

**Rasvahappojen talteenotto fermentoinnin
kasvatusliemestä adsorbenttimateriaaleilla**

Miia Kokkonen

Kandidaatintutkielma

Kemian tutkinto-ohjelma

Oulun yliopisto

2020

Sisällysluettelo

1	JOHDANTO.....	3
2	MIKROBIELEKTROSYNTEESI.....	4
2.1	Prosessin ympäristöystävällisyys.....	5
2.2	Mikrobielektrosynteesilaitteisto ja synteesireaktiot.....	6
3	ASETONI-BUTANOLI-ETANOLI -FERMENTAATIO.....	9
4	ZEOLIITTIMATERIAALIT.....	11
5	RASVAHAPPOJEN TALTEENOTTO KASVATUSLIEMESTÄ.....	13
5.1	Mikrobielektrosynteesin tuotteiden talteenotto nestekalvoutolla.....	13
5.2	Fermentaatiotuotteiden talteenotto adsorbenttimateriaaleilla.....	14
6	YHTEENVETO.....	19
7	KIRJALLISUUSVIITTEET.....	21

1 JOHDANTO

Useissa teollisuuden prosesseissa muodostuu sivutuotteena hiilidioksidia, joka vaikuttaa osaltaan ilmaston lämpenemiseen. Samaan aikaan kemikaalien ja polttoaineiden valmistamiselle pyritään kehittämään entistä ympäristöystävällisempiä menetelmiä. Mikrobielektrosynteesi pyrkii ratkaisemaan nämä kaksi ongelmaa hyödyntämällä teollisuudessa muodostuvaa hiilidioksidia orgaanisten kemikaalien valmistukseen. Mikrobielektrosynteesi perustuu mikrobien käyttämiseen biokatalyyttina. Menetelmän päätuotteena on usein asetoni, mutta pidempiketjuisten rasvahappojen, kuten butaani- ja heksaanihapon valmistus on kannattavampaa, sillä niillä on asetonia korkeampi markkina-arvo. Jotta mikrobielektrosynteesi olisi kannattavaa tuotettujen kemikaalien on pystyttävä keräämään kustannustehokkaasti talteen kasvatusliemestä.

Yksi lupaava mahdollisuus lopputuotteiden talteenottamiseen on zeoliittimateriaalien käyttö. Zeoliittimateriaalit ovat huokoisia alumiinisilikaatteja, joissa on säännöllisen kokoisia pieniä huokosia. Näiden huokosten vuoksi zeoliittejä voidaan käyttää rasvahappojen adsorboimiseen. Koska mikrobielektrosynteesin kasvatusliemen rasvahappojen talteenottoa zeoliittimateriaaleilla ei ole vielä tutkittu paljon, käydään tutkielmassa läpi myös ABE-fermentaation eli asetoni-butanoli-etanoli-fermentaation tuotteiden talteenottoa adsorbenttimateriaaleilla. ABE-fermentaatio on käymismenetelmä pääasiassa asetoni-, etanolin ja butanolin valmistamiseen. Sen sivutuotteina, sekä joskus myös haluttuina lopputuotteina, syntyy myös rasvahappoja, kuten juuri butaanihappoa. Koska ABE-fermentaation kasvatusliemi on samankaltaista mikrobielektrosynteesin kasvatusliemen kanssa, voitaisiin samankaltaisia adsorbenttimateriaaleja mahdollisesti soveltaa myös mikrobielektrosynteesin rasvahappojen talteenottoon.

Tutkielman tarkoituksena on esitellä ja vertailla eri adsorbenttimateriaalien käyttöä rasvahappojen ja erityisesti butaani- ja heksaanihapon talteenottoon kasvatusliemestä. Lisäksi tutkielmassa käydään läpi mikrobielektrosynteesin, ABE-fermentaation ja zeoliittimateriaalien peruseriaatteet.

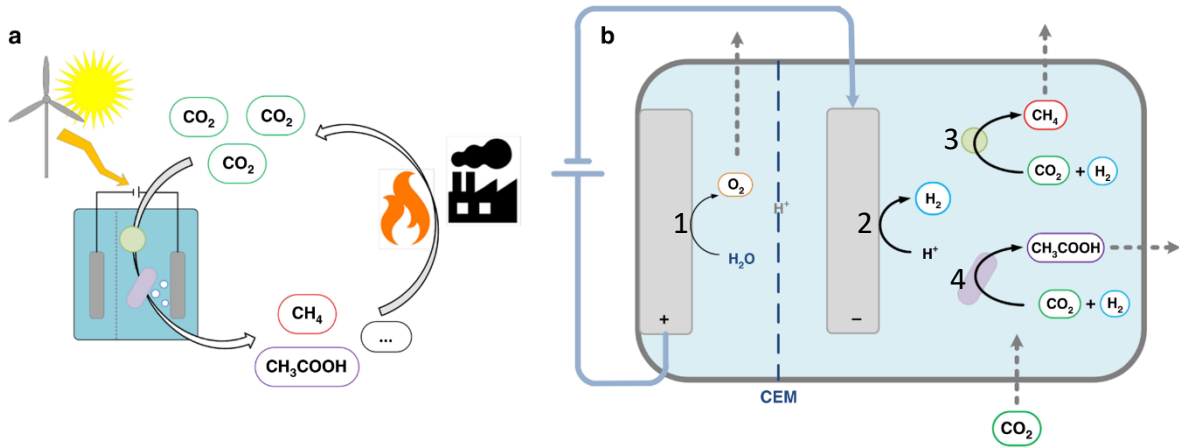
2 MIKROBIELEKTROSYNTEESI

Mikrobielektrosynteesi kuuluu bioelektrokemiallisiin systeemeihin (BES, engl. Bioelectrochemical system), joissa hyödynnetään mikrobeja esimerkiksi sähkövirran tuottamiseksi tai jäteveden puhdistamiseksi. Mikrobielektrosynteesi voidaan lisäksi lajitella mikrobiseen sähkökemian (engl. Microbial electrochemistry), joka tutkii vuorovaikutusta elektrodien ja mikrobien välillä. Mikrobinen sähkökemian on kehittynyt 2000-luvulla ja sillä on useita eri sovellutuksia ja paljon termistöä. Mikrobiaalinen elektrokatalyytti tarkoittaa mikrobien aiheuttamaa kiihdytystä tai helpotusta sähkökemiallisen reaktioon, joka perustuu solunulkoiseen elektroninsiirtoon.^{1,2}

Mikrobielektrosynteesi (engl. Microbial electrosynthesis, MES) tarkoittaa sähkövirran käyttämistä kemikaalien valmistukseen mikrobeja ohjaamalla. Reaktio voi olla hapettava tai pelkistävä ja sen lähtöaineena käytetään hiilidioksidia tai orgaanisia yhdisteitä.³ Useimmiten mikrobielektrosynteesissä reaktiot ovat kuitenkin pelkistäviä ja lähtöaineena käytetään hiilidioksidia. Kuvassa 1a on malli hiilineutraalista taloudesta MES:in avulla. MES:in lähtöaine eli hiilidioksidi saadaan teollisuuden sivuvirroista ja MES:iin tarvittava energia tuuli- ja tai aurinkovoimasta. MES:stä saatavia kemikaaleja käytetään taas hyödyksi teollisuudessa, jolloin siitä muodostuu jälleen hiilidioksidia.⁴

Mikrobielektrosynteesissä mikrobit saavat pelkistysenergiansa katodilta tulevilta elektroneilta ja hyödyntävät sitä potentiaalisesti joko suoraan elektroninsiirtona tai epäsuorasti (bio)elektrokemiallisesti valmistetun vedyn (H_2) muodossa.³ Kuvassa 1b näkyy mikrobien toiminta biokatalyyttina eli mikrobiaalisena elektrokatalyyttina. Anodilla reaktiossa 1 tapahtuu veden hajoaminen vedyksi ja hapeksi. Anodi erotetaan katodista protoninvaihtokalvolla (engl. proton-exchange membrane) tai kationinvaihtokalvolla (engl. cation-exchange membrane, CEM), jolloin happi ei pääse kulkeutumaan mikrobien luo. Tämä on tärkeää, sillä mikrobit elävät usein anaerobisesti eli hapettomissa olosuhteissa. Protoninvaihtokalvon läpi katodikammioon siirtyy kuitenkin protoneja anodikammioista. Katodilla reaktiossa 2 protoneista pelkistyy vetykaasua, eli kuvassa energia siirtyy mikrobeille epäsuorasti.

Reaktiossa 3 mikrobi pelkistää vetykaasusta ja hiilidioksidista metanolia ja reaktiossa 4 etikkahappoa. Lopputuotteet kerätään pois kasvatusliuoksesta.⁴



Kuva 1. MES:n hyödyntäminen teollisuuden CO² päästöjen muuntamisessa kemikaaleiksi tuuli- ja/tai aurinkovoiman avulla (a), MES-systeemin toimintaperiaate (b).⁴

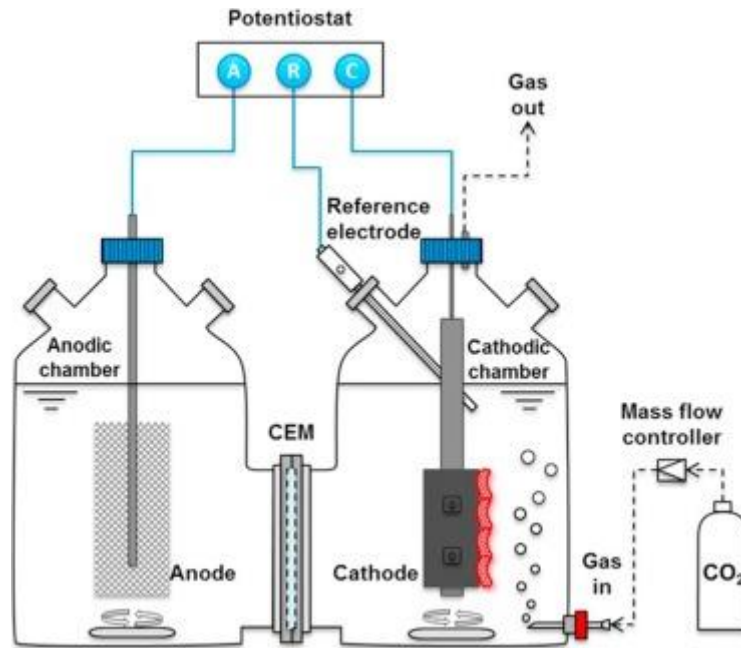
2.1 Prosessin ympäristöystävällisyys

MES:n avulla voidaan valmistaa perinteisiä menetelmiä ympäristöystävällisemmin teollisuudelle merkittäviä orgaanisia kemikaaleja, kuten asetaattia, rasvahappoja ja alkoholeja. Perinteisesti pitkiä rasvahappoja, kuten heksaanihappoa, valmistetaan petrokemiallisesti tai jakotislataan (engl. fractional distillation) kookos- ja palmuöljystä.⁵ Alkoholeista esimerkiksi isobutanolia valmistetaan useimmiten happokatalysoidulla propeenin Koch-karbonylointi -reaktiolla (engl. Koch carbonylation reaction), joka käyttää fossiilisia lähtöaineita, paljon energiaa sekä ympäristölle haitallisia kemikaaleja, kuten rikkihappoa.⁶ Tuotteena saatua butaanihappoa käytetään kemianteollisuudessa sekä lääketieteellisuudessa ja heksaanihappoa esimerkiksi rehun lisäaineena, maunparantajana, antimikrobisena aineena sekä raaka-aineena kemian- ja biopolttoaineteollisuudessa. Tuotteena saatavia alkoholeja taas käytetään muun muassa polttoaineina sekä muovin valmistuksessa.⁶

Mikrobielektrosynteesin ympäristöystävällisyys perustuu uusiutuvan lähtöaineineen eli hiilidioksidin käyttöön. Hiilidioksidia on saatavilla paljon esimerkiksi teollisuuden sivutuotteena eli sitä ei tarvitse valmistaa erikseen, jolloin siihen käytettäisiin ylimääräistä energiaa. Usein fossiilipohjaisten lähtöaineiden tilalle täytyy kasvattaa ensin esimerkiksi maissia, josta saatavaa sokeria käytetään kemikaalien valmistuksen lähtöaineena. Esimerkiksi seuraavassa kappaleessa käsiteltävä ABE-fermentointi perustuu tällaiseen menetelmään. Teollisuuden sivuvirroista saadut lähtöaineet eivät myöskään vie tilaa ruoantuotannolta, kuten sokeripohjaiset lähtöaineet. Koska hiilidioksidi on kasvihuonekaasu, saadaan se myös sidottua uusiokäyttöön MES:n avulla, jolloin se ei ole enää edistämässä ilmastonmuutosta. Käytetyn lähtöaineineen lisäksi ekologisuuteen vaikuttaa käytetty energianlähde, joka MES:ssä voi olla uusiutuva, esimerkiksi aurinko- tai tuulivoima.⁶

2.2 Mikrobielektrosynteesilaitteisto ja synteesireaktiot

Laboratoriomittakaavan bioelektrosysteemi koostuu yleensä kahdesta lasisesta tai muovisesta kammioista eli anodi- ja katodikammioista, joita erottaa kationinvaihtokalvo. Kuvassa 2 on laboratoriomittakaavan MES-laitteisto. Katodi on valmistettu yleensä grafiitista ja toimii työelektrodina. Anodi voi olla esimerkiksi Pt-elektrodi ja vertailuelektrodi on yleensä Ag/Ag-elektrodi. Kammiot täytetään mikrobeja sisältävällä kasvatusliuoksella, joka pidetään liikkeessä pumpun avulla. Systeemiin säädetään sopiva pH, jännite ja lämpötila sekä lisätään sopivin väliajoin lähtöainetta eli hiilidioksidia.^{6,7} Anodikammio sisältää anodin ja se on erotettu katodikammioista kationinvaihtokalvolla, josta käytetään kuvassa lyhennettä CEM. Katodikammio sisältää katodin, mikrobit sekä vertailuelektrodin. Katodikammioon syötetään hiilidioksidia, ja siellä valmistuvat MES:n lopputuotteet.

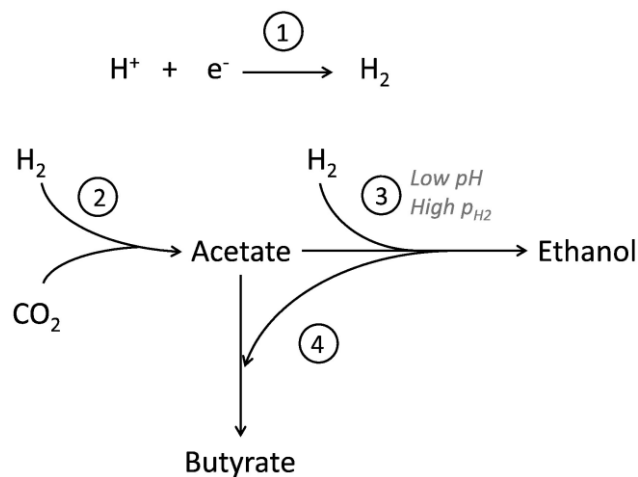


Kuva 2. Laboratoriomittakaavan MES-laitteisto.⁸

Jotta kemikaalien valmistaminen MES:llä olisi hyödyllistä, on vähällä energialla valmistettava haluttua lopputuotetta paljon ja selektiivisesti. Koska prosessin katalyyttinä käytetään eläviä olioita eli mikrobeja, niiden ominaisuudet ja metaboliset reitit on tunnettava mahdollisimman tarkasti. Bioelektrodina voidaan käyttää joko tiettyä mikrobia tai useiden seosta. Mikrobit elävät bioelektrosysteemissä lajin mukaan, joko suoraan elektrodin pinnalla biofilminä tai kasvatusliemessä planktonina. Lopputuotteiden määrään ja laatuun vaikuttavat systeemin olosuhteet, kuten esimerkiksi kasvatusliuoksen pH, elektrodien pinta-ala ja sähkövirran voimakkuus.³

Yksi tärkeä asia mikrobielektrosynteesin tuottavuuden kannalta on lopputuotteiden laatu. MES:llä valmistetaan usein asetaattia, mutta tämä ei ole taloudellisesti kannattavaa sen alhaisen markkina-arvon vuoksi (n. 500 €/t). Tämän vuoksi on hyödyllisempää valmistaa pidempiketjuisia happoja, kuten butaanihappoa tai heksaanihappoa. Esimerkiksi klostridibakteerit (*Clostridium*) voivat tuottaa hiilidioksidista ensin valmistetusta asetaatista ja etanolista β -oksidaation kautta butaani- ja heksaanihappoa.⁶ β -oksidaatio on yleinen aineenvaihduntareitti rasvahappojen pidentämiseksi eliöissä. Butaanihapon valmistamiseen tarvitaan H_2 -kaasua, jota syntyy usein työelektrodilla eli katodilla. Butaanihapon tehokasta

muodostumista muiden mahdollisen tuotteiden yli edistää myös muun muassa kasvatusliemen alhainen pH.⁷ Esimerkiksi Batlle-Vilanova⁷ tutkimusryhmineen esittämän hypoteesin mukaan butaanihapon valmistusreaktio on kuvassa 3 biokatodilla tapahtuva reaktiosarja. Reaktiosarjan aloittaa vedyn muodostuminen (1), josta mikrobit valmistavat edelleen asetaattia. Vetykaasusta ja hiilidioksidista valmistuu etanolia reaktiossa 2. Reaktiossa 3 syntyy asetaatista ja vetykaasusta etanolia. Reaktiossa 4 etanolista ja asetaatista muodostuu butaanihappoa käänteisen β -oksidation avulla. Myös muun muassa Vassilev⁶ tutkimusryhmineen esittävät käänteistä β -oksidatiota mikrobien käyttämäksi butaanihapon valmistustavaksi.



Kuva 3. P. Batlle-Vilanova⁷ ja tutkimusryhmän esittämä hypoteesi butaanihapon valmistuksesta biokatodilla.

Toinen tärkeä osa prosessin kannattavuutta on lopputuotteiden talteenotto kasvatusliemestä. Lopputuotteiden erottelu kasvatusliemestä MES-prosessin aikana ajaa usein reaktioita eteenpäin. Vastaavasti liika tuotteiden määrä liuoksessa voi toimia inhibiittorina tuotteiden valmistusreaktioille, tai suurina määrinä olla jopa myrkyllistä mikrobeille. Lisäksi tuotteiden talteenotto ja siten niiden puhtauden kasvaminen nostaa lopputuotteiden taloudellista arvoa. Toisaalta tuotteiden talteenotto voi myös helposti lisätä prosessin kustannuksia, jollei se ole tehokasta.⁶

3 ASETONI-BUTANOLI-ETANOLI -FERMENTAATIO

Asetoni-butanoli-etanoli-fermentaatio eli ABE-fermentaatio valmistaa käymisreaktiolla hiilihydraateista pääasiassa asetonia, butanolia ja etanolia. Käymisreaktiossa mikrobit pelkistävät isompia orgaanisia yhdisteitä, kuten hiilihydraatteja, pienemmiksi yhdisteiksi yleensä hapettomissa olosuhteissa. Fermentaatio siis hyödyntää MES:n tavoin mikrobeja biokatalyyttina, mutta pelkistysvoiman lähteenä ei käytetä elektrodeja ja sähkövirtaa, vaan hiilihydraatteja. Yleisesti fermentaatioreaktioista saadaan useimmiten alhaisemmat saannot kuin MES:stä.^{9,10}

MES:in tavoin ABE-fermentaatio on kehitetty perinteisiä menetelmiä ympäristöystävällisemmäksi vaihtoehdoksi valmistaa polttoaineita sekä muita kemikaaleja. Fermentaatiotuotteita, kuten 1-butanolia, suunnitellaan käytettävän tulevaisuudessa fossiilipohjaisten polttoaineiden korvaajina. Butanoli soveltuu polttoaineeksi poolittomuutensa vuoksi paremmin kuin etanoli, sillä butanoliin ei sekoitu poolista vettä yhtä herkästi kuin etanoliin. Alhaisemman vesipitoisuuden vuoksi butanoli on polttoaineena puhtaampaa ja sen palamisesta syntyy enemmän energiaa, koska butanolimolekyylillä on suurikokoisempi kuin etanolilla. ABE-fermentaation tuotteet soveltuvat myös muihin teollisiin käyttökohteisiin, kuten maaleihin ja muovien valmistukseen.⁹

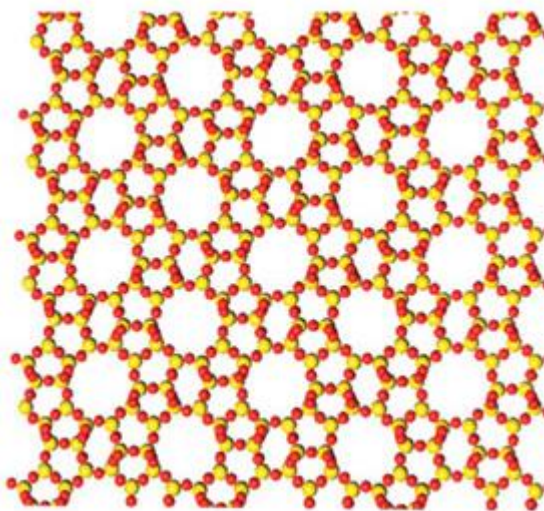
ABE-fermentaatiosta ja MES:stä saadaan osittain samoja päätuotteita, kuten asetonia ja alkoholeja. Lisäksi ABE-fermentaatiosta syntyy väli- ja sivutuotteina rasvahappoja, jotka yleensä pyritään poistamaan, sillä ne vaikuttavat lopputuotteiden puhtauteen ja inhiboivat ABE-tuotteiden valmistusta. Myös varsinaiset tuotteet, kuten butanoli, inhiboivat liiallisena määrinä tuotteiden valmistusta, joten niidenkin kerääminen kasvatusliuoksesta on tärkeää prosessin kannattavuudelle. Toisaalta ABE-fermentaatiolla voidaan myös valmistaa butaanihappoa säätelemällä prosessin olosuhteita, kuten pH:ta sen valmistukselle otolliseksi.⁹

ABE-fermentaatioliemi siis sisältää samoja tuotteita kuin MES ja siitä halutaan poistaa samankaltaisia yhdisteitä kuin MES:stä. Tämän vuoksi ABE-fermentaatiosta käytettyjä rasvahappojen talteenottomenetelmiä voidaan

potentiaalisesti hyödyntää myös MES:n tuotteiden talteenottomenetelminä. ABE-fermentaation lisäksi esimerkiksi muun muassa pimeäfermentaatiolla (engl. dark fermentation) voidaan valmistaa rasvahappoja, kuten butaanihappoa. Pimeäfermentaation käymisreaktiot tapahtuvat ilman valoa.

4 ZEOLIITTIMATERIAALIT

Zeoliitit ovat kiteisiä alumiinisilikaattimateriaaleja, jotka koostuvat pääasiassa alumiinista, piistä ja hapesta muodostaen huokoisia kolmiulotteisia rakenteita. Kiderakenne muodostuu SiO_4 tetraedreistä, jotka ovat kiinnittyneet toisiinsa. Piiatomit ovat tetraedrien kulmissa ja happiatomit toimivat siltoina yhdistäen kulmat muihin piiatomeihin. Piiatomit voidaan korvata osittain alumiiniatomeilla, jolloin muodostuu AlO_4 tetraedrejä. Tetraedrit muodostavat viisi, kuusi tai seitsemän alumiini- tai piiatomia sisältäviä renkaita, jotka ympäröivät rakenteen huokosia. Huokokset ovat myös renkaita, mutta ne sisältävät kahdeksan, kymmenen tai kaksitoista alumiini- tai piiatomia. Zeoliitin perusrakenne on esitetty kuvassa 4.¹¹



Kuva 4. Zeoliittimateriaalin rengasrakenteet. Punaiset atomit ovat happiatomeja ja keltaiset atomit alumiini- tai piiatomeja.¹²

Zeoliittimateriaaleja käytetään useissa kohteissa, kuten katalyytteinä, kalvoina ja molekyyli-seuloina. Materiaalin piiatomit ovat muodossa Si(IV) , joten kun niitä korvataan alumiinilla Al(III) , on rakenteen negatiivinen varaus tasoitettava kationien avulla. Yleisiä kationeja ovat H^+ , Na^+ sekä Ca^{2+} . Kationit eivät ole sitoutuneet kovalenttisesti zeoliittien rakenteeseen, vaan sijaitsevat sen huokosissa. Zeoliittimateriaaleja käytetäänkin usein myös kationinvaihtajina. Käytännössä tämä

tarkoittaa esimerkiksi vesiliuoksen kationien, kuten raudan (Fe^{2+}) ja kalsiumin (Ca^{2+}) vaihtamista natriumioneihin (Na^+). Vesiliuos johdetaan zeoliittimateriaalin läpi, jolloin natriumionit liukenevat huokosista veteen ja veden muut vähemmän liukoiset kationit asettuvat huokosiin natriumionien tilalle.¹³

Zeoliitin huokoinen koostumus antaa sille useita hyödyllisiä ominaisuuksia. Huokokset voivat olla mikro- tai mesohuokosia (engl. microporous, mesoporous). Mikrohuokokset ovat halkaisijaltaan alle 2 nm ja mesohuokokset 2–50 nm. Huokokset ovat kooltaan hyvin yhdenmukaisia ja niiden sisään mahtuu vain huokosta pienempiä molekyylejä. Tämän ominaisuuden vuoksi zeoliittien avulla voidaan erotella yhdisteitä toisistaan koon perusteella, eli niitä voidaan käyttää molekyyliseuloina. Huokokset voivat toimia myös katalyyttinä tai reaktiota ohjailevina tekijöinä, sillä vain tietyt lähtöaineet mahtuvat huokosiin ja toisaalta tietyt tuotteet mahtuvat niistä ulos. Näin yhdisteitä voidaan erotella ja puhdistaa toisistaan.¹⁴

Zeoliittimateriaalien perusrakennetta voidaan muokata, jonka vuoksi niitä voidaan käyttää monenlaisissa sovellutuksissa. Rakenteet jaetaan niiden pii- ja alumiinipitoisuuksien suhteiden mukaan muun muassa X- (enemmän alumiinia kuin piitä) ja Y- (enemmän piitä kuin alumiinia) zeoliitteihin. Zeoliittien synteettinen valmistus tapahtuu usein autoklaaveissa korkeissa lämpötiloissa ja paineessa huokoskokoon vaikuttavien yhdisteiden läsnä ollessa. Lopuksi materiaalista voidaan poistaa esimerkiksi hiili ja typpi polttamalla. Materiaalin ominaisuuksiin vaikuttaa huokoskoon lisäksi myös rakenteen happamuus, polaarisuus ja vesipitoisuus. Alumiinisilikaatit vetävät puoleensa polaaraisia molekyylejä, kuten vettä ja ammoniakkaa, varautuneiden kationiensa vuoksi. Eli mitä enemmän rakenne sisältää alumiinia, sitä polaarisempi se on. Silikaattipitoiset zeoliitit ovat taas hydrofobisia. Myös esimerkiksi alumiinifosfaattisilikaatit (AlPO_4) ovat hydrofobisia.

^{11,14}

5 RASVAHAPPOJEN TALTEENOTTO KASVATUSLIEMESTÄ

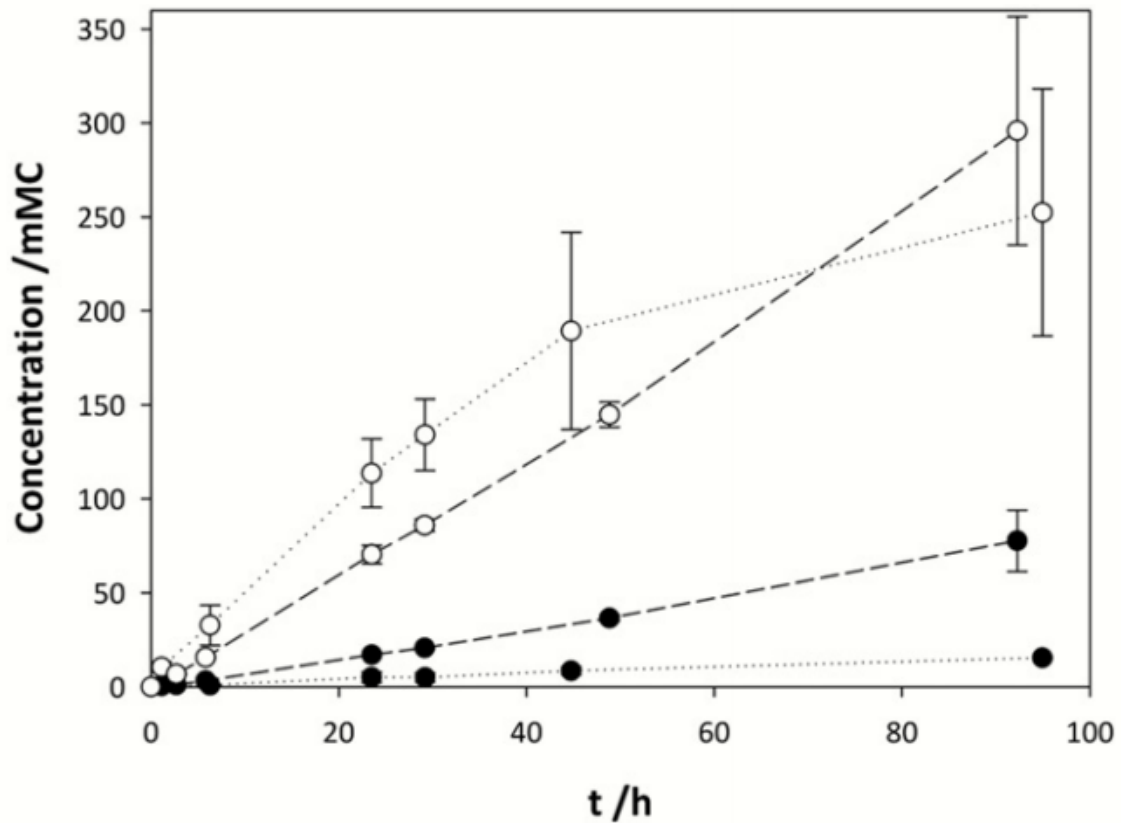
Zeoliittimateriaalit soveltuvat rasvahappojen talteenottoon kasvatusliemestä, sillä zeoliitin pienet huokokset eivät päästä lävitseen isoja molekyylejä, kuten sokereita ja proteiineja, eikä itse mikrobisoluja.¹⁵ Zeoliittimateriaaleja voidaankin käyttää rasvahappojen sekä alkoholien talteenottoon *in situ* eli suoraan kasvatusliemestä prosessin aikana. Adsorbenttimateriaaleissa on myös se hyvä puoli, että ne eivät liukene kasvatusliemeen eivät myöskään muodosta emulsioita. Ne voidaan myös degeneroida poistamalla talteenotetut rasvahapot desorptioilla ja sitten käyttää yhä uudelleen rasvahappojen talteenottoon.¹⁶

Vaikka MES:llä voidaan valmistaa pitkiä rasvahappoja, kuten butaanihappoa, usein MES:n päätuotteena on asetoni. Lisäksi useasti tutkimukset keskittyvät lopputuotteiden talteenoton optimoimisen sijaan niiden synteessin optimoimiseen, jotta lopputuotteita saadaan valmistettua mahdollisimman tehokkaasti. Näiden syiden vuoksi juuri butaani- tai heksaanihapon talteen ottamista zeoliittimenetelmillä ei ole vielä tutkittu kovin paljoa. Seuraavissa kappaleissa käsitelläänkin MES:llä valmistetun butaanihapon talteenottoa vain nesteuuttokalvolla. Adsorbenttimateriaalien käyttöä butaanihapon talteenotossa tutkitaan fermentaatiomenetelmien kasvatusliemistä.

5.1 Mikrobielektrosynteesin tuotteiden talteenotto nestekalvoutolla

Battle-Vilanova ⁷ tutkimusryhmineen ottivat talteen butaanihapon synteettisestä MES-tuoteliemen mukaisesta liuksesta nestekalvoutolla (engl. liquid membrane extraction). Butaanihapon talteenotto kesti 95 h ja se suoritettiin sekä käsittelemättömällä että dodekanolilla käsitellyllä polypropeenikalvolla. Butaanihappo ja samalla hieman asetonia kulkeutui kalvon läpi vastaanottajaliuokseen pH:n ja konsentraatiogradientin vuoksi. Käsitellyllä kalvolla butaanihappoa saatiin otettua talteen noin 250 mMC eli millimoolia hiiltä litrassa. Talteenoton tulokset on esitetty kuvassa 5. Kuvasta 5. huomataan, että menetelmä on selektiivisempi butaanihappoa kuin asetaattia kohtaan, ja että dedakanoililla

käsitelty nesteuttokalvo sai otettua butaanihappoa tehokkaammin talteen kuin käsittelemätön.



Kuva 5. Nestekalvouutolla talteen otetut butaanihapon (valkoiset pallot) ja asetaatin (mustat pallot) konsentraatiot. Dodekanolilla käsitelty kalvo on kuvattu katkoviivalla ja käsittelemätön kalvo pisteviivalla.⁷

5.2 Fermentaatiotuotteiden talteenotto adsorbenttimateriaaleilla

Zeoliittimateriaalien käyttö butaanihapon talteenottoon voi olla selektiivistä, sillä alkoholit ja pienemmät hapot eivät ole niin hydrofobisia kuin butaanihappo. Butaanihapon talteenotto onnistuuakin paremmin alhaisemmassa pH:ssa: butaanihapon happovakion arvo on 4,82, jota alemmassa pH-arvossa se on poolittomammassa protonoidussa muodossa. Tällöin butaanihapolla on suurempi affiniteetti poolitonta zeoliittia kohtaan kuin poolisella deprotonoidulla muodolla.^{9,17}

Tuotteiden talteenoton onnistumiseen vaikuttaa myös niiden desorptointi käytetystä adsorbenttimateriaalista. Taulukossa 1 on koostettuna adsorptiomateriaaleja, joilla on otettu talteen butaanihappoa nestefaasista. Tutkimuksia esitellään tarkemmin tulevissa kappaleissa.

Taulukko 1. Kooste butaanihapon talteenotosta eri adsorbenttimateriaaleilla nestefaasista huoneenlämmössä.

Adsorbentti	Butaanihapon pitoisuus reaktioseoksessa (g/l)	pH	Aika (h)	Adsorptio-kapasiteetti (mg/g)	Lähde
F400 aktiivihiili	8	3,5	-	280	Azimi ¹⁷
MFI-zeoliitti jauhe	4,0	4	48	120	Faisal ⁹
MFI-zeoliitti jauhe	4,4	5,2	48	70	Faisal ¹⁸
Amberlite IRA-67 ioninvaihtoharts	6,6	3,3	4	51	Yousyf ¹⁹
Norit®; Darco® aktiivihiili	6,6	3,3	4	43	Yousyf ¹⁹
Bendosen aktiivihiili ¹	1,1	3,0	180	0.30	Talebi ²⁰

1) Talteenotto suoritettiin lämpötilassa 9,5 °C.

Azimi¹⁷ tutkimusryhmineen tutki pH:n vaikutusta butaanihapon adsorbtiioon eri vahvuisista butaanihappo-vesiliuoksista käyttäen F400 aktiivihiiltä. Adsorbentti pakattiin 1,5 x 1,5 cm kolonniin, jonka läpi butaanihappoa ja vettä sisältävää liuosta pumpattiin, kunnes syntyi tasapaino kolonnin läpi menneen liuoksen ja kolonniin menevän liuoksen välille. Liuos siis kulki kolonnin läpi, kunnes butaanihappoa ei enää adsorboitunut siihen lisää. F400 aktiivihiilen suurin adsorptiokapasiteetti oli noin 280 mg/g, jolloin pH oli 3,5 ja butaanihapon alkukonsentraatio liuoksessa oli noin 8 g/l.

Verrattuna muiden taulukossa 1. esitettyjen tutkimusten tuloksiin, F400 aktiivihiilen adsorptiokapasiteetti on hyvin korkea. Azimin¹⁷ tutkimusryhmineen tekemä tutkimus on myös ainoa taulukossa 1 esitetty kolonnikoe. Pitää myös ottaa huomioon, että tutkimuksen tavoitteena oli löytää sopiva pH, jossa voi talteen ottaa ABE-fermentaatioliuoksen butanolin ilman, että butaanihappoa adsorboituu samalla. Tämän vuoksi tutkimukseen valittiin F400 aktiivihiili, jonka tiedettiin olevan selektiivisempi butanolia kuin butaanihappoa kohtaan. Näin ollen F400 aktiivihiili ei ole välttämättä tehokkain aktiivihiilirakenne juuri butaanihapon talteen ottamiselle. Tutkimuksessa ei myöskään käytetty aitoa fermentaatioliettä, vaan butaanihappo adsorboitiin vesiliuoksista, jotka sisälsivät vain butaanihappoa sekä pH:n säätöön käytettyä natriumhydroksidia. Näin ollen muiden tuotteiden ja välituotteiden, kuten asetonin, etanolin ja butanolin, vaikutusta aktiivihiilen selektiivisyyteen butaanihappoa kohtaan ei otettu huomioon tutkimuksessa. Jos aktiivihiiltä siis käytettäisiin MES kasvatusliemessä, saattaisi aktiivihiili adsorboida vähemmän butaanihappoa, koska aktiivihiili adsorboisi myös muita liemen yhdisteitä.

Faisal⁹ tutkimusryhmineen tutkivat ABE-fermentaatiotuotteiden, mukaan lukien butaanihapon, talteen ottamista valmistetuista butaanihapon vesiliuoksesta MFI zeoliitilla. Adsorbentin talteenottokykyä tutkittiin eri butaanihapon pitoisuuksilla ja liuoksen pH arvoilla. Korkein adsorptiokapasiteetti eli 120 mg/g saatiin pH:ssa 4, kun butaanihapon konsentraation oli 4,0 g/l. Zeoliitti voi kuitenkin adsorboida myös butanolia, eikä kyseisessä tutkimuksessa suoritettu mittauksia liuoksessa, jotka sisältäisivät sekä butanolia että butaanihappoa.

Faisal¹⁸ tutkimusryhmineen tutkivat toisessa tutkimuksessa butanolin ja butaanihapon talteen ottamista myös *in situ* oikeasta asetoni-butanoli-etanoli (ABE) fermentaatioliemestä. Tässäkin tutkimuksessa käytettiin samaa MFI zeoliittia ja adsorbentin talteenottokykyä tutkittiin eri butaanihapon pitoisuuksilla ja liuoksen pH arvoilla. Lisäksi tutkimuksessa käytettiin sekä jauhemaista että raemaista MFI-zeoliittia, joiden adsorptiokapasiteeteissa ei kuitenkaan ollut merkittävää eroa. Paras tulos saatiin zeoliittijauheelle pH:ssa 5,2, jolloin zeoliitin adsorptiokapasiteetti butaanihapolle oli 70 mg/g ja butanolille 60 mg/g. Tuotteet siis adsorboitiin seoksena, koska MFI-zeoliitti on selektiivinen niitä kumpaakin kohtaan. Fermentaatioliemen pH:lla oli suuri vaikutus adsorboitavan butaanihapon määrään,

sillä kun pH nostettiin 8,0:aan, zeoliitin adsorptiokapasiteetti butaanihapolle laski arvoon 22 mg/g ja butanolille nousi arvoon 86 mg/g.

Yousyf ¹⁹ tutkimusryhmineen keräsivät pimeäkäymisreaktiolla valmistettuja maito- etikka- ja butaanihappoja käyttäen raemaista aktiivihiltä (Norit®; Darco®) sekä Amberlite IRA-67 -ioninvaihtohartsia. Tutkimuksessa käytetty käymisreaktion vesiliuos kirkastettiin poistamalla kiinteät hiukkaset sentrifuugilla ennen adsorptiokokeita. Tutkimus myös selvitti aktiivihillen ja ioninvaihtohartsin adsorptiotehokkuutta eri pH-arvoilla ja adsorbenttimäärillä. Butaanihapon talteenoton kannalta paras pH-arvo oli 3,3 eli fermentaatioliemen oma pH-taso, verrattuna natriumhydroksidilla ja suolahapolla säädettyihin pH-arvoihin 2,0; 4,0 ja 6,0. Tehokkain adsorbentti määrä oli 5g/50 ml liuosta verrattuna 1g adsorbenttia tai 10 mg adsorbenttia 50 ml:ssa liuosta. Parhaimmiksi todetussa pH:ssa ja adsorbenttimäärässä butaanihappoa saatiin adsorboitua ioninvaihtohartsilla 51 mg/g ja aktiivihillellä 43 mg/g. Yousyfin ¹⁹ ja hänen tutkimusryhmänsä tutkimuksessa butaanihappo adsorboitui kuitenkin seoksena, sillä butaanihapon lisäksi aktiivihilli adsorboi 14 mg/g etikkahappoa ja 17 mg/g maitohappoa. Ioninvaihtohartsia adsorboi 21 mg/g etikkahappoa ja 84 mg/g maitohappoa. Adsorptiokapasiteetin butaanihapolle perusteella, kahdesta adsorbentista parempi on siis Amberlite IRA-63 ioninvaihtohartsia, mutta aktiivihillellä talteenotettu rasvahapposeos sisälsi vähemmän muita happoja. Lisäksi tutkimuksessa ei tutkittu butaanihapon desorptiota, kuten artikkelissakin todettiin. Huomattavaa tutkimustuloksissa on myös adsorbointiin käytetty aika (4 h), joka on paljon lyhyempi kuin muiden taulukossa 1 esitettyjen tutkimuksien adsorptioajat.

Talebi ²⁰ tutkimusryhmineen talteenottivat kaatopaikan suotovedestä fermentoitua butaani- ja etikkahappoa käyttäen rakeista aktiivihiltä (Bendosen, C1570-5330341). Kokeen olosuhteet erosivat muista taulukon 1 kokeista butaanihapon alkukonsentraation perusteella, sillä fermentaatioliuos sisälsi vain 1,1 g/l butaanihappoa ja 3,3 mg/g etikkahappoa. Lisäksi adsorptiolle määritettiin optimiolosuhteet, jonka vuoksi kokeita ei suoritettu huoneenlämmössä, vaan 9,5 °C:ssa ja adsorptioon käytetty aika oli huomattavasti pidempi kuin muiden kokeiden: 180 tuntia. Optimiolosuhteissa aktiivihillellä saatiin talteenotettua 0.30 mg/g butaanihappoa ja 6,6 mg/g etikkahappoa, eli aktiivihilli on selektiivisempi etikkahappoa kohtaan. Bendosen aktiivihillen adsorptiokapasiteetti butaanihapolle

onkin alhainen verrattuna taulukon 1 aktiivihiliin F400 ja Norit®; Darco®. Tutkimus on taulukon 1 tutkimuksista ainoa, joka selvitti miten butaani- ja etikkahapon saa desorptoitua aktiivihielestä. Desorptio suoritettiin selektiivisesti: ensin etikkahappo desorptoitui deionisoidun veden avulla, jolloin 89 % eli 2,5 g/l etikkahaposta saatiin takaisin. Sitten aktiivihielestä desorptoitui butaanihappo etanolin avulla, jolloin 68 % eli 0,71 g/l butaanihaposta saatiin desorptoitua.

6 YHTEENVETO

Mikrobielektrosynteesillä on mahdollista valmistaa perinteisiä valmistusmenetelmiä ympäristöystävällisemmin pitkiä rasvahappoja, kuten butaanihappoa. Myös ABE-fermentaatiolla voidaan valmistaa ympäristöystävällisesti butaanihappoa. ABE-fermentaatio on kuitenkin MES:ä tehottomampi menetelmä eikä fermentaatio sido hiilidioksidia, kuten MES. Sekä MES:n että fermentaation tuottavuudelle on oleellista saada talteenotettua valmistetut rasvahapot kasvatusliuoksesta.

Rasvahappojen talteenottoa fermentaatioliemistä on tutkittu käyttämällä useita eri adsorbenttimateriaaleja. Zeoliittimateriaaleista MFI-zeoliitti soveltuu rasvahappojen talteenottoon kasvatusliemistä. Sen lisäksi erilaisilla aktiivihiihillä on korkeat adsorptiokapasiteetit verrattuna muihin adsorbenttimateriaaleihin. Rasvahappoja otetaan talteen myös käyttämällä nestekalvouuttoa, ioninvaihtohartseja ja aktiivihiihtä kolonnimuodossa. Liuoksen pH-arvo vaikuttaa vahvasti butaanihapon adsorptiokapasiteettiin ja talteenotto onnistuu parhaiten matalissa pH-arvoissa, joissa butaanihappo on protonoidussa muodossa.

Monissa tutkimuksissa valmistettiin synteettinen kasvatusliuos, joka ei välttämättä sisältänyt lopputuotteen lisäksi muita aidossa MES-kasvatusliuoksessa olevia yhdisteitä, kuten asetonia ja etanolia. Tämän vuoksi ei voida tietää, kuinka selektiivisiä kyseiset adsorbenttimateriaalit ovat butaanihappoa kohtaan. Siksi materiaaleja onkin vielä tutkittava käyttäen oikeita kasvatusliuoksia, jotta voidaan varmistua materiaalien toimivuudesta butaanihapon selektiivistä talteenottoa varten. Toisaalta synteettisen kasvatusliuoksen käyttö tutkimuksissa on ymmärrettävää, sillä tällä tavoin liuoksen butaanihappopitoisuuksia on helpompi kontrolloida.

Aidoista fermentaatioliemistä, joka sisälsivät butaanihapon lisäksi muita väli- tai lopputuotteita, ei butaanihappoa saatu talteenotettua selektiivisesti. Mukaan adsorboitui esimerkiksi etikkahappoa ja butanolia. Myös seoksena talteenotettujen rasvahappojen erottelu ja puhdistaminen toisistaan on siis ratkaistava ennen mikrobielektrosynteesin käyttämistä rasvahappojen valmistukseen isolla mittakaavalla.

Vain yhdessä tutkimuksessa oli tutkittu käytetyn adsorbentin regeneroimista ja talteenotettujen rasvahappojen desorptiota adsorbentista. Myös tälle ongelmalle on löydettävä ratkaisu, jotta adsorbenttimateriaaleja voidaan käyttää uudelleen eli jokaisen talteenottoon ei tarvita uutta adsorbenttieroä. Rasvahappojen talteenottamiselle adsorbenttimateriaaleilla on vielä useita muuttujia, joita on tutkittava, ennen kuin mikrobielektrosynteesillä valmistettuja rasvahappoja voidaan ottaa talteen zeoliittimateriaaleilla käytännössä.

7 KIRJALLISUUSVIITTEET

1. Bajracharya S, Sharma M, Mohanakrishna G, et al. An overview on emerging bioelectrochemical systems (BESs): Technology for sustainable electricity, waste remediation, resource recovery, chemical production and beyond. *Renew Energy*. **2016**, *98*, 153-170.
2. Schröder U, Harnisch F, Angenent LT. Microbial electrochemistry and technology: Terminology and classification. *Energy Environ Sci*. **2015**, *8*(2), 513-519.
3. Desloover J, Arends JBA, Hennebel T, Rabaey K. Operational and technical considerations for microbial electrosynthesis. *Biochem Soc Trans*. **2012**, *40*(6), 1233-1238.
4. Kracke F, Wong AB, Maegaard K, et al. Robust and biocompatible catalysts for efficient hydrogen-driven microbial electrosynthesis. *Commun Chem*. **2019**, *2*(1).
5. Cavalcante WDA, Leitão RC, Gehring TA, Angenent LT, Santaella ST. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review. *Process Biochem*. **2017**, *54*, 106-119.
6. Vassilev I, Hernandez PA, Batlle-Vilanova P, et al. Microbial electrosynthesis of isobutyric, butyric, caproic acids, and corresponding alcohols from carbon dioxide. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. **2018**, *6*(7), 8485-8493.
7. Batlle-Vilanova P, Ganigué R, Ramió-Pujol S, et al. Microbial electrosynthesis of butyrate from carbon dioxide: Production and extraction. *Bioelectrochemistry*. **2017**, *117*, 57-64.
8. del Pilar Anzola Rojas, M., Mateos R, Sotres A, et al. Microbial electrosynthesis (MES) from CO₂ is resilient to fluctuations in renewable energy supply. *Energy Convers Manage*. **2018**, *177*, 272-279.
9. Faisal A, Zarebska A, Saremi P, et al. MFI zeolite as adsorbent for selective recovery of hydrocarbons from ABE fermentation broths. *Adsorpt*. **2014**, *20*(2-3), 465-470.
10. Morrison C, Heitmann E, Armiger W, Dodds D, Koffas M. Electrochemical bioreactor technology for biocatalysis and microbial electrosynthesis. *Adv Appl Microbiol*. **2018**, *105*, 51-86.

11. Andreyev MK, Andreyev MK, Zubkov OL. *Zeolites: Synthesis, chemistry, and applications*. New York: **2012**,1-40.
12. ZSM-5, <https://en.wikipedia.org/wiki/ZSM-5>, (haettu 13.5.2020).
13. Petrucci RH, Herring FG, Madura J, Bissonnette C. *General chemistry: Principles and modern applications*. Eleventh edition ed. Toronto: Pearson; **2017**, 1020-1021.
14. Atkins PW, Atkins PW, Atkins PW. *Shriver & atkins' inorganic chemistry*. 5th ed ed. Oxford: Oxford University Press, **2010**, 453-354, 368-370, 632-633, 710.
15. Saravanan V, Waijers DA, Ziari M, Noordermeer MA. Recovery of 1-butanol from aqueous solutions using zeolite ZSM-5 with a high si/al ratio; suitability of a column process for industrial applications. *Biochemical Engineering Journal*. **2010**, 49(1), 33-39.
16. Raganati F, Procentese A, Olivieri G, Russo ME, Salatino P, Marzocchella A. Bio-butanol separation by adsorption on various materials: Assessment of isotherms and effects of other ABE-fermentation compounds. *Sep Purif Technol*. **2018**, 191, 328-339.
17. Azimi H, Tezel FH, Thibault J. The impact of pH on VLE, pervaporation, and adsorption of butyric acid in dilute solutions. *Can J Chem Eng*. **2018**, 96(7), 1576-1584.
18. Faisal A, Zhou M, Hedlund J, Grahn M. Zeolite MFI adsorbent for recovery of butanol from ABE fermentation broths produced from an inexpensive black liquor-derived hydrolyzate. *Biomass Convers Biorefinery*. **2018**, 8(3), 679-687.
19. Yousuf A, Bonk F, Bastidas-Oyanedel J-, Schmidt JE. Recovery of carboxylic acids produced during dark fermentation of food waste by adsorption on amberlite IRA-67 and activated carbon. *Bioresour Technol*. **2016**, 217, 137-140.
20. Talebi A, Razali YS, Ismail N, Rafatullah M, Azan Tajarudin H. Selective adsorption and recovery of volatile fatty acids from fermented landfill leachate by activated carbon process. *Sci Total Environ*. **2020**, 707.