena käytettiin pitoisuudeltaan erilaisia rikkihappoa ja glukoosia sisältäviä liuoksia sekä suolahappoa ja glukoosia sisältäviä liuoksia. Erotusmateriaalina käytettiin vahvaa tyypin 2 anioninvaihtohartsia. Kolonnin lataus pidettiin vakiona 0,10 BV:ssa. Eri happojen, lämpötilan, hapon ja glukoosin pitoisuuksien sekä eluentin virtausnopeuden vaikutusta erotustulokseen tutkittiin. [6]

Liu *et al.* [6] huomasivat, että samalla eluentin virtausnopeudella (1 BV/h), samassa lämpötilassa (25 °C) ja samoilla vetyionin (1 mol/L) ja glukoosin (2 m-%) pitoisuudella rikkihappo erottui paremmin glukoosista kuin suolahappo. Suolahapon profiili meni lähes kokonaan päällekkäin glukoosin profiilin kanssa, minkä vuoksi suolahappoliuoksia ei tutkittu enempää. Eluentin virtausnopeuden kasvaessa sekä rikkihapon että glukoosin saantojen huomattiin paranevan, mutta profiilien huippujen välimatkan kromatogrammissa lyhenevän. Korkeamman virtausnopeuden pääteltiin lisäävän profiilien leviämistä. [6]

Rikkihapon ja glukoosin saannon sekä niiden profiilien huippujen välimatkan huomattiin kasvavan lämpötilan kasvaessa. Tämän pääteltiin johtuvan diffuusion tehostumisesta. Koska käytetyn anioninvaihtohartsin korkein sallittu lämpötila oli 60 °C ja resoluution kasvu hidastui lämpötilan noustessa yli 50 °C:n, valittiin parhaaksi lämpötilaksi 50 °C. [6]

Rikkihapon ja glukoosin pitoisuuksien kasvaessa niiden profiilien välisen etäisyyden ja saantojen huomattiin pienenevän sekä hapon ja glukoosin profiilien menevän voimakkaammin päällekkäin. Hapon ja glukoosin saannot olivat kuitenkin korkeita. Kun lämpötila oli 50 °C, eluentin virtausnopeus 2 BV/h, syöttöliuoksen rikkihapon pitoisuus 20 m-% ja glukoosin pitoisuus 20 m-%, rikkihapon saanto oli 92,4 % ja glukoosin saanto 94,3 %.

Sun *et al.* [8] käyttivät bambusta väkevän hapon katalysoimalla hydrolyysillä valmistetun hydrolysaatin fraktiointiin ISMB (improved simulated moving bed) -laitteistoa, joka koostui kuudesta kromatografisesta kolonnista. Erotusmateriaalina käytettiin tyypin 1 vahvaa anioninvaihtohartsia ja lämpötila oli 50 °C [8]. Hydrolysaatin rikkihappopitoisuus oli hieman

yli 30 m-% (378,1 g/L), glukoosin pitoisuus n. 6 m-% (71,0 g/L) ja ksyloosin pitoisuus n. 3,5 m-% (44,2 g/L) [8]. Rikkihapon saanto oli 90,5 %, glukoosin 97,4 % ja ksyloosin 99,9 % [8]. Koska käytetty kromatografinen erotussysteemi oli erilainen verrattuna muihin edellä esiteltyihin tutkimuksiin, ei lukuja voida suoraan verrata keskenään. Rikkihapon pitoisuus monosakkaridifraktiossa oli kuitenkin 25,2 g/L [8], mikä on huomattavasti suurempi kuin Heinosen ja Sainio tutkimuksessaan inhibiittoreille asettama raja 1,0 g/L [9]. Suurempi rikkihapon määrä monosakkaridifraktiossa johtui rikkihapon erittäin voimakkaasta häntimisestä kromatogrammissa [8]. Rikkihappo ei siis ehtinyt poistua kolonneista ennen uuden hydrolysaattipulssin syöttöä, minkä vuoksi uusi monosakkaridiprofiili meni edellisen pulssin rikkihappohännän päälle.

Rikkihapon taipumuksen muodostaa pitkä häntä profiiliinsa ja eluoitua erittäin hitaasti pois vahvasta anioninvaihtohartsista huomasivat Anderson *et al.* [25] jo vuonna 1955. He tutkivat kuvassa 3 kuvattua sulfaatti-bisulfaatti -tasapainoa anioninvaihtohartseissa ja sen hyödyntämistä rikkihapon ja suolahapon erotukseen varauksettomista yhdisteistä. Eräässä kokeessa käytettiin erotusmateriaalina sulfaatti-muodossa olevaa tyyppin 1 vahvaa anioninvaihtohartsia. Syöttöliuos sisälsi 10 m-% rikkihappoa ja 10 m-% glyserolia ja kyseistä liuosta syötettiin kolonniin 0,25 BV:n pulssi. Glyseroli tuli ulos kolonnista ennen rikkihappoa ja erottui hapon täydellisesti. Rikkihapon profiilissa oli kuitenkin erittäin pitkä häntä ja se poistui kokonaan kolonnista vasta kun 12,5 BV vettä oli johdettu kolonnin läpi, kun taas glyseroli poistui kokonaan jo 0,40 BV:n jälkeen. [25]

Rikkihapon hännän lyhentämiseksi Matsuura *et al.* [7] tutkivat luvussa 4.3 esitellyn snake-cage -tyypin hartsin käyttöä rikkihapon ja glukoosin erotukseen. He valmistivat itse snake-cage -hartsin vahvasta tyyppin 1 anioninvaihtohartsista. Hartsi sisälsi alkuperäisen hartsin kvartaarisen aminoryhmän lisäksi polyvastaionin sulfonihapporyhmiä. Hydrolysaattia edustavana liuoksena he käyttivät n. 27 m-% (326 g/L) rikkihappoa ja n. 12 m-% (150 g/L) glukoosia sisältävää liuosta. Snake-cage -hartsia verrattiin kahteen tyyppin 1 vahvaan anioninvaihtohartsiin. Kolonnin lataus kokeissa oli 0,28–0,29 BV ja lämpötila 50 °C. Rikkihapon profiilin häntä oli selkeästi nähtävissä käytettäessä vahvoja anioninvaihtohartseja. Snake-cage -hartsilla puolestaan rikkihapon profiilin häntä oli merkittävästi lyhyempi kuin vahvoilla anioninvaihtohartseilla ja rikkihapon pitoisuus hännän alueella oli pienempi. Esimer-

kiksi kun eluenttia oli syötetty kolonniin 2 BV:n verran, vahvan anioninvaihtohartsin tapauksessa rikkihapon pitoisuus kolonnin ulostulossa oli n. 20–25 g/L, kun taas snake-cage hartsin tapauksessa rikkihapon pitoisuus oli n. 5 g/L. [7]

Huomiota herättävää vertailtaessa tässä luvussa esiteltyjä tutkimuksia on se, että Liun *et al.* [6] tutkimus on ainoa, jossa rikkihapon profiilissa ei havaittu selkeää häntää. Syy tähän ei ole täysin selvä. Kyseisessä tutkimuksessa käytettiin ainoana esitellyistä tutkimuksista tyyppin 2 vahvaa anioninvaihtohartsia ja toisaalta käytetty hartsipedin tilavuus oli selkeästi suurin (1001 mL) [6]. Myös kolonnin lataus (0,10 BV) oli muita tutkimuksia pienempi [6]. Kyseinen tutkimus oli myös ainoa happohydrolysaatteja koskeva tutkimus, jossa monosakkariidien ja rikkihapon pitoisuudet olivat massaprosentteina lähes yhtä suuret ja joissain tapauksissa hapon konsentraatio oli jopa pienempi kuin monosakkaridien [6]. Muissa tutkimuksissa rikkihapon pitoisuus oli merkittävästi monosakkaridien pitoisuutta suurempi [4–9]. Huomattavaa on myös, että Liun *et al.* [6] tutkimuksessa rikkihappo vaikutti eluoituivan kaikissa kokeissa kokonaan pois kolonnista, kun alle 1 BV:n verran nestettä oli syötetty kolonniin [6]. Sitä vastoin esimerkiksi Matsuuran *et al.* [7] kokeissa rikkihappo ei ollut vielä saavuttanut edes maksimipitoisuuttaan 1 BV:n kohdalla. Tämä voi toki johtua Matsuuran *et al.* [7] käyttämästä suuremmasta kolonnin latauksesta (0,28–0,29 BV).

5.3 Tekniikoiden vertailu

Kuten edellisissä luvuissa esitellyistä tutkimustuloksista voidaan nähdä, sekä elektrolyytiteiekskluusio- että happoretardaatiotekniikalla voidaan saavuttaa korkeita, yli 90 %:n rikkihappo- ja monosakkaridisaantoja [4–9]. Komponentin korkea saanto ei kuitenkaan aina tarkoita, että erotus olisi tehokas tai taloudellinen. Esimerkiksi Anderson *et al.* [24] tutkimassa glyserolin ja rikkihapon erotuksessa on mahdollista saavuttaa 100 %:n saanto ja puhtaus molemmille komponenteille, mutta erotus ei silti olisi tehokas tai taloudellisesti kannattava. Kyseinen erotus vaatii suuren määrän eluenttia (12,5 BV) ennen kuin kaikki rikkihappo on saatu talteen. Suuri eluutin kulutus nostaa kustannuksia ja hidastaa erotusprosessia, sillä rikkihapon talteenottoon kuluu runsaasti aikaa, eikä uutta pulssia voida syöttää ennen kuin kaikki rikkihappo on saatu talteen. Näin ollen prosessin tuottavuus on heikko.

Tuottavuus on tärkeä luku käytännön sovellusten kannalta [4,9], sillä se kuvaa kromatografisesta erotuksesta saatavaa todellista tuottevirtaa aikayksikköä kohti. Elektrolyyttiekluusion ja happoretardaation vertailu olisikin järkevintä tehdä saannon, puhtauden ja tuottavuuden avulla, mutta valitettavasti edellisissä luvuissa esitellyistä tutkimuksista vain Heinonen ja Sainio [9] ovat määrittäneet kaikki kolme lukua.

Happoretardaation vahvuus verrattuna elektrolyyttiekluusioon on monosakkaridien ja rikkihapon parempi erottuminen toisistaan [6,7,9,25]. Rikkihapon ja glukoosin profiilien välinen ero on jonkin verran suurempi happoretardaatiotekniikassa, mikä voidaan havaita vertailemalla Matsuuran *et al.* [7] ja Heinosen ja Sainion [9] tutkimusten kromatogrammeja. Esimerkiksi Matsuuran *et al.* [7] kokeessa, joissa kolonnin lataus oli 0,28 BV, eluentin virtausnopeus 2 BV/h ja lämpötila 50 °C, glukoosi- ja rikkihappoprofiilit menivät vain osittain päällekkäin ja profiilien huiput olivat selvästi erillään [7]. Heinosen ja Sainion [9] kokeessa, jossa kolonnin lataus oli 0,19 BV, eluentin virtausnopeus 1,5 BV/h ja lämpötila 50 °C, noin puolet glukoosin profiilista jäi rikkihapon profiilin sisään.

Happoretardaation suurin heikkous lignoselluloosapohjaisten happohydrolysaattien fraktioinnissa on rikkihapon taipumus muodostaa pitkä häntä kromatogrammin profiiliinsa [7,8]. Jos rikkihappo yritetään saada kokonaan poistettua kolonnista, johtaa se suureen eluentin kulutukseen ja huonoon tuottavuuteen. Jos taas seuraava hydrolysaattipulssi ajetaan edellisen pulssin hännän päälle, laskee monosakkaridifraktion puhtaus, koska monosakkaridifraktioon jää tällöin rikkihappoa. Myös rikkihapon saanto pienenee. Näin ollen glukoosin ja rikkihapon paremmasta erottumisesta saatava hyöty verrattuna elektrolyyttiekluusioon menetetään. Toisaalta, kuten aiemmin mainittiin, Liu *et al.* [6] eivät havainneet hännän muodostumista rikkihapon profiiliin.

5.4 Tutkittavien tekijöiden valinta

Lignoselluloosapohjaisten happohydrolysaattien fraktiointiin happoretardaatiotekniikalla on käytetty muutamia erilaisia vahvoja anioninvaihtohartseja [6,7,8] ja yhtä snake-cage -tyypin hartseja [7]. Eri hartseja ei kuitenkaan ole systemaattisesti vertailtu samoissa olosuhteissa, eikä hartsin tyypin vaikutusta happohydrolysaattien fraktiointiin ole tutkittu. Myöskään

makrohuokoisten hartsien käyttöä ei ole tutkittu. Lisäksi happoretardaatiotekniikan tuottavuutta monosakkaridien suhteen ei ole esitetty.

Edellä mainittujen puutteiden korjaamiseksi tämän työn kokeellisessa osassa tutkitaan kolmen eri anioninvaihtohartsin ja yhden snake-cage -hartsin toimintaa lignoselluloosapohjaisen väkevähappohydrolysaatin fraktioinnissa happoretardaatiolla. Lisäksi käytetään yhtä vahvaa kationinvaihtohartsia, jonka avulla elektrolyyttieksklusiotekniikkaa verrataan happoretardaatiotekniikkaan. Anioninvaihtohartseilla vertaillaan tyyppin 1 ja 2 hartsien toimintaa happoretardaatiossa sekä verrataan geelityypin hartseja makrohuokoiseen hartsiin. Lisäksi snake-cage -hartsin toimintaa verrataan anioninvaihtohartsien toimintaan. Kahden happoretardaatioon parhaiten soveltuvan hartsin ja yhden kationinvaihtohartsin avulla verrataan happoretardaatio- ja elektrolyyttieksklusiotekniikoita toisiinsa. Lopuksi suoritetaan vielä kokeita suolahappoa sisältävällä hydrolysaatilla hapon vaikutuksen selvittämiseksi. Suolahappoa sisältävällä hydrolysaatilla suoritetaan koe sekä anionin- että kationinvaihtohartsilla.

II KOKEELLINEN OSA

6 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

6.1 Hydrolysaattiliuosten valmistus ja hartsien esikäsittely

Lignoselluloosapohjaista väkevää rikkihappoa sisältävää hydrolysaattia kuvaava synteettistä liuosta valmistettiin noin kaksi litraa kromatografiakokeita varten. Liuoksen koostumus valittiin vertailemalla aikaisemmissa tutkimuksissa [4,7,8] esitettyjä lignoselluloosapohjaisen väkevähappohydrolysaattien koostumuksia. Liuottimena käytettiin puhdistettua vettä ja käytetyt yhdisteet olivat analyysilaatua. Valmistetun liuoksen koostumus on esitetty taulukossa I.

Taulukko I Työssä käytetyn rikkihappoa sisältävää väkevähappohydrolysaattia kuvaavan liuoksen koostumus. Suluissa yhdisteen puhtaus ja valmistaja.

Yhdiste	Pitoisuus, mol/L
Rikkihappo (95–97 %; Merck)	2,42
Glukoosi ($\geq 99,5$ %; Sigma-Aldrich)	0,52
Ksyloosi (≥ 99 %; Sigma-Aldrich)	0,52
Etikkahappo (≥ 99 %; VWR International)	0,09

Taulukon I liuoksen lisäksi valmistettiin 0,5 litraa liuosta, jossa taulukon I liuoksen rikkihappo oli korvattu suolahapolla. Suolahapon pitoisuus valittiin siten, että liuoksen vetyionipitoisuus vastaisi taulukon I liuoksen pitoisuutta. Kyseisen liuoksen koostumus on esitetty taulukossa II.

Taulukko II Työssä käytetyn suolahappoa sisältävää väkevähappohydrolysaattia kuvaavan liuoksen koostumus.

Yhdiste	Pitoisuus, mol/L
Suolahappo (37 %; Merck)	4,80
Glukoosi	0,50
Ksyloosi	0,50
Etikkahappo	0,10

Työssä käytettiin erotusmateriaaleina kolmea eri anioninvaihtohartsia, yhtä snake-cage -hartsia ja yhtä kationinvaihtohartsia. Hartsien ominaisuudet ja valmistajat on esitetty taulukossa III.

Taulukko III Työssä käytettyjen hartsien ominaisuudet ja valmistajat.

Hartsi	Valmistaja	Funktionaalinen ryhmä	Geeli/ Makrohuokoinen	Kosteus (Cl ⁻ / Na ⁺ -muodossa)	Partikkelikoko, μm
Finex AS501GC	Finex Oy	N ⁺ -(CH ₃) ₃	Geeli	45	283*
Finex AS542GC	Finex Oy	(CH ₃) ₂ -N ⁺ -C ₂ H ₄ OH	Geeli	45	375*
Dowex 11A8 Retardation	Dow Chemical Company	N ⁺ -(CH ₃) ₃ / -COOH	Geeli	43–48	50–100
Purolite A520E	Purolite Ltd.	N ⁺ -(CH ₃) ₃	Makrohuokoinen	50–56	300–1200
Finex CS16GC	Finex Oy	SO ₃ ⁻	Geeli	45–50	246*

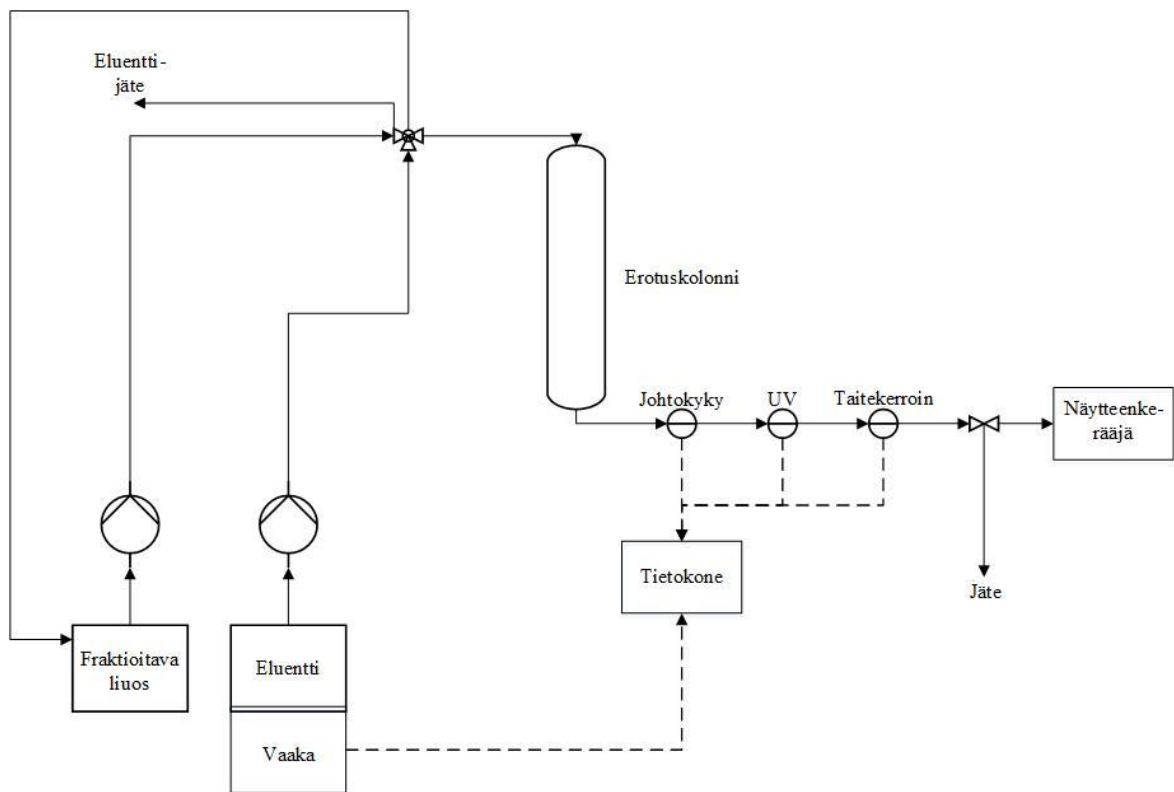
*Keskimääräinen partikkelikoko

Kutakin hartsia käytettiin noin 150 mL. Vahvat anioninvaihtohartsit olivat Cl⁻-muodossa ja ne muutettiin sulfaatti-muotoon johtamalla kylläistä Na₂SO₄-liuosta hartsin läpi. Liuosta johdettiin hartsin läpi noin kymmenen kertaa hartsin tilavuuden verran. Hartsin sulfaatti-muotoon muuttumisen toteamiseksi hartsin läpi tulleen Na₂SO₄-liuoksen johtokyky mitattiin ja sitä verrattiin kyseiselle liuokselle ennen hartsin läpi johtamista mitattuun johtokykyyn (noin 51 mS/cm). Na₂SO₄-liuoksen lisääminen lopetettiin, kun hartsin läpi tulleen liuoksen johtokyky oli sama kuin hartsin läpi syötettävän liuoksen johtokyky.

Snake-cage -hartsi ei periaatteessa vaadi ionimuodon vaihtamista, sillä kuten luvussa 4.3 mainittiin, snake-cage -hartsi ei sisällä vapaita vastaioneja [20,22,28]. Snake-cage -hartsi kuitenkin esikäsiteltiin johtamalla sen läpi noin kymmenen kertaa hartsin tilavuuden (n. 150 mL) verran pitoisuudeltaan 1 M rikkihappoa hartsissa mahdollisesti olevien epäpuhtauksien ja adsorboituneiden ionien ja yhdisteiden poistamiseksi. Vahva kationinvaihtohartsi puolestaan muutettiin H⁺-muotoon johtamalla sen läpi n. 13 kertaa hartsin tilavuuden verran pitoisuudeltaan 2 M suolahappoa. Ionimuodon vaihdon jälkeen kaikki hartsit pestiin runsaalla määrällä (noin 2 L) puhdistettua vettä hartsin läpi jääneen elektrolyyttiliuoksen poistamiseksi.

6.2 Kromatografiakokeissa käytetty laitteisto

Kullakin tutkitulla ioninvaihtohartsilla suoritettiin kokeita panoskromatografialaitteistolla. Laitteisto koostui vaa'asta (4200C SCS; Precisa), kahdesta pumpusta (Azura P 4.1 S; Knauer) ja niiden syöttösäiliöistä, syöttöventtiilistä (7-porttinen MV-7 moottoriventtiili; Pharmacia), termostoidusta lasikolonnista (ECO SR 15/750; Kronlab/YMC Europe), johon ioninvaihtohartsia oli pakattu, online johtokyky- (Conductivity monitor; Pharmacia Biotech), UV- (2487 dual λ absorbance detector; Waters), ja taitekerroindetektoreista (RI-2000; Schambeck) sekä näytteenkerääjästä (LKB FRAC-100; Pharmacia) ja siihen liitetystä venttiilistä (3-porttinen PSV-50 solenoidiventtiili; Pharmacia). Lisäksi kolonniin oli liitetty vesikiertotermostaatti (C6 CS; Lauda), joka kierrätti vettä kolonnin hartsipedin ulkopuolella ja piti kolonnin lämpötilan haluttuna. Pumppujen tuottamaa todellista nesteen virtausnopeutta seurattiin tietokoneeseen kytketyllä vaa'allalla. Vaaka mittasi joko eluentisäiliön tai fraktioitavan liuoksen säiliön massan muutosta, minkä perusteella nesteen tilavuusvirta laskettiin. Laitteistoa ohjattiin ja online-detektorien data kerättiin tietokoneelle käyttäen LabView-ohjelmaa (version 14.0; National Instruments). Laitteiston kaaviokuva on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5 Panoskromatografiakokeissa käytetty laitteisto. Nuolet kuvaavat nesteiden virtauksia ja -suuntia ja katkoviivat informaatiovirtoja.

Kuvan 5 syöttöventtiilin asentoa voitiin muuttaa siten, että joko fraktioitavaa liuosta tai eluenttia syötettiin kolonniin. Kun kolonniin syötettiin eluenttia, venttiili ohjasi fraktioitavan liuoksen takaisin säiliöönsä ja kun kolonniin syötettiin fraktioitavaa liuosta, ohjasi venttiili eluentin viemäriin. Näytteenkerääjää ennen olevalla venttiilillä pystyttiin säätelemään sitä, kuinka kauan kutakin näytettä kerätään. Kun näytettä ei kerätty, ohjasi venttiili detektoreilta tulevan liuoksen jäteastiaan.

Kuvan 5 laitteiston putkien tilavuus ilman kolonnia määritettiin ennen varsinaisia kokeita. Kolonni poistettiin ja normaalisti kolonnin ylä- ja alapäähän tulevat adapterit asetettiin vastakkain. Tämän jälkeen sekä eluenttipumpun että näytepumpun virtausnopeudet säädettiin vaa'an lukemien perusteella arvoon 0,5 mL/min. Laitteiston läpi ajettiin neljä pulssia pitoisuudeltaan 1 M suolahappoa. Yhden suolahappopulssin suuruus oli 0,25 mL ja aika pulssien välissä 11 minuuttia. Detektoreiden signaalien perusteella määritettiin aika, joka kullakin suolahappopulssilta kului kulkeutumiseen syöttösäiliöstä detektorille. Ajan ja virtausnopeuden perusteella puolestaan määritettiin laitteiston putkien tilavuus kullekin detektorille asti. Viimeiseltä detektorilta (taitekerroin) näytteenkerääjälle menevien putkien tilavuus määritettiin siirtämällä johtokyky mittari näytteenkerääjän kohdalle ja ajamalla laitteiston läpi suolahappoa pulsseittain samalla tavalla kuten edellä kuvattiin.

6.3 Panoskromatografiakokeet

Kukin hartsi pakattiin ennen koetta halkaisijaltaan 1,5 cm:n lasikolonniin n. 72–73 cm:n korkuiseksi pediksi, joka puristettiin 70 cm:n korkeuteen. Kolonni asetettiin paikalleen kuvan 5 laitteistoon ja pumppujen virtausnopeudet säädettiin halutun suuruisiksi. Ennen hydrolysaattiliuoksen syöttämistä määritettiin hartsipedin huokoisuus. Määrittäminen tehtiin syöttämällä kolonnin läpi sopivaa näyteliuosta, joka ei vuorovaikuta hartsin kanssa. Näyteliuosta syötettiin kolonniin kolme 0,5 mL:n pulssia 20 minuutin välein eluenttina käytetyn veden virtausnopeuden ollessa 1 mL/min. Kunkin hartsin huokoisuuden määrittämisessä käytetyt liuokset sekä niiden pitoisuudet on esitetty taulukossa IV.

Taulukko IV Hartsien huokoisuuden määrittämiseksi käytetyt yhdisteet ja niiden pitoisuudet käytetyissä liuksissa.

Hartsi	Käytetty yhdiste	Yhdisteen pitoisuus, g/L
Finex AS501GC	Blue Dextran -polymeeri (99 %; Amersham Pharmacia Biotech)	1,5
Finex AS542GC	Na ₂ SO ₄ (99,8 %; VWR International)	65,9
Dowex 11A8 Retardation	Glukoosi	18,1
Purolite A520E	Na ₂ SO ₄	65,9
Finex CS16GC	Blue Dextran-polymeeri	1,5

Eri hartsien huokoisuuksien määrittämiseksi käytettiin erilaisia liuoksia, sillä Blue Dextran -polymeerin havaittiin jäävän kiinni osaan hartseista. Anioninvaihtohartseille voitiin käyttää Na₂SO₄-liuosta, koska hartsit olivat sulfaattimuodossa eikä ioninvaihtoa täten voinut tapahtua. Toisaalta Na₂SO₄ ei myöskään adsorboidu sulfaattimuodossa olevaan hartsiin luvussa 3.6 kuvatun elektrolyyttiekskluusioliemiön vuoksi. Amfoteeriselle snake-cage -hartseille puolestaan käytettiin glukoosiliuosta, sillä glukoosin havaittiin muilla hartseilla tehtyjen kokeiden perusteella kulkeutuvan hartsin läpi vuorovaikuttamatta sen kanssa. Hartsin huokoisuus laskettiin detektorien signaalien perusteella.

Huokoisuuden määrittämisen jälkeen suoritettiin laitteistolla ajo taulukossa I esitetyllä hydrolysaattiliuksella. Näytteenkerääjä ei ollut käynnissä kokeen alussa, vaan se käynnistettiin vasta, kun detektoreiden signaaleissa havaittiin selkeä muutos. Yhtä näytettä kerättiin 15 sekunnin ajan ja ennen seuraavaa näytettä pidettiin tauko, jonka pituus kokeen alussa oli 15 sekuntia ja kokeen loppuvaiheessa 105 sekuntia. Kunkin kokeen näytteistä valittiin analysoitavaksi n. 30 näytettä. Valinta tehtiin taitekerroin- ja johtokykydetektorien signaalien perusteella siten, että näytteitä valittiin niistä kohdista, joissa detektorien signaaleissa näkyi selkeää muutosta.

Kullakin hartsiin suoritettiin ensin yksi koe, jossa eluentin virtausnopeus oli 2 BV/h ja kolonnin lataus 0,10 BV. Kolonnin lämpötila oli kaikissa työssä suoritetuissa kokeissa 50 °C. Snake-cage -hartsiin (Dowex 11A8 Retardation) suoritettiin koe myös kahdella muulla kolonnin latauksella (0,15 BV ja 0,25 BV). Kationinvaihtohartsiin (Finex CS16GC) ja tyypin 2 anioninvaihtohartsiin (Finex AS542GC) suoritettiin lisäksi koe käyttäen fraktioitavana liuksena taulukon II suolahappoa sisältävää liuosta. Suolahappoa sisältävällä liuksella

suoritetuissa kokeissa eluentin virtausnopeus oli 2 BV/h ja kolonnin lataus 0,10 BV. Lopuksi suoritettiin koe tyypin 2 anioninvaihtohartsilla käyttäen eluenttina pitoisuudeltaan 0,4 M natriumsulfaatin vesiliuosta. Kolonnin lataus kyseissä kokeessa oli 0,10 BV ja eluentin virtausnopeus 2 BV/h. Kukin panoskromatografiakoe suoritettiin vain kerran, minkä vuoksi numerista virhearviota ei määritetty.

6.4 Näytteiden analysointi

Panoskromatografiakokeista kerätyistä näytteistä määritettiin rikkihapon, etikkahapon, ksyloosin ja glukoosin konsentraatiot. Etikkahapon, ksyloosin ja glukoosin konsentraatiot määritettiin HPLC-laitteella käyttäen erotuskolonnina Metacarb 87H –kolonnia (Varian). HPLC-laitteen (HP Agilent 1100 Series) kalibrointia varten valmistettiin glukoosista, ksyloosista ja etikkahaposta kalibrointiliuoksia, joiden tarkat pitoisuudet olivat tiedossa. HPLC-laitteen taitekykykerroindetektorin kalibrointiliuoksille antamien signaalien perusteella määritettiin kullekin yhdisteelle kalibrointisuora. Kalibrointisuorien avulla puolestaan voitiin määrittää kunkin yhdisteen pitoisuudet panoskromatografiakokeista kerätyissä näytteissä. Kalibrointi- ja näyteliuosten analysoinnissa käytettiin HPLC-laitteen eluenttina pitoisuudeltaan 0,005 M rikkihappoa. Eluentin virtausnopeus oli 0,6 mL/min, kolonnin lämpötila 60 °C ja injektoitava näytetilavuus 10 µL.

Rikki- ja suolahapon konsentraatiot määritettiin titraamalla. Titrausliuoksena käytettiin pitoisuudeltaan 0,1 M NaOH-liuosta. Titraus suoritettiin automaattititraattorilla (DL25; Mettler Toledo). Titraattori kalibroitiin ennen mittauksia puskuriliuoksilla, joiden pH-arvot olivat 4,00 ja 7,00.

Rikkihapon, etikkahapon, glukoosin ja ksyloosin konsentraatioiden avulla laskettiin kullekin ioninvaihtohartsille monosakkaridien tuottavuus, saanto, puhtaus, rikkihapon saanto sekä eluentin kulutus. Glukoosia ja ksyloosia kohdeltiin yhtenä pseudokomponenttina, sillä ne eluoituivat samankaltaisen molekyyliarakenteensa vuoksi kolonnista käytännössä yhtä aikaa. Edellä mainitut luvut laskettiin kullekin kokeelle kokeen kromatogrammista, jossa yhdisteiden konsentraatiot on esitetty kolonniin syötetyn nestetilavuuden funktiona. Laskennassa käytetyt yhtälöt on esitetty seuraavassa luvussa.

7 KÄYTETYT YHTÄLÖT

Kuvan 5 laitteiston putkien tilavuus kullekin detektorille asti voidaan laskea detektorien signaalien perusteella seuraavalla yhtälöllä:

$$V_{p,i} = V_{\text{piikki},i} - \frac{1}{2} V^{\text{syöttö}} \quad (2)$$

jossa	$V_{p,i}$	putkiston tilavuus detektorille i asti
	$V_{\text{piikki},i}$	detektorin i signaalin huipun kohtaa vastaava laitteistoon syötetty nestetilavuus
	$V^{\text{syöttö}}$	syötetyn näytepulssin tilavuus.

Yhtälön (2) mukaisesti kunkin detektorin signaalin huipun kohtaa vastaavasta tilavuudesta vähennetään puolet syötetyn näytepulssin tilavuudesta, koska signaalin huipun kohta vastaa syötetyn näytepulssin keskipistettä. Näytepulssin keskipiste saapuu kolonniin, kun puolet näytteestä on syötetty, mikä täytyy siis ottaa huomioon laskennassa. Hartsin huokoisuus puolestaan saadaan laskettua detektorien signaalien perusteella, kun tiedetään edellisellä yhtälöllä laskettu laitteiston putkien tilavuus kullekin detektorille asti:

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{piikki},i} - V_{p,i} - \frac{1}{2} V^{\text{syöttö}}}{V_{\text{peti}}} \quad (3)$$

jossa	ε	hartsipedin huokoisuus
	V_{peti}	hartsipedin tilavuus kolonnissa.

Saanto yhdisteelle i (Y_i) voidaan laskea seuraavasti [4]:

$$Y_i = \frac{n_i^{\text{ulos}}}{C_i^{\text{syöttö}} V^{\text{syöttö}}} \quad (4)$$

jossa	n_i^{ulos}	yhdisteen i ainemäärä kolonnista ulostulevassa fraktiossa
	$C_i^{\text{syöttö}}$	yhdisteen i konsentraatio kolonniin syötettävässä pulssissa.

Puhtaus yhdisteelle i (Pu_i) puolestaan voidaan laskea jakamalla tuotefraktioon kerättävän yhdisteen i ainemäärä kaikkien yhdisteiden ainemäärällä kyseisessä fraktiossa [4]:

$$Pu_i = \frac{n_i^{\text{ulos}}}{\sum_j n_j^{\text{ulos}}} \quad (5)$$

jossa $\sum_j n_j^{\text{ulos}}$ kaikkien yhdisteiden yhteenlaskettu ainemäärä kolonnista ulostulevassa fraktiossa.

Yhtälöissä (2)–(5) tarvittavat ainemäärät saadaan laskettua kromatogrammista, jossa yhdisteen konsentraatio on esitetty kolonniin syötetyn nestetilavuuden funktiona. Kunkin yhdisteen ainemäärä tietyllä syötetyllä nestetilavuudella saadaan yhdisteen profiilin pinta-alana kyseiseen tilavuuteen asti. Pinta-ala lasketaan sovittamalla mitattuihin konsentraatioihin käyrä ja laskemalla käyrän alle jäävä pinta-ala. Käyrän sovitus voidaan tehdä MATLAB-ohjelman csaps- ja fnxtr -funktioilla ja pinta-ala laskea saman ohjelman trapz-funktiolla. Yhdisteen i ainemäärälle voidaan siis kirjoittaa yhtälö

$$n_i^{\text{ulos}} = \int_{V_{i,s}}^{V_{i,e}} C_i(V) dV \quad (6)$$

jossa $V_{i,s}$ kolonniin syötetty nestetilavuus fraktion keräyksen aloitushetkellä
 $V_{i,e}$ kolonniin syötetty nestetilavuus fraktion keräyksen lopetushetkellä.

Kromatografisen erotuksen tuottavuus monosakkaridien suhteen (Pr_{sokeri}) aikaa ja hartsipedin tilavuutta kohti voidaan laskea seuraavasti [4]:

$$Pr_{\text{sokeri}} = \frac{n_i^{\text{ulos}}}{(1 - \varepsilon)V_{\text{peti}}t_{\text{sykli}}} \quad (7)$$

jossa t_{sykli} yhden syklin pituus.

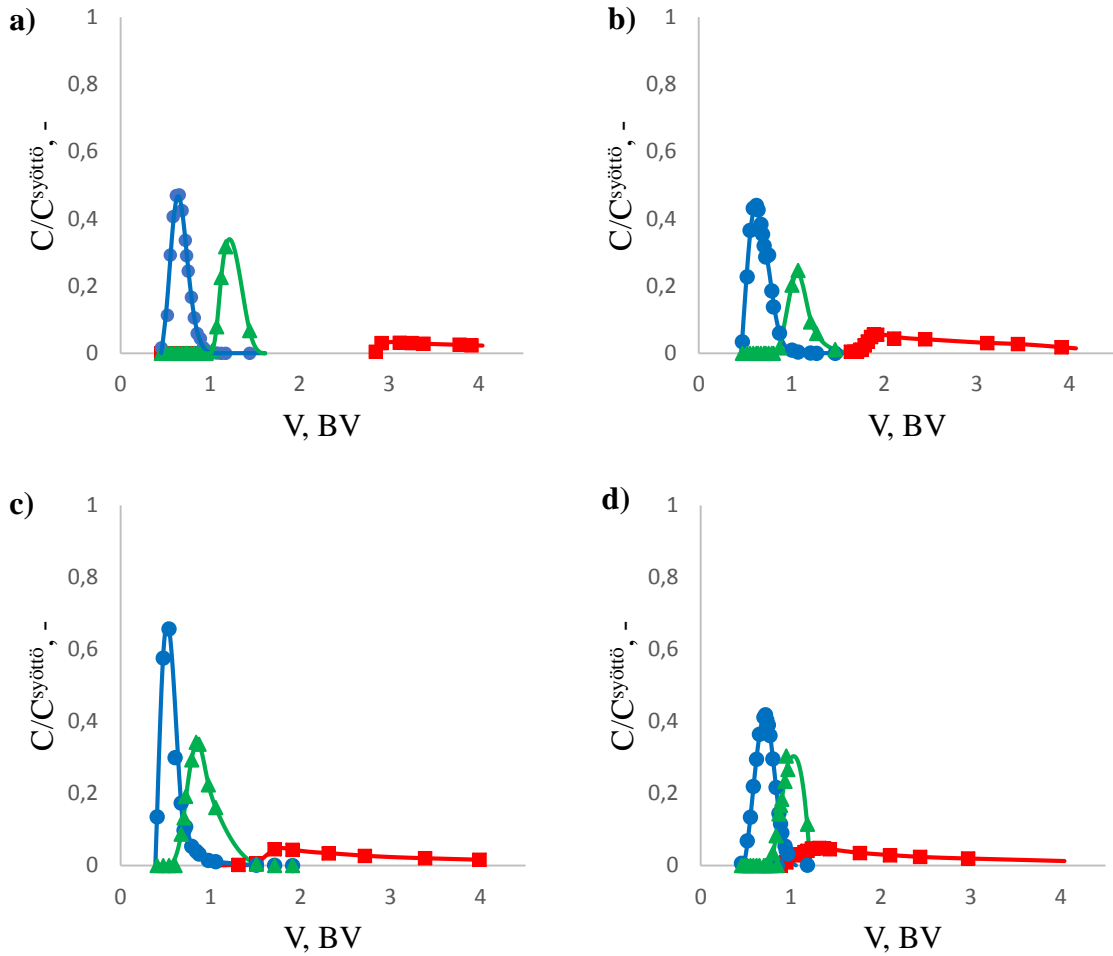
Yhden syklin pituus saadaan kromatogrammista valitsemalla syklin alkuhetkeksi piste, jossa erotettavia yhdisteitä alkaa tulla ulos kolonnista, ja loppuhetkeksi piste, jolloin kolonniin voidaan syöttää uusi näytepulssi. Loppuhetki saadaan laskettua puhtaus- ja saantovaatimusten perusteella. Eluentin kulutus (EC , engl. eluent consumption) puolestaan voidaan laskea seuraavasti [4]:

$$EC = \frac{t_{\text{sykli}} \dot{V} - V^{\text{syöttö}}}{n_i^{\text{ulos}}} \quad (8)$$

jossa \dot{V} eluentin virtausnopeus.

8 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Kuvassa 6 on esitetty rikkihapon, monosakkaridien ja etikkahapon panoskromatografiako-keiden aikana mitatut konsentraatiot sekä niihin sovitetut käyrät hartseilla, joiden erotus perustuu happoretardaatioon (Finex AS501GC, Finex AS542GC, Dowex 11A8 Retardation ja Purolite A520 E).



Kuva 6 Rikkihapon (■), etikkahapon (▲) ja monosakkaridien (●) mitatut konsentraatiot sekä mittaustuloksiin sovitetut käyrät (viivat) panskromatografiakoikeissa. Kuvaajien hartsit olivat seuraavat: a) Finex AS501GC b) Finex AS542GC, c) Dowex 11A8 Retardation, d) Purolite A520 E. Koeolosuhteet: $V_{\text{peti}} = 122,8\text{--}123,7 \text{ mL}$, $\dot{V} = 2 \text{ BV/h}$, lataus = 0,10 BV, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$.

Monosakkaridit eluoutuivat kaikilla anioninvaihtohartseilla ensimmäisenä ulos kolonnista luvussa 3.4 mainitun kokoekskluusion vuoksi (kuva 6). Etikkahappo puolestaan pystyi pienempänä molekyylinä adsorboitumaan hartsiin ja näin ollen se eluutui kaikilla hartseilla kolonnista hitaammin kuin monosakkaridit. Luvussa 3.6 esitelty elektrolyyttiekskluusio ei vaikuttanut etikkahappoon, sillä suuren rikkihappopitoisuuden vuoksi etikkahappo oli käytännössä kokonaan assosioituneessa muodossa.

Kaikilla anioninvaihtohartseilla rikkihapon profiiliin muodostui pitkä häntä (kuva 6), minkä vuoksi rikkihapon poistamiseen kolonnista tarvittiin suuri määrä eluentia (noin 6–10 BV

hartsista riippuen). Rikkihapon profiilit vastasivat muuten toisiaan, mutta tyypin 2 anioninvaihtohartsilla (Finex AS542GC; kuva 6b) rikkihapon maksimikonsentraatio vaikutti olevan hieman suurempi (5,5 % syöttökonsentraatiosta) ja rikkihapon häntä lyhyempi kuin muilla hartseilla. Koska kyseisen hartsin kohdalla rikkihapolle mitatuissa konsentraatioissa eri mitauspisteiden välillä oli kuitenkin jonkin verran hajontaa, ei voida tarkasti sanoa, onko häntä todellisuudessa lyhyempi tai rikkihapon konsentraatio sen alueella pienempi kuin muilla hartseilla. Hajonta johtui siitä, että kyseisen kokeen titrattavien näytteiden siirtoon käytetyn tarkkuuspipetin kärki ei ollut täysin sopiva pipettiin, minkä vuoksi näytteiden tilavuus vaihteli hieman. Merkittävää eroa hännässä ei kuitenkaan ollut, ja rikkihapon poistamiseen kolonnista tarvittaisiin tässäkin tapauksessa suuria määriä eluenttia (yli 6 BV). Todellisuudessa häntä oli todennäköisesti muita hartseja vastaava.

Rikkihapon profiilit vastasivat Anderson *et al.* [25] tutkimuksessa saamaa profiilia rikkihapolle. Koska rikkihapo poistui hitaasti kolonnista, oli sen maksimikonsentraatio kolonnin ulostulossa erittäin pieni (alle 10 %) verrattuna syöttökonsentraatioon. Jos rikkihapo kierretettäisiin takaisin hydrolyysivaiheeseen, täytyisi siitä siis poistaa runsaasti vettä ennen sen uudelleenkäyttöä hydrolyysissä.

Tyypin 2 anioninvaihtohartsilla (Finex AS542GC; kuva 6b) rikkihappoa alkoi tulla ulos kolonnista noin 1,1 BV:a aiemmin kuin tyypin 1 anioninvaihtohartsilla (Finex AS501GC; kuva 6a). Lisäksi rikkihapon maksimikonsentraatio (5,5 % syöttökonsentraatiosta) oli hieman suurempi kuin tyypin 1 hartseilla (3,3 % syöttökonsentraatiosta). Etikkahapon profiili oli tyypin 2 hartseilla hieman leveämpi ja meni osittain päällekkäin monosakkaridien profiilin kanssa. Tyypin 1 hartseilla etikkahappo sen sijaan erottui käytännössä täydellisesti monosakkarideista käytetyllä kolonnin latausasteella. Taulukon III mukaan kyseiset hartsit erosivat toisistaan kiinteän varausryhmän ja partikkelikoon osalta. Tyypin 2 hartsin 92 µm suurempi keskimääräinen partikkelikoko aiheutti todennäköisesti etikkahapon profiilin leventymisen, sillä yhdisteiden diffuusio hartsin ja liuosfaasin välillä hidastuu partikkelikoon kasvaessa. Rikkihapon nopeampaan eluoitumiseen on voinut vaikuttaa myös tyypin 2 hartsin heikompi emäksisyys [20] verrattuna tyypin 1 hartsiin.

Sekä geelityyppisen (Finex AS501GC) että makrohuokoisen (Purolite A520 E) tyypin 1 vahvan anioninvaihtohartsin tapauksessa monosakkaridien ja etikkahapon profiilit ja maksimikonsentraatiot vastasivat toisiaan (kuvat 6a ja 6d). Sen sijaan makrohuokoisella hartsilla rikkihappoa alkoi tulla huomattavasti (noin 1,9 BV:a) aiemmin ulos kolonnista kuin geelityypin hartsilla. Myös rikkihapon maksimikonsentraatio oli makrohuokoisella hartsilla hieman suurempi (4,8 % syöttökonsentraatiosta) kuin geelityypin hartsilla (3,3 % syöttökonsentraatiosta). Rikkihappo ei siis tarttunut makrohuokoiseen hartsiin yhtä voimakkaasti kuin geelityyppiseen hartsiin. Tämä johtui makrohuokoisen hartsin pienemmästä ioninvaihtokapasiteetista [22] ja suuremmasta huokoskoosta [20,22].

Tulosten perusteella on selvää, että happoretardaatiotekniikan suurin ongelma on hännän muodostuminen rikkihapon profiiliin ja siitä johtuva hapon laimeneminen. Kuten jo aiemmin todettiin, häntää ei kuitenkaan muodostunut Liun *et al.* [6] tutkimuksessa. Kyseisessä tutkimuksessa käytettiin tyypin 2 vahvaa anioninvaihtohartsia [6]. Kuitenkin kuvasta 6b nähdään, että myös tyypin 2 hartsin (Finex AS542GC) rikkihapon profiilissa esiintyi muita hartseja vastaava häntä. Syy profiilien muotojen eroon tämän tutkimuksen ja Liun *et al.* [6] tutkimuksen välillä ei ole selvä.

Snake-cage -tyyppisellä Dowex 11A8 Retardation -hartsilla rikkihapon profiilissa oli muita hartseja vastaava pitkä häntä (kuva 6c). Rikkihapon maksimikonsentraatio (4,3 % syöttökonsentraatiosta) oli hieman pienempi kuin Finex AS542GC -hartsilla (5,5 % syöttökonsentraatiosta), mutta hieman korkeampi kuin Finex AS501GC-hartsilla (3,3 % syöttökonsentraatiosta). Snake-cage -hartsin ei siis vaikuttanut kuvan 6 perusteella vähentävän rikkihapon häntäongelmaa.

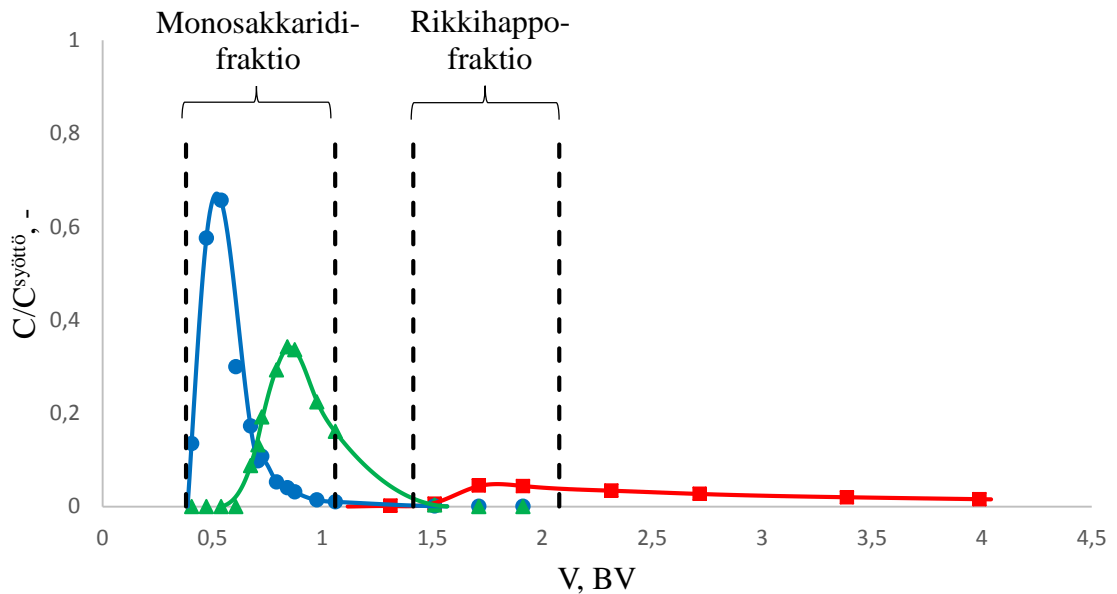
Kuten luvussa 5.2 mainittiin, Matsuuran *et al.* [7] tutkimuksessa snake-cage -hartsin huomattiin kuitenkin lyhentävän rikkihapon häntää merkittävästi. Ero kyseisen tutkimuksen ja tämän tutkimuksen välillä johtuu siitä, että Matsuuran *et al.* [7] tutkimuksessa heidän itse valmistamansa snake-cage -hartsin sisälle polymeroitu polyvastaioni sisälsi sulfonihapporyhmiä, kun taas tässä tutkimuksessa käytetty kaupallisesti saatavilla olevan hartsin polyvastaioni sisälsi karboksyyliryhmiä. Matsuura *et al.* [7] päättelivät negatiivisesti varautuneen sulfonihapporyhmän hylkivän negatiivisesti varautuneita sulfaatti- ja vetysulfaatti-ioneja,

minkä vuoksi rikkihappo ei tarttunut snake-cage -hartsiin yhtä voimakkaasti kuin vahvoihin anioninvaihtohartseihin.

Tässä työssä käytetyn snake-cage -hartsin (Dowex 11A8 Retardation) karboksyyliiryhmät assosioituivat rikkihapon vaikutuksesta, jolloin ne eivät pystyneet hylkimään sulfaatti- tai vetysulfaatti-ioneja. Toisaalta tällöin karboksyyliiryhmät eivät myöskään kumonnut hartsin kiinteitä positiivisia varauksia. Niinpä hartsi toimi käytännössä tavallisen vahvan anioninvaihtohartsin tavoin.

Snake-cage -hartsin (Dowex 11A8 Retardation) etikkahapon profiili (kuva 6c) oli vastaava kuin Finex AS542GC -hartsilla (kuva 6b). Huomattavaa oli kuitenkin monosakkaridien muita hartseja korkeampi maksimikonsentraatio (66 % syöttökonsentraatiosta). Korkeampi maksimikonsentraatio johtui todennäköisesti snake-cage -hartsin polyvastaionista. Vaikka polyvastaionin karboksyyliiryhmät olivat assosioituneet, pystyivät ne silti voimakkaasti poolisina ryhminä sitomaan vettä muodostamalla vetysidoksia veden kanssa. Näin ollen snake-cage -hartsissa oli enemmän sitoutunutta vettä ja vähemmän vapaata vettä kuin vahvoissa anioninvaihtohartseissa. Koska hartsissa oli vain vähän vapaata vettä, ulossuolausilmiö hartsista liikkuvaan faasiin oli monosakkaridien tapauksessa voimakas ja monosakkaridit eivät pystyneet juurikaan adsorboitumaan hartsiin. Lisäksi hartsin sisällä oleva polyvastaioni vei tilaa hartsin huokosista, minkä vuoksi myös kokoekskluusio oli voimakkaampaa kuin vahvoilla anioninvaihtohartseilla.

Saatujen tulosten (kuva 6) perusteella kullekin hartsille laskettiin monosakkaridien saanto, puhtaus ja tuottavuus sekä rikkihapon saanto ja eluentin kulutus. Arvot laskettiin siten, ettei rikkihapon odoteta poistuvan kokonaan kolonnista ennen seuraavaa sykliä, vaan seuraava sykli ajetaan edellisen syklin rikkihapon hännän päälle. Uuden syklin sijoittuminen määräytyi puhtaus ja saantovaatimusten perusteella siten, että monosakkaridien puhtaus oli halutun suuruinen seuraavassa syklissä. Rikkihappofraktion keräys laskettiin pysäytettäväksi silloin, kun uuden syklin monosakkaridiprofiili alkaa tulla ulos kolonnista. Kuvassa 7 on havainnollistettu, kuinka pitkään monosakkaridi- ja rikkihappofraktioita kerätään ja mistä kohtaa seuraava sykli alkaa. Fraktioiden rajat on määritetty monosakkaridien 95 %:n saanto- ja 80 %:n puhtausvaatimuksen perusteella.



Kuva 7 Dowex 11A8 Retardation -hartsilla suoritetun panoskromatografiakokeen kromatogrammi. Katkoviiivat kuvaavat eri tuotefraktioiden rajoja. Monosakkaridien saantovaatimus oli 95 % ja puhtausvaatimus 80 %. Koeolosuhteet ja symbolit: ks. kuva 6.

Kuvassa 7 uusi sykli sijoittuisi siis alkamaan siten, että monosakkaridit eluotuisivat välittömästi rikkihappofraktion keräyksen loppumisen jälkeen. Monosakkaridien puhtausvaatimus vaikuttaa merkittävästi monosakkaridien tuottavuuteen, eluentin kulutukseen ja rikkihapon saantoon. Puhtausvaatimuksen vaikutusta edellä mainittuihin lukuihin tutkittiin laskemalla kyseiset arvot toisella puhtausvaatimuksella (90 %). Taulukossa V on esitetty kunkin hartsin erotustehokkuutta kuvaavat luvut sekä 80 %:n että 90 %:n monosakkaridien puhtausvaatimuksella.

Taulukko V Monosakkaridien saanto, tuottavuus ja puhtaus sekä eluentin kulutus ja rikkihapon saanto kuvan 6 kokeissa. Monosakkaridien puhtausvaatimus oli 80 % / 90 % ja saantovaatimus 95 %. Koeolosuhteet: ks. kuva 6.

Hartsi	Y_{sokeri} , %	$Y_{\text{H}_2\text{SO}_4}$, %	Pr_{sokeri} , mol/m ³ h	Pu_{sokeri} , %	EC , L/mol
Finex AS501GC	95,3/ 95,3	5,9/ 46,2	139,3/ 84,5	82,4/ 90,1	23,7/ 39,7
Finex AS542GC	94,9/ 94,9	41,7/ 75,2	159,1/ 103,4	80,5/ 90,4	20,9/ 32,8
Dowex 11A8 Retardation	95,1/ 95,1	21,8/ 70,5	211,5/ 94,4	80,0/ 89,9	15,5/ 36,0
Purolite A520E	94,9/ 94,9	30,9/ 73,3	409,4/ 157,0	80,5/ 90,2	10,8/ 29,8

Taulukosta V nähdään rikkihapon saannon olevan kaikilla hartseilla varsin alhainen. Heino-
nen ja Sainio [9] määrittivät, että väkevän rikkihapon katalysoiman lignoselluloosan hyd-
rolyysiprosessin taloudellisuuden kannalta rikkihapon saannon tulisi olla suurempi kuin 90
%. Alhainen rikkihapposaanto johtuu siitä, että seuraava sykli ajetaan kuvan 7 mukaisesti
edellisen syklin rikkihapon hännän päälle. Tällöin vain osa rikkihaposta saadaan talteen.
Taulukon V mukaan rikkihapon saanto on erityisen pieni tyypin 1 vahvalla anioninvaihto-
hartsilla (Finex AS501GC), mikä johtuu rikkihapon suuresta laimenemisestä (kuva 6a). Näin
ollen uusi sykli voidaan ajaa rikkihapon profiilin päälle siten, että se alkaa lähes välittömästi
sen jälkeen, kun rikkihappo on saavuttanut maksimikonsentraationsa. Näin ollen rikkihap-
pofraktiota kerätään vain pieni tilavuus (noin 0,2 BV) ja rikkihapon saanto jää alhaiseksi.

Taulukon V mukaan tyypin 2 hartsilla (Finex AS542GC) rikkihapon saanto on puolestaan
noin seitsemän kertaa suurempi kuin tyypin 1 hartsilla (Finex AS501GC), mikä johtuu rik-
kihapon suuremmasta maksimikonsentraatiosta (5,5 % syöttökonsentraatiosta). Toisaalta
tuottavuus on myös suurempi tyypin 2 hartsilla, sillä rikkihappo tulee ulos kolonnista aiem-
min kuin tyypin 1 hartsilla. Tällöin syklin pituus on hieman lyhyempi (noin 8 min lyhyempi),
minkä vuoksi tiettyä aikaa voidaan ajaa useampia syklejä, mikä puolestaan nostaa tuotta-
vuutta. Lyhyemmän syklin pituuden vuoksi myös eluentin kulutus on tyypin 2 hartsilla pie-
nempi kuin tyypin 1 hartsilla.

Snake-cage -tyypin hartsin (Dowex 11A8 Retardation) tapauksessa rikkihapon saanto on pienempi kuin tyypin 2 vahvalla anioninvaihtohartsilla (Finex AS542GC), mutta monosakkaridien tuottavuus on suurempi ja eluentin kulutus pienempi (taulukko V). Tämä johtuu jälleen lyhyemmästä syklin pituudesta (16 min lyhyempi) verrattuna tyypin 2 vahvaan anioninvaihtohartsiin (Finex AS542GC). Lyhyempi syklin pituus on seurausta kapeammasta monosakkaridien profiilista, minkä vuoksi monosakkaridien pitoisuus monosakkaridifraktiossa on suurempi (66 % syöttökonsentraatiosta) ja fraktion tilavuus pienempi. Koska monosakkaridifraktion tilavuus on pienempi, voidaan se ajaa suuremman rikkihappokonsentraation päälle, eli lähemmäksi rikkihapon profiilin alkua kuin tyypin 2 vahvalla anioninvaihtohartsilla (Finex AS542GC).

Taulukon V mukaan makrohuokoisen Purolite A520E -hartsin tapauksessa rikkihapon saanto on pienempi kuin tyypin 2 hartsilla (Finex AS542GC), mutta suurempi kuin snake-cage -hartsilla (Dowex 11A8 Retardation). Huomattavaa on kuitenkin lähes kaksinkertainen tuottavuus verrattuna snake-cage -hartsiin. Myös eluentin kulutus on makrohuokoisella hartsilla (Purolite A520 E) hieman pienempi. Suurempi tuottavuus ja pienempi eluentin kulutus johtuvat tässäkin tapauksessa lyhyemmästä syklin pituudesta. Syklin pituus on lyhin tutkituista hartseista ja on noin 14 min lyhyempi kuin Dowex 11A8 Retardation -hartsilla. Lyhin syklin pituus johtuu siitä, että rikkihappo tulee kolonnista ulos perusteella nopeimmin (kuva 6d). Koska rikkihapon pitoisuus on makrohuokoisenkin hartsin (Purolite A520 E) kohdalla pieni (4,5 % syöttökonsentraatiosta), voidaan seuraava pulssi syöttää kolonniin nopeammin edellisen jälkeen.

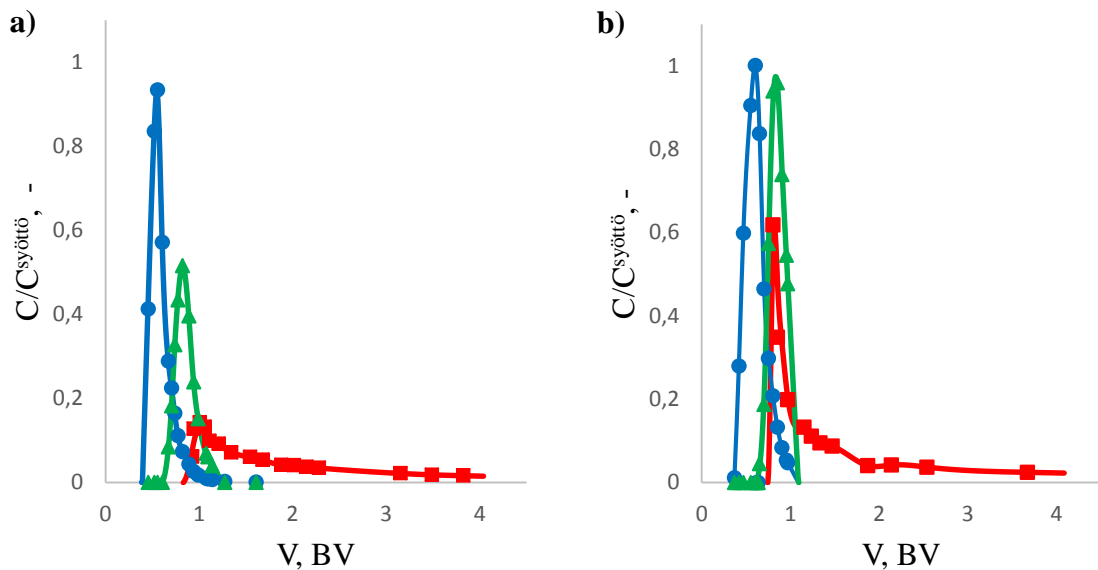
Rikkihapon saanto kasvaa kaikkien hartsiin kohdalla monosakkaridien puhtausvaatimuksen kasvaessa (taulukko V). Tämä on seurausta siitä, että uusi sykli voidaan aloittaa 90 %:n puhtausvaatimuksella myöhemmin kuin 80 %:n puhtausvaatimuksella. Tällöin siis rikkihappofraktiota kerätään pidemmän aikaa, jolloin suurempi osa rikkihaposta saadaan talteen.

Monosakkaridien tuottavuus oli kaikilla hartseilla pienempi ja eluentin kulutus suurempi 90 %:n saantovaatimuksella kuin 80 %:n saantovaatimuksella (taulukko V). Tämä johtuu syklin pituuden kasvusta. Taulukon V mukaan 90 %:n puhtausvaatimuksella snake-cage -hartsin (Dowex 11A8 Retardation) tuottavuus oli pienempi ja eluentin kulutus suurempi kuin tyypin

2 hartsilla (Finex AS542GC). Sen sijaan 80 %:n puhtausvaatimuksella tyypin 2 hartsin tuottavuus oli pienempi ja eluentin kulutus suurempi. Tämä johtuu siitä, että 90 %:n puhtausvaatimuksella tyypin 2 hartsin syklin pituus oli lyhyempi kuin snake-cage -hartsin (noin 9 min lyhyempi) kun taas 80 %:n puhtausvaatimuksella snake-cage -hartsin syklin pituus oli lyhyempi. Tämä puolestaan johtuu siitä, että kuten kuvan 6 yhteydessä mainittiin, tyypin 2 hartsin tapauksessa rikkihapon mittauspisteissä oli hajontaa, minkä vuoksi rikkihapon profiilin häntä vaikutti lyhyemmältä kuin snake-cage -hartsilla. Todellisuudessa hännät kuitenkin ovat todennäköisesti yhtenevät.

Makrohuokoinen Purolite A520 E vaikuttaa parhaalta hartsilta, koska sille lasketut monosakkaridien tuottavuudet olivat suurimpia ja eluentin kulutukset pienimpiä kummallakin puhtausvaatimuksella (taulukko V). Rikkihapon saanto puolestaan oli toiseksi korkein. Kuvan 6 yhteydessä kuitenkin mainittiin, että latauksen kasvaessa rikkihapon profiili todennäköisesti siirtyy entistä lähemmäksi monosakkaridien profiilia, jolloin monosakkaridien puhtaus pienenee. Toiseksi paras hartsi oli snake-cage -tyyppinen Dowex 11A8 Retardation, kun otetaan huomioon edellä mainittu hajonta tyypin 2 hartsin (Finex AS542GC) kokeen rikkihapolle mitatuissa konsentraatioissa. Snake-cage -hartsilla on mahdollista kasvattaa kolonnin latausta, sillä rikkihappo erottui lähes täydellisesti muista yhdisteistä (kuva 6c). Näin ollen snake-cage -hartsi toimii todennäköisesti korkeammilla latauksilla parhaiten tutkituista hartsista.

Matsuuran *et al.* [7] tutkimuksessa havaittiin kuvassa 6 esitettyjä kokeita vastaava häntä rikkihapon profiilissa, mutta rikkihapon maksimikonsentraatio oli huomattavasti suurempi (54–77 % syöttökonsentraatiosta). Kyseisessä tutkimuksessa käytetty kolonnin lataus oli suurempi (0,28–0,29 BV) [7]. Kun lataus on pieni, lähes kaikki rikkihappo sitoutuu hartsiin sen muuttuessa kuvan 3 mukaisesti bisulfaattimuotoon. Kun taas lataus on suurempi, eli rikkihappoa on kolonnissa enemmän, vain osa haposta kuluu hartsin muuttamiseen bisulfaattimuotoon. Tällöin loppuosa haposta adsorboituu bisulfaattimuodossa olevaan hartsiin, mitä Hatch ja Dillon [24] nimittivät varsinaiseksi happoretardaatioksi. Koska happo vain adsorboituu hartsiin, eikä sitoudu hartsin ionimuodon vaihtoon, desorboituu happo myös helpommin hartsista. Tämän vuoksi happo ei korkeammilla latauksilla laimene yhtä paljon kuin pienillä latauksilla. Latauksen vaikutuksen tutkimiseksi suoritettiin kokeita suuremmilla latausasteilla: 0,15 ja 0,25 BV Dowex 11A8 Retardation -hartsilla (kuva 8).



Kuva 8 Dowex 11A8 Retardation -hartsilla suoritettujen panoskromatografiakokeiden kromatogrammit. Kolonnin lataus: a) 0,15 BV ja b) 0,25 BV. Muut koeolosuhteet ja symbolit: ks. kuva 6.

Latauksen kasvaessa kaikkien yhdisteiden maksimikonsentraatiot kasvoivat (kuva 8). Eri-tyisen merkittävää kasvu oli rikkihapolla, sillä sen konsentraatio lähes nelinkertaistui 0,25 BV:n latauksella 0,15 BV:n lataukseen verrattuna. Kuten edellä mainittiin, tämä johtui siitä, että osa haposta vain adsorboitui bisulfaattimuodossa olevaan hartsiin. Muiden yhdisteiden kasvaneet maksimikonsentraatiot puolestaan johtuivat siitä, että niitä syötettiin kolonniin suurempi määrä. Koska yhdisteiden profiilit eivät leventyneet latauksen kasvaessa, täytyi niiden korkeuden kasvaa, koska syötetty ainemäärä oli suurempi. Suuri rikkihappokonsentraatio ilmeisesti työnsi etikkahappoa ja monosakkarideja pois hartsista.

Suurimmalla latauksella (0,25 BV) monosakkaridien maksimikonsentraatio oli hyvin lähellä kolonniin syötetyn liuoksen konsentraatiota (kuva 8b). Todellinen maksimikonsentraatio voi kuitenkin todellisuudessa olla jopa suurempi johtuen analyysivirheistä. HPLC:n taitekerroinsignaalin perusteella vaikutti siltä, että näytteiden monosakkaridipitoisuus oli suurempi kuin korkein pitoisuus, joka detektorilla on mahdollista määrittää ja signaali oli saturoitunut. Myös etikkahapon maksimikonsentraatio oli melko lähellä syötettävän liuoksen konsentraatiota (96 % syöttökonsentraatiosta) (kuva 8b).

Taulukossa VI on esitetty snake-cage -hartsilla (Dowex 11A8 Retardation) eri latauksilla suoritetuista kokeista lasketut erotustehokkuutta kuvaavat luvut. Monosakkaridien puhtausvaatimus oli 80 % ja saantovaatimus 90 %. Saantovaatimus valittiin pienemmäksi kuin aiemmin, sillä suurimmalla latauksella (0,25 BV) ei ollut mahdollista saavuttaa 95 %:n saantoa 80 %:n puhtausvaatimuksella. Toisaalta 90 %:n saantovaatimuksella ei pienimmällä latauksella (0,10 BV) voitu saavuttaa 81 %:a pienempää puhtautta.

Taulukko VI Monosakkaridien saanto, tuottavuus ja puhtaus sekä eluentin kulutus ja rikkihapon saanto Dowex 11A8 Retardation -hartsilla eri kolonnin latausasteilla. Monosakkaridien puhtausvaatimus oli 80 % ja saantovaatimus 90 %. Muut koeolosuhteet: ks. kuva 6.

Lataus, BV	Y_{sokeri}, %	$Y_{\text{H}_2\text{SO}_4}$, %	Pr_{sokeri}, mol/m³h	Pu_{sokeri}, %	EC, L/mol
0,10	90,0	7,3	251,0	81,1	12,9
0,15	90,2	36,1	514,8	79,9	6,2
0,25	90,0	58,9	731,9	80,4	3,7

Taulukosta VI nähdään rikkihapon saannon ja tuottavuuden monosakkaridien suhteen kasvavan sekä eluentin kulutuksen pienenenevän latauksen kasvaessa. Näin ollen erotusprosessin tehokkuus ja taloudellisuus paranevat latauksen kasvaessa, sillä suurempi osa rikkihaposta saadaan talteen, monosakkarideja tuotetaan enemmän ja eluenttia kuluu vähemmän tuotettua monosakkaridimäärää kohti. Tuottavuuden kasvaminen ja eluentin kulutuksen väheneminen johtuvat siitä, että suuremmalla latauksella kolonniin syötetään yhden syklin aikana enemmän monosakkarideja, jolloin niitä myös saadaan talteen suurempi ainemäärä kolonnin ulostulosta. Toisaalta tutkitulla hartsilla havaitun monosakkaridien maksimikonsentraation kasvamisen vuoksi syklin pituus lyhenee latauksen kasvaessa. Suurimmalla käytetyllä latauksella (0,25 BV) syklin pituus oli noin 6 minuuttia lyhyempi kuin pienimmällä latauksella (0,10 BV).

Latauksen edelleen kasvaessa puhtaus tulisi laskemaan saantovaatimuksen pysyessä vakiona, koska rikkihapon profiili siirtyisi lähemmäksi monosakkaridien profiilia. Myös rikkihapon maksimikonsentraatio todennäköisesti kasvaisi, minkä vuoksi rikkihappoa päätyisi enemmän monosakkaridifraktioon. Näin ollen latausta ei voida kasvattaa loputtomasti. Latausta ei optimoitu tässä työssä. Happoretardaatiotekniikan voidaan kuitenkin todeta toimivan parhaiten korkeimmalla (0,25 BV) kolonnin latauksella Dowex 11A8:lla (taulukko VI).

Kolonnin lataus ei vaikuttanut rikkihapon häntimiseen (kuvat 7 ja 8) Toisaalta rikkihapon profiiliin muodostuu samankaltainen pitkä häntä hartsista riippumatta (kuva 6). Hännän muodostumisen on aiemmin [7] ajateltu johtuvan rikkihapon dissosioitumisreaktioista vedessä:



Reaktio (10) on reversiibeli reaktio, jonka tasapainovakion K_a arvo 25 °C:n lämpötilassa on noin $10^{-1,9}$ mol/L [7]. Reaktioiden (9) ja (10) perusteella rikkihapon pitoisuuden pienentyessä, reaktion (10) tasapaino siirtyy oikealle, jolloin sulfaatti-ionien määrä liuoksessa kasvaa. Matsuuran *et al.* [7] mukaan sulfaatti-ionit adsorboituvat hartsiin voimakkaammin kuin bisulfaatti-ionit, koska niiden varaus on suurempi. Näin ollen rikkihapon konsentraation pienentyessä, jää se yhä voimakkaammin kiinni hartsiin, mistä pitkän hännän oletetaan johtuvan [7].

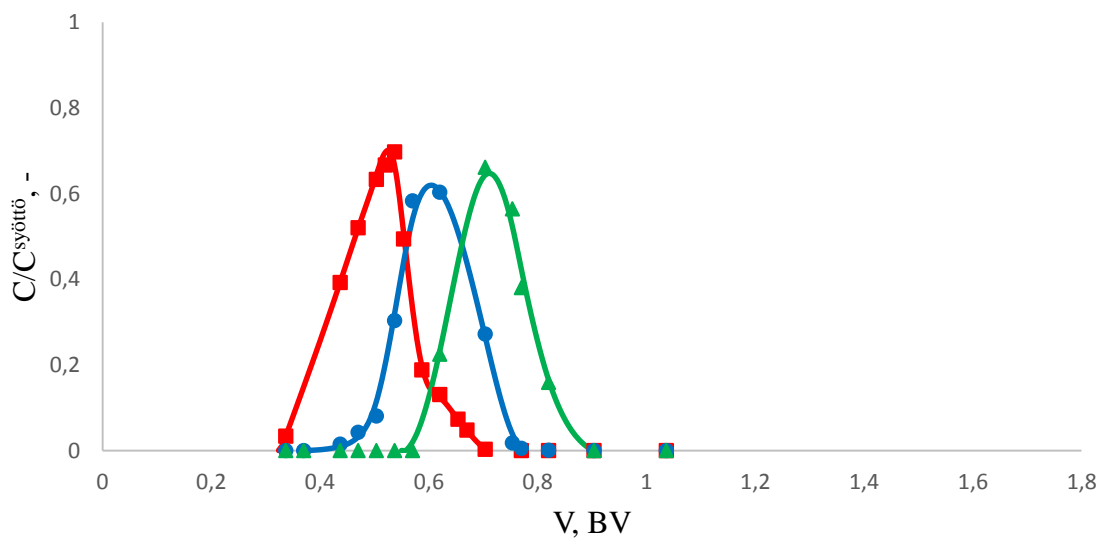
Edellä esitetyn teorian testaamiseksi suoritettiin tyypin 2 anioninvaihtohartsilla (Finex AS542GC) koe käyttäen fraktioitavana liuoksena taulukon II suolahappoa sisältävää hydrolysaattia (kuva 10 liitteessä I). Koska suolahappo on yksiarvoinen vahva happo, ei sen profiilissa pitäisi esiintyä vastaavaa häntää kuin rikkihapolla. Kyseisessä kokeessa havaittiin kuitenkin elektrolyyttiekskluusion olevan hallitseva ilmiö happoretardaation sijaan, minkä vuoksi suolahappo eluoitui kolonnista yhtä aikaa monosakkaridien kanssa. Näin ollen kyseinen koe ei tarjonnut vastauksia rikkihapon häntimisen syihin.

Mikäli rikkihapon häntiminen johtuu hartsin kasvavasta sulfaattipitoisuudesta, pitäisi hännän pienentyä, jos sulfaattipitoisuutta saadaan pienennettyä tai reaktion (10) tasapainoa siirrettyä vasemmalle. Tasapainon siirtyessä vasemmalle protonien konsentraatio pienenee niiden sitoutuessa bisulfaatti-ioniin, jonka pitäisi desorboitua pois hartsista helpommin kuin sulfaatti-ionin [7]. Tasapainon muuttamisen vaikutuksen selvittämiseksi tyypin 2 hartsilla (Finex AS542GC) suoritettiin koe käyttäen eluenttina puhtaan veden sijasta Na_2SO_4 -liuosta (kuva 11 liitteessä I). Eluentin Na_2SO_4 -pitoisuudeksi valittiin 0,4 M, koska Matsuura *et al.*

[7] olivat havainneet rikkihapon hännän alkavan, kun rikkihapon pitoisuus kolonnin ulostulossa laskee juuri kyseiseen arvoon. Kokeen tuloksista kuitenkin havaittiin, ettei eluentin muutos vaikuttanut käytännössä mitenkään rikkihapon, monosakkaridien tai etikkahapon profiileihin, vaan kokeesta saatu kromatogrammi oli samanlainen kuin kuvassa 6b. Kokeen perusteella ei siis voitu vahvistaa rikkihapon häntämisen johtuvan aiemmin kuvatusta sulfaatti-bisulfaattitasapainosta.

Koska kuvan 8 perusteella latauksen kasvattaminen kasvattaa rikkihapon maksimikonsentraatiota ja toisaalta Hatchin ja Dillonin [24] mukaan bisulfaattimuotoinen hartsi toimii parhaiten happoretardaatioissa, olisi mielenkiintoista tutkia, miten natriumvetysulfaatin lisäys eluenttiin vaikuttaa rikkihapon profiiliin. Tällöin hartsi pysyisi bisulfaattimuodossa koko ajan, mutta toisaalta reaktion (10) mukaan eluentti olisi tällöin hieman hapanta, koska bisulfaatti-ioni tuottaa liukeseen protoneja. Natriumvetysulfaatin lisäystä eluenttiin ja sen vaikutusta rikkihapon profiiliin ei kuitenkaan tutkittu tässä työssä.

Elektrolyyttiekskluusio- ja happoretardaatiotekniikoiden vertailemiseksi suoritettiin koe vahvalla kationinvaihtohartsilla (Finex CS16GC), joka oli H^+ -muodossa. Kokeessa käytettiin rikkihappoa sisältävää hydrolysaattia (kuva 9).



Kuva 9 Finex CS16GC -hartsilla suoritettun panoskromatografiakokeen kromatogrammi. Koeolosuhteet ja symbolit: ks. kuva 6.

Elektrolyyttiekskluusiotekniikassa happo eluoitui kolonnista ennen monosakkarideja toisin kuin happoretardaatiotekniikassa (kuva 9). Etikkahappo sen sijaan eluoitui molemmilla tekniikoilla monosakkaridien jälkeen. Rikkihapon maksimikonsentraatio oli jopa 12-kertainen verrattuna happoretardaatiolla saatuihin tuloksiin (kuva 6). Rikkihapon profiilissa ei myöskään esiintynyt häntimistä. Monosakkaridien ja etikkahapon maksimikonsentraatiot olivat myös hieman suurempia (60 ja 66 % syöttökonsentraatiosta) kuin vahvoilla anioninvaihtohartseilla. Ainoastaan snake-cage -hartsilla (Dowex 11A8 Retardation) monosakkaridien maksimikonsentraatio oli hieman suurempi (66 % syöttökonsentraatiosta) kuin kuvan 9 koikeessa. Heinosen [4] havaitsemaa monosakkaridien konsentraation kasvua syöttöliuokseen nähden ei kuitenkaan havaittu. Tämä voi johtua aiemmin mainitusta ongelmasta HPLC-laitteen taitekykydetektorin kanssa, minkä vuoksi monosakkaridien maksimikonsentraatio voi todellisuudessa olla mitattua suurempi. Toisaalta tässä tutkimuksessa käytetty kolonni oli 50 cm pidempi kuin Heinosen [4] tutkimuksessa, minkä vuoksi monosakkaridit laimenivat voimakkaammin. Muuten yhdisteiden profiilit vastasivat aiemmissä elektrolyyttiekskluusiota käsittelevissä tutkimuksissa [4,9] saatuja profiileja.

Monosakkaridit erottuivat kuvan 9 perusteella hieman huonommin muista yhdisteistä kuin happoretardaatiotekniikassa, sillä monosakkaridien profiili meni osittain päällekkäin sekä rikkihapon että etikkahapon profiilien kanssa. Näin ollen monosakkarideille ei ollut mahdollista saavuttaa yhtä korkeaa puhtautta kuin happoretardaatiotekniikalla.

Tekniikoiden vertailemiseksi taulukossa VII on esitetty monosakkaridien tuottavuus, puhtaus ja saanto sekä rikkihapon saanto ja eluentin kulutus molemmilla tekniikoilla suoritetuissa kokeissa. Monosakkaridien puhtausvaatimus oli 73 %. Happoretardaatiotekniikan monosakkaridien saantovaatimus oli 95 %, kun taas elektrolyyttiekskluusiotekniikalle ei asetettu saantovaatimusta johtuen siitä, että elektrolyyttiekskluusiolla (kuva 9) ei ollut mahdollista saavuttaa 73 %:n puhtautta samalla saantovaatimuksella kuin happoretardaatiolla. Toisaalta puhtausvaatimukseksi valittiin 73 %, sillä Finex AS542GC- ja Dowex 11A8 Retardation -hartseilla ei ollut mahdollista saavuttaa pienempää puhtautta 95 %:n saantovaatimuksella.

Taulukko VII Monosakkaridien saanto, tuottavuus ja puhtaus sekä eluentin kulutus ja rikkihapon saanto happoretardaatio- ja elektrolyyttiekskluusiotekniikoilla. Monosakkaridien puhtausvaatimus oli 73 % ja saantovaatimus happoretardaatiotekniikalla 95 %. Koeolosuhteet: ks. kuva 6.

Hartsi	$Y_{\text{sokeri}}, \%$	$Y_{\text{H}_2\text{SO}_4}, \%$	$Pr_{\text{sokeri}}, \text{mol/m}^3\text{h}$	$Pu_{\text{sokeri}}, \%$	$EC, \text{L/mol}$
Finex AS542GC	94,9	4,7	255,9	73,7	12,6
Dowex 11A8 Retardation	95,1	7,3	265,1	76,7	12,2
Finex CS16GC	37,0	97,2	149,0	73,3	18,1

Monosakkaridien saanto oli kationinvaihtohartsilla (Finex CS16GC) huomattavasti pienempi (noin 40 %) kuin muilla hartseilla (taulukko VII). Tämä johtui monosakkaridien ja muiden yhdisteiden heikommasta erottuvuudesta. Alhaisen saannon vuoksi suurta osaa monosakkarideista ei saada elektrolyyttiekskluusiolla talteen, mikä heikentää hydrolyysiprosessin taloudellisuutta.

Monosakkaridien tuottavuus oli kationinvaihtohartsilla hieman yli 100 mol/m³h pienempi kuin muilla hartseilla (taulukko VII). Eluentin kulutus puolestaan oli noin 6 L/mol suurempi. Pienempi tuottavuus ja suurempi eluentin kulutus johtuivat pienemmästä monosakkaridien saannosta, minkä vuoksi yhden syklin aikana elektrolyyttiekskluusiolla saatiin tuotettua vähemmän monosakkarideja kuin happoretardaatiolla. Tuottavuuden ja eluentin kulutuksen eroa pienentää Finex CS16GC-hartsin noin 16 min lyhyempi syklin pituus muihin hartseihin nähden.

Rikkihapon saanto oli Finex CS16GC -hartsilla lähes 20-kertainen verrattuna Finex AS542GC -hartsiin ja noin 14-kertainen verrattuna Dowex 11A8 Retardation -hartsiin (taulukko VII). Suurempi saanto johtui rikkihapon suuremmasta maksimikonsentraatiosta (70 % syöttökonsentraatiosta) sekä rikkihapon kapeammasta profiilista.

Koska elektrolyyttiekskluusiotekniikalla rikkihapon saanto on suurempi ja rikkihappofraktion tilavuus pienempi kuin happoretardaatiotekniikalla, on rikkihapon pitoisuus rikkihappofraktiossa suurempi. Näin ollen rikkihappoa ei tarvitse elektrolyyttiekskluusiolla suorite-

tun erotuksen jälkeen väkevöidä yhtä paljon ennen sen uudelleenkäyttöä kuin happoretardaatiotekniikalla suoritettua erotuksen jälkeen. Kuten aiemmin mainittiin, rikkihapon väkevöiminen on kallista [4,9], minkä vuoksi vähäisempi väkevöimisen tarve elektrolyyttiekskluusiotekniikassa riittää todennäköisesti selvästi kumoamaan pienemmän monosakkaridien tuottavuuden ja saannon happoretardaatioon nähden. Näin ollen monosakkaridien ja rikkihapon erotus lignoselluloosapohjaisista väkevähappohydrolysaateista on taloudellisesti kannattavampaa tehdä elektrolyyttiekskluusio- kuin happoretardaatiotekniikalla. Taloudellisuus- tai kannattavuuslaskemia ei kuitenkaan tässä työssä suoritettu.

Vahvalla kationinvaihtohartsilla (Finex CS16GC) suoritettiin myös koe käyttäen fraktioitavaa liuoksena taulukon II suolahappoa sisältävää hydrolysaattia (kuva 12 liitteessä I). Kokeen tuloksista huomattiin, että monosakkaridien profiili jäi lähes täysin suolahapon profiilin sisään, minkä vuoksi monosakkaridien puhtaus oli huonompi kuin rikkihappoa sisältävän hydrolysaatin kohdalla. Näin ollen todettiin sekä happoretardaation että elektrolyyttiekskluusion soveltuvan paremmin rikkihappoa kuin suolahappoa sisältävien lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin.

Työssä saatujen tulosten perusteella voidaan päätellä elektrolyyttiekskluusion olevan taloudellisuuden kannalta parempi tekniikka lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin kuin happoretardaatio. Happoretardaation suurin ongelma on rikkihapon häntäminen ja siitä johtuva laimeneminen. Happoretardaation vahvuus elektrolyyttiekskluusioon nähden on monosakkaridien ja rikkihapon parempi erottuminen toisistaan. Paremman erotuksen ansiosta happoretardaatiotekniikalla pystytään tuottamaan enemmän monosakkarideja elektrolyyttiekskluusioon nähden, jos monosakkaridien puhtausvaatimus on sama.

Toisaalta voidaan olettaa, että elektrolyyttiekskluusiotekniikassa monosakkaridien tuottavuus alkaisi laskea kasvatettaessa kolonnin latausta. Heinonen ja Sainio [9] huomasivatkin elektrolyyttiekskluusiota käsittelevässä tutkimuksessaan monosakkaridien profiilin leventyvän ja monosakkaridien saannon pienenevän kolonnin latauksen kasvaessa. Sen sijaan kuvan 8 ja taulukon VI perusteella happoretardaatiotekniikalla kolonnin latauksen kasvaessa monosakkaridien tuottavuus ja rikkihapon saanto kasvavat merkittävästi monosakkaridien saannon pysyessä samana. Näin ollen happoretardaatiotekniikassa voidaan käyttää suurempaa

kolonnin latausta kuin elektrolyyttieksklusiotekniikassa. Rikkihapon saanto happoretardaatiotekniikalla on kuitenkin suurimmallakin latausasteella (0,25 BV) erittäin alhainen.

Jos rikkihapon häntimisongelma saataisiin ratkaistua tai häntimistä vähennettyä, voisi happoretardaatio olla paremman erotuksen vuoksi kilpailukykyinen tekniikka elektrolyyttiekskluusion kanssa. Matsuura *et al.* [7] saivat vähennettyä häntimisongelmaa käyttäen sulfonihapporyhmiä sisältävää snake-cage -hartsia, joka oli valmistettu tyypin 1 vahvasta anioninvaihtohartsista [7]. Tyypin 2 vahvalla anioninvaihtohartsilla saavutettiin korkeampi rikkihapon maksimikonsentraatio kuin tyypin 1 hartsilla (kuva 6b), joten olisi mielenkiintoista tutkia, millainen profiili rikkihapolle saataisiin tyypin 2 hartsista valmistetulla sulfonihapporyhmiä sisältävällä snake-cage -hartsilla.

Toinen mahdollisuus häntimisongelman ratkaisuun voisi olla aiemmin ehdotettu natriumvetysulfaatin lisäys eluenttiin. Tällöin kuitenkin prosessin kemikaalikulutus kasvaisi, sillä natriumvetysulfaatin talteenotto eluentista ja uudelleenkäyttö olisi hankalaa. Kulujen minimoimiseksi natriumvetysulfaatin pitoisuus tulisi myös olla mahdollisimman pieni. Toisaalta natriumvetysulfaatin lisäys heikentäisi tuotefraktioiden puhtautta. Niinpä paremman erotusmateriaalin kehittäminen olisi järkevämpi vaihtoehto häntimisongelman vähentämiseen kuin eluentin muuttaminen.

Rikkihapon ja monosakkaridien hyvän erotuksen vuoksi happoretardaatio voisi soveltua laimean hapon katalysoiman lignoselluloosan hydrolyysin tuotteiden puhdistukseen. Koska hapon kulutus on laimean hapon katalysoimassa hydrolyysissä vähäisempää kuin väkevän hapon katalysoimassa hydrolyysissä [3], ei hapon uudelleenkäyttö ole välttämätöntä. Tällöin hapon laimeneminen ei heikentäisi hydrolyysiprosessin kannattavuutta. Laimeahappohydrolysaattien fraktiointia ei kuitenkaan tässä työssä tutkittu.

9 YHTEENVETO

Tässä kandidaatintyössä tutkittiin lignosellupohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointia kahdella eri kromatografisella tekniikalla: elektrolyyttieksklusiolla ja happoretardaati-

tiolla. Työn taustana oli väkevän rikkihapon katalysoima lignoselluloosan hydrolyysiprosessi, jonka tuotteena saadaan hapon ja monosakkaridien seos. Rikkihapon erotuksella ja uudelleenkäytöllä voidaan parantaa hydrolyysiprosessin taloudellista kannattavuutta. Työssä selvitettiin, soveltuuko happoretardaatiotekniikka rikkihapon ja monosakkaridien erotukseen lignoselluloosapohjaisista väkevähappohydrolysaateista, ja miten kolonnin lataus ja ioninvaihtohartsin eri ominaisuudet vaikuttavat happoretardaatiotekniikalla saavutettavaan erotustulokseen. Lisäksi verrattiin happoretardaatio- ja elektrolyyttiekskluusiotekniikoita keskenään.

Työn kirjallisuusosassa esiteltiin lignoselluloosan hydrolyysiin, elektrolyyttiekskluusioon ja happoretardaatioon liittyvää teoriaa ja ilmiöitä. Lisäksi esiteltiin happoretardaatioon ja elektrolyyttiekskluusioon liittyviä aikaisempia tutkimuksia, joiden perusteella rajattiin kokeellisessa osassa tutkittavia tekijöitä.

Kokeellisessa osassa suoritettiin panoskromatografiakokeita viidellä eri ioninvaihtohartsilla käyttäen fraktioitavina liuoksina rikki- tai suolahappoa sekä glukoosia, ksyloosia ja etikkahappoa sisältäviä liuoksia. Kokeista kerättiin eri ajanhetkiltä näytteitä, joista määritettiin kunkin edellä mainitun yhdisteen pitoisuudet. Tulosten perusteella laskettiin kullekin hartseille monosakkaridien saanto ja puhtaus, tuottavuus monosakkaridien suhteen, rikkihapon saanto sekä eluentin kulutus. Kyseisten lukujen perusteella eri ioninvaihtohartseja sekä happoretardaatio- ja elektrolyyttiekskluusiotekniikoita vertailtiin toisiinsa.

Sekä elektrolyyttiekskluusion että happoretardaation havaittiin soveltuvan paremmin rikkihappoa kuin suolahappoa sisältävien väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin. Työn tulosten perusteella happoretardaation suurin ongelma oli käytetystä anioninvaihtohartsista riippumatta rikkihapon erittäin suuri, jopa 20-kertainen laimeneminen alkuperäiseen liuokseen nähden. Rikkihapon laimenemisen vuoksi happoretardaatio ei soveltunut lignoselluloosapohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin. Toisaalta laimenemisen havaittiin vähenevän kolonnin latauksen kasvaessa. Elektrolyyttiekskluusiotekniikalla rikkihapon laimenemisen kuitenkin havaittiin olevan huomattavasti vähäisempää, minkä vuoksi elektrolyyttiekskluusio on työn tulosten perusteella parempi tekniikka lignosellulopohjaisten väkevähappohydrolysaattien fraktiointiin.

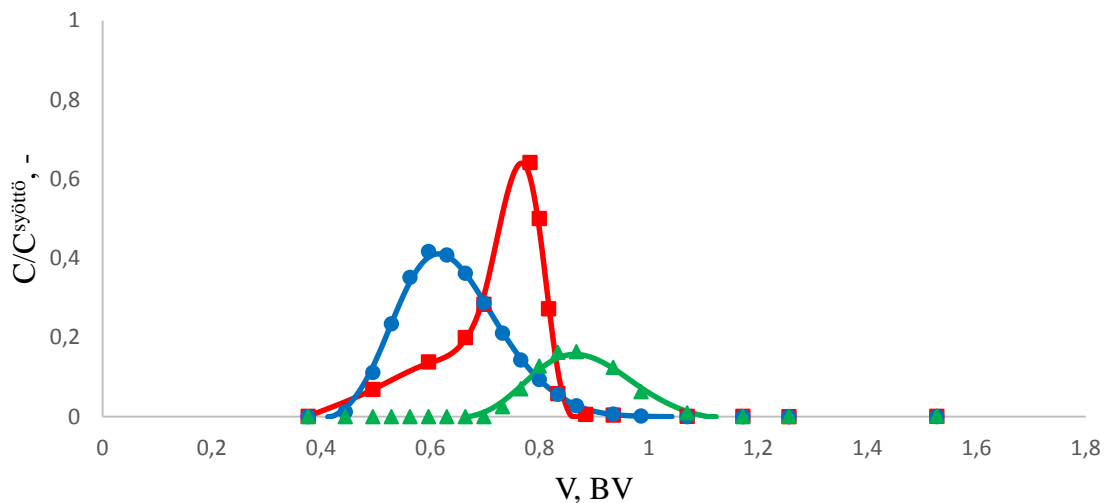
Happoretardaation vahvuuksia ovat kuitenkin tulosten perusteella rikkihapon parempi erottuminen monosakkarideista ja siitä johtuva suurempi tuottavuus monosakkaridien suhteen. Lisäksi happoretardaatiotekniikka mahdollistaa suuremman kolonnin latauksen käytön elektrolyyttiekskluusioon nähden. Jos hapon laimenemista happoretardaatiotekniikassa saataisiin vähennettyä esimerkiksi uudenlaisten ioninvaihtohartsien avulla, voisi happoretardatio olla kilpailukykyinen tekniikka elektrolyyttiekskluusioon nähden.

LÄHDELUETTELO

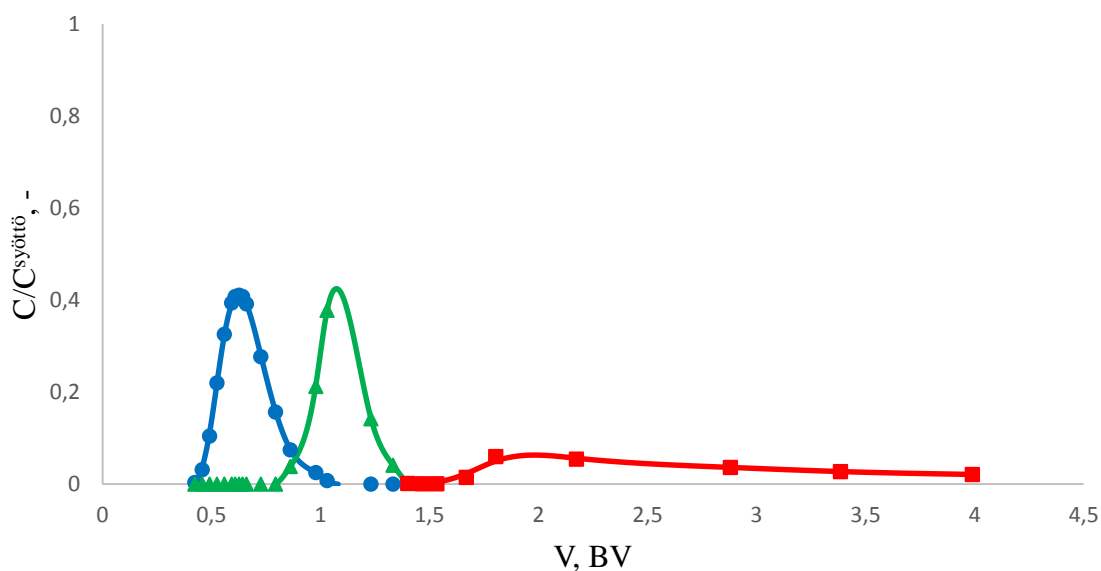
1. Braconnot, H., 1819. Verwandlungen des Holzstoffs mittelst Schwefelsäure in Gummi, Zucker und eine eigne Säure, und mittelst Kali in Ulmin, *Annalen der Physik*, vol. 63, s. 347–371.
2. Wettstein, S. G., Alonso, D.M., Gürbüz, E.I. & Dumesic, J.A. 2012. A Roadmap for Conversion of Lignocellulosic Biomass to Chemicals and Fuels, *Current Opinion in Chemical Engineering*, vol. 1, s. 218–224.
3. Olsson, L., Jørgensen, H., Krogh, K. B. R. & Roca, C., 2005. Bioethanol from Lignocellulosic Material. In Dumitriu, S. (toim.) *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. New York: Marcel Dekker.
4. Heinonen, J., 2013. Chromatographic recovery of chemicals from acidic biomass hydrolysates. Väitöskirja, Lappeenranta teknillinen yliopisto, kemiantekniikan osasto.
5. Neuman, R. P., Rudge, S. R. & Ladisch, M. R., 1987. Sulfuric acid-sugar separation by ion exclusion, *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents*, vol. 5, s. 55–61.
6. Liu, J., Qin, Y., Li, P., Zhang, K., Liu, Q. & Liu, L., 2015. Separation of the acid-sugar mixtures by using acid retardation and further concentration of the eluents by using continuous-effect membrane distillation, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 91, s. 1105–1112.
7. Matsuura H., Sun, Z., Yanase, M., Ihara, T., Kida, K., Jyo, A., 2014. Separation of Sulfuric Acid and Monosaccharides with a Strong-base Anion Exchange Resin Containing Polystyrenesulfonate as Polymeric Counter Ion to Reduce Tailing of Sulfuric Acid, *Journal of Ion Exchange*, vol. 25, s. 81–87.
8. Sun, Z-Y., Tang, Y-Q., Iwanaga, T., Sho, T., Kida, K., 2011. Production of fuel ethanol from bamboo by concentrated sulfuric acid hydrolysis followed by continuous ethanol fermentation, *Bioresource Technology*, vol. 102, s. 10929–10935.
9. Heinonen J. & Sainio, T., 2010. Chromatographic Recovery of Monosaccharides for the Production of Bioethanol from Wood, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 49, s. 2907–2915.
10. Negahdar, L., Delidovich, I. & Palkovits, R., 2016. Aqueous-phase hydrolysis of cellulose and hemicelluloses over molecular acidic catalysts: Insights into the kinetics and reaction mechanism, *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 184, s. 285–298.
11. Ottonello, P., Torre, P., Rivas Torres, B., Parvisi, S., Prefumo, C., Zambardino, U., 2014. Lignocellulosic biomass hydrolysis without enzymes or acid catalysts, [patentti]. International patent, WO/2015/062736. Julk. 07.05.2015.
12. Taherzadeh, M. J. & Keikhosro, K., 2008. Bioethanol: Market and Production Processes. In: Nag, A. (toim.) *Biofuels Refining and Performance*. Fairfield: McGraw-Hill.
13. Wyman, C. E., Decker, S. R., Himmel, M. E., Brady, J. W., Skopec, C. E., Viikari, L., 2005. Hydrolysis of Cellulose and Hemicellulose. In Dumitriu, S. (toim.) *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. New York: Marcel Dekker.
14. Burk, M. J., Sustainable production of industrial chemicals from sugars [verkkodokumentti]. [Viitattu 30.1.2016]. Saatavilla http://www.genomatica.com/_uploads/pdfs/ISJ_markburke.pdf

15. Duff, S. J. B., Murray, W. D., 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: A review, *Bioresource Technology*, vol. 55, s. 1–33.
16. Pristavka, A. A., Salovarova, V. P., Zacchi, G., Berezin, I. V., Rabinovich, M. L., 2000. Enzyme recovery in high-solids enzymatic hydrolysis of steam-pretreated willow: Requirements for the enzyme composition, *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 36, issue 3, s. 237–244.
17. Cheng, H., 2015. Lignocellulose Biorefinery Engineering: Principles and Applications. Cambridge: Woodhead Publishing.
18. Scott, R.P.W., 2003. Principles and Practice of Chromatography [verkkodokumentti]. [Viitattu 4.2.2015]. Saatavilla <http://faculty.ksu.edu.sa/Dr.almajed/Books/practical%20HPLC.pdf>
19. Guiochon, G., Felinger, A., Shirazi, D. G. & Katti, A. M., 2006. Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography, 2nd Edition. San Diego: Elsevier.
20. Helfferich, F., 1995. Ion Exchange. Mineola: Dower Publications.
21. Scott, R.P.W., 2003. Preparative Chromatography [verkkodokumentti]. [Viitattu 4.2.2015]. Saatavilla http://tresen.vscht.cz/biomikro/vyuka/ib/PREP_S.pdf
22. Dorfner, K., 1991. Introduction to Ion Exchange and Ion Exchangers. In: Dorfner K. (toim.) Ion Exchangers. Berlin: Walter de Gruyter.
23. Rieman, W., 1961. Salting-out chromatography: A review, *Journal of Chemical Education*, vol. 38, s. 338–343.
24. Hatch, M. J. & Dillon, J. A., 1963. Acid Retardation. Simple Physical Method for Separation of Strong Acids from Their Salts, *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development*, vol. 2, s. 253–263.
25. Anderson, R. E., Bauman, W. C., Harrington, D. F., 1955. Sulfate-Bisulfate Equilibrium on Anion Exchange Resins, *Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 47, s. 1620–1623.
26. De Dardel, F., 2016. Ion Exchange Basics [verkkodokumentti]. [Viitattu 1.4.2016]. Saatavilla http://dardel.info/IX/IX_Intro.html
27. Wheaton, R. M., Bauman, W. C., 1951. Properties of Strongly Basic Anion Exchange Resins, *Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 43, s. 1088–1093.
28. Hatch, M. J., Dillon, J. A., Smith, H. B., 1957. Preparation and Use of Snake-Cage Polyelectrolytes, *Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 49, s. 1812–1819.

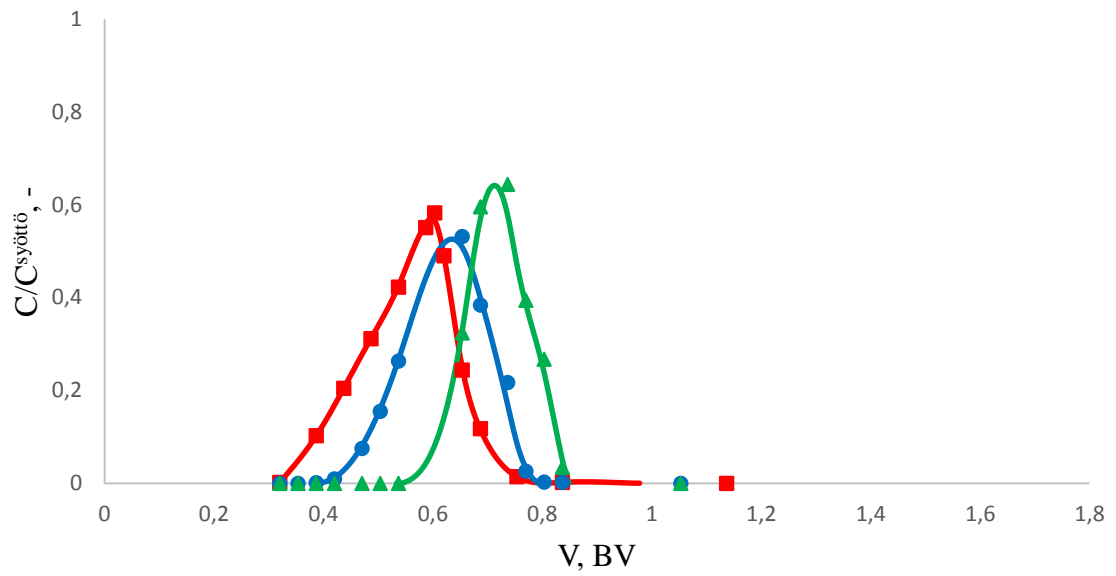
LIITE I PANOSKROMATOGRAFIAKOKEIDEN KUVAAJIA



Kuva 10 Suolahapon (■), etikkahapon (▲) ja monosakkaridien (●) mitatut konsentraatiot sekä mittaustuloksiin sovitetut käyrät (viivat) Finex AS542GC -hartsilla suoritetussa panoskromatografiakokeessa. Koeolosuhteet: ks. kuva 6.



Kuva 11 Finex AS42GC -hartsilla suoritetun panoskromatografiakokeen kromatogrammi. Eluentti: 0,4 M Na₂SO₄. Koeolosuhteet ja symbolit: ks. kuva 6.



Kuva 12 Finex CS16 GC -hartsilla suoritettun panoskromatografiakokeen kromatogrammi. Koeolosuhteet: ks. kuva 6, symbolit: ks. kuva 10.