

Kandidaatintyö

Lappeenranta 2019

Henri Lappalainen

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

LUT School of Engineering Science

Kemiantekniikka

Proteiinien erottaminen lannasta

Työn ohjaaja: Tkt Teemu Kinnarinen

Työn tarkastaja: Tkt Teemu Kinnarinen

Pvm. 1.4.2019

Tekijä Henri Lappalainen

Tiivistelmä

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

LUT School of Engineering Science

Kemiantekniikka

Henri Lappalainen

Proteiinien erottaminen lannasta

Kandidaatintyö

Kevät 2019

35 sivua, 10 kuvaa, 6 taulukkoa

Työn tarkastaja: TkT Teemu Kinnarinen

Hakusanat: Proteiini, lanta, partikkelikoko, sähköstaattinen erotus, mustasotilaskärpänen

Proteiinit ovat oleellinen osa ihmisten ja eläinten ravitsemusta. Eläinten ja kasvien lisäksi proteiinia on huomattavia määriä eläinten lannassa. Tuotantoeläinten lannan sisältämää proteiinia ei juurikaan hyödynnetä, vaikka sillä voisi korvata esimerkiksi soijaproteiinien käyttöä. Tällöin pystytään vähentämään proteiinien kulutuksesta aiheutuvaa ilmastokuormaa.

Tämän työn tarkoituksena on tunnistaa sopivimmat erotusmenetelmät lannan sisältämän proteiinin talteenotossa, sekä kartoittaa proteiinien erotuksen etuja ja haittoja. Kirjallisuuden perusteella lannan sisältämää proteiinia voidaan erottaa partikkelikokoon perustuvilla erotusmenetelmillä. Myös sähköstaattinen erottaminen ja hyönteisten käyttö ovat mahdollisia keinoja proteiinien talteenotossa. Proteiinien erotus pienentää lannan C/N suhdetta, joka on etu biokaasuntuotannossa. Lannan sisältämät mahdolliset haitta-aineet ja taudinaiheuttajat muodostavat ongelmia proteiinien talteenotossa.

Sisällysluettelo

Käsiteluettelo	5
1. Johdanto	6
2. Erotusprosessissa käsiteltävät aineet	6
2.1 Lanta	7
2.2 Proteiinit	8
2.3 Kuidut	9
3. Erotusmenetelmät proteiinin talteenotossa lannasta	10
3.1 Partikkelikokoon perustuva erotus	11
3.2 Ultrasuodatus	14
3.4 Tiheyseroon perustuva erotus	16
3.5 Sähköstaattinen erotus	17
3.6 Proteiinien liukoisuuteen perustuva erotus	19
3.7 Ioninvaihtokromatografia	21
3.8 Biologiset käsittelytavat	22
4. Mahdolliset prosessivaihtoehdot	25
4.1 Prosessivaihtojen esittely	25
4.2 Erotusprosessin sijoittaminen	28
4.3 Prosessien vertailu	28
5. Proteiinin talteenoton yleiset edut ja ongelmat	30
5.1 Ravinteiden talteenotto ja biomassan väheneminen	31
5.2 Prosessien sivutuotteiden hyödynnettävyys	31
5.3 Lannasta erotetun proteiinin käyttö tuotantoeläinten ruokinnassa	32
5.4 Lannan sisältämät taudinaiheuttajat ja lääke- ja hormonijäämät	33
5.5 Lannan syöttämisen laillisuus	34
5.6 Muita käyttökohteita erotetulle proteiinille	35
6. Johtopäätökset	35
Lähteet	36

Käsiteluettelo

Aggloremaatti	Partikkelien yhteenkasautuma.
C/N suhde:	Lannan sisältämän hiilen ja typen suhde.
Isoelektrinen piste	pH:n arvo, jossa aminohapon sähköinen varaus on nolla.
Prioni	Virheellisesti laskostunut proteiini, vakava taudinaiheuttaja.
Raakavalkuainen	Proteiinipitoisuus, joka on määritelty aineen epäorgaanisen typen määrän perusteella, kertoimella 6,25.
Tuotantoeläin	Eläin, jota käytetään ravinnon tai jonkun muun hyödykkeen tuottamiseen, esimerkiksi nauta, sika ja kana ovat tuotantoeläimiä.

1. Johdanto

Maaailman väestönkasvun ja elintason nousun seurauksena proteiinin tarve on suurempi kuin koskaan. Suurin osa proteiineista saadaan kasvi- ja eläinlähteistä, jotka eivät välttämättä edistä kestäväää kehitystä. Esimerkiksi soijan kasvattamisen tieltä joudutaan raivaamaan sademetsää. Vaihtoehtoisia proteiininlähteitä on kuitenkin olemassa. Yksi mahdollisista proteiininlähteistä on eläinten lanta, jonka mahdollisuuksia proteiininlähteenä ei juurikaan ole hyödynnetty. Proteiinien erotusta eläinten lannasta ei ole juurikaan tutkittu, vaikka lanta on jätevirtana helposti saatava ja halpa raaka-aine. Tämän työn tarkoituksena on tunnistaa kirjallisuuden avulla sopivimmat erotusmenetelmät proteiinin talteenotossa lannasta ja arvioida proteiinien erottamisen etuja ja haittoja.

Työssä tarkastellaan nautojen, sikojen ja siipikarjan lannan koostumuksia proteiinien erottamisen näkökulmasta. Varsinaisista erotusmenetelmistä tarkastellaan erilaisia fysikaalisiin ja kemiallisiin eroihin perustuvia erotusmenetelmiä sekä biologisia keinoja proteiinien talteenotossa. Eri erotusmenetelmien sopivuutta arvioidaan proteiinin erotuksessa. Lupaavimmista erotusmenetelmistä on muodostettu esimerkkiprosessit, joita verrataan toisiinsa. Lannasta saatavan proteiinin soveltuvuutta ruokintaan arvioidaan ja selvitetään proteiinin erotuksen vaikutusta lannan muihin käyttötarkoituksiin.

2. Erotusprosessissa käsiteltävät aineet

Erotusprosessin kannalta on tärkeää ymmärtää, millaisia aineita prosessissa käsitellään. Tässä työssä erotusprosessin raaka-aineena toimii yleisimpien tuotantoeläinten lanta. Lannan eri komponenteista tarkin huomio kiinnittyy lannan sisältämän proteiiniin ja kuituihin sekä niiden ominaisuuksiin, koska erottuminen tapahtuu aineiden ominaisuuksien erojen perusteella.

2.1 Lanta

Lannalla tarkoitetaan eläinten jätöksiä eli eläinten virtsan ja sonnan yhdistelmää. Sonta koostuu sulamattomasta ravinnosta ja suoliston bakteerikannasta. Virtsa koostuu vedestä ja veteen liuenneista aineista. Lannan seassa voi olla myös muita materiaaleja, kuten kuiviketta, karvaa ja epäorgaanisia aineita kuten hiekkaa. Tällä hetkellä lantaa käytetään pääasiassa lannoitteena, mutta sitä käytetään myös energiantuotannossa esimerkiksi biokaasun raaka-aineena. Lanta aiheuttaa myös ongelmia. Esimerkiksi liiallinen lannalla lannoittaminen voi aiheuttaa rehevöitymistä ja pohjavesien pilaantumista.

Lantaa voidaan käsitellä pääsääntöisesti kahdella eri tavalla, lietelantana tai kuivikelantana. Lietelannassa lanta on sananmukaisesti lietteenä, jolloin sen kiintoainepitoisuus on alhainen. Kuivikelantaa puolestaan käsitellään kiinteänä. Kuivikelannassa on lannan lisäksi kuivikkeena käytettyä materiaalia. Kuivikemateriaaleina voidaan käyttää lukuisia eri materiaaleja, kuten sahanpurua tai turvetta. Lorimor et al. kertovat, että käytettävä kuivikkeen määrä vaikuttaa merkittävästi lannan koostumukseen. Kuivikelannan etuna on se, että osa ravinteista sitoutuu kuivikemateriaaliin, mikä vähentää ravinteiden hävikkiä. Myös lannan varastoinnilla on vaikutusta, esimerkiksi avonaista lietesäiliötä käytettäessä sadevesi ja haihtuminen vaikuttavat lietteen ominaisuuksiin. (Lorimor et al., 2004) Lisäksi kuivalannan tapauksessa sade voi aiheuttaa ravinteiden huuhtoutumista.

Tarkemmin tarkasteltuna lanta koostuu pääosin kuiduista, proteiineista ja vedestä sekä siihen liuenneista ravinteista. Tarkkaa koostumusta on hyvin hankalaa arvioida, koska lannan koostumukseen vaikuttavat lukuiset eri tekijät. Erityisesti tarkasteltavalla lajilla on suuri merkitys lannan koostumukseen. Lisäksi lannan koostumukseen vaikuttavat eläimen jalostus, ravinto, ikä ja tuotantomuoto. (Chen et al., 2008) Lannan ominaisuuksiin vaikuttaa myös lannan varastointiaika, proteiinien kannalta erityisesti orgaanisen typen määrä vähenee varastoinnin aikana (Møller et al., 2002). Lorimor et al. (2004) esittävät, että taulukkoarvot voivat vaihdella 30% tai enemmän. Lisäksi lannan koostumukseen vaikuttaa se, että käsitelläänkö lantaa lietelantana vai kuivalantana.

Lannan koostumuksesta tutkitaan yleisesti vain sen kiintoainepitoisuus ja typen, fosforin ja kaliumin pitoisuudet (Chen et al., 2003). Proteiini- ja kuitupitoisuuden mittaaminen on huomattavasti harvinaisempaa. Proteiinien määrä ilmoitetaan yleisesti raakavalkuaisena. Taulukossa I on esitetty Chen et al. (2003) ilmoittamia lannan koostumuksia eri tapauksissa. Taulukosta nähdään, että kananlanta sisältää kaikista eniten proteiinia, parhaimmillaan lähes 50 %. Sianlannassa proteiini osuus on hieman yli 20 % ja naudoilla keskimääräisesti noin 15 %. Tuotantoeläimen ikä ja tuotantosuunta vaikuttavat huomattavasti proteiinin määrään. Taulukon perusteella proteiinien erottaminen kananlannasta olisi tehokkainta. Tuloksista tulee kuitenkin muistaa, että ne eivät ole absoluuttisia totuuksia, vaan enemmänkin suuntaa antavia. Lisäksi annetut proteiinin määrät on annettu raakavalkuaisena, jolloin myös epäorgaanisen typen määrä vaikuttaa saatuun proteiinipitoisuuteen.

Taulukko I Lannan koostumus eri tuotantoeläimillä (Chen et al., 2003).

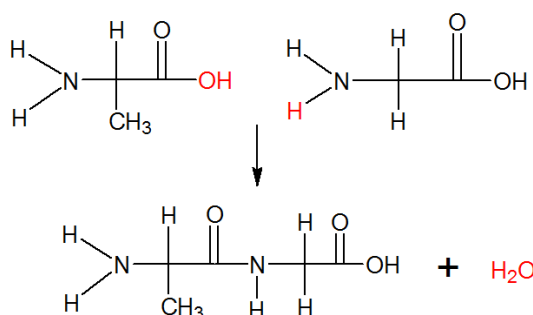
Eläin, ikä ja tuotantomuoto	Raakavalkuaisen osuus kuiva-aineesta %	Kuitujen osuus kuiva-aineesta %	Typipitoisuus kuiva-aineesta %	Fosforipitoisuus kuiva-aineesta %
Nauta, lypsykarja	18	53	2,9	0,5
Nauta, lihakarja	12	5	1,9	0,4
Emakko	25	39	4,0	1,5
Kasvatussika	23	41	4,3	2,5
Untuvikko	40	32	6,4	2,3
Kananpoika	48	36	7,7	2,6
17-40 vk. kana	32	35	2,9	3,4
Kana sulkasadon jälkeen	28	31	3,3	3,2

2.2 Proteiinit

Proteiinit ovat tärkeä osa eliöiden aineenvaihduntaa. Proteiinit ovat tärkeitä eläinten kudosten rakennuspalikoita. Eläinten lannassa proteiini on peräisin eläimen ravinnosta ja

osaltaan eläimen suoliston mikrobeista. Lannassa olevat proteiinit ovat pääsääntöisesti hajonneet polypeptidiketjuiksi, mutta myös kokonaisia proteiineja esiintyy. (Liu et al., 2015) Proteiineista osa on liennut nestefaasiin ja osa on sitoutunut sulamattomaan kiinteään ainekseen.

Proteiinit ovat orgaanisia makromolekyylejä, jotka koostuvat peptidisidoksilla yhteen liittyneistä aminohapoista. Aminohapot ovat molekyylejä, jotka sisältävät sekä karboksyyli ryhmän, että aminoryhmän. Aminohapot ovat amfoteerisiä, eli ne voivat toimia sekä happoina, että emäksinä. Peptidisidos on kovalenttinen sidos, joka muodostuu eri aminohappojen karboksyyli ryhmän hiilen ja aminoryhmän typen välille. Peptidisidoksen muodostuminen on esitetty kuvassa 1. Erilaisia aminohappoja on yhteensä 20 kappaletta. Proteiinien koko vaihtelee muutaman aminohapon ketjusta, jopa tuhannen aminohapon ketjuihin. Proteiineille ominainen rakenne syntyy polypeptidiketjujen laskostuessa. Laskostumisessa eri aminohappojen välille syntyy heikkoja sidoksia, jolloin muodostuu proteiinin sekundäärirakenne eli α -kierre tai β -laskos. Proteiinien kolmiulotteiseen rakenteeseen kuuluu myös tertiäärirakenne ja kvaternäärirakenne. (Alberts et al., 2002)



Kuva 1 Peptidisidos ja sen muodostuminen

2.3 Kuidut

Lannassa olevat kasvikuidut ovat selluloosan, hemiselluloosan ja ligniinin muodostama ohut ja pitkä komposiittirakenne. Kuitujen rakenne ja koko vaihtelevat eri kasvilajeilla.

Puuvartisilla kasveilla ligniinin määrä on suurempi, kuin heinävarisilla kasveilla, joita käytetään tuotantoeläinten ruokinnassa. Kuidut ovat kemiallisesti hyvin kestäviä ja liukenemattomia veteen ja yleisimpiin liuottimiin.

Lannassa kuidut ovat peräisin eläimen sulamattomasta kasviraivinnosta. Sikojen ja kanojen ruuansulatuselimistö ei pysty hajottamaan kuituja, mutta märehitjät, kuten naudat, pystyvät. Lannan ominaisuuksien tavoin lannassa olevien kuitujen pituuteen vaikuttavia tekijöitä on paljon. Lannassa olevien kuitujen pituuksien kirjallisuudessa ilmoitetut arvot poikkeavat huomattavasti toisistaan. Chakrabarty, (2009) esittää, että naudun lannassa olevien kuitujen pituus on 60 ja 125 μm välillä. Jensen et al., (2016) ovat puolestaan mitanneet, että lypsylehman anaerobisen mädätyksen jäännöksessä on vielä kuituja, joiden pituus on lähes 10 mm. Suuret erot voivat johtua siitä, että kuiduilla voidaan tarkoittaa sekä yksittäisessä kasvisolussa olevia kuituja, sekä useiden kasvisolujen muodostamia kuitumaisia kimppuja (Sorieu et al., 2016). Proteiinien erotuksen kannalta merkittävämpiä ovat useiden kasvisolujen muodostamien kimppujen koko.

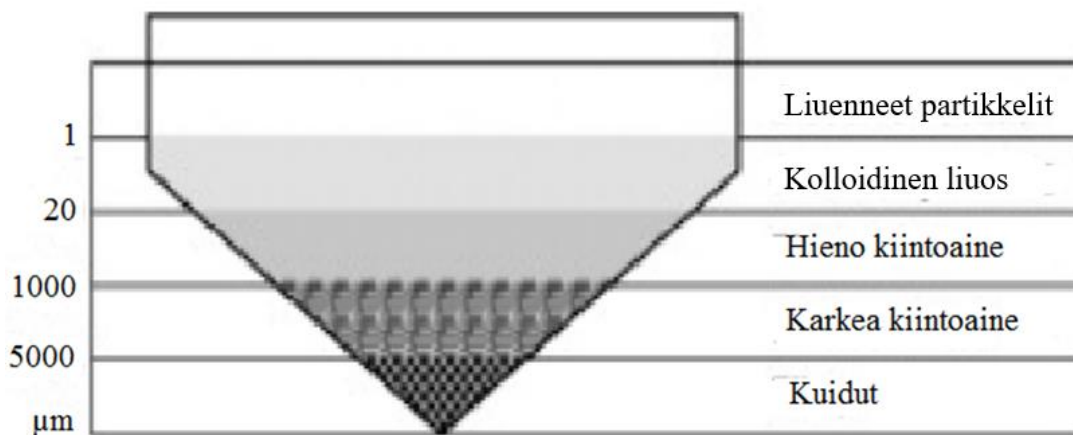
3. Erotusmenetelmät proteiinin talteenotossa lannasta

Proteiinien erottamiseksi ja proteiinipitoisen materiaalin rikastamiseksi on kehitelty lukuisia eri menetelmiä. Menetelmät voidaan jakaa kolmeen eri luokkaan, fysikaalisiin, kemiallisiin ja biologisiin menetelmiin. Fysikaaliset erotusmenetelmät perustuvat proteiinien fyysisiin ominaisuuksiin, kuten fyysiseen kokoon tai massaan. Kemialliset erotusmenetelmät perustuvat proteiinien kemiallisiin ominaisuuksiin, kuten varaukseen ja sitoutumiskykyyn sekä reaktioihin. Biologiset erotusmenetelmät perustuvat siihen, että eliöt toiminnallaan rikastavat proteiineja ja tällöin helpottavat erotusta.

3.1 Partikkelikokoon perustuva erotus

Fysikaalisista menetelmistä tarkastellaan ensin partikkelin koon perusteella tapahtuvaa erotusta. Erityisesti tarkastellaan, miten lannan proteiinirikas kiintoaineosa saadaan erotettua sen kuitupitoisesta kiintoaineesta. Kuvassa 2 on Burtonin (2007) esittämä jaottelu lannan eri kiintoaineista partikkelikokoon mukaan. Kuvassa esitetään, että kuitujen koko on yli 5000 μm , Burtonin mukaan kuitujen mukaan kuuluu myös kuiviketta ja karvaa, joten täysin varmaksi 5000 μm rajaa varsinaisten kasvipohtaisten kuitujen erottamiseksi ei voida pitää. Lisäksi muiden kuvassa 2 esitettyjen kiintoainekokoluokkien koostumusta ei esitetä, joten ei voida olla varmoja siitä, mikä olisi sopiva erotuksessa käytettävä koko.

Lisäksi tarvitaan keinoja nesteen erottamiseen, jotta nestefaasiin jääneet ravinteet saadaan hyödynnettyä. Nestefaasin ja proteiinin erottamisprosessin järjestyksessä tulee ottaa huomioon, että osa erotusmenetelmistä toimii vain nestefaasissa. Tällöin voi olla jopa tarpeen laimentaa lietettä tai kuivikelannan tapauksessa sekoittaa lantaan vettä.



Kuva 2 Lannan komponentit jaoteltuna partikkelikokoon mukaan (Mukaiillen Burton 2007).

Chen et al. (2003) esittelevät raportissaan lypsykarjan lannan seulontaa. Seulonnassa erotus tapahtuu seulottavien partikkeleiden koon perusteella. Seulonnassa seulan aukkokokoa suuremmat partikkelit jäävät seulan päälle, ja aukkokokoa pienemmät partikkelit läpäisevät seulan. Eri aukkokokoisia seuloja voidaan yhdistää, jolloin saadaan aikaan partikkelikokojakauma.

Chen et al. (2003) esittelemässä seulontamenetelmässä lypsykarjan lanta seulottiin kuuden eri standardiseulan aukkokoon seulopakalla. Seulottavaa materiaalia huuhdeltiin koko seulonnan ajan. Käytetyt aukkokoot olivat 2.4 mm ja 0.125 mm väliltä. Jokaiselle seulalle jääneistä partikkeleista ja alitteesta analysoitiin kiintoainepitoisuus, sekä hiilen, typen ja sulfaatin osuudet. (Chen et al., 2003) Mittausten tulokset on esitetty taulukoissa II ja III.

Taulukon II tuloksista nähdään, että Chen et al. (2003) tekemässä tutkimuksessa suurin osa lannan partikkeleista on suurempia, kuin 1.68 mm. Seuraavaksi eniten kiintoainetta on alitteessa. Taulukosta III nähdään selvästi, että Chen et al. (2003) tekemissä mittauksissa alitteen typen pitoisuus on huomattavasti suurempi, kuin seuloille jääneen materiaalin. Eri kokoluokan materiaaleille tehdyissä jatkotutkimuksissa selvisi, että proteiinien Maillardin reaktiotuotteiden määrät olivat huomattavasti pienempiä, kun verrattiin seuloille jäänyttä materiaalia käsittelemättömään lantaan (Chen et al., 2003). Tällöin voidaankin olettaa, että suurin osa lannan sisältämästä proteiinista on seulonnan alitteessa. Lisäksi alitteen korkea typpipitoisuus osaltaan viittaa korkeampaan proteiinipitoisuuteen. Toisaalta alitteeseen kulkeutuu myös nestefaasiin liennut epäorgaaninen typpi, kuten ammoniakki ja urea, joten menetelmän tehokkuutta proteiinin erotuksessa on hankala arvioida.

Taulukko II Seulotun lypsykarjan lannan kiintoaineen jakauma (Chen et al., 2003).

Jae	1.68 mm	1.19 mm	0.84 mm	0.42 mm	0.13 mm	Alite	Yhteensä
TS/g	31	2,5	2,6	3,2	2,7	13,2	55,4
%	56	4,5	4,7	5,7	4,9	24	100

Taulukko III Seulotun lypsykarjan lannan hiilen ja typhen jakaumat (Chen et al., 2003).

Jae	C %	N %
>1,68 mm	43	2,4
>1,19 mm	40	2,9
>0,84 mm	41	3,0
>0,42 mm	41	3,0
>0,13 mm	39	3,0
Alite	38	7,1

Proteiinipitoisuutta eri partikkelikoon jakeista on tutkittu myös lihakarjan lannasta. Taulukossa IV on esitetty lannan karkean ja hienon kiintojakeen pitoisuuksia, kun erotus on tehty 500 µm seulalla. (Müller, 1980) Taulukon tuloksista nähdään, että suurin osa lannan sisältämästä raakavalkuaisesta on hienossa kiintoaineessa. Lisäksi merkittävää on, että lannan sisältämästä kuiva-aineesta vain 1/5 on hienossa kiintojakeessa. Tällöin partikkelikokoon perustuvalla erotuksella voidaan huomattavasti pienentää mahdollisissa jatkoerotusprosesseissa käsiteltävän biomassan määrää. Seulomalla ei kuitenkaan pystytä poistamaan täydellisesti kaikkia kuitupartikkeleita, koska ne voivat läpäistä seulan myös pitkittäin.

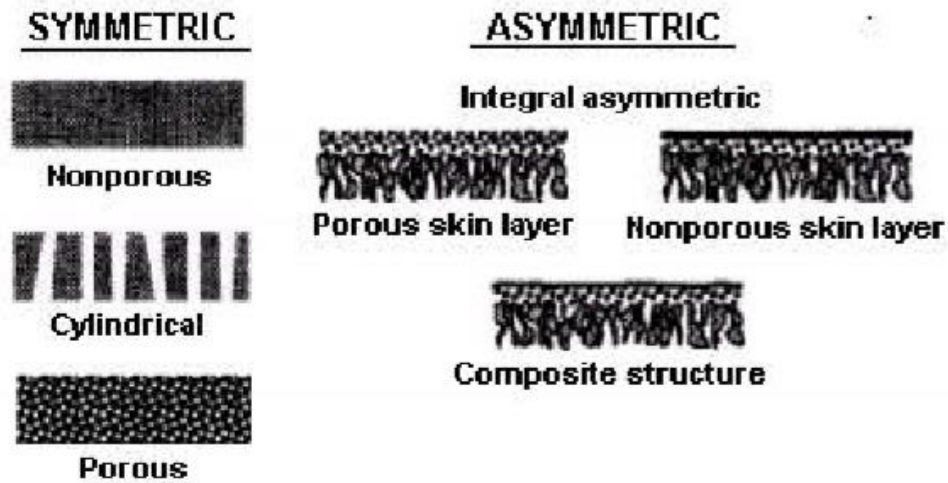
Taulukko IV Lihakarjan lannan partikkelikoon vaikutus jakeiden koostumukseen (Müller, 1980)

	Yli 500 µm partikkelikoon koostumus %	Alle 500 µm partikkelikoon koostumus %
Kuiva-aine	80	20
Sulava kiintoaine	18	82
Raakavalkuainen	8	92
Raakakuitu	45	55

3.2 Ultrasuodatus

Seulonnan alitteessa oleva proteiini tulee kuitenkin vielä saada erotettua nestefaasista. Yksi mahdollisista menetelmistä on ultrasuodatus. Pabby et al. (2008) esittelevät, että ultrasuodatus perustuu partikkelien erilaisiin kalvon läpäisykykyihin, joista partikkelikoko on yksi. Erotuksen ajavana voimana toimii paine-ero kalvon eri puolilla, Ultrasuodatuksessa käytettävän membraanin aukkokoko on tyypillisesti kokoluokaltaan 1-100 nm, kun erotetaan proteiineja. Ultrasuodatusta voidaan käyttää proteiinien tapauksessa proteiinien konsentroimiseen poistamalla nestettä. Lisäksi ultrasuodatusta voidaan käyttää, kun tavoitteena on poistaa proteiinin joukossa olevia suoloja. Myös erilaiset kirkastusprosessit ja eri proteiinien erotus toisistaan onnistuvat käyttämällä ultrasuodatusta. (Pabby et al., 2008) Tässä tapauksessa merkittävimmät käyttötarkoitukset ultrasuodatukselle ovat proteiinien konsentroiminen ja osaltaan myös suolojen, kuten epäorgaanisen typen ja fosforin poisto proteiinien seasta.

Ultrasuodatuksessa käytettävien membraanit voidaan valmistaa orgaanisista polymeereistä, tai keraamisista materiaaleista. Membraanien valmistukseen käytettäviä orgaanisia polymeerejä ovat muun muassa selluloosa, ja siitä johdetut muut kuidut. Keraameista valmistettuja membraaneja ei juuri käytetä proteiinien erotuksessa. Polymeereistä valmistetut membraanit voidaan jakaa kahteen ryhmään, symmetrisiin ja epäsymmetrisiin membraaneihin. Symmetristen membraanien rakenne on kaikkialla membraanissa yhtenevä, kun taas epäsymmetrisissä membraaneissa rakenne koostuu kahdesta tai useammasta erimuotoisesta rakenteesta. (Pabby et al., 2008) Kuvassa 3 on esitetty symmetrisen ja epäsymmetrisen membraanin rakennetta.



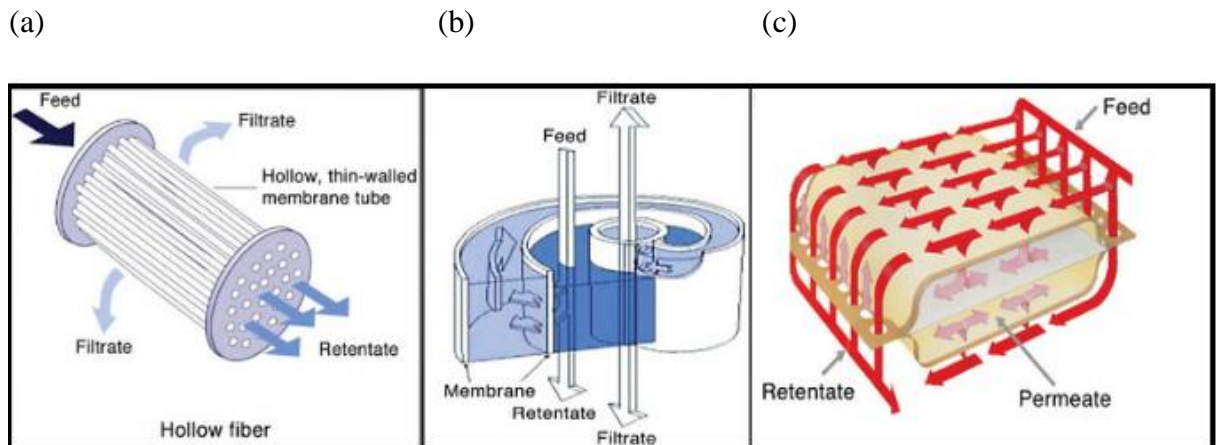
Kuva 3 Symmetrisen ja epäsymmetrisen membraanin poikkileikkaus (Wenten, 2008).

Ultrasuodatuksessa esiintyy useita suodatusta haittaavia ilmiöitä. Yksi erotusta haittaava ilmiö on partikkeleiden muodostama korkeamman konsentraation rajapinta membraania lähellä virtaavaan nesteeseen. Rajapinnan muodostuminen voi aiheuttaa osmoottisen paineen membraanin eri puolien välille, jolloin osa permeaatista palaa membraanin syöttöpuolelle. Voimakas osmoottinen paine voi syntyä, esimerkiksi kun käsitellään väkevää heraproteiiniliuosta (Wenten, 2008). Lannassa erotettavien proteiinien tapauksessa voi olla hyvä ottaa myös osmoottinen paine huomioon. Kuitenkaan tarkkoja konsentraatioarvoja ei ole saatavilla.

Toinen membraanin toimintaa haittaava mekanismi on membraanin tukkeutuminen. Tukkeutuminen voi tapahtua joko kemiallisen tai fysikaalisen vuorovaikutusten takia. Tukkeutuminen voi tapahtua joko adsorption, geelikerroksen muodostumisen tai membraanin huokosten tukkeutumisen seurauksena. Membraanin tukkeutumiseen vaikuttavat membraanin ominaisuuksien lisäksi suodatettavan liuoksen pH, lämpötila, paine ja ionivahvuus. (Wenten, 2008)

Kaupalliset ultrasuodatuslaitteistot voidaan jakaa kolmeen eri mallin, joita ovat spiraalinen, onttokuituinen ja kasettimallinen. Eri mallien toiminnan kaavakuvat on esitetty kuvassa 4. Onttokuituinen ultrasuodatuslaitteiston, kuva (4a), haittapuolena on sen heikko

aineensiirtokyky, jolloin sen käyttö rajoittuu pienen mittakaavan prosesseihin. Spiraalimallinen ultrasuodatin, kuva (4b), on halvin vaihtoehto suodatuspinta-alaan nähden (40-200 $\$/m^2$), mutta senkin ongelmana on heikko aineensiirtokyky. Kasettimallinen suodattimen, kuva (4c), etuna on korkea aineensiirtokyky ja skaalattavuus, mutta ongelmana on korkeampi hinta neliometriä kohden (500-1000 $\$$). (Lutz, 2015)



Kuva 4 Eri suodatuslaitteiden kaavakuvat . (Lutz, 2015)

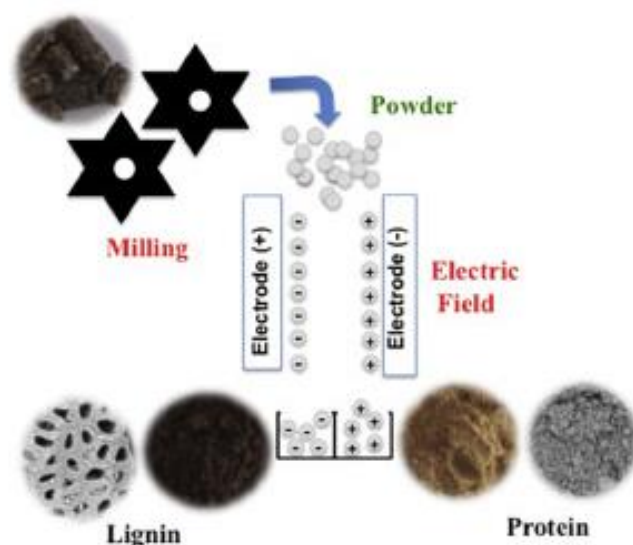
3.4 Tiheyseroon perustuva erotus

Kiintoaine ja neste voidaan erottaa myös käyttämällä tiheyseroon perustuvia erotusmenetelmiä, jolloin aineiden erottuminen tapahtuu niiden tiheyden perusteella. Mikäli kiintoaineella on suurempi ominaispaino, kuin nesteellä niin kiintoaine vajoaa pohjaan. Jos kiintoaineella on suurempi ominaispaino, kuin nesteellä, niin se kelluu nesteen pinnalla. Tiheyseroihin perustuvassa erotuksessa voidaan käyttää laskeutusaltaita. Lisäksi tiheyseroihin perustuvaa erottumista voidaan tehostaa käyttämällä sentrifugeja, jolloin pyörimisliikkeen avulla saadaan tiheämmät partikkelit kauemmaksi pyörimisakselistä. Laskeutuksessa lannan kuiva-aineen erotusta voidaan tehostaa lisäämällä flokkuaatiokemikaaleja, kuten $FeCl_3 \cdot H_2O$ ja $Al(SO_4) \cdot 18H_2O$, jolloin kiintoaine muodostaa flokkeja, jotka laskeutuvat tehokkaammin (Chen et al., 2003).

Møller et al. (2003) käsittelevät sentrifugeja lannan kiinteä-neste erotuksessa. Tutkimuksissa selviää, että sian ja naudan lannan käsitteleminen suoraan tiheyseroihin perustuvalla erotusprosessissa orgaaninen tyyppi jää kiintoaineeseen. (Møller et al., 2003.) Tällöin myös proteiinit ovat osana kiintoainetta, mikä tarkoittaa, että proteiineja ei saada erotettua lannan muista kiintoainekomponenteista. Tiheyseroon perustuvia erotusmenetelmiä voitaisiin käyttää silloin, kun kiintoaineen proteiinipitoisuutta on kasvatettu jollain muulla erotusmenetelmällä, kuten aikaisemmin esitetyllä seulontamenetelmällä. Tällöin esimerkiksi sentrifugoinnilla voitaisiin erottaa proteiinirikas kiintoaine nesteestä. Tällöin kuitenkin menetetään nestefaasiin liuennut proteiini, ellei proteiineja saosteta ennen sentrifugointia.

3.5 Sähköstaattinen erotus

Proteiinien erotus kuitupitoisesta materiaalista voidaan tehdä myös kuivaprosessina, mikä on etu proteiinin erotuksessa kuivikelannasta, koska lantaan ei tarvitse sekoittaa vettä. Kdidi et al. (2019) esittelevät sähkövaraukseen perustuvaa erotusta hyvin hienoksi jauhetulla rypsiöljyn puristustähteellä. Menetelmä perustuu siihen, että hienoksi jauhettu kiintoaine puhalletaan varattujen seinämien läpi, jolloin varaukselliset kiintoainepartikkelit, kuten proteiinit ja aminohapot siirtyvät vastakkaista varausta olevalle seinämälle. (Kdidi et al., 2019) Partikkelien kemiallisen rakenteen lisäksi partikkelien törmätessä toisiinsa syntyvä hankaussähkö vaikuttaa partikkelin sähköiseen varaukseen (Assatory et al., 2019). Rypsiöljyn puristustähteen tapauksessa suurempi osa proteiinista positiivisesti varautunutta, joten se siirtyy negatiivisesti varautuneelle seinämälle. Ligniini puolestaan siirtyy positiivisesti varautuneelle seinämälle. Tällöin proteiini saadaan erotettua ligniinipitoisesta materiaalista. (Kdidi et al., 2019) Prosessin periaate on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5 Esimerkki sähköstaattisesta erotusprosessista (Kdidi et al., 2019).

Prosessin erotustehokkuuteen vaikuttavat lukuisat eri seikat. Suurin erotustehokkuutta haittaava tekijä on agglomeraattien muodostuminen virtaukseen, jolloin eri varauksen omaavat hiukkaset muodostavat suuremman partikkelin. Muodostuneita agglomeraatteja voidaan hajottaa kasvattamalla partikkeleiden kuljettajakaasun virtausnopeutta, lisäksi virtausnopeuden kasvattamisen oletetaan kasvattavan partikkeleiden törmäyksien määrää, mikä kasvattaa partikkelien varaustiheyttä. Toisaalta liian suuri virtausnopeus voi aiheuttaa agglomeraattien muodostumista ja lisätä muidenkin, kuin proteiinipitoisten partikkelien varaustiheyttä, kasvattaa niiden osuutta proteiinirikkaassa jakeessa. (Wang et al., 2016)

Kantajakaasun virtausnopeuden lisäksi sähköstaattisen erotuksen tehokkuuteen vaikuttaa, jauhatusmenetelmä. Rypsiöljyn puristustähdettä käsiteltäessä veitsihienonnus oli tehokkain keino. (Kdidi et al., 2019) Lisäksi jauheen partikkelikoko sekä käytettävä elektrodin potentiaali vaikuttavat erotuksen tehokkuuteen (Assatory et al., 2019).

Assatory et al. (2019) esittävät, että kuivaprosessina sähkövaraukseen perustuvalla erotuksella on lukuisia etuja verrattuna märkäprosesseihin, joissa erotus tapahtuu kemikaalien, kuten happojen ja emästen avulla liuottamalla. Kuivaprosessien käytöllä voidaan säästää vettä ja energiaa, sekä säilyttää käsiteltävien molekyylien alkuperäinen

rakenne. Kuivaprosesseilla ei kuitenkaan päästä yli 90 % puhtausasteisiin. (Assatory et al., 2019) Kdidi et al. (2019) pääsivät parhaimmillaan 58 % proteiinin saantoon rypsiöljyn puristustähteestä, kun jauhatus tehtiin veitsimyllyllä. Tällöin proteiinin osuus negatiivisen elektrodin jauhevirrasta oli 43,8 %. Ligniinin osuus negatiivisen elektrodin jauhevirrasta oli 4,3 %. Lähtöaineessa proteiinin osuus oli 35,8 % ja ligniinin osuus 13,4%. (Kdidi et al., 2019)

Tulosten perusteella nähdään, että proteiinien erotusteho ei ole sähköstaattisella menetelmällä kovinkaan suuri. Kuitenkin ligniinin määrän väheneminen helpottaa proteiinipitoisen jauheen käyttöä, koska ravinnossa olevan ligniinin hajottaminen on kuitujen kohdalla hankalin osa (Moore et al., 2001). Lisäksi on hankala arvioida, kuinka tehokasta sähkövaraukseen perustuva erotus on eläinten lannan tapauksessa, koska naudan ja sian lannan kohdalla lannan proteiinipitoisuus on alhaisempi ja kuitupitoisuus korkeampi.

3.6 Proteiinien liukoisuuteen perustuva erotus

Osa lannan sisältämästä proteiinista on eläimen sulamattomassa ravinnossa, jolloin se on vielä sitoutunut soluihin. Mikäli tarkoituksena on tuottaa puhtaampaa proteiinia, täytyy soluihin sitoutunut proteiini erottaa soluista. Tällöin proteiinien erottaminen voidaan tehdä myös niiden liukoisuuden perusteella. Liukoisuuteen perustuvissa erotusmenetelmissä proteiini uutetaan ensin nestefaasiin, jonka jälkeen neste- ja kiintoainefaasit erotetaan toisistaan. Tämän jälkeen nestefaasiin jäänyt proteiini saostetaan. Ennen proteiinien uuttoa käsiteltävä kiintoaine tyypillisesti jauhetaan, jolloin saadaan kasvatettua pinta-alaa, jolta proteiini pystyy siirtymään nestefaasiin.

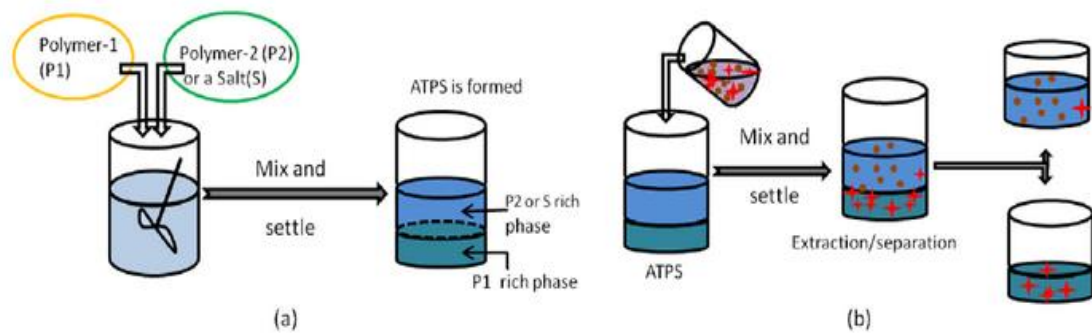
Yksi tapa erottaa proteiineja on tekemällä proteiinipitoisen materiaalin sisältävä liuos ensin emäksiseksi, esimerkiksi käyttämällä NaOH-liuosta. pH:n muutos kasvattaa proteiinien liukoisuutta, jolloin proteiinit voidaan erottaa liukenemattomasta kiintomateriaalista, käyttämällä esimerkiksi sentrifugia kiinteä-neste-erotuslaitteena. (Lorenzo-Hernando et al., 2019) Proteiinien lisäksi myös ligniiniä ja hemiselluloosaa voi liueta, kun pH:ta kasvatetaan.

Lisäksi voimakkaasti emäksiset olosuhteet voivat heikentää proteiinin ravintoarvoa. (Contreras et al., 2019) Kun emäksiseen nestefaasiin lisätään happoa, kuten HCl, liuoksen pH laskee. Tällöin osa nesteen sisältämästä proteiinista sakkautuu. (Gerde et al., 2013) Proteiinien liukoisuus ja saostuminen riippuu proteiinin isoelektrisen pisteen arvosta (Pojić, Mišan & Tiwari, 2018)

Kasvimateriaaleista proteiineja voidaan uuttaa myös käyttämällä entsyymejä, jotka hajottavat kasvisolun soluseinämän, sekä proteaaseja, jotka parantavat proteiinien liukoisuutta. Entsyymien käyttö uutossa on kallista ja hidasta, sekä vaatii paljon energiaa, mutta lopputuloksena saatavan proteiinin laatu on korkeampi. (Pojić, Mišan & Tiwari, 2018).

Muita mahdollisia keinoja uuttaa proteiineja nestefaasiin ovat alikriittinen vesiuutto ja kaksifaasiuutto. Alikriittinen vesiuutto perustuu paineistetun kuuman veden käyttöön. Veden lämpötila voi olla 100 – 374 °C. Alikriittisellä vesiuutolla on päästy korkeampiin saantoihin, kun emäksisellä uutamisella. Erotusprosessia voidaan jauhatuksen lisäksi tehostaa muilla apukeinoilla Mahdollisia apukeinoja voivat olla mikroaallot, ultraääni, sähköpulsit ja korkea paine. (Pojić, Mišan & Tiwari, 2018)

Proteiinit voidaan uuttaa myös kaksifaasimenetelmällä. Kaksifaasimenetelmän peruseriaate on esitetty kuvassa 6. Ensin sekoitetaan kahta eri toisiinsa liukenematonta ainetta, jotka muodostavat kaksifaasisysteemin. Aineina voidaan käyttää polymeerejä ja suoloja. Tämän jälkeen kaksifaasisysteemiin lisätään proteiinipitoinen liuos, jonka proteiinit rikastuvat toiseen faasiin. Tämän jälkeen faasit erotetaan toisistaan (Wijethunga, Moon, 2015).



Kuva 6 Kaksifaasisen menetelmän kaavakuva (Wijethunga, Moon, 2015)

Proteiinin liukoisuuteen perustuvilla menetelmillä pystytään tuottamaan huomattavasti puhtaampia proteiinijakeita verrattuna partikkelikokoperusteiseen tai sähköstaattiseen erotukseen. Proteiinien uutto vaatii kemikaaleja, jolloin mahdolliset jätevirrat vaativat puhdistusta. Lisäksi tavoitteena ei ole tuottaa täysin puhdasta proteiinia, jolloin lopputuotteen puhtaudesta ei ole suurta hyötyä. Lannassa olevia proteiinien ja polypeptidiketjujen erottamista uuttamalla ei ole tutkittu suurella mittakaavalla, joten menetelmän todellista käytettävyyttä on hankala arvioida.

3.7 Ioninvaihtokromatografia

Ioninvaihtokromatografia on yksi vaihtoehto proteiinien erotuksessa. Ioninvaihtokromatografia perustuu nestefaasiin liuenneiden molekyylien ja stationäärifaasin sähköisiin vuorovaikutuksiin. Nestefaasissa olevat varaukselliset molekyylit sitoutuvat stationäärifaasiin ja samalla stationäärifaasista siirtyy varausta vastaava määrä ioneja nestefaasiin. Stationäärifaasiin sitoutuneet molekyylit irrotetaan käyttämällä eluenttia, joka vaihtaa paikkaa varattujen molekyylien kanssa. Tämän jälkeen stationäärifaasi regeneroidaan, eli sen ioninvaihtokyky palautetaan erotusta edeltävälle tasolle. (Nasef, Ujang, 2012) Ioninvaihdossa käytettävät stationäärifaasit voidaan jakaa kationeja ja anioneja erottaviin niiden varauksen perusteella. Proteiinien erotuksessa voidaan käyttää kumpaakin tyyppiä, koska proteiinit ovat amfoteerisiä, eli niillä voi olla joko positiivinen tai negatiivinen varaus. Tällöin proteiinien erotuksessa niiden isoelektrinen piste, eli pH:n arvo,

jolla proteiinin sähkövaraus on 0 määrittää käytetäänkö erotuksessa kationinvaihtoa vai anioininvaihtoa. (Velickovic et al., 2012.)

Ioninvaihtokromatografiassa käytetyt kolonnit on tyypillisesti täytetty huokoisilla kappaleilla, joilla on suuri pinta-ala adsorptiota varten. Huokosten kokoa tarkasteltaessa, joudutaan tekemään kompromissi adsorptiopinta-alan ja molekyylien liikkuvuuden välillä, kun käsitellään proteiinien kromatografista erotusta. Proteiinien erotuksessa huokosten koko on tyypillisesti suurempi, kuin muilla kromatografian käyttökohteilla. (Lenhoff, 2016.) Ioninvaihdossa käytettävät materiaalit voidaan jakaa vahvoihin ja heikkoihin, niiden ominaisuuksien mukaan. Heikkoja ioninvaihtimia voidaan käyttää, kun anioninvaihdossa proteiinin isoelektrinen piste on alle 7,5 ja kationinvaihdossa isoelektrinen piste on yli 6,5. Vahvoja ioninvaihtomateriaaleja voidaan käyttää, kun erotetaan heikosti happamia ja emäksisiä proteiineja. (Velickovic et al., 2012.)

Ioninvaihtokromatografian ongelmana on sen käytön vaatimien esikäsittelyjen suorittaminen. Ioninvaihtokolonne voi tukkeutua siihen kerääntyvistä kiintoainepartikkeleista, jonka takia sillä ei voida erottaa, kuin nestefaasiin liuenneita proteiineja ja aminohappoja. Tällöin sitä ei voida käyttää suoraan esimerkiksi seulonnan alitteen käsittelyssä, vaan proteiinit täytyy ensin saada liukenemaan nestefaasiin, kuten kappaleessa 3.6 on esitetty.

3.8 Biologiset käsittelytavat

Eläinten lantaa voidaan käyttää myös proteiinia tuottavien pieneliöiden ja hyönteisten ravintona, jolloin proteiinin erotusprosessissa käytetään raaka-aineena kyseisiä eliöitä tai eliöiden ja lannasta jäljelle jääneen osan sekoitusta. Tällä hetkellä erityisesti hyönteisten käyttö proteiinin tuotannossa on voimakkaasti esillä. Lantaa voidaan käyttää esimerkiksi mustasotilaskärpäsen toukkien ravintona (Xiao et al., 2018), (Feng et al., 2018). Muita mahdollisia vaihtoehtoja voivat olla esimerkiksi levät (Ledda et al., 2016), bakteerit ja sienet.

Pieneliöt ja hyönteisten toukat pystyvät proteiinin lisäksi tuottamaan myös muita arvokkaita aineita, kuten rasvaa.

Useiden hyönteislajien toukat ovat sopeutuneet käyttämään eläinten lantaa ravintonaan. Toukat sisältävät runsaasti proteiinia, jopa yli 50 %, joten ne ovat mahdollisuus proteiininlähteenä (Somroo et al., 2019). Erityisesti mustasotilaskärpäsen, *Hermetia illucens*, toukkien käyttöä on tutkittu, koska ne eivät levitä bakteereja tai tauteja (Feng et al. 2017). Xiao et al. (2018) ovat tutkineet Mustasotilaskärpäsen toukkien ja *B. subtilis* BSF-CL bakteerien yhteiskäyttöä kananlannan käsittelyssä. Kananlannan vesipitoisuus oli 76 %. Tutkimuksen mukaan mustasotilaskärpäsen toukkien ja bakteerien yhteiskäytöllä saadaan 13 päivässä kasvatettua 93,2 kg toukkia, kun kananlantaa on alussa ollut 1000 kg. Pelkästään toukkia käyttämällä saadaan kasvatettua 80,4 kg toukkia. (Xiao et al., 2018)

Mustakärpäsen toukkia on käytetty myös lypsykarjan lannan käsittelyssä. Li et al. (2011) tuottivat 70,8 g kuivattuja toukkia, kun lantaa oli alussa 1248,6 g. Toukkien sisältämän rasvan erottamisen jälkeen rehuksi käytettävän kärpästen massa oli 54,4 g. Taulukossa IV on esitetty Li et al (2011) mittaamat lypsykarjan lannan ominaisuudet ennen ja jälkeen toukkien käsittelyä. Taulukon tuloksista nähdään, että selluloosan, hemiselluloosan ja typhen osuus vähenee käsittelyn seurauksena. Kuiva-aineen ja ligniinin osuus kasvaa.

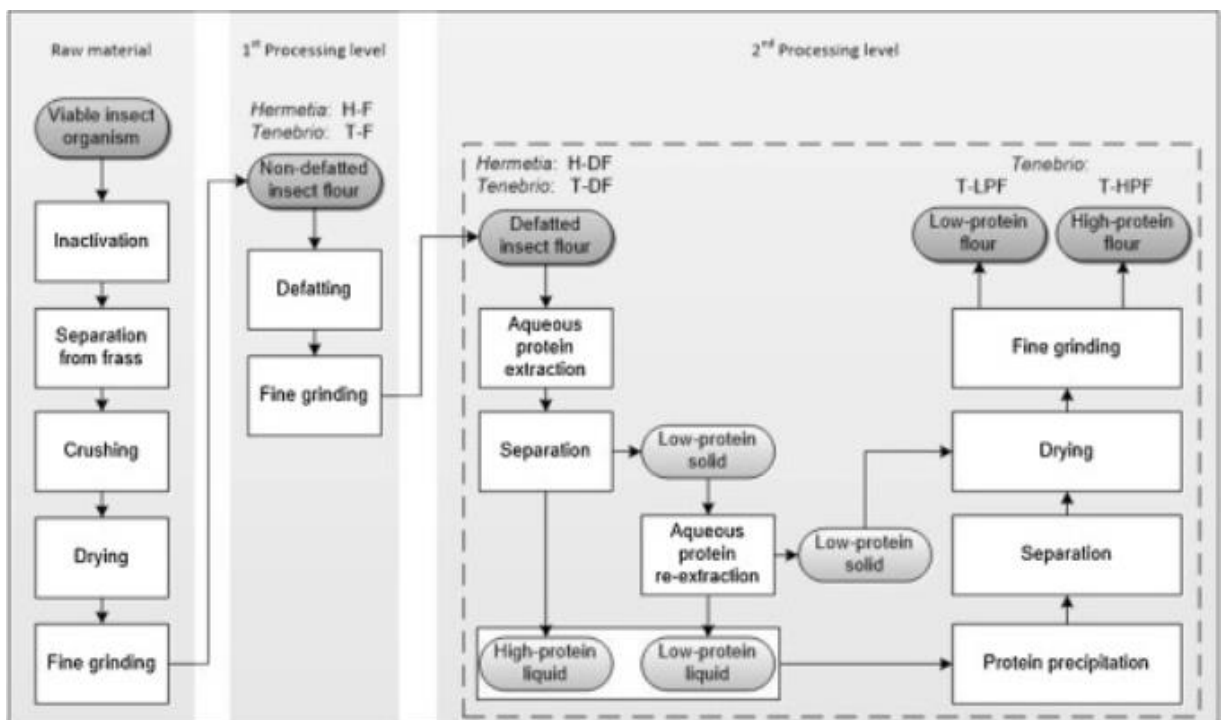
Taulukko V Mustasotilaskärpäsen toukkien käsittelemän lannan koostumuksen muutos (Li et al., 2011).

	Tuore lypsykarjan lanta	Käsitelty lanta
Kuiva-aine, %	47	54
Selluloosa, %	39	21
Hemiselluloosa, %	18	13
Ligniini, %	23	31
Kokonaistyyppi, %	1,7	1,0
pH	8,2	7,3

Mustasotilaskärpäsen toukkien käyttö vaatii sopivat olosuhteet toukkien kasvamiselle. Li et al. (2011) käyttivät olosuhteita, jossa lämpötila oli 27 °C ja ilman suhteellinen kosteus 60 % – 75 %. Rehman et al. (2019) käyttämät kasvatusolosuhteet olivat lähes samat, ainoastaan ilman kosteus on 60% -70%. Tämä hankaloittaa mustasotilaskärpäsen toukkien käyttöä Suomen olosuhteissa, koska riittävän korkean lämpötilan tuottaminen voi vaatia ulkopuolista energiaa.

Toukkien sisältämä proteiini voidaan erottaa Bußler et al. (2016) esittelemällä prosessilla, jossa biomassasta seulomalla erotetut toukat murskataan ja kuivataan. Tämän jälkeen murskatut toukat jauhetaan ja niistä erotetaan rasva uuttamalla se heksaaniin ja erottamalla proteiinipitoinen kiintoaine heksaanista. Rasvan erottaminen helpottaa toukkien prosessointia, koska esimerkiksi jauhatuksessa sulava rasva on ongelma. Heksaanin jäämät poistetaan haihduttamalla. Lopputuloksena saadaan rasvatonta hyönteisjauhoa, jota voidaan vielä jatkojalostaa korkeamman proteiinipitoisuuden saavuttamiseksi. (Bußler et al., 2016)

Prosessi on esitetty kuvassa 6.



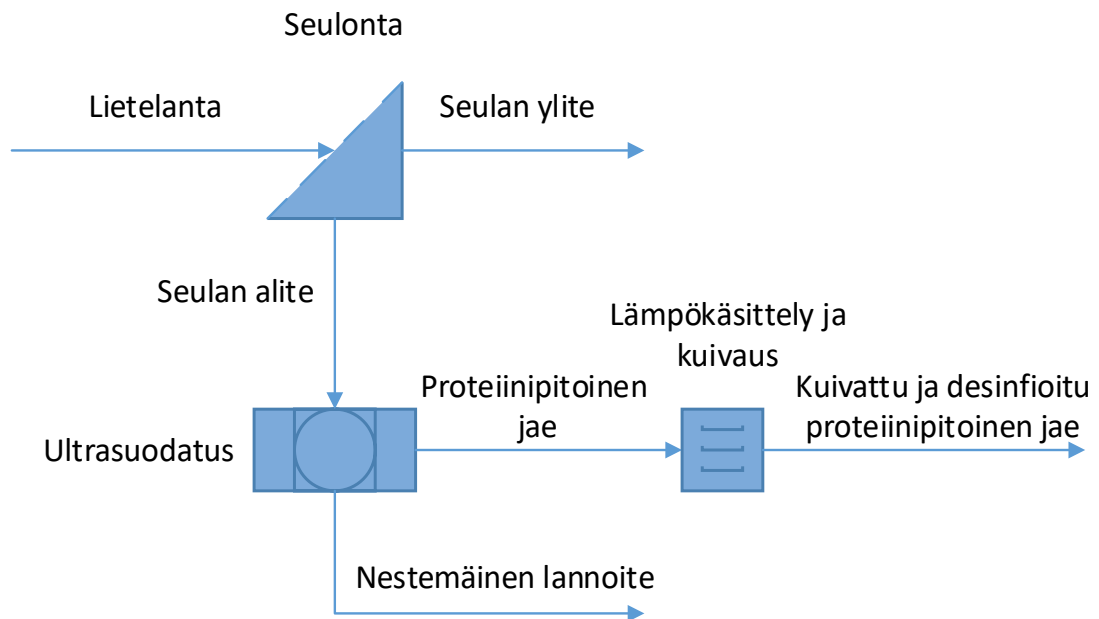
Kuva 7 Proteiinin erotusprosessi mustasotilaskärpäsen toukista lohkokkaavio (Bußler et al., 2016).

4. Mahdolliset prosessivaihtoehdot

Aikaisemmin esitettyjen eri proteiinin erotusmenetelmien perusteella muodostettiin kolme lupaavinta prosessivaihtoehtoa, joilla lannassa olevaa proteiinia voitaisiin erottaa. Partikkelikokoon perustuva erotus ja sähköstaattinen erotus ovat teoreettisia prosesseja. Mustasotilaskärpästen käyttö proteiinin tuotannossa on jo todistettu. Erotuksen lisäksi esitetyissä prosesseissa on esitetty myös esi- ja jatkokäsittelyjä, kuten proteiinijakeen desinfiointi. Prosessivaihtoehdot on esitetty lohkokaavioina.

4.1 Prosessivaihtojen esittely

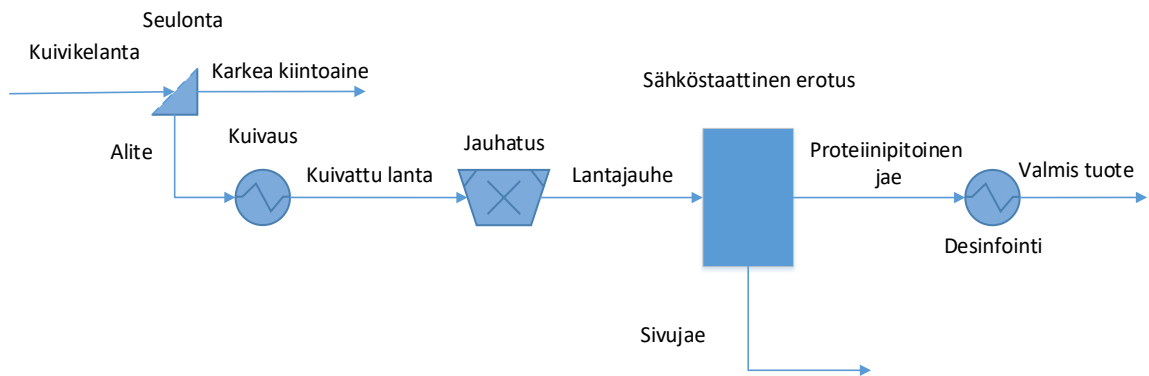
Kuvassa 7 on esitetty prosessivaihtoehto, jossa proteiinin erotus tapahtuu seulonnan ja ultrasuodatuksen avulla. Seulonnassa alimmaisen seulan kokona käytetään alustavasti Chen et al. (2003) tulosten perusteella 0,125 mm. Seulonnan ylite voidaan käyttää esimerkiksi lannoitteena tai biokaasun tuotannon raaka-aineena. Seulonnan alite ultrasuodatetaan, jolloin proteiinipitoinen kiintoaine saadaan erotettua nestefaasista. Ultrasuodatuksen alitteessa pitäisi olla mukana suurin osa nestefaasiin liuenneesta epäorgaanisesta tyyppistä ja fosforista, jolloin sitä voidaan käyttää nestemäisenä lannoitteena. Ultrasuodatuksen ylitteen proteiinipitoinen kiintoaine tulee vielä desinfioida, jotta mahdolliset taudinaiheuttajat eivät pääse leviämään. Mahdollisia desinfiointikeinoja on useita, mutta esimerkkiprosessissa käytetään lämpökäsittelyä, jossa proteiinipitoinen kiintoaine kuumennetaan bakteerien tuhoamiseksi. Samalla proteiinipitoisesta kiintoaineesta haihdutetaan siihen ultrasuodatuksesta jäänyt vesi.



Kuva 8 Partikkelikokoon perustuvan erotuksen lohkokaavio

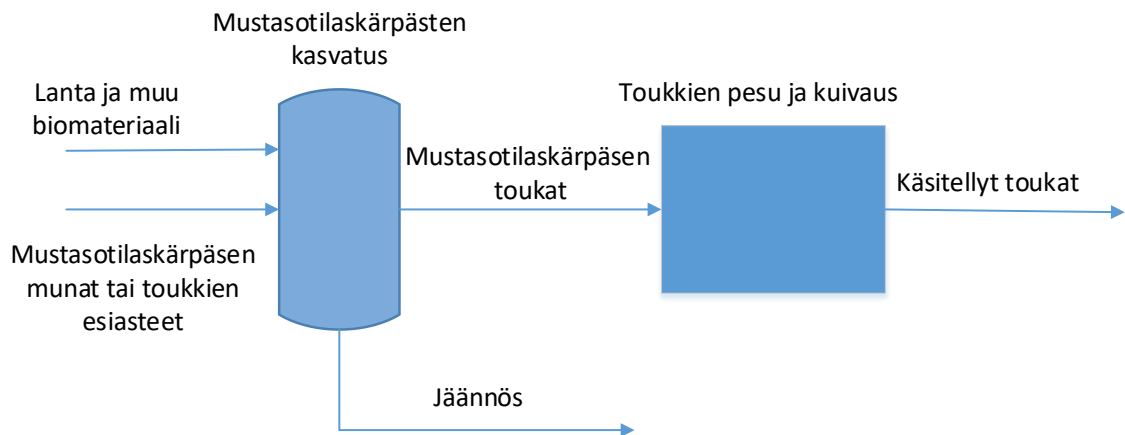
Kuvassa 9 on esitetty sähköstaattiseen erotukseen perustuva prosessivaihtoehto. Prosessin raaka-aineena toimii kuiva lanta, joka voi olla joko kuivikelantaa, tai lietelantaa, josta neste on erotettu pois. Kuivikelannan tapauksessa kuivikkeen poistaminen esimerkiksi seulomalla voi olla tarpeellista. Lisäksi lanta kuivataan ennen jauhatusta, mikäli se on kostea. Itse prosessissa kuiva lanta jauhetaan noin 40 µm kokoluokkaan, mikäli käytetään rypsiöljyn puristustähteen proteiinierotusprosessin arvoja lähtökohtana (Kdidi et al., 2019). Tämän jälkeen jauhettu lanta puhalletaan sähköstaattiseen erotuslaitteistoon, jossa proteiinipitoisen jakeen tulisi erottua. Prosessiin voidaan myös tehdä takaisinkierto, jolloin voidaan päästä parempaan erotustulokseen. Täyttä varmuutta menetelmän käytännön toiminnasta ei voida antaa, koska jauhettua lantaa ei tiedettävästi ole käsitelty sähköstaattisella erotuksella.

Erotuksen jälkeen proteiinipitoinen kiintojake desinfioidaan lämpökäsittelyllä. Sivutuotteena syntyvä jae voidaan käyttää esimerkiksi biokaasun tuotannon raaka-aineena tai lannoitteena. Kuitenkin sivutuotteen pieni partikkelikoko voi lisätä sen pölyämistä ja sitä kautta hankaloittaa sen käsittelyä. Esimerkiksi pieni partikkelikoko voi lisätä paloriskiä.



Kuva 9 Sähköstaattisen erotusprosessin lohkokaavio

Kuvassa 10 on esitetty mustasotilaskärpästen käyttöön perustuvan proteiini tuottoprosessin lohkokaavio. Toukat kasvatetaan lantakasoissa, joissa lämpötila on säädetty noin 27 °C ja ilman suhteellinen kosteus noin 70 %. Toukkien kasvatusaikana käytetään Win et al. (2018) esittämää 22-24 päivää, jonka jälkeen toukat ja esikotelot erotetaan lannasta. Erotetut toukat pestään ja kuivataan, jonka jälkeen toukat ovat valmiita mahdollisia jatkokäsittelyjä, kuten rasvanpoistoa varten. Jäljelle jäävä lanta voidaan hyödyntää esimerkiksi lannoitteena tai biokaasun tuotannossa.



Kuva 10 Mustasotilaskärpäsen toukkien käytön lohkokaavio

4.2 Erotusprosessin sijoittaminen

Prosessilaitteisto voi olla tilakohtainen, keskitetty, tai liikuteltava. Tilakohtainen prosessilaitteiston kapasiteetti voidaan mitoittaa yhden tilan tuottaman lannan perusteella. Tilakohtaisen prosessointilaitteiston etuna on se, että lanta voidaan käsitellä heti, jolloin lannan sisältämä proteiini ei ehdi hajota. Lisäksi mahdolliset taudinaiheuttajat eivät pääse leviämään tilaa pidemmälle, mikäli erotettu proteiini käytetään samalla tilalla. Keskitetyssä prosessilaitteistossa lanta tai sen esikäsitelty jae kuljetetaan yhteen suurempaan prosessikokonaisuuteen, jolloin voidaan säästää kustannuksissa verrattuna useaan tilakohtaiseen laitteistoon verrattuna. Keskitetyn prosessilaitteiston ongelmana on lannan kuljetuksesta aiheutuvat kulut ja päästöt, erityisesti silloin, kun välimatkat ovat pitkiä. Lisäksi mahdolliset taudinaiheuttajat pystyvät keskitetyssä prosessilaitteistossa saastuttamaan suuremman määrän tuotetta. Liikuteltavalla prosessilaitteistolla voidaan poistaa lannan kuljetuksesta aiheutuviat kustannuksia, kun yhdellä laitteistolla voidaan käsitellä useamman tilan lanta. Liikuteltavan laitteiston ongelmana voi kuitenkin olla lannan varastointiajan kasvaminen, minkä aikana lannan sisältämät proteiinit hajoavat. Lisäksi kaikissa prosessivaihtoehtoissa liikuteltavan prosessilaitteiston rakentaminen ei välttämättä ole mahdollista. Myös mahdolliset taudinaiheuttajat voivat siirtyä tilalta toisella prosessilaitteiston mukana.

Esitellyistä prosessivaihtoehtoista kaikki voidaan toteuttaa tilakohtaisesti ja keskitetysti, mutta mustasotilaskärpäsen toukkien käyttö liikkuvassa prosessissa on epäkäytännöllistä niiden käytön vaatiman tilan ja kasvuajan takia. Lisäksi osa esitettyjen prosessien yksikköprosesseista voidaan tehdä itse tilalla ja osa keskitetysti. Esimerkiksi prosessivaihtoehdon 1 kohdalla seulonta voidaan tehdä tilalla ja ultrasuodatus keskitetysti.

4.3 Prosessivaihtoehtojen vertailu

Esitetyillä prosessivaihtoehtoilla on omat etunsa ja haittapuolensa. Prosessivaihtoehtojen toimintaa vertaillaan niiden saannon, tuotteen puhtauden ja kustannusten kannalta. Vertailu on osittain teoreettista, koska partikkelikokoon ja sähköstaattiseen erotukseen perustuvia

prosessivaihtoehtoista ei ole tutkittua tietoa lannan käsittelyssä. Vertailun lähtökohtana käytetään kirjallisuudesta löytyviä arvoja muiden materiaalien käsittelyssä.

Seulonnan ja ultrasuodatuksen käytöllä voidaan arviolta erottaa lannan sisältämästä proteiinista yli 50 %, kun lähtökohtana käytetään Müllerin (1980) ja Chen et al. (2003) esittämiä arvoja nautaeläimen lannalle. Muiden tuontantoeläinten kohdalla erotustehoa ei pystytä arvioimaan tutkimustulosten puutteen takia. Tuotteen puhtautta on myös hankala arvioida, mutta proteiinin lisäksi lopputuotteeseen jää luultavasti myös pienijakoista kuitua ja orgaanisesti hajoamattomia yhdisteitä, kuten mineraalipartikkeleita. Menetelmä sopii luultavasti parhaiten nautaeläinten lannan käsittelyyn, koska nautaeläinten lanta sisältää eniten kuitua.

Sähköstaattisella menetelmällä päästään karkeasti arvioiden noin 20-30 % saantoon, käytetään Assatory et al. (2019) esittämiä erotustuloksia kasviproteiinien erotuksessa. Tällöin lopputuote sisältää yli 40 % proteiinia, kun raaka-aineessa proteiinia on noin 25 %, mikä vastaa karkeasti sian lannan proteiinipitoisuuksia.

Mustasotilaskärpäsen toukkien käytössä lannan kiintoaineesta vähintään 40 % pystytään muuntamaan toukkien massaksi, kun käytetään Xiao et al. (2018) esittämiä arvoja lähtökohtana. Toukkien keräämää massaa voidaan luultavasti kasvattaa vielä 40 % suuremmaksi, koska Xiao et al. (2018) tutkimuksessa toukkien kasvatusaika oli lyhyempi, kuin mitä Win et al. (2018) esittävät mahdolliseksi. Toukkien prosessoinnin lopputuotteen puhtaus voidaan saada hyvin korkeaksi. Mustasotilaskärpäsen toukkien käyttö proteiinin tuottamiseen sopii hyvin eri tuontantoeläinten lannoille.

Prosessien investointikustannukset ovat merkittävä tekijä proteiinin erottamisen kannattavuuden kannalta. Lisäksi eri osaprosessien käytössä kuluvat osat ja energiankulutus aiheuttavat kuluja. Taulukossa VI on esitetty eri prosessivaihtoehtoihin liittyviä kuluja. Eri kustannuksissa on esitetty arviolta merkittävimmät kustannuksia aiheuttavat tekijät.

Tarkkoja arvoja ei esitetä, koska ne riippuvat prosessin kapasiteetista, käsiteltävästä lannasta ja muista olosuhteista.

Taulukko VI Eri prosessivaihtoehtojen laitevaatimuksia ja kustannuksia

Prosessivaihtoehto	Seulonta ja ultrasuodatus	Sähköstaattinen erotus	Mustasotilaskärpäsen toukkien käyttö
Investointi	Seulontalaitteisto Suodatuslaitteisto Pumput Putkistot Instrumentointi Desinfiointi	Jauhatuslaitteisto Kompressorit ja kuljettimet Sähköstaattinen erotuslaitteisto Desinfiointi	Kasvatusaltaat Toukkien erotuslaitteisto Pesulaitteisto Kuivauslaitteisto
Kuluvat osat	Ultrasuodatus-membraani Pumput	Jauhatuslaitteisto	Mustasotilaskärpäsen toukat
Energiaa vaativat kohteet	Pumppaus Desinfiointi	Jauhatusta Sähkökentän synnyttäminen Desinfiointi	Toukkien kasvuolosuhteiden ylläpito Kuivaus

5. Proteiinin talteenoton yleiset edut ja ongelmat

Proteiinin talteenotolla lannasta saavutetaan useita etuja, mutta proteiinin talteenotossa on myös ongelmia. Yleisesti ottaen lannasta erotetulla proteiinilla voitaisiin korvata tuotantoeläimien rehussa käytettävää kasviproteiinia ja tällöin vähentää maatalouden ympäristökuormaa. Lisäksi lannan määrän ja ravinnepitoisuuden väheneminen pienentää lannan levityksestä aiheutuvaa ympäristökuormaa. Proteiinin talteenoton ongelmina ovat lannassa mahdollisesti esiintyvät terveydelle haitalliset aineet, sekä ihmisten ennakkoluulot lannasta erotettua proteiinia kohtaan.

5.1 Ravinteiden talteenotto ja biomassan väheneminen

Proteiinin sisältämän typen määrän väheneminen voi vaikuttaa jäljelle jääneen lannan lannoitusominaisuuksiin. Eri erotusmenetelmillä tehtävä proteiinin erotus voi vaikuttaa typen määrään erotusprosessin sivuvirroissa. Esimerkiksi ultrasuodattamisessa alitteena saatava neste sisältää pääsääntöisesti siihen liennuttua epäorgaanista typpeä ja fosforia, kun taas seulonnassa saatava ylite sisältää enemmän orgaanista typpeä.

Joka tapauksessa proteiinin erotus pienentää lannan ravinnepitoisuutta. Ravinnepitoisuuden pieneminen puolestaan voi pienentää lannan levityksestä aiheutuvaa vesistöjen ravinnekuormaa. Toisaalta lannan sisältämien ravinteiden määrän väheneminen voi johtaa apulannan käytön lisääntymiseen lannoituksessa. Kasvit eivät pysty suoraan käyttämään lannan proteiinien sisältämää orgaanista typpeä. Maaperän mikrobien on ensin hajotettava typpeä sisältävät orgaaniset molekyylit, jolloin muodostuu epäorgaanista typpeä, jota kasvit voivat käyttää. (Ylivainio, 2013) Proteiinien erotuksen seurauksena lannasta poistuu orgaanista typpeä, jolloin suurempi osa lannan sisältämästä typestä on heti kasveille käytettävässä muodossa.

Ravinteiden talteenoton lisäksi proteiinien talteenotto vähentää myös lannan kokonaismäärää. Lannan kokonaismäärän pieneminen on etu etenkin suurilla maatiloilla, joiden ympärillä ei ole riittävästi peltoalaa. Tällöin lannan määrän väheneminen auttaa vähentämään kuljetuskustannuksia.

5.2 Prosessien sivutuotteiden hyödynnettävyys

Suuri osa eläinten lannasta käytetään peltojen lannoittamiseen. Lannoituksessa merkittävintä on lannan typpi- ja fosforipitoisuus. Suomessa pelloille levitettävän typen määrä on rajoitettu 40-250 kg vuodessa riippuen kasvilajista, koska liiallinen typellä lannoittaminen aiheuttaa ravinnekuormaa vesistöille. Lisäksi liiallinen lannan levitys voi vaikuttaa myös pohjaveden

laatuun (Ympäristönsuojelulaki 1250/2014). Proteiinin erotuksen seurauksena lannan typpipitoisuus vähenee, jolloin tilan lannan levitykseen tarvittava peltoala voi olla pienempi.

Biokaasun tuotannossa ammoniakki on anaerobisten bakteerien kasvua hidastava tekijä. Ammoniakkia syntyy pääsääntöisesti proteiinien hajotessa. Optimaalinen hiilen ja typen suhde biokaasun tuotannossa on noin 33 (Kovács et al., 2015). Kananlannassa C/N suhde on noin 5, sianlannassa 8 ja naudanolannassa 11 (Huang et al., 2017). Tällöin biokaasun tuotannossa pitää käyttää muita biomateriaaleja, kuten korjuutähteitä optimaalisen C/N suhteen saavuttamiseksi (Zhao et al., 2018). Proteiinin erotuksella voidaan pienentää lannassa olevan typen määrää, mikä parantaa C/N suhdetta biokaasun tuotannon suhteen. Rikkiä sisältävien proteiinien määrä vaikuttaa myös biokaasun tuotannossa syntyvän myrkyllisen H_2S :n muodostumiseen (Han et al., 2019). Tällöin proteiinin erotuksella voisi olla mahdollista vähentää muodostuva H_2S :n määrää.

Proteiinin erotuksessa syntyville sivutuotteille voi olla myös muuta käyttöä. Esimerkiksi nautojen lannan seulonnan ylitteenä saatava karkea kiintoaine voidaan kuivauksen jälkeen käyttää uudestaan esimerkiksi karjan kuivikkeena (Bradley et al., 2018). Sivutuotteita voidaan käyttää myös sokereiden tuottamiseen hydrolyysillä (Chen et al., 2003).

5.3 Lannasta erotetun proteiinin käyttö tuotantoeläinten ruokinnassa

Lannan käyttöä suoraan tuotantoeläinten ruokinnassa on tutkittu. Esimerkiksi kuivattua kananlantaa on käytetty suoraan nautaeläinten ruokinnassa. Kananlannan käytöllä ei ole ollut vaikutusta tuotettavan naudanolihan tai maidon makuun tai koostumukseen. Kananlannan tapauksessa kuitenkin hivenaineiden määrä ei kaikilta osin ole riittävä. (Ghaly et al., 2012) Lehmänlannan käyttöä sikojen ruokinnassa on myös tutkittu. Manjeli et al. (1996) eivät huomanneet merkittävää eroa tavallisen sianrehun ja lehmänlannalla ruokittujen sikojen välillä. Tehtyjen tutkimusten perusteella voidaankin olettaa, että myös lannasta erotetulla proteiinilla ei pitäisi olla haittaa tuotettavien eläintuotteiden laatuun. Aihepiiri voi vielä vaatia lisätutkimuksia, jotta voidaan olla varmoja eläinten ja ihmisravinnon turvallisuudesta.

Tällöin lannasta erotetulla proteiinilla voitaisiin korvata tällä hetkellä käytettyjä kasviproteiineja, kuten soijaa ja rypsiä. Soijan tuotanto on yksi merkittävimmistä sademetsien raivauksen syistä (Fuchs et al., 2019). Korvaamalla soijaa eläinten ruokinnassa lannasta erotetulla proteiinilla voidaan säästää sademetsiä. Lisäksi soija- ja rypsi-proteiinia käytetään suoraan ihmisravinnoksi. Tällöin käyttämällä lannasta erotettua proteiinia eläinten ruokinnassa voidaan vähentää ihmisravinnoksi sopivan ravinnon syöttämistä tuotantoeläimille.

Lannasta erotettu proteiini voi korvata myös käsittelemättömän lannan syöttämistä. Lannasta erotetulla proteiininpitoisella jakeella on useita etuja ruokinnassa verrattuna lannan käyttöön suoraan ruokinnassa. Käyttämällä ruokinnassa lannasta erotettua proteiininpitoista jakeita saadaan sama ravinnollinen arvo pienemmällä määrällä verrattuna lantaan. Lisäksi rehun desinfioinnissa voidaan säästää energiakuluissa, koska desinfioitava määrä on erotetun proteiinin tapauksessa pienempi. Lannasta erotetun proteiinin sulavuus on parempi, koska ligniinin ja muiden ravinnon sulamista haittaavien komponenttien määrä on pienempi, kuin lannassa. Lannasta erotetun proteiinin haittapuolena lannan syöttämiseen on erotusprosessin vaatimat pääoma- ja ylläpitokustannukset.

5.4 Lannan sisältämät taudinaiheuttajat ja lääke- ja hormonijäämät

Taudinaiheuttajat ja lääkejäämät, sekä hormonit ovat merkittäviä haasteita proteiinin talteenotossa lannasta. Snow et al. (2009) ovat esitelleet erilaisia lannassa esiintyviä terveydelle haitallisia aineita. Lisäksi mahdolliset raskasmetallit ja muut mineraalit voivat kulkeutua lannasta erotetun proteiinin mukana, jolloin vaarana on kyseisten aineiden rikastuminen tuotantoeläimiin (Müller, 1980).

Liu et al. (2012) ovat tutkineet sikojen ja nautojen lannan hormonipitoisuuksia. Tutkimusten perusteella nautaeläimen tuottama lanta sisältää pääsääntöisesti enemmän hormonijäämiä verrattuna sianlantaan. Nautaeläinten päivässä tuottama lanta sisälsi 11700-18700 µg androgeeneja. Sian lannassa androgeeneja oli 9-756 µg. Estrogeenien kohdalla nautan päivässä tuottama lanta sisälsi 1820-4080 µg estrogeeniä, kun taas emakko tuotti päivässä

6,2-59 µg estrogeeniä. Määtys ja säilöntä vähensivät useimpien lannan sisältämien hormonien määrää. Hormonien konsentraation väheneminen voi johtua hajoamisesta ja hormonien adsorptiosta muihin lannan partikkeleihin. (Liu et al., 2012) Määtys ja säilöntä kuitenkin myös hajottavat proteiineja, joka haittaa proteiinien talteenottoa.

Lisäksi erilaisten prioneihin liittyvät sairaudet, kuten hullun lehmän tauti tulee ottaa huomioon, jos erotettua proteiinia halutaan käyttää tuotantoeläinten ruokinnassa. Alkuperäinen hullun lehmän tautiepidemia sai alkunsa sairaiden eläinten teurasjätteestä valmistettua rehusta. Rehu sisälsi eläinten ruhonosia, joihin prionit olivat konsentroituneet (Mekonnen et al., 2013). Prionien hajottaminen on haastavaa. Booth et al. (2013) ovat tutkineet prionien hajoamista jäteletteissä. Muun muassa kompostointi ja kastematojen käyttö voivat hajottaa prioneja. Prioneja voidaan luultavasti hajottaa myös käyttämällä entsyymejä, jotka sammuttavat prionien toiminnan. (Booth et al., 2013)

5.5 Lannan syöttämisen laillisuus

Kanan lannan käyttö märehitijöiden ravintona on kielletty muun muassa Australiassa. Kiellon syynä on kanojen ruokinnassa käytettävä rehu, joka saattaa sisältää teurasjätettä, jossa on käytetty ruhonosia, joissa tiedetään esiintyvän prioneja. (Queensland Government, 2017) On todennäköistä, että kiello koskee myös lannasta erotettua proteiinia. Euroopan Unionin alueella on kielletty eläinproteiinien kierrätys tuotantoeläimen rehuksi, hullun lehmän taudin ehkäisemiseksi asetuksen 999/2001 liitteen IV luvun I mukaisesti (Eur-lex 2001). Kuitenkin kierrätysproteiinia voitaisiin käyttää esimerkiksi turkiseläinten ravinnoksi, koska turkiseläinten ruokintaa koskevat kevyemmät säädökset.

Yhdysvalloissa lannan käyttöä eläinten ruokinnassa ei kuitenkaan ole kielletty, kuitenkin teuraaksi menevien eläimien ruokinnassa on rajoituksia lääkejäämien torjumiseksi (Ranking, 2018). Kanan lantaa on käytetty myös Afrikassa tuotantoeläinten ruokinnassa (Lanyasunya et al., 2006). Tällöin voidaan olettaa, että myös lannasta erotetun proteiinin käyttäminen ruokinnassa on sallittua.

5.6 Muita käyttökohteita erotetulle proteiinille

Vaikka lannan käyttö proteiinilähteenä on kielletty lukuisissa maissa, se ei silti tarkoita, etteikö lannasta erotettua proteiinia voisi käyttää muihin tarkoituksiin. Lannasta erotetulla proteiinilla on useita mahdollista muita käyttötarkoituksia. Lypsykarjan lannasta erotettua proteiinia on käytetty bakteerikasvuston typenlähteenä maitohapon valmistuksessa (Yao et al., 2010). Muita mahdollisia käyttökohteita lannasta erotetulle proteiinille voisivat olla aminohappojen tuotanto, liimat, muovit ja polttoaineet (Liu et al., 2015).

6. Johtopäätökset

Lannan sisältämän proteiinin erottamisesta ei ole juurikaan ole viitteitä kirjallisuudessa. Kuitenkin kirjallisuudessa tulee esille, että lannan sisältämä proteiini on pääosin pienen partikkelikoon jakeessa, tällöin partikkelikokoon perustuva erotus on mahdollista. Lisäksi sähköstaattinen erotus on varteenotettava vaihtoehto, vaikkakin käytännön tutkimuksia lannan proteiinin erottamisesta ei ole tehty. Lannan käyttöä proteiineja tuottavien eliöiden ravintona on tutkittu huomattavasti ja mahdollisuudet proteiiniin tuotantoon ovat merkittäviä. Erityisesti mustasotilaskärpäsien toukkien käyttö vaikuttaa lupaavalta menetelmältä. Proteiinin talteenotolla voidaan vähentää ruuantuotannosta aiheutuvia päästöjä, parantaa lannan C/N suhdetta biokaasun tuotantoa varten ja vähentää lannan levityksen typpipäästöjä. Lannan syöttämisellä tuotantoeläimille ei ole havaittu merkittäviä haittavaikutuksia, mutta asia on kiistanalainen. Merkittävimpiä lannasta erotetun proteiinin käytön esteitä ovat lannassa olevat haitalliset aineet ja lainsäädäntö, joiden ratkaiseminen on elintärkeää lannan proteiinin käytön kannalta.

Mahdollisissa jatkotutkimuksissa on tarpeen selvittää esitettyjen partikkelikokoon ja sähköstaattiseen erotukseen perustuvien erotusmenetelmien todellinen erotusteho. Lisäksi tarvitaan lisää tietoa lannan sisältämien haitallisten aineiden ominaisuuksista, jotta niiden rikastuminen lannasta erotettuun proteiiniin voidaan estää.

Lähteet

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 2002 *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science;
- Assatory, A., Vitelli, M., Rajabzadeh, A.R. & Legge, R.L. 2019, "Dry fractionation methods for plant protein, starch and fiber enrichment: A review", *Trends in Food Science & Technology*, vol. 86, pp. 340-351
- Booth, C.J., Johnson, C.J. & Pedersen, J.A. 2013, "Microbial and enzymatic inactivation of prions in soil environments", *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 59, pp. 1-15.
- Bradley, A.J., Leach, K.A., Green, M.J., Gibbons, J., Ohnstad, I.C., Black, D.H., Payne, B., Prout, V.E. & Breen, J.E. 2018, "The impact of dairy cows' bedding material and its microbial content on the quality and safety of milk – A cross sectional study of UK farms", *International Journal of Food Microbiology*, vol. 269, pp. 36-45.
- Burton, C.H. 2007, "The potential contribution of separation technologies to the management of livestock manure", *Livestock Science*, vol. 112, no. 3, pp. 208-216.
- Bußler, S., Rumpold, B.A., Jander, E., Rawel, H.M. & Schlüter, O.K. 2016, "Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae", *Heliyon*, vol. 2, no. 12, pp. e00218.
- Chakrabarty, D. 2009, "Comparative Study on some Organic Manure Commonly Used in Aquaculture ", *Our Nature* 7, , pp. 163-167.
- Chen, L.J., Cui, L.Y., Xing, L. & Han, L.J. 2008, "Prediction of the Nutrient Content in Dairy Manure Using Artificial Neural Network Modeling", *Journal of dairy science*, vol. 91, no. 12, pp. 4822-9.
- Chen, S., Liao, W., Liu, C., Wen, Z., Kincaid, R.L., Harrison, J.H., Elliott, D.C., Brown, M.D., Solana, A.E. & Stevens, D.J. 2003, *Value-Added Chemicals from Animal Manure*, United States.

- Contreras, M.d.M., Lama-Muñoz, A., Manuel Gutiérrez-Pérez, J., Espínola, F., Moya, M. & Castro, E. 2019, "Protein extraction from agri-food residues for integration in biorefinery: Potential techniques and current status", *Bioresource Technology*, vol. 280, pp. 459-477.
- Eur-Lex, EUROOPAN PARLAMENTIN JA NEUVOSTON ASETUS (EY) N:o 999/2001
- Feng, W., Qian, L., Wang, W., Wang, T., Deng, Z., Yang, F., Xiong, J., Wang, C. 2018, "Exploring the potential of lipids from black soldier fly: New paradigm for biodiesel production (II)—Extraction kinetics and thermodynamic ", *Renewable Energy*, vol. 119, pp 12-18
- Fuchs, R., Alexander, P., Brown, C., Cossar, F., Henry, R.C. & Rounsevell, M. 2019, "Why the US–China trade war spells disaster for the Amazon", *Nature* vol. 567, , pp. 451-454.
- Gerde, J.A., Wang, T., Yao, L., Jung, S., Johnson, L.A. & Lamsal, B. 2013, "Optimizing protein isolation from defatted and non-defatted *Nannochloropsis* microalgae biomass", *Algal Research*, vol. 2, no. 2, pp. 145-153.
- Ghaly, A.E. & MacDonald, K.N. 2012, "DRYING OF POULTRY MANURE FOR USE AS ANIMAL FEED", *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, vol. 7, no. 3, pp. 239-254.
- Han, Y., Qu, Q., Li, J., Zhuo, Y., Zhong, C. & Peng, D. 2019, "Performance of ammonium chloride dosage on hydrogen sulfide in-situ prevention during waste activated sludge anaerobic digestion", *Bioresource Technology*, vol. 276, pp. 91-96.
- Huang, J., Yu, Z., Gao, H., Yan, X., Chang, J., Wang, C., Hu, J. & Zhang, L. 2017, "Chemical structures and characteristics of animal manures and composts during composting and assessment of maturity indices", *PLoS One*, vol. 12, no. 6, pp. e0178110.
- Jensen, J., Frear, C., Ma, J., Kruger, C., Hummel, R. & Yorgey, G. 2016, "Digested fiber solids: methods for adding value" Washington State University
- Kdidi, S., Vaca-Medina, G., Peydecastaing, J., Oukarroum, A., Fayoud, N. & Barakat, A. 2019, "Electrostatic separation for sustainable production of rapeseed oil cake protein

- concentrate: Effect of mechanical disruption on protein and lignocellulosic fiber separation", *Powder Technology*, vol. 344, pp. 10-16.
- Kovács, E., Kovács, K.L., Wirth, R., Maróti, G., Bagi, Z., Nagy, K., Minárovits, J. & Rákhely, G. 2015, "Augmented biogas production from protein-rich substrates and associated metagenomic changes", *Bioresource Technology*, vol. 178, pp. 254-261.
- Lanyasunya, T.P., Rong, W.H., Abdulrazak, S.A., Kaburu, P.K., Makori, J.O., Onyango, T.A. & Mwangi, D.M. 2006, "Factors Limiting Use of Poultry Manure as Protein Supplement for Dairy Cattle on Smallholder Farms in Kenya", *International Journal of Poultry Science*, vol. 5, no. 1, pp. 75-80.
- Lenhoff, A.M. 2016, "Ion-exchange chromatography of proteins: the inside story", *Materials Today: Proceedings*, vol. 3, no. 10, pp. 3559-3567.
- Ledda, C., Schievano, A., Scaglia, B., Rossoni, M., Ación Fernández, F.G. & Adani, F. 2016, "Integration of microalgae production with anaerobic digestion of dairy cattle manure: an overall mass and energy balance of the process", *Journal of Cleaner Production*, vol. 112, pp. 103-112.
- Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J.K. & Yu, Z. 2011, "Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production", *Waste Management*, vol. 31, no. 6, pp. 1316-1320.
- Liu, S., Ying, G., Zhang, R., Zhou, L., Lai, H. & Chen, Z. 2012, "Fate and occurrence of steroids in swine and dairy cattle farms with different farming scales and wastes disposal systems", *Environmental Pollution*, vol. 170, pp. 190-201.
- Liu, Z., Gonzalez, J.S., Wang, H., Gunasekaran, S. & Runge, T. 2015, "Dairy manure protein analysis using UV-vis based on the Bradford method", *Analytical Methods*, vol. 7, no. 6, pp. 2645-2652.
- Lorenzo-Hernando, A., Ruiz-Vegas, J., Vega-Alegre, M. & Bolado-Rodríguez, S. 2019, "Recovery of proteins from biomass grown in pig manure microalgae-based treatment plants by alkaline hydrolysis and acidic precipitation", *Bioresource Technology*, vol. 273, pp. 599-607.
- Lorimor, J., Powers, W. & Sutton A. 2004, "Manure Characteristics", MidWest Plan Service,

- Lutz, H. 2015, *Ultrafiltration for bioprocessing*, Elsevier, Woodhead Publ, Amsterdam [u.a.].
- Manjeli, Y., Teguaia, A., Djoukam, J. & Tchoumboue, J. 1996, "Effects of feeding cattle manure on growth performance and carcass characteristics of large white pigs", *Tropical animal health and production*, vol. 28, no. 4, pp. 307-311.
- Mekonnen, T.H., Mussone, P.G., Stashko, N., Choi, P.Y. & Bressler, D.C. 2013, "Recovery and characterization of proteinacious material recovered from thermal and alkaline hydrolyzed specified risk materials", *Process Biochemistry*, vol. 48, no. 5-6, pp. 885-892.
- Møller, H.B., Sommer, S.G. & Ahring, B.K. 2002, "Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions", *Bioresource Technology*, vol. 85, no. 2, pp. 189-196.
- Moore, K. & Jung, H. 2001, "Lignin and Fiber Digestion", *Journal of Range Management*, vol. 54, no. 4, pp. 420-430.
- Müller Z.O. 1980, "Feed from animal wastes: State of knowledge", *FAO animal production and health paper 18*, Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Nasef, M. & Ujang, Z. 2012, "Introduction to Ion Exchange Processes" in *Ion-exchange Technology I*, 2012th edn, Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1-39.
- Pabby, A.K. 2015, *Handbook of membrane separations*, 2. ed edn, CRC Press, Boca Raton, Fla. [u.a.].
- Pojić, M., Mišan, A. & Tiwari, B. 2018, "Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin", *Trends in Food Science & Technology*, vol. 75, pp. 93-104.
- Queensland Government, 2017, "Chicken litter feeding ban" [verkkoaineisto]. [viitattu 25.3.2019]. Saatavissa: <https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/biosecurity/animal-biosecurity-welfare/animal-health-pests-diseases/protect-your-animals/chicken-litter-feeding-ban>

- Rankin, D. 2018, "Feeding broiler litter to beef cattle" [verkkoainesto]. [viitattu 30.3.2019]. Saatavissa: <https://www.aces.edu/blog/topics/beef/feeding-broiler-litter-to-beef-cattle/?cn-reloaded=1>
- Rehman, A., Rehman, K.u., Ur Rehman, R., Ur Rehman, A., Somroo, A.A., Cai, M., Zheng, L., Xiao, X., Tomberlin, J.K., Yu, Z. & Zhang, J. 2019, "Enhanced bioconversion of dairy and chicken manure by the interaction of exogenous bacteria and black soldier fly larvae", *Journal of Environmental Management*, vol. 237, pp. 75-83.
- Snow, D.D., Bartelt-Hunt, S.L., Devivo, S., Saunders, S. & Cassada, D.A. 2009, "Detection, Occurrence, and Fate of Emerging Contaminants in Agricultural Environments", *Water Environment Research*, vol. 81, no. 10, pp. 941-958.
- Somroo, A.A., ur Rehman, K., Zheng, L., Cai, M., Xiao, X., Hu, S., Mathys, A., Gold, M., Yu, Z. & Zhang, J. 2019, "Influence of *Lactobacillus buchneri* on soybean curd residue co-conversion by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for food and feedstock production", *Waste Management*, vol. 86, pp. 114-122.
- Sorieul, M., Dickson, A., Hill, S.J. & Pearson, H. 2016, "Plant Fibre: Molecular Structure and Biomechanical Properties, of a Complex Living Material, Influencing Its Deconstruction towards a Biobased Composite", .
- Velickovic T.C., Ognjenovic J., Mihajlovic L. (2012) Separation of Amino Acids, Peptides, and Proteins by Ion Exchange Chromatography. In: Inamuddin D., Luqman M. (eds) Ion Exchange Technology II. Springer, Dordrecht
- Wang, J., Zhao, J., de Wit, M., Boom, R.M. & Schutyser, M.A.I. 2016, "Lupine protein enrichment by milling and electrostatic separation", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 33, pp. 596-602.
- Wenten, I.G. 2008, "Ultrafiltration in Water Treatment and Its Evaluation as Pretreatment for Reverse Osmosis System"
- Wijethunga, P.A.L. & Moon, H. 2015, "On-chip aqueous two-phase system (ATPS) formation, consequential self-mixing, and their influence on drop-to-drop aqueous two-

- phase extraction kinetics", *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 25, no. 9, pp. 94002.
- Win, S.S., Ebner, J.H., Brownell, S.A., Pagano, S.S., Cruz-Diloné, P. & Trabold, T.A. 2018, "Anaerobic digestion of black soldier fly larvae (BSFL) biomass as part of an integrated biorefinery", *Renewable Energy*, vol. 127, pp. 705-712.
- Xiao X., Mazza L., Yu Y., Cai M., Zheng L., Tomberlin J.K., Yu J., van Huis A., Yu Z., Fasulo S, Zhang J., 2018, "Efficient co-conversion process of chicken manure into protein feed and organic fertilizer by *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae) larvae and functional bacteria ", *Journal of Environmental Management*, vol. 217, pp 668-676.
- Yao, W., Wu, X., Zhu, J., Sun, B. & Miller, C. 2010, "Utilization of protein extract from dairy manure as a nitrogen source by *Rhizopus oryzae* NRRL-395 for l-lactic acid production", *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 11, pp. 4132-4138.
- Ylivainio, K. 2013 "Eri lantalajien fosforin ja typen liukoisuus ja käyttökelpoisuus kasvintuotannossa" [verkkoainesto]. [viitattu 30.3.2019]. Saatavissa: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=2ahUKEwi47NXupKrhAhVjxKYKHYZDd0QFjABegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fwww.ymparisto.fi%2Fdownload%2Fnoname%2F%257B6A669F52-8D92-4592-AF9F-D987F38DBF18%257D%2F91315&usg=AOvVaw1p5IPkp-iFEmTnR9d66srT>
- Ympäristönsuojelulaki 1250/18.12.2014, 11 §: Typpilannoitemäärät.
- Zhao, Y., Sun, F., Yu, J., Cai, Y., Luo, X., Cui, Z., Hu, Y. & Wang, X. 2018, "Co-digestion of oat straw and cow manure during anaerobic digestion: Stimulative and inhibitory effects on fermentation", *Bioresource Technology*, vol. 269, pp. 143-152.