

LAPPEENRANNAN TEKNILLINEN YLIOPISTO

Teknillinen tiedekunta

Kemiantekniikan koulutusohjelma

Sovelletun kemian pääaine

Kandidaatintyö

Kevät 2013

Jenni Skogström

**PUUHYDROLYSAATIN ESIKÄSITTELY  
FOULAANTUMISEN VÄHENTÄMISEKSI  
ULTRASUODATUKSESSA**

*Pretreatment of wood hydrolysate to prevent fouling in  
ultrafiltration*

Työn tarkastaja:

DI Elsi Koivula

## SYMBOLILUETTELO

$A$	suodatuspinta-ala, $m^2$
$J$	vuo kalvon läpi, $kg\ m^{-2}\ h^{-1}$ tai $m^3\ m^{-2}\ h^{-1}$
$K$	permeabiliteettivakio, $m^3\ m^{-2}\ h^{-1}\ bar^{-1}$
$m_n$	permeaatin massa ajan hetkellä $t_n$ , kg
$m_{n-1}$	permeaatin massa ajan hetkellä $t_{n-1}$ , kg
$m_{syöttö}$	syötön massa, g
$m_{permeaatti}$	permeaatin massa, g
$\Delta P$	paine-ero, bar
p-DADMAC	polydiallylidimetyyli-ammoniumkloridi
$t$	suodatusaika, h
TOC	Total Organic Carbon eli orgaanisen hiilen kokonaismäärä, ppm
VRF	Volume Reduction Factor, -

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	2
2	TEOREETTINEN OSA.....	4
	2.1 Hydrolysaatti .....	4
	2.1.1 Lignoselluloosa .....	4
	2.1.2 Hemiselluloosa .....	4
	2.1.3 Ligniini .....	5
	2.1.4 Muut aineet.....	6
	2.1.5 Autohydrolyysi.....	6
	2.2 Ultrasuodatus.....	6
	2.3 Foulaantuminen.....	8
	2.3.1 Hydrolysaatin sisältämät foulantit.....	9
	2.3.2 Puupohjaisten liuosten esikäsittelymenetelmät .....	9
3	MATERIAALIT JA MENETELMÄT .....	11
	3.1 Esikäsittelyt.....	11
	3.1.1 Entsyymikäsittely .....	11
	3.1.2 Flokkulanttikäsittelyt.....	12
	3.1.3 Kitosaanikäsittely .....	12
	3.1.4 Entsyymi-adsorbenttikäsittely .....	13
	3.2 Suodatukset .....	13
	3.3 Analysointi .....	15
4	TULOKSET.....	16
5	YHTEENVETO.....	21
	LÄHTEET .....	23
	LIITTEET	

# 1 JOHDANTO

Puun sisältämät hemiselluloosat ovat erilaisista sokereista koostuvia polysakkarideja. Hemiselluloosat ovat monikäyttöisiä raaka-aineita, mutta niiden hyödyntäminen on tällä hetkellä vähäistä. Hemiselluloosien hajoamistuotteita voidaan käyttää muun muassa ruuan lisäaineiden, furaaniyhdisteiden ja biopolttoaineiden valmistuksessa. Hemiselluloosien erotuksen ja talteenoton voisi lisätä nykyisiin sellun valmistuslinjoihin erottamalla hemiselluloosat puuhakkeesta ennen varsinaista sellun valmistusprosessia. Tällä hetkellä sellun keitossa erottuneet hemiselluloosat käytetään lämmöntuotantoon polttamalla ne ligniinin mukana. Hemiselluloosien talteenotto jatkojalostusta varten olisi tuottava vaihtoehto selluteollisuudelle. (Testova *et al.* 2009)

Hemiselluloosat voidaan erottaa puusta kuumavesiuutolla. Menetelmässä puuhaketta keitetään 160–220-asteisessa vedessä, joka pidetään paineen avulla nestemäisenä. Tällöin hemiselluloosa hajoaa lyhyempiketjuisiksi hemiselluloosapolymeereiksi ja sokereiksi ja liukenee veteen. Myös jonkin verran muita aineita, lähinnä ligniiniä ja uuteaineita, liukenee puuhakkeesta veteen. (Garrote *et al.* 2007) Käsitelty puuhake voidaan jatkojalostaa esimerkiksi selluksi ja hemiselluloosaa sisältävä hydrolysaatti halutulla tavalla, esimerkiksi bioetanoliksi. (Metla 2010)

Hemiselluloosat on erotettava muista hydrolysaattiin liuenneista aineista, ennen kuin ne voidaan jalostaa tuotteiksi. Hydrolysaatti on myös laimeaa, joten sen konsentointi on tarpeen ennen järkevää käyttöä. (Koivula *et al.* 2011) Hemiselluloosien erotus ja konsentointi on mahdollista suorittaa kalvo-suodatuksella. Ultrasuodatuksen käyttö eri sovelluksissa on kasvussa, sillä siinä energiankulutus on vähäistä, selektiivisyys on suuri, eikä kemikaaleja tarvita. (Manasrah *et al.* 2012) Ultrasuodatusprosessissa esiintyy kuitenkin vielä ongelmia. Suurin ongelma on kalvojen foulaantuminen, sillä se vähentää huomattavasti konsentrintiprosessien tehoa. (Koivula *et al.* 2011)

Tässä kandidaatintyössä tutkitaan, voidaanko hydrolysaatin esikäsittelyllä vähentää sen suodatusprosessien aikana esiintyvää kalvojen foulaantumista ja näin ollen parantaa prosessien tehoa. Kokeellinen tutkimus rajataan koskemaan

hydrolysaatin käsittelyä lakkaasientsyymillä, flokkulanteilla, kitosaanilla sekä adsorbentin ja lakkaasientsyymien yhdistelmällä. Käsittelyjen teho testataan suodattamalla eri tavoin käsiteltyä hydrolysaattia laboratorikokeissa.

Kandidaatintyö koostuu teoriaosasta ja kokeellisesta osasta. Alussa käydään läpi teoriaa hydrolysaatista ja sen sisältämistä yhdisteistä sekä ultrasuodatuksesta ja foulaantumisesta. Kokeellisessa osassa käsitellään käytetyt menetelmät eli hydrolysaatille tehdyt esikäsittelyt sekä laboratorikokeissa tehdyt suodatukset. Myös näytteiden analysointimenetelmät käydään läpi. Lopuksi kootaan yhteen työn keskeisimmät tulokset ja johtopäätökset.

## **2 TEOREETTINEN OSA**

Tässä osassa käsitellään teoria, johon tutkielman kokeellinen osa pohjautuu. Aluksi käsitellään hydrolysaattia, sen alkuperää ja sisältöä. Sitten esitellään ultrasuodatuksen peruseriaate. Viimeiseksi käsitellään, mitä on foulaantuminen ja miten sitä voidaan vähentää.

### **2.1 Hydrolysaatti**

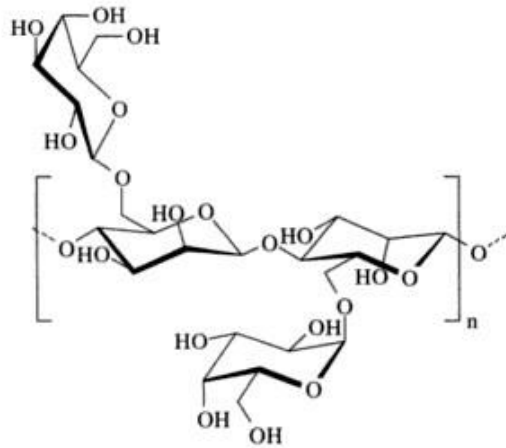
Puuhydrolysaatiksi kutsutaan liuosta, jota saadaan puuta hydrolysoimalla. Kuumavesiuutossa veteen liukenee ainoastaan hemiselluloosaa ja ligniiniä, sekä pieniä määriä muita aineita. Puun sisältämä selluloosa pysyy muuttumattomana.

#### **2.1.1 Lignoselluloosa**

Lignoselluloosaksi kutsutaan kuituista, biomassasta saatavaa materiaalia, joka koostuu kolmesta pääosasta: selluloosasta, hemiselluloosasta ja ligniinistä. Noin 40–50 % biomassan painosta on selluloosaa, jota käytetään paljon mm. sellun ja paperin valmistukseen. Loput biomassasta koostuu hemiselluloosasta, ligniinistä sekä muista aineista. (Lange 2007)

#### **2.1.2 Hemiselluloosa**

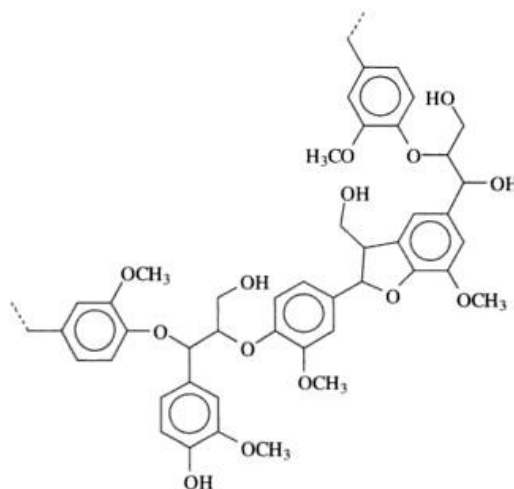
Hemiselluloosa on puussa se ainesosa, joka sitoo selluloosakimppuja toisiinsa. Hemiselluloosa koostuu selluloosamolekyylejä lyhyemmistä, haaroittuneista polymeeriketjuista, joissa on lähinnä pentooseja ja heksooseja. Hemiselluloosan pentoosit ovat ksyloosia ja arabinoosia, heksoosit glukoosia, mannoosia ja galaktoosia. Toisin kuin selluloosa, hemiselluloosa ei muodosta vetysidoksia itseensä. Tämä johtuu hemiselluloosamolekyylin haaraisesta rakenteesta. Sen sijaan hemiselluloosan rakenne on omiaan muodostamaan satunnaisia sidoksia muiden molekyylin, kuten selluloosan kanssa. Hemiselluloosamolekyyli koostuu noin 200 sokeriyksiköstä ja sen molekyylimassa on noin 30 kDA. (Lange 2007) Hemiselluloosan rakennetta on esitetty kuvassa 1.



**Kuva 1.** Galaktoosista ja mannoosista koostuvan hemiselluloosan rakenne. (Lange 2007)

### 2.1.3 Ligniini

Ligniini on kolmiulotteinen polymeeri, joka koostuu propyyli-fenoliyksiköistä. Ligniini sitoutuu vahvasti hemiselluloosaan ja antaa puulle sen jäykkyyden. Ligniinin fenoliryhmillä on myös antibakteerinen vaikutus, joka puolustaa lignoselluloosaa mikro-organismeja vastaan. Ligniini koostuu noin 120 propyyli-fenoliyksiköstä ja sen molekyylimassa on noin 20 kDa. (Lange 2007) Ligniinin koostumus vaihtelee kasvista riippuen eikä sillä ole tiettyä selkeää rakennetta. (Koivula *et al.* 2011) Ligniinin rakennetta on esitetty kuvassa 2.



**Kuva 2.** Ligniinin rakenne. (Lange 2007)

#### 2.1.4 Muut aineet

Lignoselluloosa sisältää vähäisessä määrin myös muita yhdisteitä, kuten proteiineja sekä joitain epäorgaanisia aineita. Nämä yhdisteet voivat vaikuttaa moniin prosesseihin. (Lange 2007) Lisäksi hydrolysaattiin liukenee uuteaineita, kuten rasva- ja hartsihappoja, jotka nekin voivat vaikuttaa hydrolysaatin jatkoprosessointiin (Koivula *et al.* 2011).

#### 2.1.5 Autohydrolyysi

Hemiselluloosien erottaminen selluloosasta voidaan tehdä hydrolysoimalla hemiselluloosat kuumavesiuutolla. Kuumavesiuutossa ainoat lähtöaineet ovat vesi ja lignoselluloosa. Lignoselluloosa-aines, esimerkiksi haketettu puu, keitetään 160–220-asteisessa vedessä, joka pidetään nestemäisenä paineen avulla. (Parajó *et al.* 2004) Reaktiossa hemiselluloosa hydrolysoituu ja hajoaa lyhemmiksi sokeriketjuiksi, oligomeereiksi. Selluloosa pysyy pääosin muuttumattomana polymeerinä, mutta ligniini hajoaa osittain pienemmiksi komponenteiksi. (Garrote *et al.* 2007) Reaktio voidaan suorittaa isotermisesti eli pitämällä lämpötila vakiona, tai kohottamalla lämpötilaa reaktioajan kuluessa. (Leschinsky *et al.* 2009; Garrote & Parajó 2002) Reaktion aikana syntyy heikkoja happoja happamien komponenttien liuetessa ja hemiselluloosan esteriryhmien, kuten asetyyliryhmien, hajotessa. Syntyvät hapot ovat pääasiassa muurahaihappoa, etikkahappoa ja glukuronihappoa. Nämä hapot katalysoivat hemiselluloosien hydrolyysiä, jolloin reaktiota kutsutaan autohydrolyysiksi. Hapot eivät kuitenkaan ole tarpeeksi vahvoja hajottaakseen selluloosaa. (Yoon 1998) Hemiselluloosa hajoaa lyhyemmiksi hemiselluloosapolymeereiksi ja osittain myös sokereiksi, jotka liukenevat veteen (Garrote & Parajó 2002). Jonkin verran myös muita aineita, lähinnä ligniiniä ja uuteaineita, liukenee puuhakkeesta veteen (Koivula *et al.* 2011).

## 2.2 Ultrasuodatus

Ultrasuodatus on paine-eroon perustuva kalvosuodatusmenetelmä. Ultrasuodatuksessa erotetaan liuoksesta liuenneita yhdisteitä tai partikkeleita. Erotus



perustuu siihen, että erotettavat yhdisteet ovat kooltaan suurempia kuin kalvon huokokset, jolloin vain huokosia pienemmät yhdisteet ja liuotin pääsevät kalvon läpi. Paine-ero kalvon eri puolilla saa huokosia pienemmät yhdisteet läpäisemään kalvon. Ultrasuodatusta käytetään usein makromolekyylien ja kolloidien erotukseen liuksesta. Erotettavien molekyylien moolimassa on yleensä muutaman tuhannen Daltonin suuruusluokkaa. (Mulder 1996)

Ultrasuodatuksessa käytettävien kalvojen huokoskoko on välillä 1 nm – 0,05 µm, ja huokoskoon perusteella se sijoittuu nanosuodatuksen ja mikrosuodatuksen väliin. Mikrosuodatus ja ultrasuodatus ovat periaatteeltaan samanlaisia. Niiden suurin ero onkin suodatuksessa käytettävissä kalvoissa. Ultrasuodatuksessa käytettävät kalvot ovat huokoisia ja ne ovat rakenteeltaan asymmetrisiä. Asymmetrinen kalvo koostuu kahdesta kerroksesta, jossa pinta on hyvin tiheä ja pinnan huokokset ovat pienempiä kuin muualla kalvossa. Pintakerroksen paksuus on yleensä alle 1 µm. Ultrasuodatuksessa kalvoina käytetään usein orgaanisia materiaaleja, kuten polysulfonia, polyeetterisulfonia, polyvinyylideenifluoridia tai polyimidia. Myös epäorgaanisia materiaaleja käytetään, joista yleisimpiä ovat keraamiset materiaalit, kuten alumiinioksidi ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ja zirkoniumdioksidi ( $\text{ZrO}_2$ ). (Mulder 1996)

Ultrasuodatusta käytetään paljon eri teollisuudenaloilla. Yleisimpiä ultrasuodatuksen sovellukset ovat elintarviketeollisuudessa, jossa sitä käytetään pääasiassa meijeriteollisuudessa, virvoitusjuomateollisuudessa sekä kala- ja siipikarjateollisuudessa. (Mohammad *et al.* 2012) Meijeriteollisuudessa ultrasuodatuksella on monenlaisia tehtäviä ja sitä käytetään muun muassa heran konsentroiintiin ja talteenottoon. (Muthukumar *et al.* 2004) Virvoitusjuomateollisuudessa ultrasuodatusta käytetään muun muassa mehujen konsentroiintiin ja selkeytykseen (Mohammad *et al.* 2012). Muita käyttökohteita on lääketeollisuudessa, tekstiiliteollisuudessa, kemianteollisuudessa ja paperiteollisuudessa. (Mulder 1996)

Ultrasuodatuksen tehokkuutta voidaan kuvata kalvon läpi suotautuvan liuoksen vuolla. Vuo kalvon läpi on suoraan verrannollinen paine-eroon kalvon yli, yhtälön (1) mukaan. (Mulder 1996)

$$J = K \Delta P \quad (1)$$

jossa	J	vuokalvon läpi, $\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$
	K	permeabiliteettivakio, $\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{bar}^{-1}$
	$\Delta P$	paine-ero, bar

Ultrasuodatus on hyvä menetelmä hydrolysaatin konsentroiintiin ja hemiselluloosien talteenottoon, mutta prosessissa on vielä ongelmia. Foulaantuminen on niistä suurin, ja sitä käsitellään seuraavaksi. (Persson & Jönsson 2009)

### 2.3 Foulaantuminen

Foulaantuminen on ilmiö, jossa kalvon pinnalle tai sisään kertyy erotettavia yhdisteitä, kolloideja, emulsiota, makromolekyylejä, suoloja tai muita yhdisteitä (Mulder 1996). Päämekanismit foulaantumisen syntymiselle ovat syöttöliuoksen yhdisteiden adsorptio kalvoon, kalvon huokosten tukkeutuminen, kemialliset vuorovaikutukset liuenneiden aineiden ja kalvon välillä sekä geelinmuodostus (Goosen *et al.* 2004). Foulaantumisen seurauksena vuokalvon läpi pienenee ajan myötä ja vähentää erotustehokkuutta prosessissa (Muthukumaran *et al.* 2004). Foulaantuminen on ongelmana erityisesti mikro- ja ultrasuodatuksessa, joissa käytettävät huokoiset kalvot ovat herkkiä foulaantumaan (Mulder 1996). Erityisesti hydrofobiset kalvot foulaantuvat herkästi happamien puuhydrolysaattien suodatuksessa (Koivula *et al.* 2011).

Foulaantuminen on hyvin monimutkainen ilmiö ja sitä on vaikea ennustaa (Mulder 1996). Foulaantumisen määrä on riippuvainen kalvon ja syöttöliuoksen ominaisuuksista, kuten kalvon huokoskoosta ja varauksesta, sekä syöttöliuoksen pH:sta, ionivahvuudesta ja konsentraatiosta (Costa *et al.* 2006). Myös molekyylien väliset vuorovaikutukset, kuten vetysidokset ja dipoli-dipolisidokset vaikuttavat foulaantumiseen (Mulder 1996). Kalvojen foulaantuminen pienentää suodatuskapasiteettia, lisää tarvittavia kalvon puhdistuksia ja lyhentää kalvon

käyttöikä, joten foulaantuminen suurentaa suodatusprosessin kustannuksia. (Koivula *et al.* 2011)

### 2.3.1 Hydrolysaatin sisältämät foulantit

Aromaattiset yhdisteet, joihin ligniini ja uuteaineet kuuluvat, on aiemmin tunnistettu foulanteiksi sellu- ja paperiteollisuuden jätevesiä kalvosuodatettaessa (Persson & Jönsson 2009). Hydrolyysissä ligniini voi myös osittain hajota, jolloin syntyy hyvin reaktiivisia, veteen liukenemattomia yhdisteitä, jotka voivat aiheuttaa kalvon foulaantumista (Leschinsky *et al.* 2009). Myös muilla hydrolyysissä liuenneilla aineilla voi olla vaikutusta foulaantumiseen. Uuteaineisiin kuuluvien rasva- ja hartsihappojen on todettu aiheuttavan foulaantumista. (Puro *et al.* 2002) Tarkkaa tietoa foulaantumisen aiheuttajasta on kuitenkin vaikea saada, sillä hydrolysaatin koostumus on monimutkainen ja vaihtelee riippuen siitä, mistä puulajista hydrolysaatti on saatu. (Koivula *et al.* 2011)

### 2.3.2 Puupohjaisten liuosten esikäsittelymenetelmät

Aiemmissä tutkimuksissa puupohjaisten liuosten esikäsittelyn tavoitteena on ollut ligniinin ja ligniinistä peräisin olevien fenoliyhdisteiden poisto tai uuteaineiden poisto.

Ligniiniyhdisteiden adsorptiota hiileen ovat tutkineet muun muassa Parajo *et al.* (1996) sekä Miyafuji *et al.* (2003). Parajo *et al.* (1996) tutkivat happohydrolysoidun puuhydrolysaatin sisältämien ligniiniyhdisteiden adsorptiota aktiivihieleen erilaisilla prosessiolosuhteilla. Tutkimuksessa todettiin, että 75 % ligniiniyhdisteistä saatiin poistettua hydrolysaatista. Miyafuji *et al.* (2003) tutkivat furaani- ja fenoliyhdisteiden adsorptiota happohydrolysoidusta puuhydrolysaatista puuhiileen. Tutkimuksessa todettiin, että adsorptio puuhiileen vähentää fenoliyhdisteiden määrää käsitellyssä hydrolysaatissa. Fenoliyhdisteitä saatiin poistettua niin paljon, että käsiteltyjen hydrolysaattien analyysissä niitä ei enää voitu havaita.

Cruz *et al.* (1999) tutkivat happohydrolysoidun puuhydrolysaatin uuttoa orgaanisilla liuottimilla fenoliyhdisteiden poistamiseksi. Liuottimina käytettiin etyyliasetaatia ja dietyylieetteriä. Parhaaksi osoittautui uutto etyyliasetaatilla,

jolloin jopa 84 % ligniiniyhdisteistä saatiin poistettua hydrolysaatista. Vasquez *et al.* (2005) totesivat, että myös uuteaineita voidaan poistaa puuhydrolysaatista uuttamalla etyyliasetaatilla.

Koivula *et al.* (2011) tutkivat autohydrolysoidun puuhydrolysaatin esikäsittelyä useilla tavoilla ligniinin ja uuteaineiden poistamiseksi tai hajottamiseksi. Myös käsittelyjen vaikutus hydrolysaatin ultrasuodatukseen tutkittiin. Parhaimmaksi esikäsittelyksi tutkituista osoittautui PCD-käsittely (Pulsed Corona Discharge), jossa ligniiniä hajotettiin hapettamalla se sähköpurkauksessa syntyvillä radikaaleilla. PCD-käsittely paransi suodatuvuutta sekä vähensi hydrolysaatin sameutta ja ligniinin määrää käsitellyssä hydrolysaatissa. PCD-käsitelty hydrolysaatti suodatettiin polysulfonikalvolla. Regeneroidulla selluloosakalvolla suodatuksessa parhaimmaksi esikäsittelyksi osoittautui aktiivihiiliadsorptio.

Muita tutkittuja tapoja ligniini- ja fenoliyhdisteiden poistoon on muun muassa ligniiniyhdisteiden uutto etanoli-vesiseoksen ja superkriittisen hiilidioksidin yhdistelmällä (Pasquini *et al.* 2005), ligniinin saostus hapolla (Mussatto *et al.* 2007) ja ligniiniyhdisteiden poisto hydrolysaatin ioninvaihtokäsittelyllä (Villarreal *et al.* 2006).

Myös uuteaineiden poistoa puuperäisistä liuoksista on tutkittu. Leiviskä & Rämö (2008) totesivat, että uuteaineita voidaan poistaa sellusuodoksesta koaguloimalla kationisilla polyelektrolyyteillä. Jopa 92 % uuteaineista saatiin poistettua käyttämällä akryyliamidin ja metakrylaatin kopolymeeriä.

Koska puuhydrolysaatin koostumus on hyvin vaihteleva, esikäsittelymenetelmä tulee optimoida tietyille puuhydrolysaatille. Esikäsittelyjen teho on näin ollen riippuvainen hydrolysaatin koostumuksesta. (Koivula *et al.* 2011)

### **3 MATERIAALIT JA MENETELMÄT**

Kokeissa käytetty hydrolysaatti oli koivu-uutetta. Autohydrolyysi tehtiin koivun sahanpurusta 20 barin paineella niin, että uuton aikana korkein lämpötila oli 173 °C. Uuttoaika oli 70 minuuttia laskettuna siitä hetkestä, kun koivu-uutetta alkoi tulla uuttokammioista ulos. Käytetty kuiva sahanpuru sisälsi 17,7 % hemiselluloosaa.

#### **3.1 Esikäsittelyt**

Esikäsittelyinä käytettiin neljää eri menetelmää. Hydrolysaatti esikäsiteltiin lakkaasientsyymillä, flokkulantilla, kitosaanilla sekä lakkaasientsyymien ja adsorbenttien yhdistelmällä. Käsittelyiden tavoitteena oli hajottaa ja/tai poistaa ligniiniä, jotta kalvon foulaantuminen vähentyisi.

Kaikkien käsittelyiden aikana hydrolysaatista otettiin näytteitä UV-absorbanssianalyysiä varten. Näytteet olivat tilavuudeltaan noin 5 ml ja ne otettiin suoraan seoksesta mikropipetillä, ellei toisin ole mainittu. Näytteet sentrifugoitiin 10 minuutin ajan nopeudella 3400 rpm ja erottunut neste suodatettiin PALL ACRODISC LC -ruiskusuodattimella, jonka huokoskoko on 0,45 µm. Tämän jälkeen näytteet laimennettiin suhteessa 1:200. Laimennettujen näytteiden UV-absorbanssit mitattiin JASCO V-670 UV Vis -spektrofotometrillä. Aallonpituuksina käytettiin 203 ja 205 nm, jolloin absorbanssiarvo kertoo ligniinin määrästä (TAPPI UM 250). Näytteenottohetket on kerrottu jokaisen esikäsittelyn yhteydessä.

##### **3.1.1 Entsyymikäsittely**

Entsyymikäsittelyssä hydrolysaatti käsiteltiin Novozym-lakkaasientsyymillä. 4 grammaa lakkaasientsyymiä lisättiin 400 grammaan hydrolysaattia. Seoksen annettiin reagoida 24 tuntia huoneenlämmössä. Seosta sekoitettiin koko reagointiajan magneettisekoittimella nopeudella 500 rpm.

UV-absorbanssianalyysiä varten reagointiajan alussa otettiin näytteitä, kun aikaa oli kulunut 0, 30, 60 ja 120 minuuttia. Viimeinen näyte otettiin, kun sekoitus lopetettiin eli 24 tunnin kohdalla.

Entsyymikäsittely tehtiin samalla tavalla kahdelle näytteelle, jotka molemmat suodatettiin. Näistä käytetään nimiä entsyymi I ja entsyymi II.

### **3.1.2 Flokkulanttikäsittelyt**

Flokkulanttikäsittelyissä hydrolysaattiin lisättiin 20 m-%:sta polydiallyylimetyyli-ammoniumkloridiliuosta (p-DADMAC). Käytetyn p-DADMAC -liuoksen moolimassa oli 100000-300000 g/mol. Flokkulanttikäsittely tehtiin kahdella eri flokkulantin määrällä.

Toiseen näytteeseen lisättiin 0,4 grammaa flokkulanttia 400 grammaan hydrolysaattia ja toiseen 4 grammaa flokkulanttia 400 grammaan hydrolysaattia. Lisäyksen jälkeen seoksia sekoitettiin magneettisekoittimella 10 minuutin ajan nopeudella 500 rpm, jonka jälkeen flokkulanttien annettiin laskeutua 24 tuntia. Koko käsittely suoritettiin huoneenlämmössä.

Laskeutusajan jälkeen molemmista käsitellyistä seoksista otettiin koeputkiin näytteet UV-absorbanssianalyysiä varten. Flokkulantit erotettiin liuoksesta imusuodatuksella. Imusuodatuksessa käytettiin Rundfilter 604 -suodatinpaperia. Imusuodatetut näytteet laimennettiin UV-absorbanssianalyysiä varten.

Flokkulanttikäsitellyistä näytteistä käytetään nimiä flokkulantti I ja flokkulantti II, jossa flokkulantti I on näyte, johon lisättiin 0,4 grammaa flokkulanttia ja flokkulantti II se, johon lisättiin 4 grammaa flokkulanttia.

### **3.1.3 Kitosaanikäsittely**

Kitosaanikäsittelyssä lisättiin 2 grammaa kitosaania 400 grammaan hydrolysaattia. Käsittely tehtiin 60 °C lämpötilassa magneettisekoittimella sekoittaen nopeudella 500 rpm. Seoksesta otettiin näytteitä 30, 60 ja 120 minuutin kohdalla UV-absorbanssianalyysiä varten.

Kokonaisvaikutusaika oli kaksi tuntia, jonka jälkeen muodostunut geelimäinen osuus poistettiin liuoksesta sentrifugoimalla seosta 15 minuutin ajan nopeudella 22000 rpm.

### **3.1.4 Entsyymi-adsorbenttikäsittely**

Entsyymien ja adsorbenttien yhdistelmäkäsittelyssä hydrolysaatti käsiteltiin sekä Novozym-lakkaasientsyymillä että Amberlite XAD7HP-adsorbentilla. Adsorbentti esikäsiteltiin huuhtelemalla sitä puhtaalla vedellä imusuodatuksessa. Käytetyn veden määrä oli 20-kertainen adsorbenttien määrään verrattuna. Hydrolysaatin esikäsitely tehtiin 60 °C lämpötilassa koko reagointiajan magneettisekoittimella sekoittaen nopeudella 500 rpm. 4 grammaa lakkaasientsyymiliuosta lisättiin 400 grammaan hydrolysaattia. Seoksen annettiin reagoida tunnin ajan, jonka jälkeen esikäsiteltyä adsorbenttia lisättiin hydrolysaattiin 40 grammaa. Seoksen annettiin reagoida vielä tunnin ajan. Vaikutusajan jälkeen adsorbentti erotettiin imusuodatuksella käyttäen Rundfilter 604 -suodatinpaperia.

Seoksesta otettiin näytteitä UV-absorbanssianalyysiä varten ennen entsyymiliuoksen lisäämistä (0 min), ennen adsorbenttien lisäämistä (60 min) sekä koko reagointiajan lopussa (120 min).

## **3.2 Suodatukset**

Suodatukset tehtiin Amicon-suodattimella. Suodatin on panostyyppinen, jossa sekoitus on toteutettu magneettisauvalla ja paine tuotetaan typpikaasulla. Kalvon pinta-ala suodattimessa on 0,004 m<sup>2</sup>. Kalvona käytettiin Alfa Laval UFX5 -polysulfonikalvoa. Kalvon katkaisukoko on 5 kDa. Kalvo käsiteltiin ennen suodatusta liottamalla sitä 15 minuuttia 0,1 % natriumhydroksidiliuoksessa. Kalvo huuhdeltiin puhtaalla vedellä ennen suodatusten aloittamista.

Vesivuo mitattiin suodattamalla puhdasta vettä 30 minuutin ajan sekä ennen hydrolysaatin suodatusta että hydrolysaatin suodatuksen jälkeen. Vesivuon mittauksissa käytettiin 3 barin ja hydrolysaatin suodatuksessa 5,5 barin painetta.

Lämpötilana sekä vesivuomittauksissa että hydrolysaatin suodatuksissa käytettiin 60 °C.

Kalvon foulaantumista tarkkailtiin sekä hydrolysaatin suodatuksen permeaattivuon että puhtasvesivuon muutosten avulla. Hydrolysaatin suodatuksissa pyrittiin suodattamaan niin kauan, että VRF-arvo (Volume Reduction Factor) on kolme. Kaikissa suodatuksissa tämä ei vuon tyrehtymisen vuoksi ollut järkevää, jolloin suodatus lopetettiin jo aiemmin. VRF-arvon laskemiseen käytettiin syötön ja permeaatin massoja, käyttäen yhtälöä (2).

$$VRF = \frac{m_{\text{syöttö}}}{m_{\text{syöttö}} - m_{\text{permeaatti}}} \quad (2)$$

$m_{\text{syöttö}}$  syötön massa, g

$m_{\text{permeaatti}}$  permeaatin massa, g

Vuot määritettiin kirjaamalla permeaattivuon massan arvot ylös ensimmäisen 10 minuutin ajan 1 minuutin välein ja loppusuodatuksen ajan 5 minuutin välein.

Vuon laskemiseen käytettiin yhtälöä 3.

$$J = \frac{(m_n - m_{n-1})}{A(t_n - t_{n-1})} \quad (3)$$

$m_n$  permeaatin massa ajan hetkellä  $t_n$ , kg

$m_{n-1}$  permeaatin massa ajan hetkellä  $t_{n-1}$ , kg

$A$  suodatuspinta-ala, m<sup>2</sup>

$t$  suodatusaika, h

Suodatus tehtiin käsiteltyjen näytteiden lisäksi myös käsittelemättömälle hydrolysaattinäytteelle. Käsittelemättömästä hydrolysaatista käytetään nimeä nollanäyte.



### 3.3 Analysointi

Suodatusten jälkeen hydrolysaattinäytteiden konsentraatista, permeaatista ja syöttöliuoksesta mitattiin johtokyky, pH, TOC (Total Organic Carbon) eli orgaanisen hiilen kokonaismäärä ja UV-absorbanssi. Johtokyky ja pH mitattiin, jotta nähtäisiin, tapahtuuko niissä suuria muutoksia. Ne mitattiin laimentamattomista näytteistä. TOC-määrittystä varten näytteistä laimennettiin pieni määrä suhteessa 1:200. TOC-määrittys tehtiin Shimadzu TOC-5050A Total Carbon Analyzer:lla.. UV-absorbanssi mitattiin UV Vis -spektrofotometrillä aallonpituuksilla 203 ja 205 nm. UV-absorbanssianalyysiä varten näytteistä laimennettiin pieni määrä suhteessa 1:200. Kaikkien näytteiden UV-absorbanssi- ja TOC-arvot on esitetty liitteessä II.

Parhaiten onnistuneiden suodatusten konsentraatista, syötöstä ja permeaatista tilattiin myös kokonaishiilihydraattianalyysi hemiselluloosapitoisuuden selvittämiseksi. Analyysi tehtiin nollanäytteelle, entsyymi II -näytteelle, flokkulantti II -näytteelle, kitosaaninäytteelle ja entsyymi-adsorbenttinäytteelle.

## 4 TULOKSET

Suodatuskapasiteettia ja foulaantumisen määrää suodatuksessa voidaan päätellä näytteen suodatuksen keskiarvovuosta. Esikäsitellyn tehoa voidaan päätellä UV-absorbanssin perusteella, joka kertoo ligniinin määrästä, sekä TOC- ja hemiselluloosapitoisuuksista. Hemiselluloosapitoisuuksista voidaan myös päätellä konsentroidin onnistumista. Nämä arvot on esitetty taulukossa I. Keskiarvovuot on laskettu koko suodatuksen keskiarvona.

**Taulukko I.** Näytteiden UV-absorbanssit, TOC-arvot, keskiarvovuot ja sokereiden kokonaispitoisuus

Käsittely	Näyte	UV-absorbanssi (205 nm)	TOC ppm	Keskiarvovuo L/m <sup>2</sup> h	Hemiselluloosapitoisuus mg/L
Nollanäyte	Permeaatti	1,49	3975		3692
	Syöttö	3,30	14893	6	18574
	Konsentraatti	3,93	24877		22899
Entsyymi II	Permeaatti	0,52	6310		6082
	Syöttö	2,05	14740	18	18609
	Konsentraatti	7,02	39167		45795
Flokkulantti I	Permeaatti	0,44	1179		-
	Syöttö	3,06	13803	3	-
	Konsentraatti	3,21	14801		-
Flokkulantti II	Permeaatti	0,43	1248		507
	Syöttö	3,15	14926	6	17363
	Konsentraatti	3,09	17475		19325
Kitosaani	Permeaatti	0,90	2628		2594
	Syöttö	2,35	9282	17	16511*
	Konsentraatti	-	-		-
Entsyymi- adsorbentti	Permeaatti	0,16	5550		6209
	Syöttö	1,01	10418	50	14268
	Konsentraatti	0,49	22104		29622

\* Kitosaanikäsitellyn syöttönäytteen hemiselluloosan määrä on suuntaa antava, sillä hyytelömäinen näyte laimennettiin punnitsemalla eikä se liennut täysin.

Taulukosta I nähdään, että kaikkein suurin keskiarvovuo on entsyymi-adsorbenttikäsitellyllä näytteellä. Entsyymi-adsorbenttikäsitellyn hydrolysaatin syöttönäytteen UV-absorbanssiarvo on pienempi kuin nollanäytteellä, joten ligniiniä on hajonnut tai poistunut esikäsitelyssä. Syötössä on kuitenkin myös pienempi hemiselluloosapitoisuus kuin nollanäytteessä, eli esikäsitellyn aikana osa hemiselluloosista on hajonnut tai poistunut. Entsyymi-adsorbenttikäsitellyn näytteen konsentraatin TOC-arvo on lähellä nollanäytteen konsentraatin arvoa. Konsentraatin hemiselluloosapitoisuus on suurempi kuin nollanäytteellä, joten

hemiselluloosien konsentroidi onnistui tällä esikäsitteilyllä paremmin kuin käsittelemättömässä nollanäytteessä.

Entsyymi II -näytteellä vuon keskiarvo on kolminkertainen verrattuna nollanäytteen keskiarvovuohon. Syötön TOC- ja hemiselluloosapitoisuudet ovat lähes sama kuin nollanäytteellä, eli hemiselluloosahäviötä ei tässä käsittelyssä ole tapahtunut. Syötön UV-absorbanssiarvo on pienempi kuin nollanäytteellä, joten osa ligniinistä on poistunut käsittelyssä. Konsentraatin hemiselluloosapitoisuudesta nähdään, että hemiselluloosien konsentroidi onnistui tässä esikäsitteilyssä hyvin.

Kitosaanikäsitellyn hydrolysaatin keskiarvovuo on lähellä entsyymi II -näytteen keskiarvovuota. Syötön TOC-arvo on pienempi kuin nollanäytteellä, ja suuntaantava hemiselluloosapitoisuuskin hieman pienempi. Esikäsitteilyssä tapahtui siis jonkin verran hemiselluloosahäviötä. Syötön UV-absorbanssiarvo on kuitenkin pienempi kuin nollanäytteellä, joten myös ligniiniä poistui. Kitosaanikäsitellyn näytteen konsentraatista ei saatu analyysituloksia, sillä sen koostumus muuttui suodatuksen lopulla tahmeaksi ja vaahtomaiseksi. Tämä vaahtomainen konsentraatti oli veteen huonosti liukenevaa, joten sitä ei voinut laimentaa eikä näin ollen myöskään analysoida. Käytännössä tällaisen konsentraatin jatkojalostaminen voi olla hankalaa.

Molemmissa flokkulanttikäsittelyissä vuon keskiarvo jäivät pieniksi, mutta keskenään niiden välillä huomataan kasvua. Voidaan siis arvioida, että flokkulantin pitoisuutta kasvattamalla myös keskiarvovuo kasvaa. Tämän toteaminen kuitenkin vaatisi lisäkokeita. TOC-arvot molempien näytteiden syötössä ovat lähellä nollanäytteen arvoa. Flokkulantti II -näytteen syötön hemiselluloosapitoisuus on hieman pienempi kuin nollanäytteellä. Esikäsitteilyssä hemiselluloosia siis poistui jonkin verran, mutta muutos on melko pieni. Molempien näytteiden syötön UV-absorbansseista nähdään, että esikäsitteily poisti vain vähän ligniiniä. Flokkulantti II -näytteen konsentraatin hemiselluloosapitoisuus on pienempi kuin nollanäytteen konsentraatilla. Hemiselluloosien konsentroidi onnistui siis huonommin kuin nollanäytteellä.

Esikäsiteltyjen näytteiden vuon keskiarvojen perusteella suodatuskapasiteetti kasvoi eniten entsyymi-adsorbenttikäsitellyn näytteen suodatuksessa. Myös

entsyymi II -näytteen ja kitosaanikäsitellyn näytteen keskiarvovuot ovat suurempia kuin nollanäytteellä, joten näissäkin tapauksissa suodatuskapasiteetti kasvoi. Vuokeskiarvojen perusteella molemmissa flokkulanttikäsitellyissä näytteissä suodatuskapasiteetti pysyi samana kuin nollanäytteellä.

Foulaantumisen määrää voidaan päätellä puhdasvesivuon muutoksista. Taulukossa II on esitetty puhtaan veden keskiarvovuot ennen näytteen suodatusta ja näytteen suodattamisen jälkeen sekä vesivuon prosentuaalinen muutos. Mitä suurempi ero vesivuon arvolla ennen näytteen suodatusta ja näytteen suodatuksen jälkeen, sitä suurempaa on ollut foulaantuminen suodatuksessa. Entsyymikäsitellyistä näytteistä on taulukkoon sisällytetty vain se, joissa hydrolysaattisuodatuksen keskiarvovuo on ollut suurempi. Veden keskiarvovuot on laskettu veden suodatuksen lopusta kolmen viimeisen mittauspisteen perusteella. Koska vesivuot ennen näytteen suodatusta vaihtelevat suuresti, voidaan todeta käytettyjen kalvopalojen olleen epätasalaatuisia. Tämä vaikeuttaa prosentuaalisten muutosten vertailua eri hydrolysaattinäytteiden välillä. Vesivuon muutoksista yhdessä hydrolysaattisuodatuksessa voidaan kuitenkin päätellä foulaantumisen määrää.

**Taulukko II.** Vesivuot ennen hydrolysaattinäytteen suodatusta ja näytteen suodatuksen jälkeen sekä vesivuon muutos.

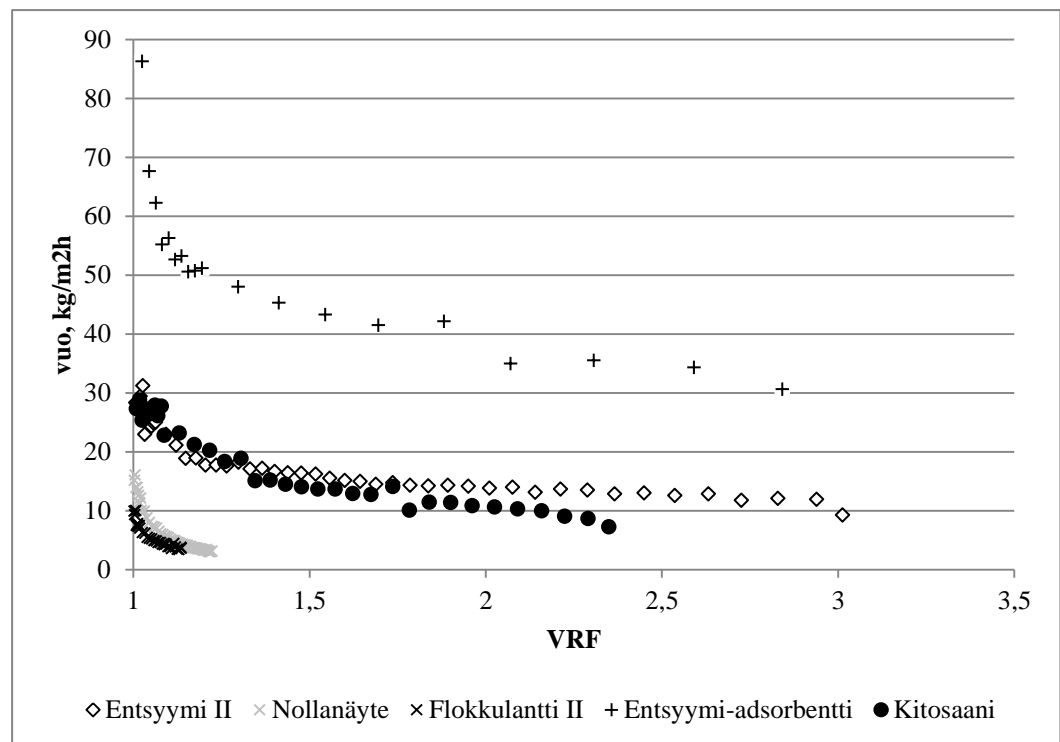
Näyte	Ennen kg/m <sup>2</sup> h	Jälkeen kg/m <sup>2</sup> h	Muutos
Nollanäyte	266	16	94 %
Entsyyminäyte II	161	16	90 %
Kitosaaninäyte	382	49	87 %
Entsyymi-adsorbenttinäyte	310	47	85 %
Flokkulanttinäyte I	281	5	98 %
Flokkulanttinäyte II	238	14	94 %

Taulukosta II nähdään, että suurin vesivuon lasku tapahtui flokkulanttikäsiteltyjen hydrolysaattien suodatuksessa, joissa vesivuon prosentuaalinen muutos on jopa hieman suurempi kuin nollanäytteen suodatuksessa. Foulaantumista tapahtui siis hydrolysaattinäytteiden suodatuksissa enemmän kuin nollanäytteen suodatuksessa. Vähiten foulaantumista tapahtui entsyymi-adsorbenttikäsitellyn näytteen suodatuksessa. Kitosaanikäsitellyn näytteen ja entsyymi-adsorbenttikäsitellyn näytteen suodatuksissa vesivuo laski lähes yhtä paljon, mutta nollanäytteen vesivuon laskuun verrattuna niissä kuitenkin tapahtui vähemmän

foulaantumista. Entsyymi II -näytteen vesivuo laski melko paljon, mutta kuitenkin hieman vähemmän kuin nollanäytteen suodatuksessa.

Kaikissa käsiteltyjen näytteiden suodatuksissa voidaan olettaa, foulaantumista tapahtui melko paljon. Vesivuo lasku oli jokaisessa suodatuksessa yli 80 %. Vesivuot on esitetty pylväsdiagrammina liitteessä I.

VRF-arvo kertoo suodatuskapasiteetista. Kuvassa 1 vuo on esitetty VRF-arvon funktiona suodatuksen aikana. Tavoitteena suodatuksissa oli mahdollisimman suuri vuo, mutta hydrolysaatin konsentroinnin kannalta tavoiteltavaa on myös suuri VRF-arvo.



**Kuva 3.** VRF-arvot vuon funktiona käsiteltyjen hydrolysaattien suodatuksissa AlfaLaval UFX5-kalvolla 5,5 barin paineella 60 °C lämpötilassa.

Kuvasta 3 nähdään, että VRF-arvon ja vuon suhteen paras käsittely oli entsyymi-adsorbenttikäsittely. Entsyymi-adsorbenttikäsitellyssä näytteessä oli huomattavasti suurempi vuo koko suodatuksen ajan kuin muissa näytteissä. Myös entsyymi II -näyte ja kitosaanikäsitelty näyte olivat kuvan 1 perusteella melko hyviä. Kitosaanikäsitellyssä näytteessä VRF-arvo jäi pieneksi, mutta vuo oli melko samaa tasoa entsyymi II -näytteen kanssa. Flokkulantti II -näytteen

nähdään kuvan 1 perusteella olevan jopa huonompi VRF-arvon ja vuon suhteen, kuin nollanäytteen.

Entsyymi-, kitosaani- ja entsyymi-adsorbenttikäsiteltyjen hydrolysaattien esikäsittelyn aikana otettujen näytteen UV-absorbanssit on esitetty liitteessä II. Myös hydrolyysinäytteistä mitatut johtokyky- ja pH-arvot on esitetty liitteessä II.

## 5 YHTEENVETO

Esikäsitteilyjen tavoitteena oli vähentää hydrolysaatin ultrasuodatuksen aikana tapahtuvaa foulaantumista suodatuksen tehostamiseksi. Suodatusten tavoitteena oli konsentroida syöttöliuos, eli saada mahdollisimman suuri määrä hemiselluloosia konsentraattiin.

VRF-arvon ja vuon suhteen käsittelyistä paras oli entsyymi-adsorbenttikäsittely. Sen vuo oli huomattavasti suurempi kuin muiden näytteiden, eli suodatuskapasiteetti oli parempi. Jonkin verran hemiselluloosia kuitenkin hajosi tai poistui esikäsitteilyn aikana. Hemiselluloosapitoisuus konsentraatissa oli suurempi kuin nollanäytteellä, joten konsentroida oli onnistunut hyvin. Syötön ja konsentraatin UV-absorbanssiarvojen perusteella ligniiniä oli poistunut käsittelyssä, eikä konsentraattiin jäänyt paljon ligniiniä. Entsyymi-adsorbenttikäsittely osoittautui tehdyistä käsittelyistä parhaaksi. Vaikka vesivuon muutoksen perusteella foulaantumista tapahtui tässäkin käsittelyssä melko paljon, oli vesivuon muutos käsittelyistä pienin.

Entsyymi II -näytteen VRF-arvon ja vuon suhde oli toiseksi paras. Kitosaanikäsittelty näyte oli suodatuksen alussa melko samalla tasolla, mutta sen vuo pieneni suodatuksen loppua kohden enemmän kuin entsyymi II -näytteen suodatuksessa. Entsyymi II -näyte siis foulasi kalvoa vähemmän. Entsyymikäsittelyssä ei tapahtunut hemiselluloosahäviötä. Entsyymi II -näytteen hemiselluloosapitoisuus konsentraatissa on kaikista käsittelyistä suurin. Entsyymi II -näytteen konsentraatti sisältää kuitenkin UV-absorbanssiarvon perusteella vielä paljon ligniiniä, vaikka sitä syötössä olikin vähemmän kuin nollanäytteessä. Vesivuo laski myös paljon, joten foulaantumista tapahtui.

Kitosaanikäsitellyn näytteen VRF-arvon ja vuon suhde oli melko hyvä. Vuo kuitenkin pieneni suodatuksen loppua kohden, eli kalvo foulaantui suodatuksen edetessä. UV-absorbanssiarvon perusteella syötössä on vähemmän ligniiniä kuin nollanäytteessä, mutta ligniiniä on kuitenkin vielä melko paljon. Siitä voi johtua kalvon foulaantuminen. Konsentraatin hemiselluloosapitoisuutta ei saatu analysoitua, joten kitosaanikäsitellyn tehokkuutta konsentroidin kannalta on vaikea arvioida. Myös hemiselluloosahäviötä tapahtui melko paljon

esikäsitelyssä. Käytännössä kitosaanikäsitely ei ole kovin järkevä. Sekä syötön geelimäinen että konsentraatin vaahtomainen rakenne on jatkojalostuksen ja analysoinnin kannalta hankala. Molemmat olivat huonosti veteen liukenevia, joka vaikeuttaa analysointia ja jatkokäyttöä.

Molemmissa flokkulanttikäsittelyissä vuo ja VRF-arvo jäivät pieniksi. Foulaantuminen pienensi vuon hyvin nopeasti alle järkevän tason. Flokkulantti II -näytteen konsentraatin hemiselluloosapitoisuus jäi melko pieneksi, joten konsentroidin kannaltakaan flokkulanttikäsittely ei ole järkevä. Ligniiniä oli kuitenkin poistunut käsittelyssä ja käsittelyiden välillä huomattiin vuon olevan suurempi flokkulantti II -näytteessä, johon flokkulanttia lisättiin enemmän. Suurempi flokkulanttipitoisuus siis saattaisi vähentää foulaantumista, jolloin hemiselluloosapitoisuus voisi olla konsentraatissa suurempi, kun suodatusta voitaisiin jatkaa pidempään. Jotta tämä voitaisiin todeta, tulisi flokkulanttikäsittelyä kuitenkin tutkia vielä lisää.

Jatkossa entsyymi-adsorbenttikäsittelyä voisi tutkia lisää mahdollisten foulaantumista aiheuttavien uuteaineiden poistamiseksi, jotta sen tehokkuus paranisi. Entsyymikäsitelyä voisi yhdistää johonkin toiseen käsittelyyn, jolla ligniiniä saataisiin poistettua vielä enemmän ja näin ollen foulaantumista vähennettyä enemmän. Myös flokkulanttikäsittelyä voisi tutkia suuremmilla flokkulanttipitoisuuksilla, sillä kokeissa huomattiin keskiarvovuon olevan suurempi sen näytteen suodatuksessa, jossa oli suurempi flokkulanttipitoisuus.



## LÄHTEET

- Costa, A.R., de Pinho, M.M. & Elimelech, M. 2006. Mechanisms of colloidal natural organic matter fouling in ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*, volume 281, sivut 716-725.
- Cruz, J.M., Domínguez, J.M., Domínguez, H. & Parajó, J.C. 1999. Solvent extraction of hemicellulosic wood hydrolysates: a procedure useful for obtaining both detoxified fermentation media and polyphenols with antioxidant activity. *Food Chemistry*, volume 67, sivut 147-153.
- Galbe, M. & Zacchi, G. 2003. A Review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and biotechnology*, volume 59, sivut 618-628.
- Garrote, G., Kabel, M.A., Schols, H.A., Falqué, E., Domínguez, H. & Parajó, H.C. 2007. Effects of *Eucalyptus gloubulus* Wood Autohydrolysis Conditions on the Reaction Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, volume 55, sivut 9006-9013.
- Garrote, G. & Parajó, J. C. Non-isothermal autohydrolysis of Eucalyptus wood. 2002. *Wood Science and Technology*, volume 36, sivut 111-123.
- Koivula, E., Kallioinen, M., Preis, S., Testova, L., Sixta, H. & Mänttari, M. 2011. Evaluation of various pretreatment methods to manage fouling in ultrafiltration of wood hydrolysates. *Separation and Purification Technology*, volume 83, sivut 50-56.
- Lange, J-P. (kirj.)/Centi, G. & Van Santen R.A. (toim.). 2007. Catalysis for Renewables – From Feedstock to Energy Production. Weinheim, Saksa. WILEY-VCH. 425 sivua. ISBN 978-3-527-31788-2.
- Leiviskä, T. & Rämö, J. 2008. Coagulation of wood extractives in chemical pulp bleaching filtrate by cationic polyelectrolytes. *Journal of Hazardous Materials*, volume 153, sivut 525-531.
- Leschinsky, M., Weber, H.K., Patt, R. & Sixta, H. 2009. Formation of insoluble components during autohydrolysis of *Eucalyptus Globulus*. *Lenzinger Berichte*, volume 87, sivut 16-25.
- Metla 2010. MetlaNews 28.5.2010. Metsäntutkimuslaitos. [verkkojulkaisu]. Saatavissa: <http://www.metla.fi/uutiskirje/bio/2010-02/uutinen-3.html> [Viitattu 9.4.2013].
- Mohammad, A.W., Ng, C.Y., Lim, Y.P. & Ng, G.H. 2012. Ultrafiltration in Food Processing Industry: Review on Application, Membrane Fouling, and Fouling Control. *Food Bioprocess Technology*, volume 5, sivut 1143-1156.
- Miyafuji, H., Danner, H., Neureiter, C., Thomasser, C., Bvochore, J., Szolar, O. & Braun, R. 2003. Detoxification of wood hydrolysates with wood charcoal for increasing the fermentability of hydrolysates. *Enzyme and Microbial Technology*, volume 32, sivut 396-400.

- Mulder, M. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. Toinen painos. Dordrecht, the Netherlands. Kluwer Academic Publishers. 564 sivua. ISBN 0-7923-4248-8.
- Mussatto, S.I., Fernandes, M. & Roberto, I.C. 2007. Lignin recovery from brewer's spent grain black liquor. *Carbohydrate Polymers*, volume 70, sivut 218-223.
- Muthukumaran, S., Yang, K., Seuren, A., Kentish, S., Ashokkumar, M., Stevens, G.W. & Grieser, F. 2004. The use of ultrasonic cleaning for ultrafiltration membranes in the dairy industry. *Separation and Purification Technology*, volume 39, sivut 99-107.
- Parajó, J.C., Domínguez, H. & Domínguez, J.M. 1996. Charcoal adsorption of wood hydrolysates for improving their fermentability: influence of the operational conditions. *Bioresource Technology*, volume 57, sivut 179-185.
- Parajó, J.C., Garrote, G., Cruz, J.M. & Dominguez, H. 2004. Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science & Technology*, volume 15, sivut 115-120.
- Pasquini, D., Borges Pimenta, M.T., Ferreira, L.H. & Curvelo, A.A. 2005. Extraction of lignin from sugar cane bagasse and *Pinus taeda* wood chips using ethanol-water mixtures and carbon dioxide at high pressures. *The Journal of Supercritical Fluids*, volume 36, sivut 31-39.
- Persson, T. & Jönsson, A.-S. 2009. Fouling of Ultrafiltration Membranes during Isolation of Hemicelluloses in the Forest Industry. *Scholarly Research Exchange*, volume 2009, artikkeli ID 624012, sivut 1-7.
- TAPPI 1991. "UM 250, Acid soluble lignin in wood and pulp". TAPPI Useful Methods.
- Testova, L., Vilonen, K., Pynnönen, H., Tenkanen, M. & Sixta, H. 2009. Isolation of hemicelluloses from birch wood: Distribution of wood components and preliminary trials in dehydration of hemicelluloses. *Lenzinger Berichte*, numero 87, sivut 58-65.
- Vázquez, M.J., Garrote, G., Alonso, J.L., Domínguez, H. & Parajó, J.C. 2005. Refining of autohydrolysis liquors for manufacturing xylooligosaccharides: evaluation of operational strategies. *Bioresource Technology*, volume 96, sivut 889-896.
- Villarreal, M.L.M., Prata, A.M.R., Felipe, M.G.A & Silva, J.B.A.E. 2006. Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Enzyme and Microbial Technology*, volume 40, sivut 17-24.
- Yoon, H. H. Pretreatment of lignocellulosic biomass by autohydrolysis and aqueous ammonia percolation. 1998. *Korean Journal Chemical Engineering*, volume 15, numero 6, sivut 631-636.

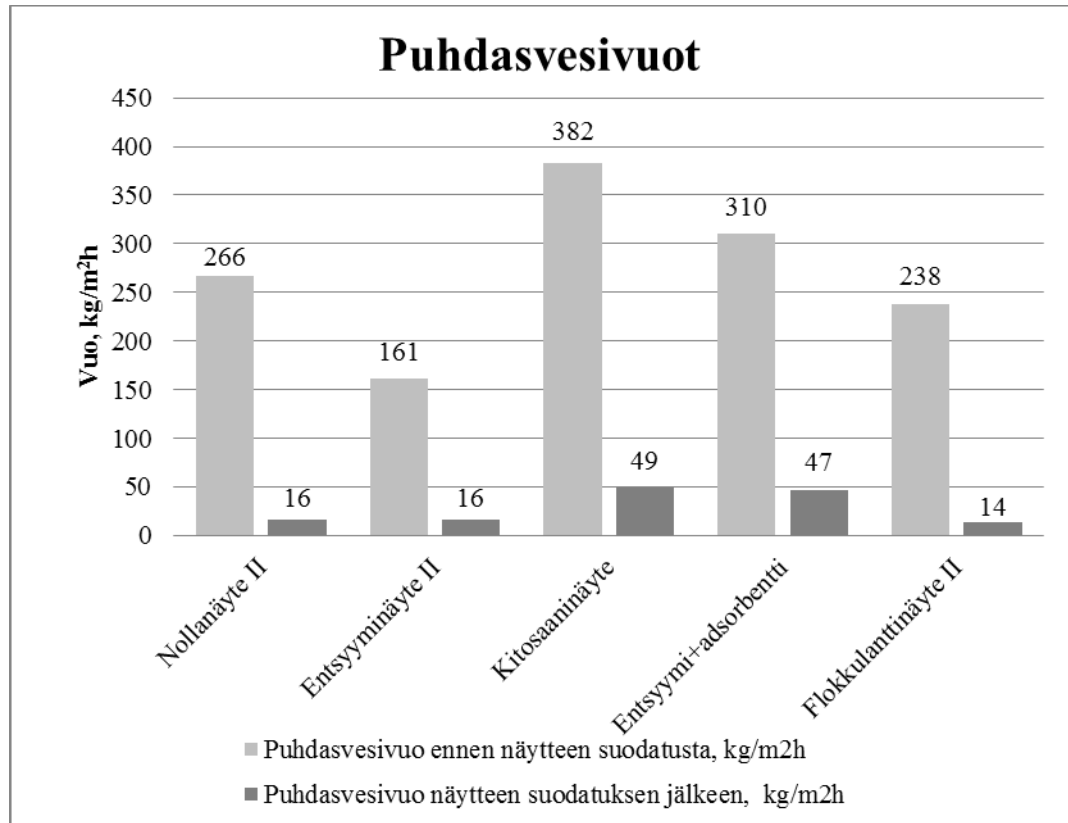
## **LIITTEET**

LIITE I Puhdasvesivuot

LIITE II Näytteiden analyysitulokset

**LIITE I Puhdasvesivuot**

**Kuva 1.** Puhdasvesivuot jokaiselle näytteelle ennen näytteen suodatusta ja näytteen suodatuksen jälkeen.

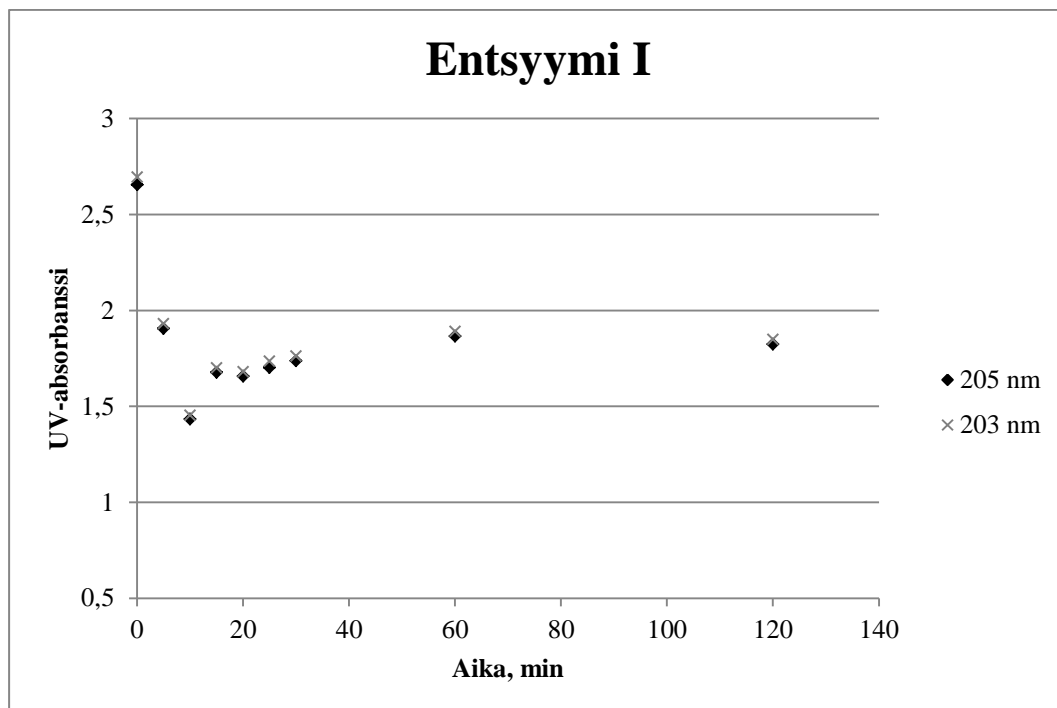


**LIITE II Näytteiden analyysitulokset****Taulukko I.** Kaikkien näytteiden UV-absorbanssit ja TOC-arvot.

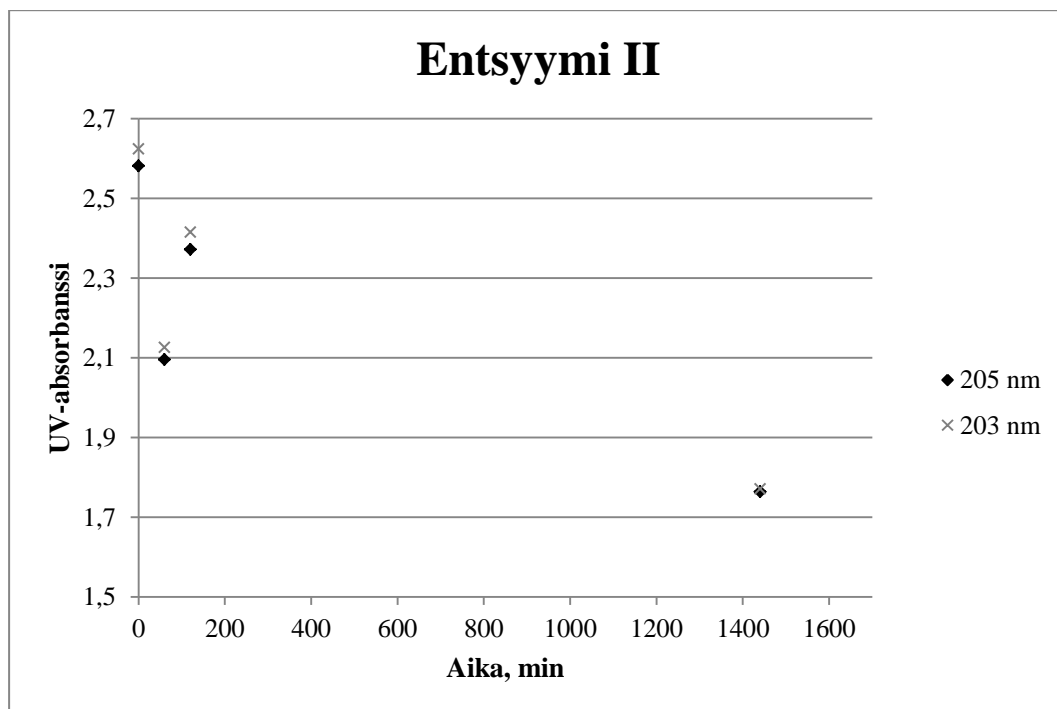
Käsittely		UV-absorbanssi		TOC
		205 nm	203 nm	ppm
Nollanäyte	Permeaatti	1,493	1,516	3975
	Syöttö	3,305	3,327	14893
	Konsentraatti	3,926	3,881	24877
Entsyymi I	Permeaatti	-	-	4925
	Syöttö	-	-	15520
	Konsentraatti	-	-	18790
Entsyymi II	Permeaatti	0,522	0,537	6310
	Syöttö	2,050	2,047	14740
	Konsentraatti	7,016	7,015	39167
Flokkulantti I	Permeaatti	0,429	0,437	1179
	Syöttö	3,154	3,184	13803
	Konsentraatti	3,094	3,128	14801
Flokkulantti II	Permeaatti	0,441	0,448	1248
	Syöttö	3,056	3,091	14926
	Konsentraatti	3,213	3,243	17475
Kitosaani	Permeaatti	0,903	0,917	2628
	Syöttö	2,352	2,394	9282
	Konsentraatti	-	-	-
Entsyymi- adsorbentti	Permeaatti	0,164	0,169	5550
	Syöttö	1,012	1,021	10418
	Konsentraatti	0,489	0,496	22104

**Taulukko II.** Näytteiden johtokyvyt ja pH:t.

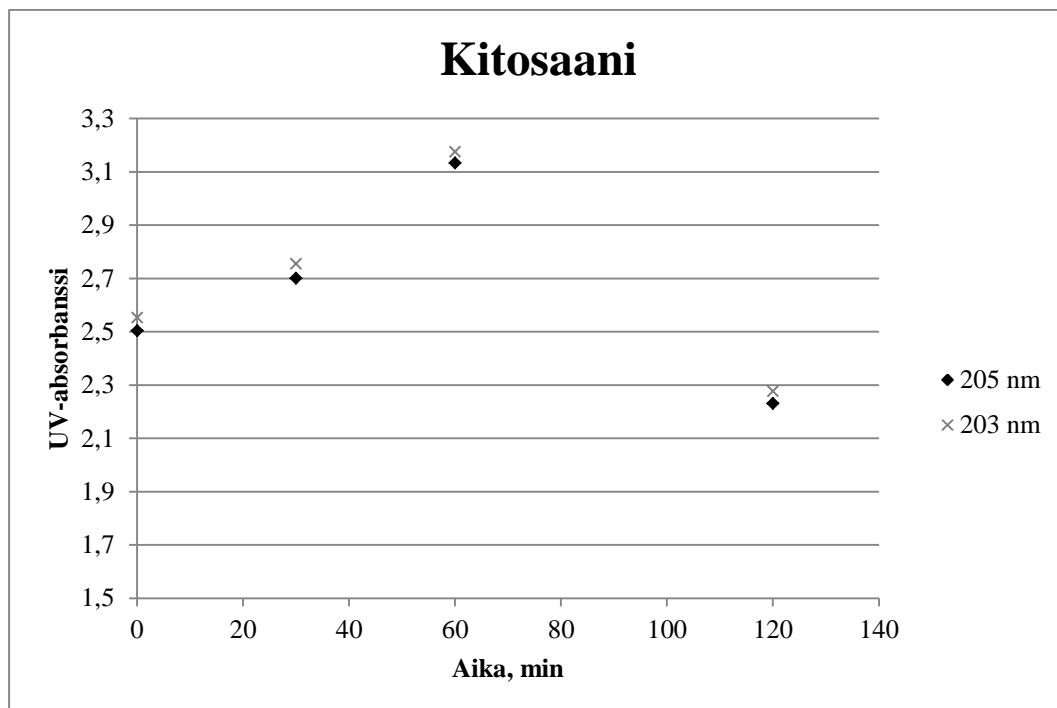
		Johtokyky $\mu\text{S}/\text{cm}$	pH
Nollanäyte	Permeaatti	443,8	3,47
	Syöttö	610,1	3,26
	Konsentraatti	651,5	3,21
Entsyymi II	Permeaatti	601,3	3,57
	Syöttö	746,5	3,47
	Konsentraatti	945,8	3,29
Flokkulantti I	Permeaatti	397,4	3,04
	Syöttö	732,6	3,18
	Konsentraatti	744,0	3,21
Flokkulantti II	Permeaatti	764,2	0,85
	Syöttö	1269,0	3,11
	Konsentraatti	1367,0	3,12
Kitosaani	Permeaatti	291,6	4,20
	Syöttö	795,5	5,00
	Konsentraatti	-	-
Entsyymi- adsorbentti	Permeaatti	557,0	3,69
	Syöttö	667,8	3,58
	Konsentraatti	853,1	3,50



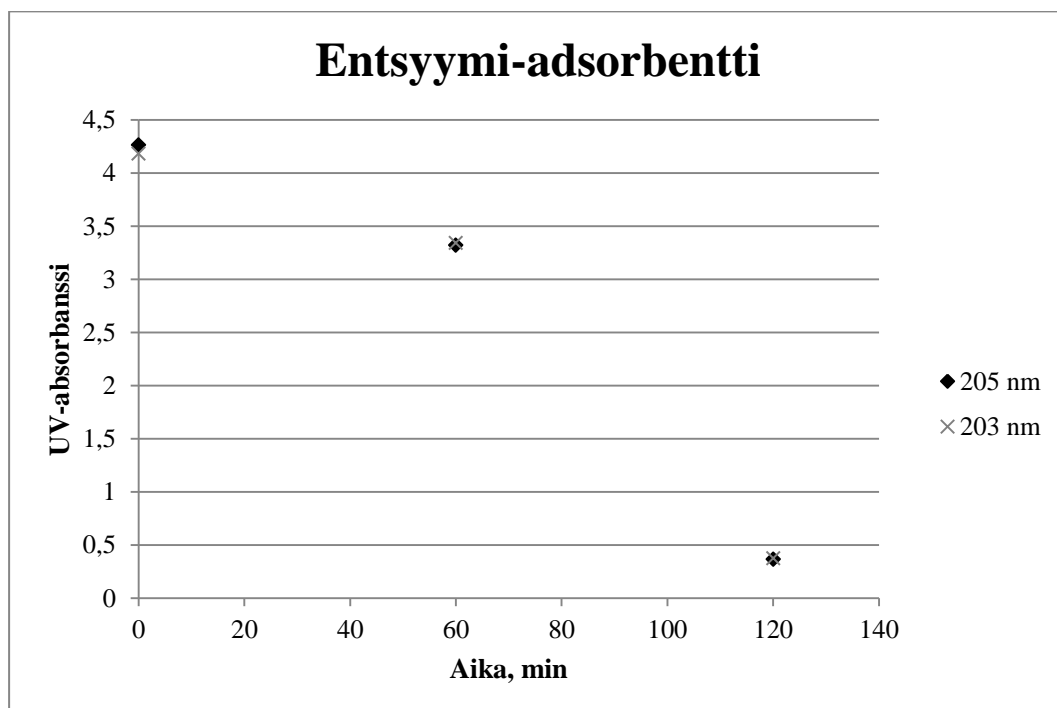
**Kuva 1.** Entsyymi I -näytteen UV-absorbanssit näytteenottohetken funktiona. Viimeistä pistettä (24 h) ei ole sisällytetty kuvaan.



**Kuva 2.** Entsyymi II -näytteen UV-absorbanssit näytteenottohetken funktiona.



**Kuva 3.** Kitosaanikäsitellyn näytteen UV-absorbanssit näytteenottohetken funktiona.



**Kuva 4.** Ensyymi-adsorbenttikäsitellyn näytteen UV-absorbanssit näytteenottohetken funktiona.