

Joni Karhu

Bioöljyä mikrolevästä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Kemiantekniikka

Insinöörityö

2.5.2016

Tekijä Otsikko	Joni Karhu Bioöljyä mikrolevästä
Sivumäärä Aika	33 sivua + 3 liitettä 2.5.2016
Tutkinto	Insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	Kemiantekniikka
Suuntautumisvaihtoehto	
Ohjaaja	Lehtori Timo Seuranen
<p>Maailman fossiilisten öljyvarastojen ehtyessä on löydettävä uusia, puhtaampia uusiutuvan energian lähteitä. Päästörajoitukset tiukentuvat jatkuvasti, tarkoituksena luoda puhtaampi tulevaisuus ja hillitä ilmastonlämpenemistä. Rajoituksia asetetaan Suomessa, EU:ssa ja maailmanlaajuisesti.</p> <p>Fossiilisten polttoaineiden potentiaalisena korvaajana on bioöljyä tuottava mikrolevä. Mikrolevät ovat nimensä mukaisesti mikro-organismeja, jotka kykenevät tarkasti optimoiduissa olosuhteissa kasvamaan nopeasti ja tehokkaasti tuottaen samalla energiasovelluksiin tärkeitä öljyjä. Eri sovelluksiin erotettavissa oleva bioöljy on mahdollista jalostaa lukuisiksi eri tuotteiksi, joista arvokkaimpia ovat polttoaineteollisuuden tuotteet kuten diesel.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä esiteltiin tarkemmin levän kasvatuksessa yleisimmin käytettävät viljelymenetelmät ja niissä vallitsevat olosuhteet. Työssä käytiin läpi myös yleisimpiä levänkeruu- ja öljynerotustekniikoita, kerrottiin levätutkimuksesta maailmalla ja Suomessa sekä esiteltiin levän muita sovelluksia.</p> <p>Mikrolevä on vihreämpi ja eettisempi valinta, kuin nykyiset bioöljyn lähteenä olevat kasvit, eikä se kilpaile viljelyalasta ruokakasvien kanssa. Mikrolevän nykyhaasteet painottuvat prosessin saamiseksi taloudelliseksi. Jatkuvasti kehittyvä teknologia tulee laskemaan leväpohjaisen polttoaineen hintoja ja näyttämään mikrolevän täyden potentiaalin.</p> <p>Työn tietopohja on kerätty laajasta lähdevalikoimasta, johon kuuluu alan toimijoiden internetjulkaisuja, oppikirjajulkaisuja sekä julkaistuja tutkimusartikkeleita.</p>	
Avainsanat	levät, mikrolevät, fotobioreaktori, leväviljely, leväöljy, bioöljy

Author Title	Joni Karhu Bio-Oil from Microalgae
Number of Pages Date	33 pages + 3 appendices 2 May 2016
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Chemical Engineering
Specialisation option	
Instructor	Timo Seuranen, Senior Lecturer
<p>As the world's fossil fuels are depleting, new cleaner sources of renewable energy must be discovered. Stricter emission regulations are implemented to produce a cleaner future and control global warming. Regulations for emissions are introduced in Finland, the EU and globally.</p> <p>Bio-oil producing microalgae are a potential substitute for traditional fossil fuels. Microalgae are micro-organisms which can produce oils, important for energy applications, in an optimized environment rapidly and efficiently. The separable bio-oil is possible to be processed into several different products, the most valuable being fuel industry products such as diesel.</p> <p>In this thesis the most common methods for cultivation of microalgae and the conditions needed for algal growth are introduced. Other topics in the study include the most common techniques for gathering algae and separating the oils from the algae. In addition, this study examines algae research globally and in Finland. Other applications of algae are also discussed.</p> <p>Microalgae stands for a greener and a more ethical choice than the current oil crops which compete over farm land with food crops. Optimizing the process of growing microalgae and making it financially profitable is currently a major challenge. With the help of new technology the prices of algae based fuels will drop and the true potential of microalgae can be discovered.</p> <p>The information in regards to microalgae was gathered from a variety of sources. The sources include information from experts in the algae sector and numerous research publications of the technology and chemistry trades.</p>	
Keywords	algae, microalgae, photobioreactor, algae cultivation, algae oil, bio-oil

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Mikro- ja makrolevä	2
3	Reaktoryypit	3
3.1	Avoimet järjestelmät	3
3.2	Suljetut fotobioreaktorit	5
4	Prosessiolosuhteet	9
4.1	Fototrofinen viljely	10
4.2	Heterotrofinen viljely	11
4.3	Mixotrofinen viljely	13
4.4	Fotoheterotrofinen viljely	14
4.5	Menetelmien vertailua	14
5	Mikroevän keräys ja öljynerotus	15
5.1	Keräys	15
5.1.1	Suodatus	16
5.1.2	Sentrifugointi	17
5.1.3	Flokkaus	17
5.2	Öljyn erotus levästä	18
5.2.1	Prässäys	18
5.2.2	Ultraäänierottelu	19
5.2.3	Orgaanisen liuottimen käyttö	20
5.2.4	Ylikriittinen fluidi	20
6	Leväöljy vs. muut bioöljylähteet	21
7	Levätutkimus Suomessa ja maailmalla	24
8	Levän muut sovellukset	26
8.1	Lannoite	27
8.2	Ravinto	27
8.3	Biokaasu	28
8.4	Bioetanoli	29

9	Yhteenveto	30
	Lähteet	31
	Liitteet	
	Liite 1. Mikroleviä eri viljelyolosuhteissa	
	Liite 2. Ledika Oy, tuotantoajo 4	
	Liite 3. Ledika Oy, tuotantoajo 5	

Lyhenteet

CPH	<i>Corn powder hydrolysate</i> . Lyhenne mikrolevälle ravinteeksi käytettävästi maissipulverihydrolysaatista heterotrofisissa viljelyolosuhteissa.
EER	<i>Energy efficiency rating</i> . Luku, joka kuvaa prosessin vaatiman energian suhdetta lopputuotteista saatavaan energiaan. Mikäli suhdeluku on suurempi kuin yksi, on prosessin lopullinen nettoenergia positiivinen.
NAABB	<i>National Alliance for Advanced Biofuels and Bioproducts</i> . Yhdistys, joka on perustettu kuvaamaan paremmin levän vaikutusta yleisesti biomassan ja nestepolttoaineiden tuotantoon. Suomennettuna kansallinen kehittyneiden biopolttoaineiden ja biotuotteiden yhdistys.
SCCO ₂	<i>Super critical CO₂</i> . Ylikriittinen hiilidioksidi, jota voidaan käyttää apuna öljyn poistamiseksi leväsolusta.
vvm	Yksikkö, joka kuvaa tietyssä ajassa väliaineen läpi virtaavan kaasun määrää.

1 Johdanto

Nyky maailma on riippuvainen energiasta, ja tulevaisuudessa on vastassa energiahaasteita. Fossiilisten polttoaineiden hinnat nousevat vaikeammin saatavissa olevien reservien sekä päästöhuolien takia. Uusiutuvien, hiilidioksidineutraalien liikennepolttoaineiden kehitys on tärkeää ympäristön ja taloudellisen kestävyuden takaamisen vuoksi. Viime aikoina mikrolevät ovat tehneet tuloaan kolmannen sukupolven lähteenä biodieselinille. Syinä ovat näiden organismien hinnat, niiden riippumattomuus ruokateollisuuden hintojen nousuun sekä kyky kasvaa hyödyntäen esimerkiksi jäteveden ravinteita (CO₂ ilmakehästä tai jätevedestä vapautuvat kaasut sekä makroravinteet itse jätevedessä) (Klingerman & Bouwer 2015). Energian käytön yhteydessä vapautuva hiilidioksidi on levän kasvuvaiheessa rakenteeseensa sitovaa, joten levä ei vapauta ympäristöön uutta hiilidioksidia. Levät eivät kilpaile ruokateollisuuden kanssa peltopinta-alasta, sillä ne kasvatetaan suljetuissa reaktoreissa tai altaissa. Kaikki leväöljyt eivät sovellu optimaalisesti biodieselin tuotantoon, mutta sopivia öljyjä löytyy laajalti. (Chisti 2007.)

Mikrolevän sovelluskohteet eivät rajoitu vain öljynjalostukseen. Nykyaikana pyritään hyödyntämään raaka-aineesta kaikki, päästörajoitusten kiristyessä. Öljyn erotuksen jälkeen levä osoittaa hyötynsä muina hyötytuotteina, kattaen maataloussovelluksia ja ruokateollisuutta.

Leväöljyjen energiapitoisuus on noin 35 800 kJ/kg, joka on noin 80 % raakaöljystä (Klingerman & Bouwer 2015). Mikrolevät osoittavat tässä mielessä suurta potentiaalia perinteisten fossiilisten polttoaineiden korvaajana. Mikrolevä osoittaaakin olevansa ainoita biodieselin uusiutuva lähteitä, joka kykenee vastaamaan maailmanlaajuiseen liikennepolttoaineen kysyntään (Chisti 2007). Auringonvaloa tyypillisesti kasvin tavoin hyödyntävä mikrolevä tuottaa öljyjä tehokkaammin, kuin viljelykasvit. Oikein viljeltynä, optimaalisissa olosuhteissa oleva sopivan lajikkeen mikroleväviljelmä on tehokas ja eettinen bioöljyn lähde.

Mikrolevä valikoitui tämän työn aiheeksi sen ajankohtaisuuden ja tulevaisuuden potentiaalinsa takia. Tässä insinöörityössä perehdytään tarkemmin lupaavan mikrolevän viljelytapoihin, lipidintuotantokykyyn ja sen erottamiseen levästä sekä levän muihin sovelluksiin.

2 Mikro- ja makrolevä

Levät lajitellaan mikro- ja makroleviin. Mikrolevät ovat nimensä mukaisesti fotosynteesisiä mikro-organismeja. Ne kykenevät selviämään kovissakin oloissa niiden yksisoluisen ja pienen pesäkerakenteensa ansiosta. Mikrolevät pystyvät tuottamaan korkeita määriä lipidejä, proteiineja ja hiilihydraatteja lyhyessä ajassa. Mikrolevän kemiallinen kokoonpano voi vaihdella riippuen viljelytyypistä ja viljelyolosuhteista. Mikrolevän saava huomio liittyy sen kykyyn tuottaa suuria määriä lipidejä niiden rakenteessaan ja tuottaa korkeita öljysaantoja. Lipidipitoisuus vaihtelee paljon (noin välillä 1–70 %), mutta tietyissä olosuhteissa pitoisuus voi nousta jopa 90 %:iin kuivapainosta. (Özçimen & Inan 2015.)

Makrolevät tai merilevät ovat kasveja, jotka ovat sopeutuneet elämään meressä, usein rannikkoalueilla. Ne lajitellaan viher-, rusko- ja punaleviin riippuen levän pigmentistä (kuva 1).



Kuva 1. Kuvitettuna eri makroleviä. Vasemmalta oikealle lueteltuna viherlevä *Enteromorpha sp.*, ruskolevä *Fucus vesiculosus* ja punalevä *Polysiphonia sp.* (Makrolevien esiintymistodennäköisyys 2016).

Makrolevien suurin ero mikroleviin on sen matalammassa lipidipitoisuudessa. Myös lignoselluloosamateriaali eroaa myös siten, että rakenteessa on vähän tai ei ollenkaan ligniiniä. (Özçimen & Inan 2015.)

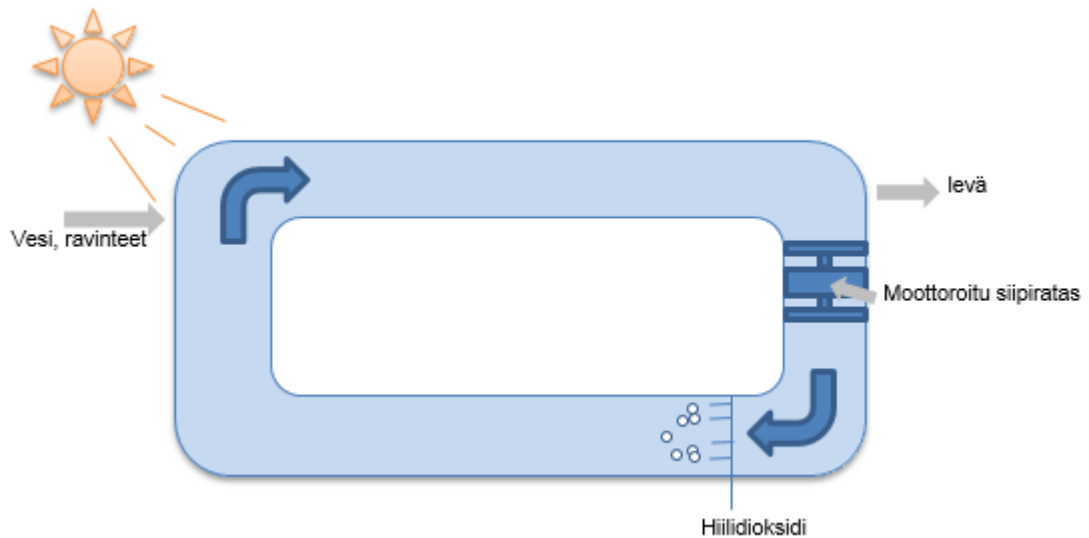
3 Reaktorityypit

Leviä voidaan kasvattaa avoimissa tai suljetuissa järjestelmissä (Lunkka-Hytönen ym. 2013). Avoimissa järjestelmissä levä kasvaa matalissa lammen tapaisissa laguuneissa tai kilparadan muotoisissa vesikouruissa, rengasaltaissa (raceway pond) (Zhou ym. 2014). Kouruissa vettä sekoitetaan lapojen avulla, jotta ravinteiden, lämpötilan ja auringonvalon tasainen jakautuminen varmistetaan (Lunkka-Hytönen ym. 2013). Muoviset putket lammikoissa nostavat tuotettavuutta jopa seitsenkertaisesti (Singh & Gu 2010).

Suljetuissa järjestelmissä voidaan kasvattaa levää suljetuissa altaissa, mutta fotobioreaktorit kuten pysty- ja vaakaputket, levyt, kalvot ja kuplamaiset pylväät ovat yleistymässä. (Lunkka-Hytönen ym. 2013). Avoimissa tai suljetuissa järjestelmissä tarvittava valo voidaan saada suoraan auringosta, mutta suljetuissa fotobioreaktoreissa myös keinotekoisien valon käyttäminen on mahdollista. Tarvittava hiilidioksidi saadaan systeemiin joko syöttämällä ilmaa tai hiilidioksidilla rikastettua kaasua leväliuokseen, mutta myös bikarbonaattiliuoksen lisääminen on mahdollista (Arnold 2013). Tuottavuus on korkeampaa fotobioreaktorin tarkasti kontrolloidussa järjestelmässä, mutta sijoitus- ja käyttökustannukset ovat huomattavasti korkeammat kuin avoimissa systeemeissä (Singh & Gu 2010).

3.1 Avoimet järjestelmät

Avoimet järjestelmät (kuva 2) ovat ulkoilmaan sijoitettuja matalia lampia tai altaita, joissa levä saa tarvittavan valon auringosta ja hiilidioksidin esimerkiksi muualta päästönä. Sekoitus ja kasvatusliemen kierto tapahtuu altaassa moottorikäyttöisen siipirataan avulla. Siipirataan avulla levä pidetään jatkuvassa liikkeessä, eikä altaassa tapahdu kerrostumista. Altaat ovat jatkuvatoimisia: vettä ja ravinteita syötetään altaaseen samalla, kun leväpitoinen vesi poistetaan toisessa päässä. Toisessa päässä on levänkeräyssysteemi, joka kerää öljypitoisen levän.

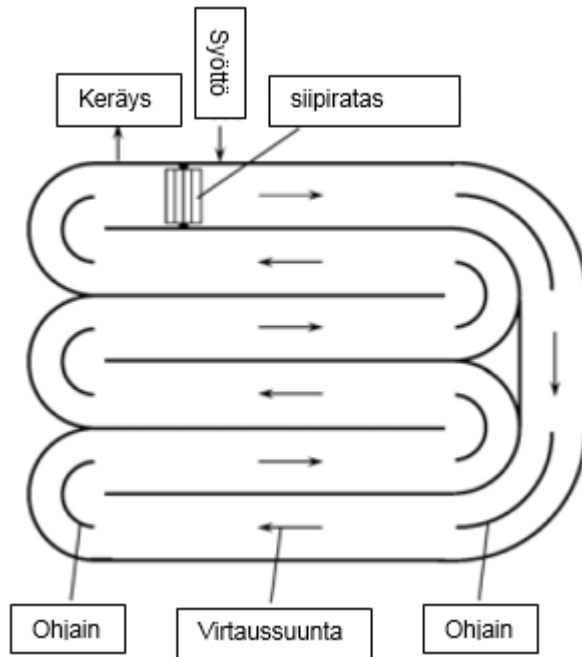


Kuva 2. Yksinkertaisen rengasaltaan toimintaperiaate (Sheehan ym. 1998, muotoiltu).

Hiilidioksidia syötetään altaaseen putkista veden alla. Jokaisessa prosessissa, jossa polttoainetta poltetaan energian saamiseksi, vapautuu hiilidioksidia joten potentiaalisia lähteitä on lukuisia. Esimerkiksi hiiltä polttoaineena käyttävissä tehtaissa savukaasujen hiilidioksidipitoisuus voi olla jopa 13 % (Sheehan ym. 1998).

Rengasaltaan virtauskanaviin on mahdollista asentaa esteitä kanavien suoriin kohtiin. Esteiden on tarkoitus aiheuttaa virtaukseen muutoksia jotka sekoittavat kasvatuliuosta ja estävät kerrostumista systeemissä. Virtaushämmmentimien vaikutusta levän kasvuun ei kuitenkaan ole arvioitu kattavasti. (Lam & Lee 2012.)

Rengasaltaan voi myös rakentaa sisältämään monta virtauskanavaa (kuva 3), jotka ovat tyypillisesti noin 30 cm syviä. Pienellä syvyydellä varmistetaan levän auringonvalontarve. Toimintaperiaate on edelleen sama, kuin yksinkertaisessa mallissa. Veden kulkuväylät muokataan valamalla ne betonista tai muokkaamalla kova maa-aines haluttuun muotoon. Väylien pohjat voidaan päällystää valkoisella muovilla ja mutkiin voidaan asentaa virtausohjaimia. Kaupallisten rengasaltaiden pinta-ala vaihtelee tyypillisesti välillä 0,1–0,5 ha. (Chisti 2007, Wang & Lan 2010.)



Kuva 3. Monta virtauskanavaa rengasaltaassa (Chisti 2007).

Avoimen järjestelmän ongelmia ovat mm. huono valon hyödyntäminen, kontaminaatiovaarat esimerkiksi tuulen aiheuttamana, suuri haihtuvan veden määrä sekä vaikeudet veteen liunneen hapen tarkkailussa. Haihtuva vesi aiheuttaa ongelmia väkevöittäen kiertävän leväliuoksen suolomääriä (Tubular Glass Photobioreactors 2016). Kaikki nämä tekijät yhdessä voivat johtaa matalampiin biomassan tuotantomääriin. Jotkin rengasaltaiden haasteet voidaan korjata erilaisilla katteilla, tosin nostoen kustannuksia. (Algae Production 2016.)

Mikrolevän keräys kasvatuliuksesta on kalliimpaa rengasaltaista verrattuna fotobioreaktoreihin. Fotobioreaktorien biomassan erottelussa käsitellään vain murto-osa kasvatuliuksesta verrattuna rengasaltaan tuotantoon. Tämä johtuu siitä, että suljetuissa systeemeissä pystytään tuottamaan jopa 30-kertaisia biomassakonsentraatioita verrattuna rengasaltaisiin. (Chisti 2007.)

3.2 Suljetut fotobioreaktorit

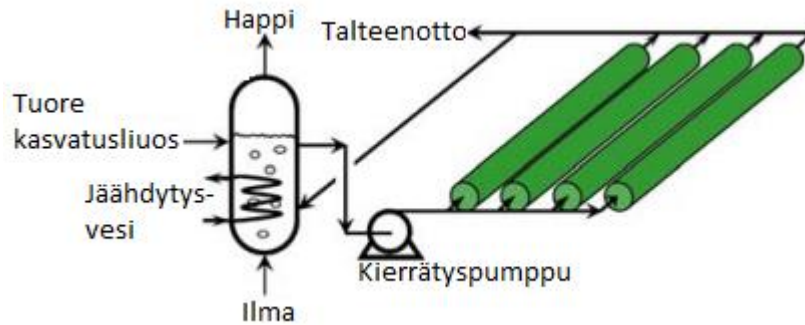
Fotobioreaktori (photobioreactor, PBR) on suljettu ympäristö, joka soveltaa auringonvaloa tai keinotekoista valoa energianlähteeksi levälle. Ympäristöstä eristetyn systeemin vuoksi on mahdollista saada suurempia biomassatuotantoja kuin avoimissa järjestel-

missä, tarkkaan säädelyjen olosuhteiden vallitessa. Suljetussa järjestelmässä ei myöskään tapahdu haihtumista, josta voisi aiheutua mm. suolotasojen nousua. Fotobioreaktoreita on montaa eri tyyppiä, kaikilla on kuitenkin tarkoituksena saada levä kosketukseen auringon valon kanssa läpinäkyvän rakennusmateriaalin, kuten lasin tai muovin avulla. Suljettuja bioreaktoreita (Zhou ym. 2014) ovat esimerkiksi putki-, paneeli-, käämi- ja säkkifotobioreaktori. Yleisimpiä fotobioreaktoreita ovat kuitenkin putki- ja paneelifotobioreaktorit (Algae Production 2016).

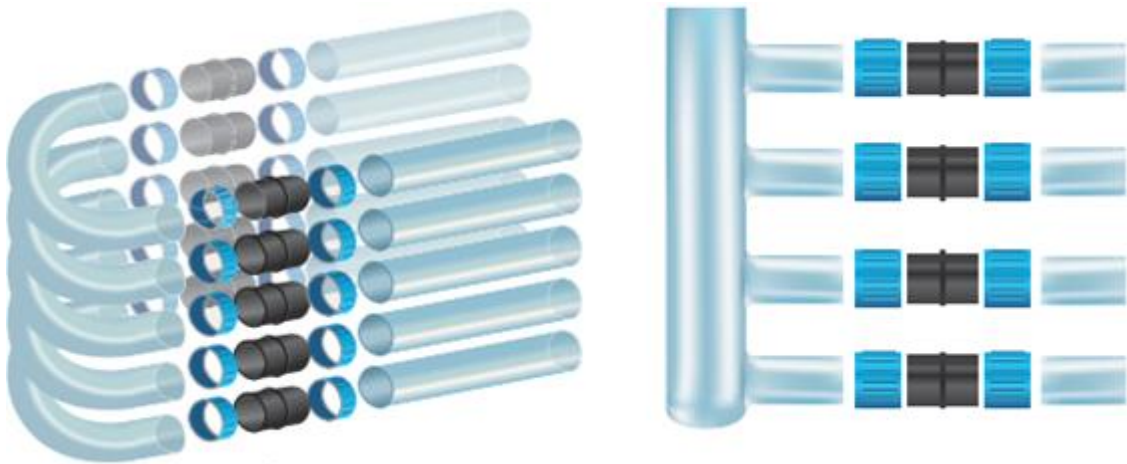
Avoimiin järjestelmiin verrattuna suljetun systeemin kontaminaatoriski on huomattavasti pienempi. Suljettu järjestelmä estää erilaisten mikro-organismien tai hyönteisten pääsyn systeemiin. Suljettu fotobioreaktori ei aiheuta rajausta käytettävästä levälajikkeesta, tämä on seurausta myös osittain muiden kilpailevien organismien eristämisestä systeemistä. Suljetun systeemin ansiosta biomassantuotanto on huomattavasti tehokkaampaa suhteessa käytettyyn yhteyttämisalaaan, prosessiikaan sekä maa-alaan.

Putkifotobioreaktorit (kuva 4) ovat läpinäkyvistä putkista ja säiliöistä koostuvia kokonaisuuksia, jossa kiertää mikroleväseosta. Valmistusmateriaalina putkissa voidaan käyttää erilaisia polymeeriseoksia tai esimerkiksi borosilikaattilasia (Algae Production 2016).

Auringonvalon kerääminen tapahtuu läpinäkyvien putkien alueella, jotka voidaan asettaa aitamaiseen tai kierteiseen rakenteeseen (kuva 5). Putket ovat tyypillisesti 10 cm tai vähemmän halkaisijaltaan. Halkaisijan on olennaista olla pieni, sillä korkean biomassasaannon saamiseksi myös leväseoksen on oltava tarpeeksi sanka (Chisti 2007). Putkien pieni halkaisija auttaa auringon valon pääsemisessä myös leväsoluihin, jotka sijaitsevat putken keskiosassa. Virtaus säiliöstä auringonvalon keräysputkiin ja takaisin saadaan aikaan mekaanisella keskipako- tai kalvopumpun avulla tai hellävaraisemmalla ilmanostopumpulla. Pumput estävät näin myös kasvatusliuoksen kerrostumisen putkien sisäpinnoille (Frequently Asked Questions 2016, Chisti 2007). Putket tulee puhdistaa ja desinfioida väliajoin, jotta varmistutaan prosessille olennaisesta yhteyttämisestä. Systeemi on myös syytä puhdistaa, jos kyseessä on levälajikkeen vaihto systeemissä. Systeemin puhdistamista helpottaa fotobioreaktorin putkiosien mahdollinen purettavuus, josta esimerkki kuvassa 5. (Tubular Glass Photobioreactors 2016.)



Kuva 4. Putkifotobioreaktorin yksinkertaistettu kokoonpano (Chisti 2007).



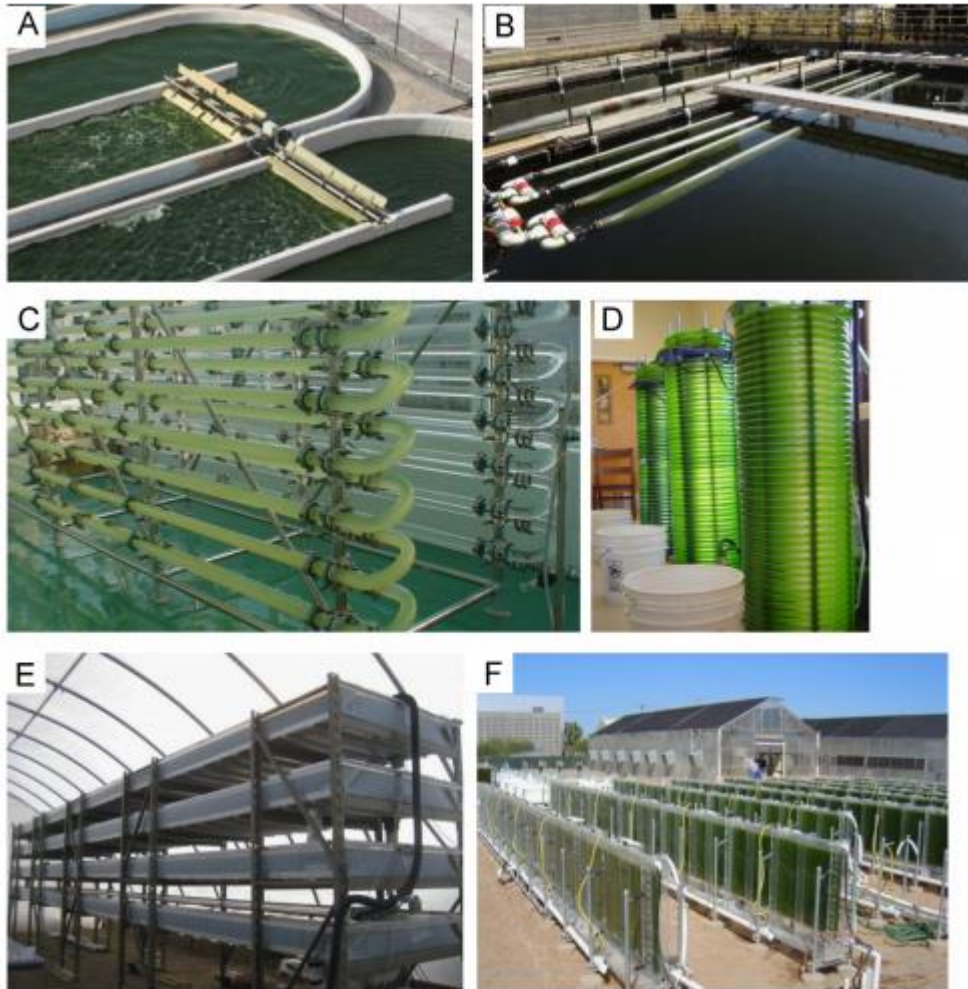
Kuva 5. Putkifotobioreaktorin kokoonpano kierteisessä ja aitamaisessa kokoonpanossa (Tubular Glass Photobioreactors 2016).

Putket on mahdollista valmistaa myös pehmeämmästä muoviseoksesta, joka kiertään pyöreän rakenteen ympärille (kuva 6D). Näin saadaan aikaan eräänlainen käämifotobioreaktori (coil photobioreactor) (Chisti 2007).

Levän fotosynteesissä tapahtuvassa reaktiossa vapautuu happea. Avoimessa systeemissä tästä ei muodostu ongelmaa, mutta suljetussa ympäristössä happitaso voi nousta niin suureksi, että levän kasvu estyy ja levä myrkyttyy (Wen & Johnson 2009). Hapen poistaminen fotobioreaktoriputkessa ei ole mahdollista. Tämän takia systeemissä tulee olla kaasunpoistosäiliö, jossa kasvatusliuokseen johdetaan ilmakuplia ylimääräisen hapen poistamiseksi. Hapen poistamisen lisäksi säiliössä poistetaan kasvatusliuoksesta tarpeeton ilma, joka haittaa fotosynteesiä läpinäkyvissä putkissa. Kaasunpoistosäiliö on tyypillisesti huonosti valaistu verrattuna putkiin, joten sen tilavuus tulee olla suhteellisesti pieni verrattuna fotosynteesiputkiin. Kaasunpoistosäiliössä on myös pH-anturiin liitetty hiilidioksidin syöttö. Liuoksen liikkua putkissa eteenpäin pH nou-

see hiilidioksidin kulumisen johdosta. Tarvittaessa putkien välille voi lisätä hiilidioksidin-syöttöpisteitä, jotta tarpeeton hiilirajoitus ja pH:n nousu saadaan estettyä. (Chisti 2007.)

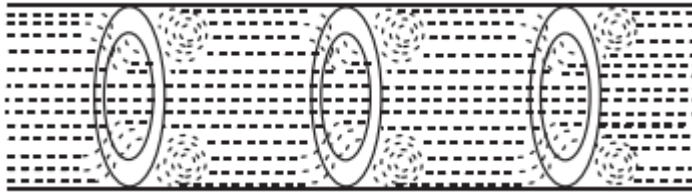
Hapen muodostuminen aiheuttaa fotosynteesiputkien pituuksille rajoituksia. Yhtäjaksoisen putken pituus ei pitäisi olla yli 80 m. Tarkkaan pituuteen vaikuttavat monet tekijät kuten biomassan konsentraatio, valon intensiteetti, virtausnopeus ja hapen konsentraatio putken alkamiskohdassa.



Kuva 6. Esimerkkejä avoimesta järjestelmästä ja suljetuista fotobioreaktoreista. Kohdassa A on rengasallas ja sen siipirattaat. B-kohdassa viljellään mikrolevää kelluvissa fotobioreaktoreissa rannikolla. Kohdat C ja D ovat putkifotobioreaktoreita, D-kohdassa on käytetty materiaalina pehmeämpää letkua, joka on kierretty säiliön ympärille. E-kohdassa on kuvattuna monikerroksinen reaktori, jossa kierrätetään jätevettä ja leväliuosta, luonnonvalon lisäksi hyödynnetään keinovaloa. F-kohdassa on käytössä paneelifotobioreaktori. (Zhou ym. 2014.)

Tyypillisiin levän kasvatuliuksen agitaatiometodeihin lukeutuvat ilmastus, kierrätys, pumppaus ja siipiratassekoitus. Putkifotobioreaktoreissa (kuva 6 B–D) useimmiten käy-

tetty pumppu on tehokas tapa pitää liuos liikkeessä. Paneelifotobioreaktorissa tehokas sekoitusmekanismi on liuoksen stimuloiminen ilmakuplien avulla (Zhou ym. 2014).



Kuva 7. Turbulenssia aiheuttavia renkaita putkifotobioreaktorin putkissa (Lam ym. 2012).

Kuten aikaisemmin mainitussa rengasaltaassa, myös putkifotobioreaktorissa on mahdollista aiheuttaa virtaukseen turbulenssia ja näin tehostaa kasvatusliuoksen sekoittamista (kuva 7). Turbulenttisempi, hitaampi virtausnopeus laskisi näin ollen energiakulua, sillä pienemmällä pumppujen käyntiteholla saavutetaan kasvatusliuokseen tarpeeksi hyvä sekoitus (Lam & Lee 2012.)

4 Prosessiolosuhteet

Fotosynteesinä organismeina mikrolevät tarvitsevat valoa, hiilidioksidia, sopivan lämpötilan (yleensä 15–35 °C) ja pH:n (1,5–10, mutta yleisesti 6–7,5) sekä ravinnelähteen. Minimiravintovaatimukset levälle voidaan päätellä mikroleväbiomassan keskimääräisestä kaavasta $\text{CO}_{0,48}\text{H}_{1,83}\text{N}_{0,11}\text{P}_{0,01}$ (Chisti 2007). Valo ja hiilidioksidi ovat kaksi tärkeintä kasvuun liittyvää muuttujaa fototrofisilla mikrolevillä. Valo antaa levälle energiaa mikrolevän biomassan tuotantoon, kun taas CO_2 antaa tarvittavan hiilen biomassan tuotamiseen. (Havlik ym. 2013.)

Mikrolevän kasvukarakterit ja koostumus ovat tiedettävästi riippuvaisia viljelyolosuhteista. Pääviljelystyytit mikroleville ovat

- fototrofinen viljely
- heterotrofinen viljely
- mixotrofinen viljely
- fotoheterotrofinen viljely.

4.1 Fototrofinen viljely

Fototrofista viljelyä käytetään, kun mikrolevä käyttää valoa, kuten auringonvaloa, energian lähteenään ja epäorgaanista hiiltä, kuten hiilidioksidia, tuottaakseen kemikaalista energiaa fotosynteesin kautta. Tämä on yleisin viljelymetodi mikrolevän kasvattamiseen (Chen ym. 2011). Liitteessä 1 huomaa, kuinka fototrofisessa viljelyssä on suuri vaihtelu lipidipitoisuuden kohdalla, vaihdellen välillä 5–68 % ja riippuen levälajikkeesta.

Tyypillisesti typpirajoitteista ravintorajoitetta käytetään, kun halutaan saada lipidipitoisuus nousuun. Tällöin biomassan tuotanto kuitenkin myös pienenee. Näin ollen lipidipitoisuus ei ole ainoa tekijä, jolla määritetään mikrolevän öljyntuotantokykyä. Sen sijaan lipidipitoisuutta ja biomassan tuotantoa tulee seurata yhdessä. Tästä johtuen lipidintuotanto (lipid productivity) kuvaa öljyntuotantoa paremmin, käsittäen sekä öljypitoisuuden että biomassan tuotannon. Suurin lipidintuotantoarvo kirjallisuudessa on noin 179 mg/l/d lajikkeella *Chlorella sp.* fototrofisella viljelyllä suoritettuna 2 %:n CO₂-ilmauksella arvolla 0,25 vvm. (Chen ym. 2011.)

Sekä hiilidioksidi että valo rajoittavat fototrofisia systeemejä, mutta hiilidioksidin rajoituksella saattaa olla suurempi vaikutus levän kasvuun. Viljelyssä tulee ottaa huomioon, että vain osa kasvatusliuokseen syötetystä hiilidioksidista päätyy levän käyttöön. VTT:n suorittamassa koeasettelussa levä käytti alle 18 % levälle syötetystä hiilidioksidista. Tämä kertoo hiilidioksidin huonosta liukenemisestä nestefaasiin, jolloin levä ei pääse siihen käsiksi. Näistä syistä fototrofisessa levän tuotannossa tulee tarkkailla ja ottaa huomioon myös hiilidioksidipäästöt. (Arnold 2013.)

Suurimpia hyötyjä fototrofisessa viljelyssä on sen hiilidioksidin käyttö hiililähteenä solukasvuun ja öljyntuotantoon. Kuitenkin hiilidioksidin ollessa ainoa hiililähde levälle, tulisi leväplantaasin olla lähellä tehtaita, jotka kykenevät tuottamaan suuria määriä hiilidioksidia mikrolevän kasvuun. Lisäksi muihin viljelytyyppeihin verrattuna autotrofista kasvua käytettäessä kontaminaatiovaara on pienempi. Tästä syystä ulkoilman suuremmat mikroleväviljelmät (esimerkiksi rengasallas) toteutetaan usein käyttäen fototrofisia olosuhteita. (Chen ym. 2011.)

4.2 Heterotrofinen viljely

Jotkin mikrolevälajit pystyvät kasvamaan vain fototrofisissa olosuhteissa, mutta käyttävät myös orgaanista hiiltä pimeissä olosuhteissa kuten bakteerit. Heterotrofinen viljely on mikrolevän kasvatusta tapauksessa, jossa levä käyttää orgaanista hiiltä sekä energiaan että hiililähteeksi. Tämä kasvatustapa voisi olla hyvä tapa välttää ongelmat, jotka liittyvät suuren kokoluokan fototrofiseen viljelyyn fotobioreaktoreissa joissa valomäärä on rajallinen. Rajallinen valomäärä tällöin vaikeuttaa korkeaa solutiheyttä. Liitteessä 1 näkyy, kuinka heterotrofisella viljelyllä saadaan biomassantuotanto nousemaan, kun käytetään heterotrofista viljelyä. Joissakin levälajeissa on korkeampia lipidipitoisuuksia heterotrofisissa olosuhteissa, kuten *Chlorella protothecoides* -lajikkeella. Kyseisellä lajikkeella nähtiin lipidipitoisuudessa 40 %:n nousu vaihdettaessa viljelymetodi fototrofisesta heterotrofiseen. (Chen ym. 2011.)

Mikrolevät voivat käyttää erilaisia orgaanisen hiilen lähteitä kuten glukoosia, glyserolia, fruktoosia, sukroosia tai laktoosia kasvuun (Chen ym. 2011). Liitteessä 1 näkyy, kuinka joissain tutkimuksissa on pyritty etsimään erilaisia halvempia orgaanisen hiilen lähteitä, kuten maissipulverihydrolysaattia (corn powder hydrolysate, CPH) sokerien sijaan. Tämän tuloksena saatiin korkeita biomassarvoja (2 g/l/d) ja lipidintuotantoja (932 mg/l/d). Korkeimmat lipidintuotannot (3700 mg/l/d) saatiin käyttäen 5-litraista panosfermentoria. Heterotrofisella kasvulla saadaan korkeampia lipidintuotantoja, heterotrofisesta viljelystä saadut parhaat tulokset ovat noin 20-kertaiset verrattuna fototrofiseen viljelyyn. Sokeripohjaiset heterotrofiset systeemit kärsivät kuitenkin usein kontaminaatioista.

Suomalainen Ledika Oy erikoistuu maataloille sijoitettaviin mikrolevätankkien sovelluksiin. Mikrolevä kasvaa pimeässä sokerin, rejektiveden ja levän kasvuun räätälöidyn kasvumediumin avulla. Rejektivesi on tässä tapauksessa biokaasulaitoksen rejektivettä, joka sisältää runsaasti typpeä ja fosforia. Rejktiveden typpipitoisuudeksi oli aikaisemmin mitattu 3980 mg/l. Medium sisältää kasvulle tärkeitä komponentteja, kuten fosfaatteja, sulfaatteja ja mineraaleja. Yrityksen suorittamat kokeet ja tuotantoajat (taulukko 1) on tehty 9 litran reaktorissa, jossa on pH:n, lämpötilan ja ilmaston automaattinen säätö sekä datankeruu Arduino-järjestelmällä.

Taulukko 1. Ledika Oy:n toimitusjohtajan Miitrei Sorsan ystävällisesti työtä varten luovuttamaa koedataa tuotantoajo 4:stä. Alkuperäinen versio löytyy liitteestä 2. (Sorsa 2015.)

Pvm	Klo	Abs	Toiminta
TUOTANTOAJO 4 9l reaktori			
5 l ravintoliuosta (jossa 250 g sokeria, 0,5 l rejektivettä sekä 700 ml perusmediumtiivistettä(x10)) sekä 2 l liuosta aiikeisemmasta kokeesta, jossa on jo haluttua kasvua.			
Ilmastus asetettiin asetettu tasolle 33 %.			
pH:n säädössä emäsliuoksena 10 % ammoniakkiliuos, joka vaihdettiin 5 M NaOH-liuokseksi.			
pH:n ja lämpötilan asetusarvot olivat 6,5 ja 28 °C, niiden säädössä käytettiin Arduino-ohjausjärjestelmää.			
23.3.15	17	-	Aloitus
24.3.	10	5,0	Ammoniakki vaihdettiin NaOH-liuokseksi (5 M)
	14	5,9	
	16	6,4	Pois 1 l liuosta, tilalle 1 l ravintoliuosta (250 g / 0,5 l / 100 ml)
25.3.	15	10,7	Pois 5 l, tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 400 ml)
1. syklin lopussa TN 851 g/l ja biomassapitoisuus 5,3 g/l			
	21	6,3	
26.3.	11	8,7	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
27.3.	10	12,1	
	12	11,8	
	14	-	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
	16	11,9	
28.3.	14	15,0	Pois 2 l, tilalle 2 l (500 g / 1,0 l / 200 ml)
29.3.	18	19,0	Pois 5 l, tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 600 ml)
2. syklin lopussa TN 105 mg/l ja biomassapitoisuus 8,6 g/l			
30.3.	11	14,2	Pois 2 l, tilalle 1 l (250g / 0,5 l / 100 ml)
	15	13,9	
31.3.	14	16,9	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
1.4.	15	19,1	Vaihdettiin NaOH-liuoksen tilalle ammoniakkiliuos (10 %)
	19	18,1	
2.4.	9	19,0	Lopetus
3. syklin lopussa TN 452 mg/l ja biomassapitoisuus 8,8 g/l			

Liuoksen spektrofotometrillä mitattavan absorbanssin ja biomassapitoisuuden välillä on havaittavissa korrelaatiota. Biomassapitoisuuden noustessa myös absorbanssi nousee (taulukko 1). Kokeissa käytetyn *Chlorella protothecoides* -levän biomassan tuotantokyvyn voidaan todeta olevan liitteen 1 tutkimustulosten kanssa samoilla linjoilla. Ennen 1. syklin loppua tämän näkee selkeiten. Noin 24 tunnin kokeellisen toiminnan jälkeen absorbanssi on 6,4, kun Sorsan muissa toimittamissa tuotantoajoissa absorbanssilla 5,4 biomassapitoisuus on 2,8 g/l (tuotantoajo 5, liite 3). Tämä viittaa biomassapitoisuuden olevan yli 2,8 g/l/d, joka on samassa linjassa liitteen 1 saman levälajikkeen heterotrofi-

sen viljelyn koeasettelun kanssa (biomassatuotanto 2,2–7,4 g/l/d). Tuotantoajo aloitettiin ammoniakkiliuoksen ollessa pH:n säädön apuna, tällä saattaa olla vaikutusta liuoksen yhteiseen typpimäärään (TN). Toisen syklin lopussa typpimäärä on laskenut arvoon 105 mg/l, kun 3. syklin lopussa TN on 452 mg/l. Lopun typpipitoisuuden nousu johtuneet siitä, että ennen tuotantoajon loppua NaOH-liuoksen tilalle vaihdettiin takaisin 10 % ammoniakkiliuos.

4.3 Mixotrofinen viljely

Kun mikrolevä fotosynteesin lisäksi käyttää sekä orgaanisia yhdisteitä että epäorgaanista hiiltä (CO₂) hiililähteenä kasvuun, tarvitaan mixotrofisia viljelyolosuhteita. Tämä tarkoittaa sitä, että mikrolevällä on kyky elää ja kasvaa fototrofisissa tai heterotrofisissa olosuhteissa tai molemmissa. Mikrolevät yhdistävät orgaaniset yhdisteet ja hiilidioksidin hiililähteenä. Soluhengityksen yhteydessä vapautuva hiilidioksidi jää levälle uudelleenkäytettäväksi sen kasvuympäristöön fototrofisessa viljelyssä. (Chen ym. 2011.)

Mixotrofiset olosuhteet osoittavat hyötyjä mm.

- vähentämällä hiilidioksidipäästöjä verrattuna heterotrofisiin oloihin
- vähentämällä solujen kuolemista verrattuna heterotrofisiin oloihin
- tuomalla korkean kasvamisnopeuden ja korkeat biomassakonsentraatiot heterotrofisista olosuhteista
- tuomalla mahdollisuuden hyödyntää hiilipitoisia jätevesivirtoja. (Arnold 2013.)

VTT:n jäteveden parissa tehdyn tutkimuksen (Arnold 2013) raportissa todetaan mixotrofisen jatkuvaa virtausta sisältävän, typpirajoitteisen viljelmän olevan sopiva mikrolevälle jatkuvaan lipidituotantoon.

Verrattuna kahteen aikaisemmin mainitsemaani viljelytapaan mixotrofinen viljely on harvemmin käytetty mikroleväöljyn tuotannossa (liite 1).

4.4 Fotoheterotrofinen viljely

Fotoheterotrofisessa viljelyssä mikrolevä tarvitsee valoa samalla käyttäen hiililähteenä orgaanisia yhdisteitä. Tunnistettavin ero mixo- ja fotoheterotrofisessa viljelyssä on fotoheterotrofisen viljelyn tarve valoon energian lähteenä, kun mixotrofisissa olosuhteissa mikrolevä voi käyttää orgaanisia yhdisteitä tätä varten.

Fotoheterotrofisen ja mixotrofisen viljelyn käyttö leväöljyn/biodieselin tuotannossa on harvinaista verrattuna muihin tapoihin (Chen ym. 2011).

4.5 Menetelmien vertailua

Liitteessä 1 on kerättyä tutkimustietoa monesta eri lähteestä, sisältäen eri viljelymenetelmiä. Sen mukaan heterotrofisen menetelmä osoittautuu vahvimaksi öljyntuotannon kannalta. Miinuksena tässä menetelmässä on sen kontaminaatio-ongelmat, erityisesti avoimissa systeemeissä (taulukko 2). Tämä aiheuttaa ongelmia suuremman kokoluokan tuotannossa. Lisäksi tarvittavan orgaanisen hiilen hinta on ongelma kaupalliselta kannalta. (Chen ym. 2011.)

Ylivoimaisesti suosituin käytössä oleva menetelmä, fototrofisen viljely, on helpoin nostaa suurempaan mittakaavaan esimerkiksi avoimena lampisysteeminä. Alhaisen tuotantokustannusten takia tämä metodi on tällä hetkellä suotuisa. Myös levän kyky käyttää muun teollisuuden päästöjä hyödyksi (hiilidioksidi) öljyntuotannossa on houkuteltavaa ympäristöystävälliseltä kannalta. Kuitenkin tämän lähestymistavan öljyntuotanto on huomattavasti vähäisempää verrattuna heterotrofiseen viljelyyn. Tämä johtuu lähinnä hitaasta solukasvusta ja alhaisesta biomassantuotannosta.

Taulukko 2. Selkeytetty asetelma eri viljelyolosuhteiden vaatimista olosuhteista ja haasteista (muokattu lähteestä Chen ym. 2011).

Viljelyolosuhteet	Energialähde	Hiililähde	Solutiheys	Reaktorin suuremmaksi skaalaus	Kustannukset	Skaalauksen ongelmat
Fototrofinen	Valo	Epäorgaaninen	Pieni	Allas tai fotobioreaktori	Pieni	Pieni solutiheys Korkeat kondensaatiokulut
Heterotrofinen	Orgaaninen	Orgaaninen	Suuri	Perinteinen fermentori	Keskiverto	Kontaminaatio Korkeat substraattikulut
Mixotrofinen	Valo ja orgaaninen	Orgaaninen ja epäorgaaninen	Keskiverto	Suljettu fotobioreaktori	Korkea	Kontaminaatio Korkeat laitteistokulut Korkeat substraattikulut
Fotoheterotrofinen	Valo	Orgaaninen	Keskiverto	Suljettu fotobioreaktori	Korkea	Kontaminaatio Korkeat laitteistokulut Korkeat substraattikulut

Mixo- ja heterotrofisen viljelyn olosuhteilla on mahdollista tuottaa suurempia biomassamääriä kuin fototrofisissa olosuhteissa. Tämä helpottaa mm. levän keräämistä. (Arnold 2013.)

Mixotrofista ja fotoheterotrofista viljelymetodia rajoittavat kontaminaatoriskit ja valon olennaisuus viljelyssä. Näistä syistä tuotanto suuremmassa mittakaavassa saattaa vaatia erikoista fotobioreaktoria, joka nostaa oletettavasti hankinta- ja tuotantokustannuksia. (Chen ym. 2011.)

5 Mikroevän keräys ja öljynerotus

Kun levä saavuttaa suurimman prosessille mahdollisen konsentraation kasvatusliuoksessa se tulee kerätä nesteestä erilleen. Tässä kohtaa kuvaan astuvat erilaiset keruutekniikat ja lopulta öljynerotus itse leväsolusta.

5.1 Keräys

Optimaalisen keräysteknologian tulee

- olla energiaystävällinen
- kattaa täydellisen veden ja ravinteiden kierrätyksen
- välttää haitallisten kemikaalien tai materiaalien lisäystä
- olla kompakti, vähän tilaa vievä.

Mikrolevän kerääminen kasvatusliuoksesta on yksi suurimpia haasteista levän hyödyntämisessä biopolttoaineiksi. Syynä on mikroleväsolujen hyvin pieni halkaisija, joka vaihtelee välillä 2–20 µm. Yleisimpiä mikrolevän erotteluun käytettäviä tekniikoita ovat mikroseulonta tai suodatus, sentrifugointi ja flokkaus. Sentrifugointi on tehokas ja luotettava tapa erotukseen, mutta samalla kustannuksiltaan kallis. Myös flokkulointi on tehokas keino erottaa mikrolevää nesteestä. Kirjallisuudessa on kuitenkin niukasti tietoa ja vertailtavia tutkimustuloksia koskien mikrolevää. (Hamawand ym. 2014.)

5.1.1 Suodatus

Mikrosuodatus ja värähtelevät suodinkankaat ovat suosituimpia levänkeräystapoja. Suodatuksessa suspensio johdetaan kalvon tai kankaan lävitse, jolla on tietty huokoisuus. Kasvatusliuoksen leväkonsentraatiolla on olennainen osa suodatuksessa; korkea konsentraatio tukkii suodattimen, kun matala konsentraatio huonontaa suodatustehoa. Mikrosuodatuksen etuja ovat mm. sen yksinkertaisuus, helppo käyttö, suodatusteho, alhaiset käyttö- ja hankintakustannukset sekä kestävyys liikkuvien osien puutteen vuoksi. Kun suotimet asetetaan kasvatusliuoksen virtauksen kanssa ristikkäin, levän rakenne ja muut ominaisuudet pysyvät paremmin ehjinä kuin suoravirtaussuodatuksessa. (Chen ym. 2011.)

Ohuella, huokoisella metallilevyllä jonka aukkojen koko on vain 1,0 µm ja paksuus 25–100 µm, on todettu hyviä erotusominaisuuksia mikrolevälle. Nämä kalvot päästävät veden ja ravinteet hyvällä virtauksella lävitseen, mutta jättävät leväsolut sen pinnalle. Kalvot osoittavat vastustuskykyä levän adheesioon sekä biomateriaalin kerääntymiseen sen pinnalle. Erottelu metallikalvoilla voi tapahtua ristivirtauksesta tai ns. dead-end-virtauksesta, jossa koko virtaus kulkee kalvojen läpi. Kalvoille kerääntynyt leväkerros voidaan irrottaa alipaineella tai veden avulla. Tällä tyylillä levä voidaan konsentroida 100-kertaisesti. Tekniikan tehokkuudesta huolimatta energiankulutus sekä pääomakulut ovat kovat, sillä prosessi vaatii korkeapainevirtauksen sekä prosessille räätälöidyn suodinkalvon. (Hamawand ym. 2014.)



Kuva 8. Havaijilla sijaitsevan Cyanotech Corporationin suodattamalla erotettua mikrolevää kuljetinhihnalla (Chisti 2007).

Suodattamalla kasvatusliuosta saadaan aikaan tahnamaista biomassaa kuten kuvassa 8 on esitetty.

5.1.2 Sentrifugointi

Sentrifugi on laite, jolla nestepitoisesta seoksesta voidaan eritiheysiset faasit (tässä tapauksessa kiinteä ja neste) keskipakoisvoimaa käyttäen. Suurin osa mikrolevälajikkeista voidaan eristää kasvatusliuoksesta käyttäen sentrifugointia. Laboratoriokokeissa suoritettujen kokeiden mukaan 80–90 % mikrolevän biomassasta saadaan erotettua 2–5 minuutin ajassa. Sentrifugointi on erotusmenettelynä tehokas, mutta aikaa vievä ja kallis. Leväsolut altistuvat prosessin aikana koville g-voimille (500–10 000) (Chen ym. 2011; Sorsa 2015), jotka voivat vahingoittaa solua. Solun rikkominen on olennaista jälkimmäisissä biomassan käsittelyvaiheissa, joissa leväsolusta erotetaan öljy.

5.1.3 Flokkaus

Flokkaus on prosessi, jossa hajaantuneet partikkelit saostetaan suuremmiksi partikkeleiksi ennen suodatusta tai muuta erotusmenetelmää. Osalla levätyypeistä flokkautuminen tapahtuu luonnostaan, mutta prosessin avustaminen flokkulantilla on mahdollista. Flokkulantit jaetaan kahteen pääryhmään kemiallisen koostumuksensa mukaan, epäorgaanisiin ja orgaanisiin flokkulantteihin. (Chen ym. 2011.)

Mikroleväsolut ovat negatiivisesti varautuneita johtuen ionien absorptiosta orgaanisesta aineesta ja pinnan funktionaalisten ryhmien ionisoinnista tai dissosiaatiosta. Systemin

tasapainoa häiritsemällä on mahdollista kerätä mikrolevää lisäämällä esimerkiksi epä-organista rauta- tai alumiinipohjaista koagulanttia ja näin neutraloida tai vähentää pintavarausta. (Chen ym. 2011.)

Orgaanista flokkulanttia käytettäessä flokkikoko tulisi olla suurempi kuin 100 µm, kun käytetään moolimassaltaan suurta sillastuspolymeeriä (bridging polymer). Polymeeri kasvattaa flokkikokoa ja näin parantaa mikrolevän laskeutumista. Biohajoavia orgaanisia flokkulantteja kuten kitosania tuotetaan luonnollisista lähteistä, jotka eivät kontaminoi mikroleväbiomassaa. Tehokkaimpina orgaanisina flokkulantteina mikrolevälle pidetään kationisia flokkulantteja. Polymeerin moolimassalla, molekyylien varaustiheydellä, annostelulla, biomassan konsentraatiolla, ionien vahvuudella ja kasvatusliuoksen pH:lla on osoitettu olevan vaikutusta flokkauksen tehokkuuteen. Korkea biomassakonsentraatio auttaa flokkauksessa, sillä leväsolujen väliset kohtaamiset ovat usein tapahtuvia. Tällöin myös flokkauksessa sopivan hidas sekoitus on hyödyllistä, sillä se tuo solut yhteen. Liian kova sekoitus voi hajottaa jo muodostuneita flokkeja. (Chen ym. 2011.)

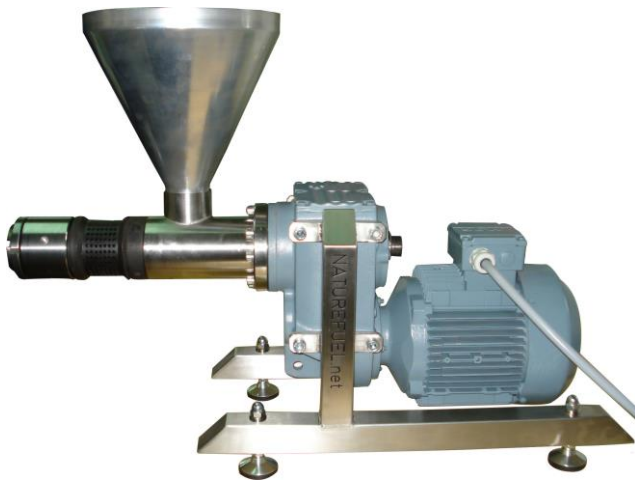
5.2 Öljyn erotus levästä

Öljyn erotus mikrolevämassasta on kallis prosessi siinä missä biomassan erottelu kasvatusliemestäkin. Tarkoituksena on saada levän solun sisällä oleva öljy ulos solusta ja jatkojalostukseen. Tämä saadaan aikaan erilaisilla erottelutekniikoilla, jotka voidaan jakaa mekaaniseen ja kemialliseen tapaan. Seuraavissa luvuissa esitellään mekaanisista erotustekniikoista prässäys ja ultraäänierottelu sekä kemiallisista erottelutekniikoista orgaanisten liuottimien ja ylikriittisen fluidin käyttö. Levänjalostajat ovat päätyneet käyttämään molempia tekniikoita osittain yhdessä, sillä kemikaalit nopeuttavat ja helpottavat öljynerotusta.

5.2.1 Prässäys

Yksinkertaisin metodi öljynerotukseen on leväsolun rakenteen murskaaminen puristuksen avulla. Prässäyksessä levän soluseinämät rikotaan ja mikrolevän soluun muodostunut öljy saadaan kerättyä talteen. Ennen prässäystä levämassa tulee kuivata, tämä ei vaikuta levän lipidipitoisuuteen. Eri levälajikkeiden ominaispiirteiden takia käytössä on erilaisia prässimuunnoksia kuten ruuvi- ja mäntäpuristin. Mekaanisen murskauksen

yhteydessä käytetään usein liuottimia, jotka auttavat prosessia. (Extraction of Algal Oil by Mechanical Methods 2016.)



Kuva 9. Kuvan kaltaisilla ruuvipuristimilla voi kuivatusta levästä ja eri siemenistä puristaa öljyn ulos (Defender tuning 2016).

Kuvassa 9 esitetyn ruuvipuristimen avulla öljyä voidaan puristaa myös muista bioöljynlähteistä, kuten auringonkukan siemenistä ja jatropasta. Puristettava materiaali syötetään kiiltävästä kaukalo-osasta, josta siemenet/levä joutuu kontaktiin puristavan ruuvin kanssa. Sylinterissä, jossa ruuvi pyörii, on pieni aukko josta öljystä erotettu biomassa puristuu ulos pellettinä. Itse öljy valuu ulos ennen sylinterin päätä mustasta säleikköosasta ja otetaan talteen.

5.2.2 Ultraäänierottelu

Ultraäänierottelussa hyödynnetään kavitaatioilmiötä, joka nopeuttaa öljynerotusta. Ultraäänireaktorissa nesteeseen johdetaan ääniaaltoja, jotka vaihtelevat korkea- ja matalapainesykleissä. Matalapainesyklin aikana nesteeseen syntyy pieniä tyhjiökuplia, jotka sopivan kokoiseksi kasvaessaan romahtavat korkeapainesyklin aikana. Kuplan romahdamisen aikana nesteessä syntyy paikallisesti kovia paineita ja nestesuihkuja. Tämän seurauksena kovat voimat rikkovat levän soluseinämän mekaanisesti ja öljy pääsee solusta ulos. (Biodiesel from Algae using Ultrasonication 2016.)

Ultraäänierottelun korkeapainesyklit tukevat liuottimien, kuten heksaanin toimintaa helpottamalla lipidien siirtymistä liuottimeen. Kun öljy on liuennut sykloheksaaniin, kiinteä

aines tulee suodattaa pois ja liuottimesta tislataan öljy lopputuotteeksi. (Biodiesel from Algae using Ultrasonication 2016.)

5.2.3 Orgaanisen liuottimen käyttö

Mikrolevän lipidien erotuksessa käytettävien orgaanisten liuottimen käyttö perustuu kemian peruskonseptiin, jossa yhdiste liukenee parhaiten yhdisteeseen, jolla on samankaltainen kemikaalinen rakenne (like dissolves like).

Yleisin elävän kudoksen lipidien erotukseen käytetty orgaaninen liuotin on kloroformi/metanoli-sekoite (1/2 tilavuussuhde). Käyttäessä tätä liuotinta biomassaan jäänyt jäämävesi toimii prosessissa kolmantena komponenttina joka edesauttaa lipidien (neutraalit ja polaariset) erotusta. Tämän takia biomassaa ei tarvitse täysin kuivata erotusta varten. Biomassan poistamisen jälkeen seokseen lisätään lisää liuotinseosta, jotta tapahtuu parempi kaksifaasinen erotus. Alempi orgaaninen faasi (kloroformi ja osa metanolista) sisältää suurimman osan lipideistä, kun ylempi nestemäinen faasi (vesi ja osa metanolista) sisältää suurimman osan proteiineja ja hiilihydraatteja. Kloroformi/metanoli-liuottimen käyttö on nopeaa ja tehokasta. Kloroformin käyttöä kuitenkin vältetään sen myrkyllisyyden vuoksi. (Halim ym. 2012.)

Hyvin myrkyllisen kloroformi/metanoli-liuottimen vaihtoehdoksi on ehdotettu vähemmän myrkyllistä heksaani/isopropanoli-liuotinta (3/2 tilavuussuhde). Sekoite toimii samoin tavoin kuin em. liuotin. Sekoitteen erottuessa kahteen faasiin, ylemmässä orgaanisessa faasissa (heksaani ja osa isopropanolista) on lipidit ja alemmassa nestefaasissa (vesi ja osa isopropanolista) ovat proteiinit ja hiilihydraatit. Heksaani/isopropanoli osoitautuu olevan selektiivisempi erottamaan neutraaleja lipidejä verrattuna kloroformi/metanoli-systeemiin. On osoitettu, että juuri neutraalit lipidit ovat otollisia biodieselin-tuotantoon, koska niitä ei tarvitse puhdistaa tuotantoa varten yhtä paljon kuin polaarisia lipidejä. (Halim ym. 2012.)

5.2.4 Ylikriittinen fluidi

Kun aineen lämpötila ja paine ovat ylittäneet sille ominaistet kriittiset arvot, neste- ja kaasufaasi häviävät ja aine on yhdessä faasissa, jota kutsutaan ylikriittiseksi fluidiksi.

Ylikriittinen fluidi on todettu tehokkaaksi öljynerotusliuottimeksi kolmesta eri syystä:

- Liuotintehokkuus on säädettävissä sen tiheyden hienosäädön kautta. Tiheys on säädettävissä kahdella suureella; lämpötilalla ja paineella. Näin liuotinominaisuudet voidaan kohdentaa niin, että aine vaikuttaa pääasiassa haluttuihin lipideihin.
- Ylikriittinen fluidi omaa suureet (kuten tiheys ja viskositeetti), jotka sijoittuvat kaasun ja nesteen välimaastoon. Nämä ominaisuudet auttavat fluidia rikkomaan soluseinämät tehokkaasti. Tämä saa aikaan korkeamman lipidisäannon ja lyhyentää lipidien ekstraktioaikaa.
- Raa'at lipidit, joita saadaan ylikriittisen fluidin avulla eroteltua levästä ovat liuotinvapaita. Tästä johtuen prosessissa ei tarvita energiaa eri liuottimien poistamiseksi tuotetusta öljystä. (Halim ym. 2012.)

Ylikriittinen hiilidioksidi (SCCO_2) on yleisin liuotin, jota käytetään suurimmassa osassa erotuksista, joissa hyödynnetään ylikriittistä fluidia. Sen kohtuullinen kriittinen paine (72,9 atm) ei aiheuta liian suuria kompressiokuluja ja kriittinen lämpötila (31,1 °C) edesauttaa onnistunutta lämmölle herkkien lipidien ekstraktiota vahingoittamatta niitä. SCCO_2 :n käyttö öljynerotuksessa on turvallista johtuen sen vähäisestä myrkyllisyydestä, alhaisesta tulenarkuudesta sekä reaktiivisuuden puutteesta. Mikäli leväplantaasi on hiilikäyttöisen tehtaan läheisyydessä, voi tarvittavan hiilidioksidin ylikriittiseen konversioon ottaa pestyistä tehtaan savukaasuista. (Halim ym. 2012.)

6 Leväöljy vs. muut bioöljylähteet

Yksiselitteisiä bioöljyn tuotantolukuja on hankala löytää. Taulukkoon 3 on kerätty tietoja eri bioöljyn lähteiden öljypitoisuuksista ja öljyn saantoja t/ha/vuosi (Lunkka-Hytönen ym. 2013; Klingerman & Bouwer 2015) sekä öljyn tilavuussaantoja l/ha/vuosi (Arnold 2013). Tuoreet tutkimukset ovat osoittaneet mikrolevän realistisen biomassatuotannon olevan noin 15–25 t/ha/vuosi. Öljyn saanto optimoimattomissa kasvuolosuhteissa on noin 4,5–7,5 t/ha/vuosi. Mikrolevän öljyn saanto on suurempi kuin muilla bioöljyn lähteillä. Näihin lähteisiin kuuluvat mm. jatropa ja öljypalmu (4,14 ja 3,62 t/ha/vuosi). Mikrolevän suuri 50 000 l/ha/vuosi öljyn tuotanto on arvio mikrolevän maksimaalisesta öljyn saannosta (Arnold 2013).

Taulukko 3. Eri öljylähteitä ja vuosisaannot hehtaaria kohden (muokattu lähteistä Lunkka-Hytönen ym. 2013; Klingerman & Bouwer 2015; Arnold 2013).

Raaka-aine	Öljypitoisuus (% kuivapainosta)	Öljyn saanto (t/ha/vuosi)	Öljyn saanto (l/ha/vuosi)
Soijapapu	18	0,4	450
Rypsi/rapsi	41	0,68	1400
Jatropa	28	4,14	1890
Öljypalmu	36	3,62	5940
Levä	~30	4,5-7,5	3800–50000

Mikrolevän biopolttoainetuotantoa koskien on suoritettu vain muutamia elinkaaren arviointitutkimuksia johtuen rajoitetusta perusteellisesta ja kattavasta datasta. Tästä johtuen eri parametrit, jotka liittyvät mikrolevän bioöljyn tuotantoon, kuten biomassan tuotanto, lipidipitoisuus ja energiatehokkuus (levän talteenotto, kuivaus ja transesteröinti), perustuvat laboratorio-olosuhteiden kokeelliseen dataan. Vaikkakin data saattaa erota suurestikin suuren kokoluokan tuotannosta, monet tutkimukset osoittavat mikroleväöljyn tuotannon olevan paljon energiaa kuluttava prosessi. Tätä löydöstä kuvataan energiatehokkuussuhteella (EER), joka on prosessin vaatiman energian suhde lopputuotteista saatavaan energiaan. Mikäli suhdeluku on suurempi kuin yksi, on prosessin lopullinen nettoenergia positiivinen. Taulukossa 4 kuvataan eri bioöljyn lähteiden EER-lukuja, jotka ovat suuntaa antavia erinäisten tutkimusten oletuksista ja rajauksista johtuen. (Lam & Lee 2012.)

Taulukko 4. Öljypitoisten viljelmien ja mikrolevälajikkeiden EER-lukuja useista eri tutkimuksista (muokattu lähteestä Lam & Lee 2012).

Syöttö	EER	Lisätieto
<i>Öljypitoiset viljelmät</i>		
Jatropa	1,92	Sivutuotteiden kanssa.
Jatropa	1,85	Ilman biokaasutuotantoa.
Jatropa	3,40	Biokaasutuotannon kanssa.
Palmuöljy	2,27	Sivutuotteiden kanssa.
Palmuöljy	3,53	Sivutuotteiden kanssa.
Palmuöljy	3,58	Sivutuotteiden kanssa.
Palmuöljy	2,42	Ilman sivutuotteita.
Rapsi	1,44	Sivutuotteiden kanssa.
Rapsi	5,00	Viljelty Chilen olosuhteissa.
Auringonkukka	3,50	Viljelty Chilen olosuhteissa.
<i>Mikrolevät</i>		
Chlorella vulgaris	0,35	Putkifotobioreaktorissa.
Chlorella vulgaris	1,46	Rengasaltaassa.
Chlorella vulgaris	0,98	Riittävät ravinneolosuhteet + biomassa kuivataan erotusta varten.
Chlorella vulgaris	3,54	Riittävät ravinneolosuhteet + biomassaa ei kuivata erotusta varten.
Chlorella vulgaris	1,25	Typpipitoisuus matala + biomassa kuivataan erotusta varten.
Chlorella vulgaris	4,34	Typpipitoisuus matala + biomassaa ei kuivata erotusta varten.
Haematococcus pluvaris	0,25-0,54	
Nannochloropsis	0,09-0,12	
Nannochloropsis	1,08	
Nannochloropsis sp.	3,05	Rengasaltaassa (systeemi rajattu viljelyasteelle, pois jäävät vedenpoisto, kuivaus, erotus ja transesteröinti).
Nannochloropsis sp.	1,65	Levyfotobioreaktorissa (systeemi rajattu viljelyasteelle, pois jäävät vedenpoisto, kuivaus, erotus ja transesteröinti).
Nannochloropsis sp.	0,07	Putkifotobioreaktorissa (systeemi rajattu viljelyasteelle, pois jäävät vedenpoisto, kuivaus, erotus ja transesteröinti).

Taulukossa 4 näkee, kuinka eri öljylähteiden EER-luku nousee erilaisten sivutuotteiden ollessa mukana arvioinnissa. Tällä hetkellä näyttää siltä, että palmuöljy on varmin kandidaatti EER-luvun puolesta sekä ilman sivutuotteita että niiden kanssa. Palmuöljyn käyttämisessä biodieselin valmistuksessa on kuitenkin ristiriitoja. Biopolttoaineiden tuotannolla pyritään vähentämään hiilidioksidipäästöjä, kuitenkin öljypalmujen kasvatustalentaasien edestä raivataan arvokasta sademetsää ja turvesoita kyseenalaisin perustein samalla lisäten hiilidioksidipäästöjä (Manninen 2011).

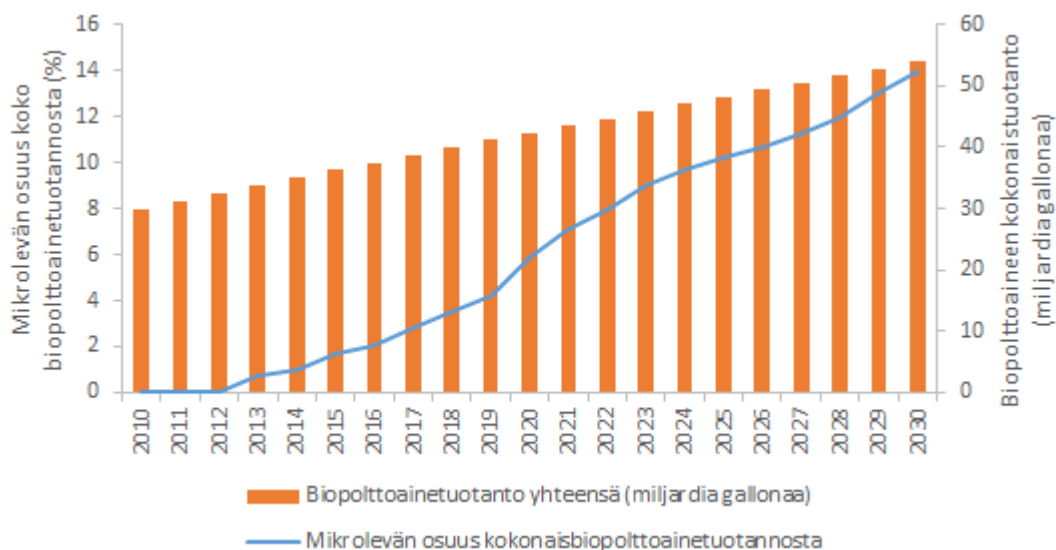
Öljyjatropa on kuivissa oloissa selviävä pitkäikäinen kasvi, joka tuottaa siemeniä koko elinkaarensa ajan. Siementen öljypitoisuus on noin 28 (Lunkka-Hytönen ym. 2013) – 37 % (About Jatropha Plant 2013). Kasvia on helppo viljellä ja kasvattaa kovissakin

olosuhteissa. Villinä jatroppaa kasvaa laajasti Intian eri alueilla sekä muualla trooppiin kuivemmilla alueilla (About Jatropha Plant 2013).

Mikrolevät osoittavat potentiaalia energiatehokkuussuhteella vaihdellen välillä 0,07–4,34. Taulukosta 4 näkee myös kasvatusliuoksen tyypipitoisuuden vaikutuksen levän kasvuun ja lipidipitoisuuteen. Rajoitettu typpiympäristö nostaa lipidipitoisuutta, mutta laskee biomassan tuotantoa. (Chen ym. 2011; Arnold 2013.)

7 Levätutkimus Suomessa ja maailmalla

Leväöljyn parissa tehdään jatkuvaa tutkimusta ja kehitystä, jotta fossiilisten polttoaineiden tuotanto-osuutta saadaan pienennettyä. Kuvassa 10 on esitetty leväöljyn kehityksen ennustus vuodesta 2010 vuoteen 2030. Osuuden katsotaan nousevan vuonna 2030 14 %:iin, biopolttoaineiden yhteistuotannon ollessa noin 54 miljardia galloniaa (n. 200 miljardia litraa).



Kuva 10. Leväöljyn prosentuaalinen osuus maailman biopolttoaineista vuoteen 2030 mennessä (muokattu lähteestä Arnold 2011).

Nesteen mukaan leväöljy on yksi mahdollinen tulevaisuuden uusiutuva raaka-aine. Se kuuluu myös heidän pitkän aikavälin raaka-ainetutkimukseen. Neste on mukana kansainvälisissä tutkimushankkeissa esimerkiksi Hollannissa ja Australiassa. Sen tavoitteisiin kuuluu mahdollistaa leväöljyn käyttö kustannustehokkaana ja vastuullisesti tuotet-

tuna raaka-aineena niin polttoaineen kuin muidenkin uusiutuvien tuotteiden valmistuksessa. Tutkimusten mukaan hyvälaatuinen leväöljy sopii Nesteen uusiutuvien tuotteiden raaka-aineeksi. Mikrolevien viljely ei kuitenkaan tällä hetkellä ole taloudellisesti kannattavaa teollisessa mittakaavassa. Neste on varautunut tilanteen muuttumiseen ehdollisten ostosopimusten tekemisellä leväöljytoimittajien kanssa. (Raaka-ainetutkimus 2016).

Suomessa toimintaansa rakentava Ledika Oy kehittää maataloille sovellettavaa mikroleväkasvatusta. Tarkoituksena on sijoittaa pimeässä kasvavia levälajikkeita (heterotrofia) yhteen maatalan ravinteikkaan jäteveden kanssa. Näin saadaan aikaan kasvua leväbiomassassa ja samalla puhdistetaan jätevettä ekologisesti. Avainasemassa yrityksen mukaan on uutta teknologiaa hyödyntävä biodiesel-prosessi, jonka avulla maatala pystyy mahdollisesti korvaamaan kevyen polttoöljyn ja dieselin tarpeensa.

Euroopassa näyttää siltä, että Espanja on johtava maa leväteollisuudessa. Saman maan petrokemian yritys Repsol on kiinnostunut biopolttoaineiden valmistuksesta. Yrityksellä on lukuisia leväprojekteja ympäri maata, mukaan lukien yksi Alicanten yliopistossa. Yliopiston tutkimus keskittyy fotobioreaktoreissa käytettäviin muoveihin, levälajikkeiden valintaan, fotobioreaktorien suunnitteluun sekä polttoaineen konversioon (Who's in the lead? Algae around the world 2012). Hollantilainen yritys Evodos on kehittänyt uutta sentrifugointiteknologiaa, joka on vähän energiaa kuluttava ja pitkälle kehitetty. Kolme erikokoista systeemiä, jotka kattavat levän separaation kasvatusliuoksesta, toimivat tehokkaasti ja toimivat tutkimus- ja kehitystasolla, niin kuin vaativammalla teollisella erottelullakin. Suurimmat separaattorit kykenevät käsittelemään kellon ympäri ja 1000–4000 litraa tunnissa (Evodos 50 2016).

Intialla on pitkä historia levän kanssa, joka keskittyy lähinnä ravinne- ja vedenpuhdistussovelluksiin. Intia pyrkii kehittämään kyseisiä alueita biopolttoaineiden suuntaan. Samassa maassa sijaitseva Reliance Industries Limitedillä on kaksi maailman suurimmista jalostamoista ja on yksi maailman 20:sta suurimmista petrokemikaalien tuottajista. Kyseinen yritys suunnittelee strategiaa erityisesti leväbiopolttoaineille. (Who's in the lead? Algae around the world 2012.)

Japanilla on levän kanssa kokemusta kaupallisen makrolevän kanssa lähinnä lisäravinteiden ja ruokasovellusten kautta. Maan tutkijat ovat hyvin aktiivisia uusien levälajien etsinnässä. Monet huippututkijat tulevat tästä maasta ja tekevät innovatiivisia löytöjä.

Yliopistojen tutkimusosastot ovatkin löytäneet lupaavan lajikkeen, joka on nopea kasvamaan ja tuottamaan öljyä. NEDO (New Energy and Industrial Technology Development Organization), joka ohjaa akateemisia tutkimuksia eri aloilla Japanissa rahoittaa joitakin leväprojekteja maassa. Tsukuban yliopiston ja useiden muiden yhtiöiden yhteistyön avulla maassa toimii kattava tutkimus ja kehitys koskien levää biopolttoaineena. (Who's in the lead? Algae around the world 2012.)

Kiinassa sekä Taiwanissa on kiinnostuttu levän hyödyntämisessä hiilidioksidipäästöjen vähentämisessä. Askelia otetaan suuntaan, jossa fotobioreaktoreita voitaisiin hyödyntää yhden maailman suurimman terästustehtaan hiilidioksidipäästöjen karsimisessa Taiwanissa. Taiwanin yliopistoissa tehdään yhteistyötä koskien levien muodostumista, fotobioreaktoreiden toimintaa, suodinkankaalla levän talteenottoa sekä ylikriittisen fluidin käyttöä öljyn erottamiseen. (Who's in the lead? Algae around the world 2012.)

8 Levän muut sovellukset

Mikrolevän hyödyt eivät rajoitu vain sen öljyntuotantokykyyn. Monipuolisen levän pellettejä (kuva 11) voidaan polttaa sellaisenaan (Algae-farms 2016a) lämpöenergiaksi tai tuottaa sähköä. Jätevedessä tai muulla tavalla kasvatetun levän sovellukset ovat hyvin monipuolisia. Valmistettaviin tuotteisiin lukeutuvat kemikaalit, lannoitteet, biopolymeerit, biomuovit, maalit ja väriaineet, liukasteet sekä kosmetiikkatuotteet.



Kuva 11. Makrolevää, jota on kasvatettu eläimille rehuksi (vas. Growenergy 2016), ja leväpellettejä (oik. Algae-farms 2016b).

Päästöjä koskien sovelluksia ovat mm. CO₂-sitoutus sekä uraanin ja plutoniumin sitoutus. Myös esim. maataloilta "karanneen" lannoitteen sitouttaminen on mahdollista ja

levän jälleenkäyttäminen itse lannoitteena. Erilaiset lisäravinneruoat, eläimien ruoat (maa-, kana- ja kalatalous) kuten kuvassa 11 sekä päästöjen hallinta ovat potentiaalisia sovelluskohteita. (Zhou ym. 2014, Oilgae 2016a.)

8.1 Lannoite

Erilaisten kemikaalien käyttö maanviljelyssä on maailmanlaajuinen ongelma. Ongelma juontaa juurensa siitä, kuinka eri torjunta-aineet löytävät tiensä ihmisiin ja aiheuttavat tiettyjä syöpiä. Euroopassa näytetään tietä kemiallisten lannoitteiden korvaamisella orgaanisilla lannoittimilla. Suomessa tämä näkyy esim. kotimaisen Biolan-tuotemerkin valikoimissa luonnonlannoite-pusseina (Biolan Luonnonlannoite 2016), joissa on lisättyä levää. Ruoantuotanto ilman lannoitteita kykenisi elättämään vain murto-osan nykyisestä maapallon asukasluvusta, joten lannoitteiden pois jättäminen ei ole vaihtoehto. Levän biomassan käyttäminen lannoitesovelluksiin muiden hyötytuotteiden poistamisen jälkeen on luonnollinen ja kannattava optio.

Texasin yliopistossa (Connelly 2011) suoritettussa tutkimuksessa saatiin hyviä tuloksia käytettäessä *Chlorella sp.* -biomassaa tomaatti- ja yrttiviljelmien lannoitteena öljyn poistamisen jälkeen. Koeasettelussa kuivattua biomassaa käytettiin noin 31 kg/ha biomassaa kasvien ravitsemiseen. Vertailun vuoksi kontrolliryhmiksi valittiin kaupallinen epäorgaaninen lannoite ja ilman lannoitetta oleva viljelmä. Koedatan mukaan levälannoitetta saanut sato kasvoi 21 % korkeammaksi ja tuotti 25 % enemmän tuotetta, kuin kontrolliryhmien kasvit. Kokeen tulokset osoittavat prosessoidun *Chlorella sp.* -levän parantavan satoa enemmän verrattuna kaupalliseen epäorgaaniseen lannoitteeseen.

8.2 Ravinto

Levän 30 %:n lipidi- tai öljypitoisuus (Lunkka-Hytönen ym. 2013) koskee vain osaa levästä. Öljyn poistamisen jälkeen loput 70 % biomassasta sisältää korkeita arvoja proteiineja sekä hiilihydraatteja. Leväkakkua voi käyttää monimuotoisiin eri tarkoituksiin ravinteena ja lannoitteena, mutta se voidaan myös prosessoida tuottamaan etanolia, metaanua ja sähköä (Frequently Asked Questions 2016). Myös hyvin erilaisten käyttötarkoitusten sovellukset ovat mahdollisia, kuten muovit tai kosmetiikkateollisuuden käyttämät öljyt ja väripigmentit. Lisäravinteina käytettäviä aineita kuten erilaisia omega-3/6-

rasvahappoja ja antioksidantteja on myös mahdollisuus eristää levästä. (Lunkka-Hytönen ym. 2013.)

Eläinperäinen jätevesi sisältää pienempiä pitoisuuksia metalleja kuin teollisuus- ja kotitalousjätevesi. Mikrolevän mädätyksen anaerobiset olosuhteet osaltaan auttavat saostamaan metalleja ja tappavat taudinaiheuttajia. Näin ollen mikrolevän biomassan myrkyllisyys eläin-, kala- ja ihmiskäyttöön on minimoitua, ellei kokonaan eliminoitu verrattuna kunnalliseen jäteveeseen. (Zhou ym. 2014.)

8.3 Biokaasu

Levä on potentiaalinen lähde biodieselille, mutta myös biokaasun valmistamista biomassaa mädättämällä on tutkittu (Arnold 2013). Levästä eristetään ensin lipidit biodieseliä varten, minkä jälkeen levän biomassaa muunnetaan biokaasuksi hajottamalla sitä hapettomissa olosuhteissa. Mädätys onkin avainasemassa, kun levän taloudellisia ja ympäristöllisiä tekijöitä halutaan parantaa. Esimerkiksi ravinteiden kierrätys mädätyksen rejektiveden avulla auttaa tässä. Mädätys on mahdollinen energiantuotantometodi, varsinkin kun levää kasvatetaan pelkästään jäteveden puhdistukseen.

Mädätyksessä on mahdollista saada aikaan biokaasua eli metaania, tai vastaavasti biokaasua ja biovetyä. VTT:n ja HAMK:in yhteistyöllä suoritetussa tutkimuksessa käytettiin kolmea eri levälajiketta (*Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus*, *Selenestrum sp.*), joilla tutkittiin biomassan mädätystä yhdessä biojätteen tai jätevesilietteen kanssa. Yhteisessä vedyn ja metaanin tuotannossa käytettiin kaksivaiheista mädätystä, jonka tuloksia verrattiin perinteisempään yksivaiheiseen metaanin tuotantoon.

Tutkimuksen tuloksissa todettiin yhdestä kilogrammasta levän biomassaa voivan tuottaa metaania 220–280 litraa. Esikäsitelty biomassaa on helpommin mädätettävissä ja näin ollen tuottaa paremmin metaania prosessissa. Esikäsitely tulee kuitenkin olla suunniteltu säilyttämään mahdollisimman paljon orgaanista ainesta konversiota varten. Yhteisissä mädätysprosesseissa (esim. levä + jätevesiliete) tuotetun metaanin määrittää seoksen molempien komponenttien potentiaali. Levän korkealla typpipitoisuudella lipidien poistamisen jälkeen huomattiin tekevän prosessista epästabiilin. Mädätyslaitos tulee näin olla tarkasti monitoroitavissa. Lisäksi erilaisten hivenaineiden läsnäolon huomattiin mahdollisesti parantavan prosessin stabiiliutta ja parantavan metaanisaan-

toa. Lisätutkimusta kaksivaiheisesta prosessista johon kuuluu vedyn tuotanto, tarvitaan, jotta saadaan edelleen parannettua energiasaantoja mädätyslaitoksilta. (Arnold 2013.)

8.4 Bioetanoli

Tässä työssä on keskitytty enemmän mikrolevän tuomaan hyötyyn bioöljyn ja tätä kautta biodieselin kanssa. Mikro- ja makrolevästä on kuitenkin mahdollista tuottaa myös bioetanolia fermentoimalla (mädättämällä), hyödyntäen niiden hiilihydraatteja hiivan läsnäollessa. Useiden hydrolyysiprosessointien jälkeen on mahdollista tuottaa mikrolevästä bioetanolia fermentoimalla. Levästä on mahdollista saada maksimaalinen hyöty ensin erottamalla siitä öljy, jonka jälkeen keskitytään itse bioetanolin tuottamiseen.

Vedessä elävät levät eivät tarvitse rakenteellisia biopolymeerejä kuten hemiselluloosaa ja ligniiniä, jotka ovat tarpeellisia maalla eläville kasveille. Tämä tekijä yksinkertaistaa bioetanolin tuotantoprosessia. Hyödyllisiä mikroleviä näihin käyttötarkoituksiin korkeiden tärkkelyspitoisuuksiensa puolesta ovat mm. *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas* sekä *Scenedesmus*. Kuten mikrolevät, myös makrolevät soveltuvat etanolin tuotantoon. Kokonaan puuttuva tai alhainen ligniinipitoisuus yksinkertaistaa hydrolyysiprosessia. (Özçimen & Inan 2015.)

Etanolin tuottaminen levästä perustuu levän polysakkaridien fermentointiin, näitä ovat tärkkelys, sokeri ja selluloosa. Mikrolevän kohdalla niiden hiilihydraattipitoisuus voi olla jopa 70 % tietyissä olosuhteissa. Pitoisuus vaihtelee kuitenkin suuresti välillä 26–70 %, kun mukaan otetaan makrolevät ja eri levälajikkeet. Suurin osa mikrolevän soluseinämän polysakkarideistä ja tärkkelyksestä voidaan fermentoida etanolintuotantoa varten. (Özçimen & Inan 2015.)

Makrolevän hiilihydraattipitoisuudet ovat vastaavasti viherlevissä 25–50 %, punalevissä 30–60 % ja ruskolevissä 30–50 %. Makrolevälajikkeita, joilla on korkeita polysakkaridipitoisuuksia, ovat mm. *Ascophyllum* (42–70 %), *Prophyra* (40–76 %) ja *Palmaria* (38–74 %). (Özçimen & Inan 2015.)

9 Yhteenveto

Mikrolevän kykyjä on tutkittu jo vuosikymmeniä ja kehitys jatkuu edelleen. Nykyaikana levä osoittaa lupaavuutta hiilineutraalina energianlähteenä, mikä toisi helpotusta tämän hetken jatkuvasti hupeneviin öljyvarantoihin ja kiristyviin päästörajoituksiin.

Eri levälajikkeet tuovat mahdollisuuksia solukasvuun riippumatta maantieteellisestä sijainnista tai vallitsevista olosuhteista. Mikrolevän kyky kasvaa ei rajoitu ulkoilmaan ja auringon alle. Ilmaston sen salliessa viljely onnistuu myös ulkoilmassa, samalla hyödyntäen toisen tehtaan hiilidioksidipäästöjä solukasvuun. Suomessakin suoritetuista tutkimuksista selviää tiettyjen lajikkeiden pärjäävän pimeissä olosuhteissa hyödyntäen sokereita energianlähteenä. Lukuisista öljyä tuottavista mikrolevälajeista onnistuu löytää sopiva lajike ja viljelymetodi tarvittavaan sovellukseen ilman, että tarvitaan kilpailua maapinta-alaa vaativien ruokakasvien kanssa.

Levän viljelyssä sen suorituskyky tuottaa onnistuneesti öljyä on todistettu useissa tutkimuksissa ja sen ylivertaisuus maalla viljeltäviin öljykasveihin on osoitettu toistuvasti. Tämän päivän haasteet keskittyvätkin enemmän koko prosessin suunnitteluun niin, että siitä saadaan taloudellisesti kannattavaa. Ei ole järkevää tuottaa polttoainetta teolliseen tai yksityiseen käyttöön sillä ehdolla, että sen hinta on moninkertainen verrattuna perinteisiin fossiilisiin polttoaineisiin.

Levän hyödyt eivät rajoitu vain sen kykyyn kasvaa ja tuottaa öljyä tehokkaasti. Levää voi kasvattaa ravinnoksi tai soveltaa lannoitustarkoituksiin. Vihreä sovelluskohde bio-kaasun ja -etanolin tuotantoon on mädätys eri komponenttien läsnäollessa.

Tämä opinnäytetyö on tarkastelu mikrolevän tämän hetken tuottamisteknologioihin ja sen sovelluksiin, jotka etenevät lupaavaan suuntaan. Löydetty tutkimustieto on kerätty kattavasta lähdeluettelosta, joka koostuu suureksi osaksi tutkimusjulkaisuista ja alan toimijoista. Tällä hetkellä näyttää siltä, että mikrolevän avulla polttoaineteollisuuden väistämättömiä tulevaisuuden haasteita saadaan lievennettyä, ellei kaadettua.

Lähteet

About Jatropha Plant. 2013. Verkkodokumentti. Jatrophabiodiesel. Saatavilla: <http://www.jatrophabiodiesel.org/aboutJatrophaPlant.php?_divid=menu1> Luettu 9.3.2016.

Algae-farms. 2016a. Yrityksen kotisivut. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.algae-farms.gr/>> Luettu 5.4.2016.

Algae-farms. 2016b. Leväpellettikuva. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.algae-farms.gr/wp-content/uploads/2014/05/pellets.jpg>> Luettu 5.4.2016.

Algae Production. 2016. Verkkodokumentti. Schott. Saatavilla: <http://www.schott.com/tubing/english/special_glass/pbr/algae_production.html> Luettu 16.2.2016.

Arnold, Mona. 2011. Aldiga – yhteistyöllä levästä bioenergiaa. VTT. Verkkodokumentti. Saatavilla: <https://www.tekes.fi/globalassets/global/ohjelmat-ja-palvelut/paattyneet-ohjelmat/biorefine/arnold_11-2011.pdf> Luettu 28.2.2016.

Arnold, Mona. 2013. Sustainable algal biomass products by cultivation in waste water flows, VTT Technology 147. Espoo: VTT. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.vtt.fi/inf/pdf/technology/2013/T147.pdf>> Luettu 20.2.2016.

Biodiesel from Algae using Ultrasonication. 2016. Verkkodokumentti. Hielcher. Saatavilla: <https://www.hielscher.com/algae_extraction_01.htm> Luettu 23.3.2016.

Biolan Luonnonlainnoite. 2016. Suomalaisen puutarha-alan yrityksen biolannoitteen myyntisivu. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://www.biolan.fi/suomi/default3.asp?active_page_id=163> Luettu 29.3.2016.

Chen, Chun-Yen; Yeh, Kuei-Ling; Aisyah Rifka; Lee Duu-Jong; Chang, JoShu. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. Biosource Technology Vol 102, Nro 1. s. 71–81.

Chisti, Yusuf. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances Vol 25, Nro 3. s. 294–306.

Connelly, Rhykka. 2011. How algal biofertilizers can accelerate sustainable agriculture. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.utexas.edu/sustainability/pssc/symposium/2011/16/>> Luettu 4.3.2016.

Defender tuning. 2016. Maatalouslaitteiden ja -tuotteiden myyntisivusto, öljypuristimen kuva. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://www.defendertuning.com.au/media/catalog/product/cache/1/image/9df78eab33525d08d6e5fb8d27136e95/1/_/1_neu.jpg> Luettu 30.3.2016.

Evodos 50. 2016. Leväseparaattorin esittelysivu. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.evodos.eu/index.php/equipment/evodos-50.html>> Luettu 4.4.2016.

Extraction of Algal Oil by Mechanical Methods. 2016. Verkkodokumentti. Oilgae. Saatavilla: <<http://www.oilgae.com/algae/oil/extract/mec/mec.html>> Luettu 26.2.2016.

Frequently Asked Questions. 2016. Verkkodokumentti. Oilgae. Saatavilla: <<http://www.oilgae.com/ref/faq/faq.html#ans4>> Luettu 16.2.2016.

Growenergy. 2016. Levärehokuva. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://images.nationalgeographic.com/wpf/media-live/photos/000/241/cache/china-algae-outbreak-shoveling_24140_600x450.jpg> Luettu 5.4.2016.

Halim, Ronald; Kanquah, Michael; Webley, Paul. 2012. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances* Vol 30, Nro 3. s. 739–732.

Hamawand, Ihsan; Yusaf, Talal; Hamawand, Sara. 2014. Growing algae using water from coal seam gas industry and harvesting using an innovative technique: A review and a potential. *Fuel* Vol. 117, osa A s. 422–430.

Havlik, Ivo; Linder, Patrick; Scheper, Thomas; Reardon, Kenneth. 2013. On-line monitoring of large cultivations of microalgae and cyanobacteria. *Trends in Biotechnology* Vol 31, Nro 7. s. 406–414.

Klingerman, Debora & Bouwer, Edward. 2015. Prospects for biodiesel production from algae-based wastewater treatment in Brazil: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 52 s. 1834–1846.

Lam, Man & Lee, Keat. 2012. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnology Advances* Vol 30, Nro 3. s. 673–690.

Lunkka-Hytönen, Maria; Lohtander-Buckbee Katileena; Ruohonen-Lehto, Marja. 2013. Biotekniikan mahdollisuuksia ja sovelluksia – tapaustutkimuslevistä. Helsinki. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://www.btnk.fi/files/pdf/Julkaisu/BTNK_levaselvitys.pdf> Luettu 20.2.2016.

Makrolevien esiintymistodennäköisyys. 2016. Makroleväkuvat. Velmu. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://web.abo.fi/fak/mnf/biol/huso/vitka/metadata/Makrolev_EUNIS_Ormskar.htm> Luettu 29.3.2016.

Manninen, Laura. 2011. Palmuöljy uhkaa sademetsiä. Verkkodokumentti. Saatavilla: <<http://www.taloussanommat.fi/auto-vihertyy/2011/04/21/palmuoljy-uhkaa-sademetsia/20115681/286>> Luettu 9.3.2016.

Raaka-ainetutkimus. 2016. Verkkodokumentti. Neste. Saatavilla:
<<https://www.neste.com/fi/fi/konserni/tietoa-meist%C3%A4/tutkimus-ja-kehitys/raaka-ainetutkimus>> Luettu 25.2.2016.

Sheehan, John; Dunahay, Terri; Benemann, John; Roessler, Paul. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae. s. 3–5. Verkkodokumentti. Saatavilla:
<<http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf>> Luettu 24.2.2016.

Singh, Jasvinder & Gu, Sai. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. Renewable and Sustainable Energy Reviews Vol 14, Nro 9. s. 2596–2610.

Sorsa, Miitrei. 2015. Ledika Oy:n koetuotantoajot 4 ja 5. Tuotantoajodata.

Tubular Glass Photobioreactors. 2016. Verkkodokumentti. Schott. Saatavilla:
<http://www.schott.com/tubing/english/download/algae-brochure_ohne_ror_gb.pdf> Luettu 24.2.2016.

Wang, Bei & Lan, Christopher. 2010. Microalgae for Biofuel Production and CO₂ Sequestration. New York: Nova.

Wen, Zhiyou & Johnson, Michael. 2009. Microalgae as a Feedstock for Biofuel Production. Virginia Cooperative Extension. Verkkodokumentti. Saatavilla:
<https://pubs.ext.vt.edu/442/442-886/442-886_pdf.pdf> Luettu 1.3.2016.

Who's in the lead? Algae around the world. 2012. Verkkodokumentti. Biofuels Digest.
<<http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2012/01/12/whos-in-the-lead-algae-around-the-world/>> Luettu 1.4.2016.

Zhou, Wenguang; Chen, Paul; Min, Min; Ma, Xiaochen; Wang, Jinghan; Griffith, Richard; Hussain, Fida; Peng, Pu; Xie, Qinglong; Li, Yun; Shi, Jian; Meng, Jianzong; Ruan, Roger. 2014. Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. Renewable and Sustainable Energy Reviews Vol 36 elokuu 2014, s.256–269.

Özçimen, Dinem & Inan, Benan. 2015. An Overview of Bioethanol Production From Algae, Biofuels - Status and Perspective. InTech. Verkkodokumentti. Saatavilla:
<<http://www.intechopen.com/books/biofuels-status-and-perspective/an-overview-of-bioethanol-production-from-algae>> Luettu 15.3.2016.

Mikroleviä eri viljelyolosuhteissa

Taulukossa on lueteltuna eri mikrolevälajeja eri viljelyolosuhteissa. Eri olosuhteet aiheuttavat erilaisia tuloksia biomassantuotannossa, lipidipitoisuudessa ja lipidintuotannossa. (Chen ym. 2011.)

Mikrolevälaji	Viljelyolosuhteet	Biomassantuotanto (g/L/d)	Lipidipitoisuus (% kuivapainosta)	Lipidintuotanto (mg/L/d)
Botryococcus braunii	Fototrofinen ^a	0,03	20,8	5,5
Chaetoceros calcitrans	Fototrofinen ^a	0,04	39,8	17,6
Chaetoceros muelleri	Fototrofinen ^a	0,07	33,6	21,8
Chlorella emersonii	Fototrofinen ^b	0,04	25,0-34,0	10,3-12,2
Chlorella emersonii	Fototrofinen ^a	0,03-0,05	29,0-63,0	8,1-49,9
Chlorella minutissima	Fototrofinen ^a	0,02-0,03	31,0-57,0	9,0-10,2
Chlorella protothecoides	Fototrofinen ^a	0,002-0,02	11,0-23,0	0,2-5,4
Chlorella protothecoides	Heterotrofinen ^f	4,0-4,4	43,0-46,0	1881,3-1840,0
Chlorella protothecoides	Heterotrofinen ^c	2,2-7,4	50,3-57,8	1209,6-3701,1
Chlorella protothecoides	Heterotrofinen ^{c,g}	2,00	46,1	932,0
Chlorella protothecoides	Heterotrofinen ^c	1,7-2,0	43,0-48,7	732,7-932,0
Chlorella sorokiniana	Fototrofinen ^a	0,003-0,005	20,0-22,0	0,6-1,1
Chlorella sorokiniana	Fototrofinen ^a	0,23	19,3	44,7
Chlorella sp.	Fototrofinen ^a	0,23	18,7	42,1
Chlorella sp.	Fototrofinen ^a	0,37-0,53	32,0-34,0	121,3-178,8
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^a	0,10	6,6	6,9
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^a	0,01	33,0-38,0	4,0
Chlorella vulgaris	Heterotrofinen ^{c,d}	0,08-0,15	23,0-36,0	27,0-35,0
Chlorella vulgaris	Mixotrofinen ^{c,e}	0,09-0,25	21,0-34,0	22,0-54,0
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^b	0,18	5,1	7,4
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^a	0,03-0,04	18,0-40,0	5,4-14,9
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^b	0,02-0,04	28,0-58,0	11,2-13,9
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^a	0,17	19,2	32,6
Chlorella vulgaris	Fototrofinen ^a	0,20	18,4	36,9
Chlorococcum sp.	Fototrofinen ^a	0,28	19,3	53,7
Dunaliella tertiolecta	Fototrofinen ^b	0,12	16,7	20,0
Dunaliella tertiolecta	Fototrofinen ^a	0,10	60,6-67,8	60,6-69,8
Ellipsoidion sp.	Fototrofinen ^a	0,17	27,4	47,3
Isochrysis sp.	Fototrofinen ^a	0,17	22,4	37,7
Isochrysis sp.	Fototrofinen ^a	0,14	27,4	37,8
Monodus subterraneus	Fototrofinen ^a	0,19	16,1	30,4
Nannochloris sp.	Fototrofinen ^a	0,04-0,35	29,9-40,3	15,6-109,3
Nannochloropsis	Fototrofinen ^a	0,17	29,2	49,7
Nannochloropsis oculata	Fototrofinen ^a	0,37-0,48	22,7-29,7	84,0-142,0
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^b	0,09	28,7	25,8

Mikrolevälaji	Viljelyolosuhte	Biomassantuotanto (g/L/d)	Lipidipitoisuus (% kuivapainosta)	Lipidintuotanto (mg/L/d)
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^a	0,18	30,9	54,8
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^a	0,21	29,6	61,0
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^a	0,20	24,4	48,2
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^a	0,17	35,7	60,9
Nannochloropsis sp.	Fototrofinen ^a	0,17	21,6	37,6
Neochloris oleabundans	Fototrofinen ^{a, b}	0,03-0,15	15,9-56,0	10,7-38,8
Neochloris oleabundans	Fototrofinen ^b	0,09	29	26,1
Neochloris oleabundans	Fototrofinen ^a	0,31-0,63	7,0-40,3	38,0-133,0
Pavlova lutheri	Fototrofinen ^a	0,14	35,5	50,2
Pavlova salina	Fototrofinen ^a	0,16	30,9	49,4
Phaeodactylum tricornutum	Fototrofinen ^a	0,24	18,7	44,8
Porphyridium cruentum	Fototrofinen ^a	0,37	9,5	34,8
Scenedesmus obliquus	Fototrofinen ^b	0,09	17,7	15,9
Scenedesmus obliquus	Fototrofinen ^b	0,06	12,7	7,1
Scenedesmus obliquus	Mixotrofinen ^c	0,10-0,51	6,6-11,8	11,6-58,6
Scenedesmus quadricauda	Fototrofinen ^a	0,19	18,4	35,1
Scenedesmus sp.	Fototrofinen ^a	0,22	9,5	20,7
Scenedesmus sp.	Fototrofinen ^a	0,26	21,1	53,9
Scenedesmus sp.	Fototrofinen ^a	0,21	19,6	40,8
Skeletonema costatum	Fototrofinen ^a	0,08	21,1	17,4
Skeletonema sp.	Fototrofinen ^a	0,09	31,8	27,3
Spirulina maxima	Fototrofinen ^b	0,21	4,1	8,6
Tetraselmis sp.	Fototrofinen ^a	0,30	14,7	43,4
Tetraselmis suecica	Fototrofinen ^a	0,32	8,5	27,0
Tetraselmis suecica	Fototrofinen ^a	0,28	12,9	36,4
Thalassiosira pseudonana	Fototrofinen ^a	0,08	20,6	17,4
	^a CO ₂			
	^b Ilma			
	^c Glukoosi			
	^d Asetaatti			
	^e Glyseroli			
	^f Jerusalemin artisokkahydrolysaatti (JAH)			
	^g Maissipulverihydrolysaatti (CPH)			

Ledika Oy, Tuotantoajo 4

Alkuperäinen versio Ledika Oy:n tuotantoajo 4:n tutkimustuloksista (Sorsa 2016).

26

Notebook No. 2

Date: 23.3.2015 - 24.2015

Tuotantoajo 4

Tavoitteena on tuottaa runsaasti biomassaa etanolineristystä varten. Reaktorin lisättiin 5 l ravinteliuosta (jossa 250 g sokeria, 0,5 l rejektivettä sekä 700 ml perusmediumpöytivistettä (110)) ja 2 l ympäriä (221). Ilmastus asetettiin tasolle 33%. pH:n ja lämpötilan säätöön käytettiin Arduino-ohjauksjärjestelmää. Emäsliuoksena oli aluksi 10% ammoniakki-liuos, joka vaihdettiin 5 M NaOH-liuokseksi. pH:n ja lämpötilan asetusravot olivat 6,5 ja 28 °C.

Pvm	Klo	Abs	Toiminta
23.3.	17		Alustus
24.3.	10	5	Ammoniakki vaihdettiin NaOH-liuokseksi (5 M)
	14	5,9	
	16	6,4	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
25.3.	15	10,7	Pois 5 l, tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 400 ml)
			1. syklin lopussa TN 851 mg/l ja biomassen 5,3 g/l
	21	6,3	
26.3.	11	8,7	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
27.3.	10	12,1	
	12	11,8	
	14		Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
	16	11,9	
28.3.	14	15,0	Pois 2 l, tilalle 2 l (500 g / 1,0 l / 200 ml)
29.3.	18	19,0	Pois 5 l, tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 600 ml)
			2. syklin lopussa TN 105 mg/l ja biomassen 8,6 g/l
30.3.	11	14,2	Pois 2 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
	15	13,9	
31.3.	14	16,9	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
1.4.	15	19,1	Vaihdettiin NaOH-liuoksen tilalle ammoniakki-liuos (10%)
	19	18,1	
2.4.	9	19,0	Lopetus
			3. syklin lopussa TN 452 mg/l ja biomassen 8,8 g/l

Read and Understood By

Signed

Signed

Ledika Oy, Tuotantoajo 5

Alkuperäinen versio Ledika Oy:n tuotantoajo 5:n tutkimustuloksista (Sorsa 2016).

28

Notebook No. 2

Date: 7.4.2015 - 13.4.2015

Tuotantoajo 5

Tavoitteena on tuottaa biomassaa öljyn etanolinieristystä varten, sekä tutkia reaktorin typpipitoisuutta ajan edetessä. Reaktorin lisättiin 5 l ravintoliuosta (jossa 250 g sokeria, 0,5 l rejektivettä sekä 700 ml perusmediumtiivistettä (x10)) ja 2 l ympäriä (22.1.). Ilmatus asetettiin tasolle 33% p_Hn ja lämpötilan säätöä käytettiin Arduino-ohjauksjärjestelmän p_Hn ja lämpötilan asetusarvot olivat 6,5 ja 28 °C.

Pvm	Klo	Abs	Toiminta
7.4.	15		Aloit. NH ₃ -liuos p _H n säädössä
8.4.	10	6,1	
9.4.	11	5,4	Vaihdettiin NH ₃ -liuos NaOH-liuokseksi Pois 5 l (ympäriä), tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 700 ml) 1 syklin lopussa biomassaa 2,8 g/l
	21	6,8	
10.4.	8	6,5	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
	22	12,0	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
11.4.	11	13,3	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
	23	14,0	Pois 5 l, tilalle 5 l (250 g / 0,5 l / 125 ml) NaOH → NH ₃ 2 syklin lopussa biomassaa 6,7 g/l
12.4.	14	11,3	Pois 2 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml) NH ₃ → NaOH
	22	12,4	Pois 1 l, tilalle 1 l (250 g / 0,5 l / 100 ml)
13.4.	9	13,4	Lopetus 3 syklin lopussa biomassaa 7,4 g/l

Tuotantoajan aikana biomassaa tuotettiin ^{125 g} 11,9 g ja tuottamiseen käytettiin yhteensä 2 kg sokeria ja 4 l rejektivettä. Yhden biomassagramman tuottamiseen tarvittiin siis 16 g sokeria ja 32 ml rejektivettä.

Kasvulioksen typpipitoisuutta analysoitin pikatestin LCK 238 avulla. Kasvuliuos sentrifugoitin (8000 g, 10 min) ja typpimääritys tehtiin nestejakeesta. Käytettiin laimennoksia 1:20 ja 1:50 niin, että tulos pysyi pikatestin määrittämissä rajojen sisällä.

Sykli 1		Sykli 2		Sykli 3	
Aika (h)	TN (mg/l)	Aika (h)	TN (mg/l)	Aika (h)	TN (mg/l)
0	284	0	785	15	2320
5	262	11	660	23	1850
19	890	25	404	34	1675
24	1700	38	402		
29	1570	50	362		
43	1630				

Read and Understood By

Signed

Signed