



Jere Tiainen

Sokeripuhdistamon läpimenon optimointi entsyymaattisesti

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

Insinöörityö

24.10.2024

Tiivistelmä

Tekijä: Jere Tiainen
Otsikko: Sokeripuhdistamon läpimenon optimointi entsyymaattisesti.
Sivumäärä: 41 sivua + 1 liite
Aika: 4.11.2024

Tutkinto: Insinööri (AMK)
Tutkinto-ohjelma: Bio- ja kemiantekniikka
Ammatillinen pääaine: Bio- ja elintarviketekniikka
Ohjaajat: Lehtori Markus Räsänen
Kehityspäällikkö Mikko Heiska

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kehittää sokeripuhdistamon osaprosessien läpimenoa. Työ suoritettiin Suomen Sokeri Oy:n toimeksiantona Kantvikin sokeripuhdistamolle. Työn tavoite oli tutkia entsyymien vaikutusta raakasokeriliuoksen suodattavuuteen. Opinnäytetyö on osa jatkuvaa kehitysprojektia, jonka tarkoitus on tehdä sokerin puhdistamisesta energiatehokkaampaa ja kannattavampaa.

Työn tutkimusosan analyysinä toimivat suodatusanalyysit suodatuslaitteistolla ja koostumukselliset analyysit HPLC-kromatografilla. Työssä tutkittiin mahdollisimman hyvin puhdistusprosessia edustavaa raakasokerinäytettä. Suodatuslaitteisto toimi työssä sokeripuhdistamon suodatusosaprosessia simuloivana tekijänä. Suodatusanalyysit koostuivat kahdesta pääanalyysistä, suodatusnopeudesta ja suodatuksen tehokkuudesta. Koostumusanalyysit tehtiin, jotta saatiin selvyyttä entsyymien vaikutuksesta raakasokerinäytteessä. Raakasokeri ja laboratorioanalyysit valittiin kirjallisuuden ja yrityksen tavoitteiden mukaan.

Opinnäytetyön analyysien tulokset näyttivät, että testatut entsyymit vaikuttivat positiivisesti suodatuksiin. Erityisesti suodatuksien täydellisessä tapahtumisessa oli huomattava vaikutus vertailusuodatusten ja entsyymisuodatusten välillä. Nestekromatografilla suoritettujen analyysien tuloksista huomattiin, että entsyymit aiheuttivat spesifejä reaktioita eivätkä pilkkoneet sakkaroosiyksiköitä.

Avainsanat: Sokeripuhdistamo, läpimeno, entsyymi, sakkaroosi, suodattavuus

Abstract

Author: Jere Tiainen
Title: Optimization of Throughput in Sugar Refinery Process by Usage of Enzymes.
Number of Pages: 41 pages + 1 appendix
Date: 4 November 2024

Degree: Bachelor of Engineering
Degree Programme: Biotechnology and Chemical Engineering
Professional Major: Biotechnology and Food Engineering
Supervisors: Markus Räsänen, University Lecturer
Mikko Heiska, Development Manager

The purpose of this thesis was to improve the throughput in sugar refining. This thesis was commissioned by Suomen Sokeri Oy for their sugar refinery in Kantvik. The aim of the thesis was to study the effects of enzyme use in the filterability of a raw sugar solution. This thesis is a part of an ongoing development project aimed at making sugar refining more profitable and energy efficient.

The research part of the thesis consists of filterability analyses using a filtration apparatus, and compositional analyses using an HPLC chromatograph. Analyses were conducted on a raw sugar solution. The filtration apparatus used simulated the filtration conditions in use at the refinery. Filtration analyses consisted of two main analyses, filtration rate and filtration efficiency. The compositional analyses were conducted to gain insight on the enzymatic reactions taking place in the raw sugar medium. Laboratory analyses and the raw sugar were selected according to literature as well as the objectives of the company.

The results of the thesis show that the enzymes tested had a positive effect on the tested raw sugar. A significant effect was found in the filtration efficiency between reference samples and the enzyme samples.

The results of the analyses show that enzyme use had a positive effect on the tested raw sugar, especially to the filtration efficiency. Results of the compositional analyses show that the enzymes tested induced specific reactions. Importantly the compositional analyses show that the tested enzymes did not decompose the sucrose molecules into its monosaccharide units.

Keywords: sugar refinery, throughput, enzyme, sucrose, filterability

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Sokeri	2
2.1	Monosakkaridit	3
2.2	Sakkaroosi eli pöytäsokeri	5
3	Sokerinpuhdistamon toiminta yleisesti	7
3.1	Raakasokeri	8
3.2	Epäsokerit	9
4	Entsyymit	13
4.1	Entsyymikinetiikka	15
4.2	Entsyymit elintarviketeollisuudessa	16
4.3	Entsyymit sokerin puhdistuksessa	16
4.4	Entsyymiseokset	17
5	Kantvikin sokeripuhdistamo eli Porkkalan tehdas	18
5.1	Affinointi eli raakasokerin esipuhdistus	19
5.2	Saitto	20
5.3	Suodatusprosessit ja puhdistus	21
5.4	PCC	22
5.5	Entsyymien käyttö sokerinpuhdistamolla	23
5.5.1	Hyödyt	23
5.5.2	Mahdolliset ongelmat ja haitat	25
6	Materiaalit ja menetelmät	26
6.1	Raakasokeri	26
6.2	Entsyymit	28
6.3	Analyysilaitteistot	28
7	Tulokset ja tulosten tarkistelu	33

7.1	Suodatusanalyysien tulokset	33
7.2	HPLC-analyysien tulokset	36
7.3	Työn tuloksiin liittyvä epävarmuus	37
8	Yhteenveto	38
	Lähteet	40

Liite 1: Analysoitavan raakasokerin tunnetut ominaisuudet

Lyhenteet

- Affinointi: Raakasokerin esipuhdistus – raakasokerikiteiden ulkopinnan filmin pehmentäminen ja yleinen puhdistus.
- Brix°: Sokerin ja muiden liuennneiden kiintoaineiden määrä liuoksessa. Käytännössä sokeriteollisuudessa Brix° kertoo liuoksen sokeripitoisuuden.
- Mehu: Sokeripuhdistamoilla käytössä oleva termi sokeriliuokselle, joka on puhdistettu ja valmis kiteytysvaiheisiin
- Melassi: Sokeripitoinen tumma liuos, josta ei tehokkaasti voida palauttaa sakkaroosia takaisin puhdistusprosessiin.
- PCC: Precipitated Calcium Carbonate – Saostettu kalsiumkarbonaatti. – CaCO_3
- Pol: Polarisaatio. Puhdistamoilla ja sokeriteollisuudessa paljon käytetty termi sakkaroosin absoluuttiselle määrälle näytteessä.
- Saitto: Puhdistuksenprosessi, jossa sokeriliuos puhdistetaan kemiallisesti saostamalla.

1 Johdanto

Tämä insinööri työ tehtiin Suomen Sokeri Oy:n Kantvikin sokeripuhdistamon toimemksiantona kehitystyöksi sokeripuhdistusprosessiin.

Sokeripuhdistamojen päätuote on pöytä sokeri eli sakkaroosi. Sakkaroosi on kahden sokeriyksikön yhdiste eli disakkaridi. Sakkaroosimolekyylin tapauksessa yhdistyneinä ovat yksi glukoosimolekyylillä ja yksi fruktoosimolekyylillä. Sakkaroosia sisältäviä kasveja ovat pääasiassa sokerijuurikas ja sokeriruoko [1, s 1163–1165]. Ennen sokeripuhdistamolle saapumista sokerikasvi on esipuhdistettu raakasokeriksi yleensä raakasokerin tuottomaassa. Raakasokeri toimii sokeripuhdistamojen raaka-aineena, ja puhdistamon tiloissa se saatetaan lopulliseksi kuluttajakelpoiseksi ja puhdistetuksi sokerituotteeksi [2, s 446].

Suomen Sokeri Oy:n Kantvikin tuotantolaitos aloitti toimintansa vuonna 1965 Kirkkonummen Kantvikissa. Tästä sokeripuhdistamosta käytetään tässä työssä sen yleisessä käytössä olevaa nimeä Porkkalan tehdas epäselvyyksien välttämiseksi. Sokeripuhdistamo tuottaa monenlaisia sokerituotteita, kuten erilaisia kide- ja nestesokereita.

Sokeripuhdistamoiden puhdistusprosessissa raakasokeri liuotetaan, ja puhdistetaan monien osaprosessien kautta. Lopuksi sokeriliuos saatetaan halutuksi tuotteeksi. Puhdistusprosessin tarkoituksena on tuottaa halutun puhtauden ja ulkonäön omaava tuote mahdollisimman tehokkaasti.

Tämän insinööri työn tarkoitus oli kehittää ja optimoida Porkkalan tehtaan kidesokerituotannolle oleellisia mehupuhdistus-vaiheita. Mehupuhdistusvaiheita pyrittiin optimoimaan entsyymiratkaisulla. Mehupuhdistuksessa sokeriliuos puhdistetaan kemiallisesti saostamalla ja sen väriä korjataan värinpoistoprosessein. Tarkemmin työ keskittyy mehupuhdistuksen saitto-osaprosessiin ja sen jälkeiseen karkeasuodatusvaiheeseen [2, s. 455].

Saitto-osaprosessissa sokeriliuos puhdistuu kemiallisen saostamisen kautta. Saiton jälkeen sakkaroosiliuos ja saostunut aines erotetaan suodattamalla. Sakkaroosiliuoksen määrää, jonka suodatuskoneistot pystyvät suodattamaan ennen pesusekvenssiä, kutsutaan suodatuksen läpimenoksi [2, s. 455]. Suodatuksen läpimeno hidastuu, kun saostunut sakka ja epäpuhtaudet tukkivat suodattimen suodatuskankaan. Läpimenon ollessa matala toimii se pullonkaulana koko sokeripuhdistusprosessille. Tätä matalaa läpimenoa halutaan parantaa, jotta tuotantokapasiteetti ja energiatehokkuus kasvaisivat [3, s. 81].

Läpimenoon voidaan vaikuttaa käytössä olevan raakasokerin ominaisuuksia parantamalla. Yksi tapa, jolla raakasokerin ominaisuuksiin voidaan vaikuttaa, ja se mihin tässä työssä keskitytään, on entsyymaattisten reaktioiden hyödyntäminen. Työn tarkoituksena on selvittää, onko entsyymiseoksen lisäämisellä parantava vaikutus suodatettavan raakasokerin ominaisuuksiin ja siten prosessin tehokkuuteen [3, s. 81].

Entsyymien käyttö elintarviketuotannossa ei ole epätavallista. Sokeripuhdistamoissa entsyymien vaikutus perustuu valittujen entsyymien kykyyn pilkkoa epä-sokereita ja polysakkarideja sokeriliuoksessa. Lisäksi tietyillä entsyymeillä on sokerin puhdistukselle suotuisia vaikutuksia, esim. sokeriliuosten väriä korjaavat ja sokerikiteen muotoa parantavat vaikutukset [3, s. 81–82].

Työn kokeellisessa osassa sokerin puhdistusprosessin läpimenon entsyymaattisia reaktioita simuloitiin laboratoriomittakaavassa valituin analyysein. Tulosten perusteella nähdään, onko entsyymiseoksen käytöllä ollut huomattavaa vaikutusta tutkittaviin liuoksiin. Analyyseistä nähdään myös määrällisesti millaisia muutoksia entsyymit saavat aikaan sokeriliuoksessa. [3, s. 81–82].

2 Sokeri

Sokerit ovat hiilihydraatteja, eli ne muodostuvat pääosin hiiliatomeista, vetyatomeista ja happiatomeista. Ihmisen käytössä sokerilla tarkoitetaan yleensä

mono- ja disakkarideja, joiden päähyöty on makeuttamisessa. Eniten tuotettu ja makeuttamiseen käytetty sokeri on sakkaroosi [1, s. 1164–1165]. Mono- ja disakkaridien lisäksi on pidempiketjuisia sokerihiilihydraatteja. Näitä ovat oligo- ja polysakkaridit. Oligo- ja polysakkaridit eivät käytännössä lukeudu sokereiksi vaan ne muodostuvat monosakkaridiyksiköistä [4].

Sokerit jaetaan sokeriyrksiköiden määrän mukaan monosakkarideihin, disakkarideihin, oligosakkarideihin ja polysakkarideihin. Monosakkaridilla tarkoitetaan yksittäistä sokerimolekyyliyksikköä, kun taas disakkaridissa on kaksi sokeriyrksikköä liittyneenä toisiinsa. Oligosakkaridissa on kolmesta kymmeneen sokeriyrksikköä. Polysakkarideiksi lasketaan kaikki yli kymmenen sokeriyrksikön sokeriketjut. Pitkäketjuisissa sokereissa sokeriyrksiköt liittyvät toisiinsa muodostaen ketjumaisen rakenteen [1, s. 1414]. Sokeriyrksiköidenketjun juostetta pystytään pilkkomaan takaisin pienemmiksi sokerijuosteiksi tai yksittäisiksi monosakkarideiksi [5]. Sakkaridiketjuissa monosakkaridiyksiköt ovat toisiinsa liittyneinä glykosididoksiksi kutsutuilla kemiallisilla sidostyypeillä [1, s. 1414].

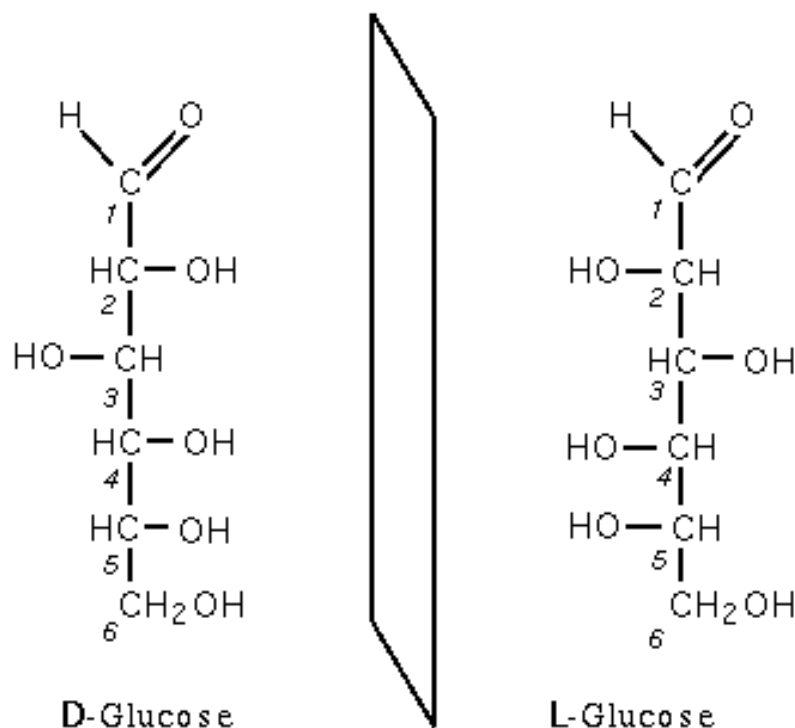
2.1 Monosakkaridit

Monosakkaridit ovat yksinkertaisia sokereita. Kaikilla monosakkarideilla on hiilirunko. Monosakkaridit nimetään hiilirungon hiiliatomien määrän ja hiilirungosta lähtevien funktionaalisten ryhmien mukaan. Tämän työn kannalta tärkeimmät monosakkaridit ovat glukoosi ja fruktoosi, sillä ne muodostavat yhdessä sakkaroosi-disakkaridin eli pöytäsokerin [6].

Kaikilla yleisimmillä monosakkarideilla on omat puhekieliset yleisnimensä kuten glukoosi- tai fruktoosisokeri. Nämä monosakkaridien yleisnimet avautuvat todellisuudessa kemialliseksi nimeksi, josta selviää rakenteellisia ja funktionaalisia ominaisuuksia kustakin monosakkaridista. Lisäksi monosakkaridiyksiköiden yhdistyessä nimeen liittyy sidoksen nimi [6].

Yleiset monosakkarideista puhuttaessa käytettävät etuliitteet ovat sen enantiomeeri-muoto (kuva 1), jota kuvataan etuliitteillä L tai D ja stereoisomeeri-

muoto (kuva 1), jota kuvataan etuliitteellä α tai β [6]. Enantiomerian ja stereoisomerian merkitystä monosakkarideissa avataan tulevissa kappaleissa.

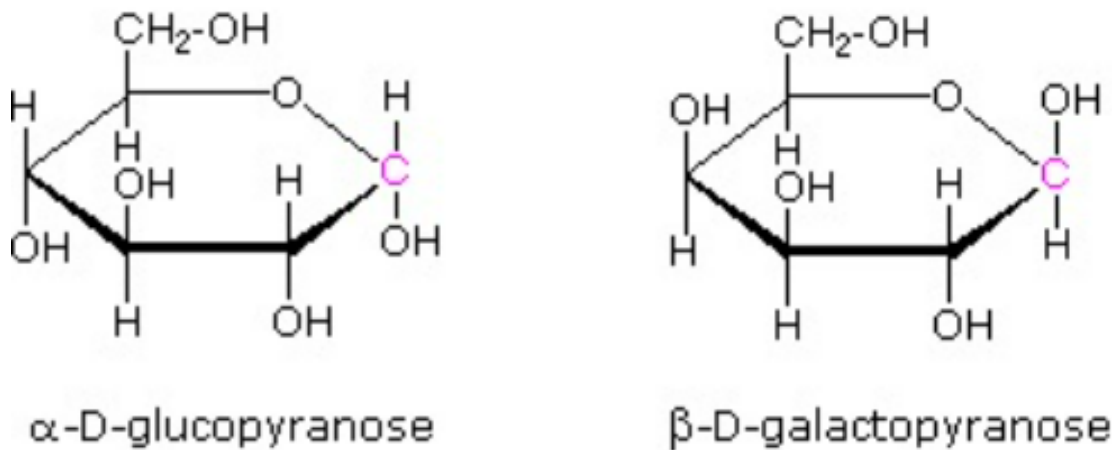


Kuva 1. Havainnollistava kuva glukoosin kahdesta mahdollisesta enantiomeerimuodosta. glukoosimolekyylit on kuvattu toistensa peilikuviksi havainnollistamaan samaa rakennetta, mutta eriävää muotoa. Kuvan glukoosimolekyylit on esitetty Fisherin projektiossa.

Monosakkaridin enantiomeeri-muoto selviää Fisherin projektioista hiilirungon karbonyyliryhmästä kauimmaisen runkoihiilen OH-ryhmän suunnan mukaan (kuva 1). Kun OH-ryhmä osoittaa oikealle puolelle, kyseessä on D-muoto. Kun taas sama OH-ryhmä osoittaa vasemmalle, on kyseessä L-muoto. Kaikki luonnossa tavatut monosakkaridit ovat D-muodossa [4].

Monosakkaridimolekyylillä on ominainen stereoisomeerimuoto. Monosakkaridia kutsutaan α -muodoksi, jos sen karbonyylihiilestä (kuva 2, liilalla värillä kuvattu hiiliatomi) lähtevä alkoholiryhmä (-OH) on hiilirengasrakenteen yläpuolella

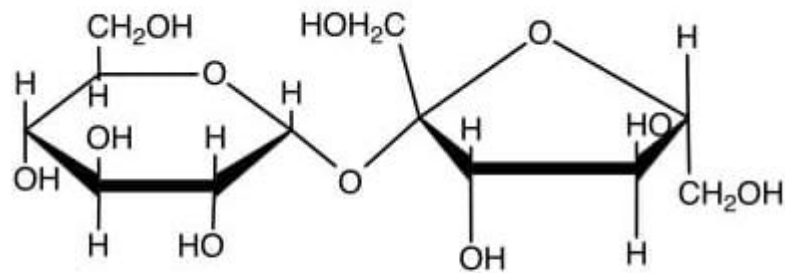
Haworthin projektiossa. Vastaavasti β -muodossa alkoholiryhmä on kuvattu alaspäin. Näitä kahta versiota kutsutaan toistensa anomeereiksi anomeerihiihen eli reaktiopisteenä toimivan hiilen mukaan [7].



Kuva 2. Sakkaroosin yhdessä muodostavien monosakkaridien, α -D-glukoosin ja β -D-glukoosin muoto Haworthin projektiossa. Molekyylien anomeerihiihi on merkitty liilalla värillä. Anomeerihieilestä lähtevän -OH-ryhmän puoli karbonyyliryhmään verrattuna määrittää muodon. α -muodossa -OH-ryhmä on eri puolella ja β -muodossa vastaavasti samalla puolella kuin karbonyyliryhmä.

2.2 Sakkaroosi eli pöytäsookeri

Sakkaroosi (α -D-glukopyranosyyli-(1 \rightarrow 2) β -D-fruktofuranosidi; kuva 3) on eniten ihmisten hyödyntämä pienen moolimassan sokeri. Sakkaroosin kemiallinen kaava on $C_{12}H_{22}O_{11}$. [1, s. 1163–1165].



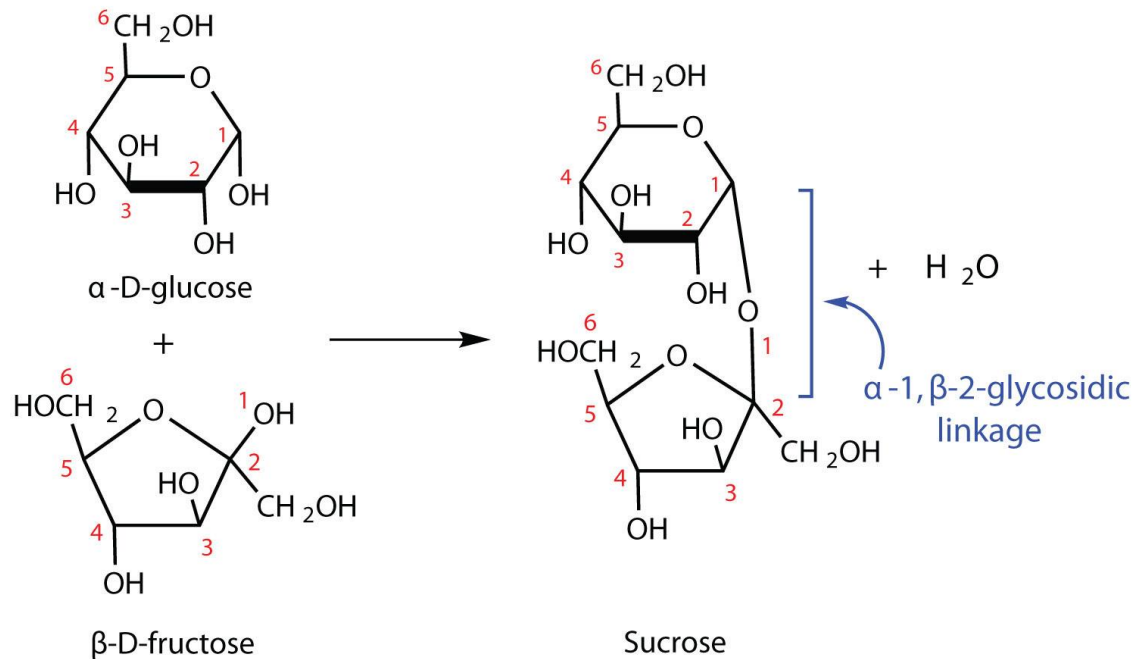
α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D fructofuranose
(Sucrose)

Kuva 3. Sakkaroosimolekyylä eli glukoosin ja fruktoosin muodostama disakkaridi. Kuvassa glukoosiyksikkö (vas.) joka on yhdistynyt fruktoosiyksikköön (oik.) α -1,2-glykosididoksella.

Sakkaroosia muodostuu esimerkiksi kasvien fotosynteesin lopputuotteena. Se toimii myös orgaanisten eliöiden hiilen ja energianlähteenä. Sakkaroosia esiintyy kolmessa eri päämuodossa: kristallisena eli kiteenä, amorfisena eli lasimaisena ja nestemäisenä. Sakkaroosin päähyöty ihmisen käytössä on elintarvikkeissa makeuttajana ja ravitsemuksellisesti energian lähteenä [1, 1163–1165].

Disakkaridit jakautuvat glykosididoksen muodostumisessa olleiden kemiallisten ryhmien mukaan pelkistäviin ja ei-pelkistäviin disakkarideihin. Tämä termi kuvaa sitä, onko disakkaridin hiilirungossa kemiallisesti avointa ja siten reaktiivista hiiltä. Jos disakkaridimolekyylin hiiliketjussa on reaktiivinen hiili, se kykenee hapettumaan eli glykosididoksella kykenee purkautumaan ja vapauttamaan monosakkaridit toisistaan, jolloin on kyseessä pelkistävä sokeri. Ei-pelkistävällä sokerilla tarkoitetaan sokeria, jolla ei ole hiiliketjussa anomeerista eli vapaata hiiliatomia, jolloin pelkistystä ei tapahdu heikoilla pelkistävillä reagensseilla. Ero pelkistävien ja ei-pelkistävien sokereiden välillä on merkittävää, koska se

kertoo, miten sokeri pystyy hajoamaan monosakkaridiksi [6]. Sakkarosiimolekyyli on *ei-pelkistävä* sokeri [1, s. 1170].



Kuva 4. Sakkarosiimolekyylin muodostuminen glukoosi- ja fruktoosiyksiköstä. Kuvassa sinisellä glykosidisidos, joka on muodostunut monosakkaridien välille.

3 Sokeripuhdistamon toiminta yleisesti

Sokeripuhdistamon päätoimena raakasokeri puhdistetaan erinäisin osaprosessein niin, että lopputuloksena on haluttuun puhtauteen ja kirkkauteen saatettu sakkarosisokeri. Sokeripuhdistamoiden tyypillisiä lopputuotteita ovat kidesokerit, nestesokerit (siirapit ja melassit) ja päätuotteiden ulkopuoliset myytävät sivuvirrat, kuten esimerkiksi rehuteollisuuden käyttämät melassit. [2, s. 51]

Sokerin puhdistus on vanha prosessi, ja viime vuosikymmeninä siitä on tehty valtavasti tutkimusta. Viime vuosina on pyritty erityisesti kehittämään

puhdistusta energia- ja kustannustehokkaammaksi. Lähtökohtaisesti tehokkuutta nostetaan energiasäästöillä ja sokerin takaisinoton optimoinnilla [2, s. 51].

Sokerinpuhdistusprosessi seuraa pääpiirteisesti seuraavia vaiheita:

- affinointi eli esipuhdistus
- mehupuhdistus
- kiteytysvaiheet
- kuivaus
- säilö.

Tämä kuvaus puhdistuksen vaiheista on hyvin pelkistetty eikä näytä esimerkiksi prosessin sisäisiä sivuvirtoja ja raaka-aineen esivaiheita ennen puhdistamoa [2, 450–451].

Tätä prosessivuota kaikki sokeripuhdistamot pääsääntöisesti noudattavat. On kuitenkin mainittava, että puhdistusprosessit ovat hyvin puhdistamokohtaisia. Puhdistamojen ero johtuu toimipaikkakohtaisista haasteista ja suuresta raaka-ainevaihtelusta. [8]

3.1 Raakasokeri

Raakasokeri on nimitys sokerikasviviljelmiltä ja pelloilta korjatusta ja esikiteytystä sakkaroosista. Sakkaroosin uuttaminen ruokoaineksesta ja raakasokerikiiteytys tehdään usein sokeriruo'on viljelymaassa, josta se rahdataan puhdistamolle. Tämä esikiteytys tehdään lähinnä siirtosyistä, koska korjattu ruokosato pilaantuu nopeasti. Raakasokerin koostumus on massaprosenttiltaan pääasiassa sakkaroosia (n. 89–97 m-%). Sokeripuhdistamolla raakasokerista

poistetaan epäpuhtaudet ja roskat. Lisäksi sakkaroosipitoisuus nousee puhdistamokäsittelyssä korkeammaksi (>99,9 m-%). Puhdistamoprosessi tekee myös puhdistetusta raakasokerista tuotekelpoista [1, s. 1165]. Raaka-aineena raakasokeri halutaan saada puhdistamolle mahdollisimman puhdistuskelpoisena ja kustannustehokkaana. Puhdistamoille saapuva raakasokerin kidehilan sokeripitoisuus on yli 99 °Bx (Brix), kun taas raakasokerikiteen pinnassa olevan filmin sokeripitoisuus on 65 °Bx tai vähemmän [2, s. 446].

Suuri osa puhdistamoprosessissa läpimenoa haittaavista aineista, kuten tärkkelykset, dekstraanit ja muut epäsokerit, tulevat sokeriruokoon sen kasvun aikana. Osa epäsokereista syntyy vasta korjatussa ruokokasvissa liiallisen varastoinnin tai varastointiolosuhteiden johdosta. Suurelta osin varastoinnissa syntyvät epäsokerit ovat peräisin kasvin soluseinästä solukuoleman kautta tai kasvin sisältämien bakteerien ja sienien metabolisten prosessien kautta. Huomattavia määriä epäsokereita ja haitta-aineita siirtyy raakasokeriin viljelmiltä tai viljelypelloilta [2, s. 16].

3.2 Epäsokerit

Raakasokerin mukana puhdistamoihin kulkeutuu monia sakkaroosin kaltaisia aineita, joiden määrää halutaan välttää. Näitä aineita pääsee raakasokerin sekaan ruokokasvin rakenteista ja maaperästä, tai osa muodostuu bakteeritoiminnan kautta säiliöissä tai kuljetuksessa. Nämä epäsokerit jakautuvat polysakkariideihin ja muihin pitkäketjuisiin hiilihydraatteihin. Yleisimpiä ruokosokerin puhdistuksessa tavattavia epäsokereita ovat tärkkelykset, pektiinit, selluloosat ja hemiselluloosat. Harvemmin tavattavia, mutta ongelmia aiheuttavia polysakkarideja ovat esimerkiksi fytoglukaani ja arabinogalaktaani [3, s. 72].

Sokeripuhdistamoiden toiminnassa epäsokerien aiheuttamilta ongelmilta vältetään pääosin tilaamalla raakasokeria, jonka epäsokerimäärät ovat pienet. Jos kuitenkin raaka-aineena käytetään raakasokeria, jonka epäsokeripitoisuus on korkea, tuloksena on huono puhdistettavuus tai hidas suodattavuus. Korkeasti

epäsokeripitoinen raaka-aine on siis epätehokasta puhdistaa eli normaalitilanteissa tällaisia raakasokereita vältetään. Tilanteissa, joissa puhdistetaan epäsokeripitoista raakasokeria, voidaan kuitenkin käyttää erilaisia apuaineita puhdistuksen ja suodatuksen parantamiseksi. Näitä apuaineita ovat esimerkiksi entsyymit, joita käytetään lukuisilla sokeripuhdistamoilla ja sokeritehtailla [3, s. 84–85].

Sokerin puhdistusprosessi alkaa raakasokerin affinoinnilla eli esipuhdistuksella. Affinoinnin alle kuuluu monia osaprosesseja: affinointi, maissaantuminen, affinoitilinkous ja liuotus. Affinoinnin päätarkoituksena on pehmentää raakasokerin pintaan muodostunut siirappifilmi ja poistaa osa raakasokerikiteen ulkopuolisista epäpuhtauksista [2, s. 446–447]. Affinointiprosessien jälkeen esipuhdistetut sakkaroosikiteet liuotetaan ja muodostunut *sokerimehuksi* kutsuttu liuos jatkaa mehupuhdistukseksi kutsuttuun prosessisarjaan.

Mehupuhdistusvaiheisiin kuuluu saitto, suodatus ja värinpoistovaiheet. Mehupuhdistus tapahtuu pääsääntöisesti saitossa, jossa sokerimehu saostetaan saostusreaktoreissa. Saiton toiminta on monimutkainen kemiallinen saostus, jossa pääpiirteittäin sokerimehun pH nostetaan emäksellä ja lasketaan hapolla, jolloin syntyy saostuma. Saostumaan jää epäpuhtauksia sokeriliuoksesta. Saiton jälkeen sokerimehu ja sakka erotetaan toisistaan suodattamalla, ja sokerimehu kirkastetaan vaadittavin värinpoistomenetelmin esimerkiksi värinpoistohartseja käyttäen. Nämä osaprosessit ajavat sokeriliuoksen kiteyttämiskelpoiseen muotoon. [2, s. 450–464].

Sokerimehua kirkastavat ja sen väriä korjaavat vaiheet nimetään käytetyn puhdistusaineen mukaan:

- aktiivihili (hiilitomu ja hiilirae)
- luuhiili
- ioninvaihtohartsi

- valkaisevat aineet.

Mainituista väriä poistavista aineista aktiivihilli ja ioninvaihtohartsit ovat käytössä nykyajan sokeripuhdistamoilla. Luuhiili ja valkaisevat aineet ovat suurilta osin poistuneet sokeripuhdistamojen vakinaisesta käytöstä kannattamattomuuden ja laatuseikkojen takia [2, s. 462–464].

Sokerin puhdistuksen eri vaiheissa muodostuu sivuvirtoja, joita käytetään muiden osaprosessien avustamisessa. Vaihtoehtoisesti näistä sivuvirroista otetaan talteen mahdollisimman tarkkaan kaikki sakkaroosipitoinen aines, jotta raaka-aine-hävikiltä vältytään. Näistä takaisinottoprosesseista (*engl. Remelt & Recovery-processes*) käytetään yleisnimeä jälkipääprosessit [2, s. 494].

Suodatuksen ja värinpoiston jälkeen sokerimehu siirretään kiteyttämävaiheisiin. Näissä vaiheissa sokerimehu halutaan saattaa sellaiseen tilaan, että se alkaa uudelleen kiteytymään. Sokerimehun täytyy saavuttaa tietyt edellytykset, jotta uudelleenkiteytyminen voi tapahtua halutulla tavalla. Sokerimehu haihdutetaan kylläiseksi ja se siirretään keittimeksi kutsuttuun kiteytysreaktoriin, jossa se valmistellaan kiteyttämistä varten, painetta ja lämpötilaa säätämällä. Kun oikea sokeriliuoksen kylläisyys on saavutettu, liuos siemennetään [2, s. 476].

Siemennyksessä keittimeen lisätään pieniä sokerikiteitä (ns. siemenkiteitä) alkoholisuspensiossa. Sokerimehuun syötettyinä pienet siemenkiteet alkavat kasvamaan spontaanisti ylikylläisen sokerimehun ja painesäätelyn ansiosta. Tätä spontaania kiteen kasvua pyritään prosessinohjauksellisesti vain lähinnä nopeuttamaan optimaalisen kiteyttämistilan säilyttämisellä ja ylläpidolla [2, s. 478]. Kun haluttu kidekoko saavutetaan, kiteytys on valmis ja kidesokeri voidaan erottaa keittomehusta eli nestefaasista.

Kidesokeri erotetaan nestefaasista linkoamalla. Linkous on tässä osaprosessissa samankaltainen, kuin aikaisemmin affinoinnin yhteydessä tapahtunut linkous. Tällä tavalla erotettu sakkaroosikide on tuotekelpoista, puhdasta ja tasakokoista kidesokeria [2, s. 479].

Lingoilla erottuva mehu voidaan uudelleenkäsitellä ja kiteyttää. Tällöin ensimmäisestä keitosta talteen otettu keittomehu kyllästetään ja kiteytetään. Näin tapahtuneesta kiteen talteenotosta käytetään nimeä isku (engl. *strike*). Nämä uudelleenkeitot seuraavat samaa kiteytysprosessia kuin ensimmäinen kiteytys, sillä erolla, että jo isketyssä mehussa on huomattavasti matalampi sakkaroosipitoisuus ja epäsokerien ja muiden sivuaineiden määrä jokaista uudelleenkeittoa kohden [2, s. 479].

Yleisimmin kiteytysprosessissa käytetään kolmea tai neljää uudelleenkiteytystä, mutta kiteytysmalleja on lukuisia erilaisia. Näissä kiteytyksissä vaalein kidesokeri erottuu ensimmäisessä kiteytyksessä ja linkouksessa, ja tummemmat ja epäpuhtaammat kiteet myöhemmissä iskuissa. Keittoja voidaan uudelleenkiteyttää edellisen linkouksen keittomehusta niin pitkään, kun keittomehu saadaan kiteytymään, ilman että siitä aiheutuu liikaa ei-toivottuja väri-, maku- tai kemiallisia haittoja tuotetussa kiteessä. Viimeisestä uudelleenkiteytyksestä keittomehu siirtyy jälkipäänprosesseihin eli yleisesti *jälkipäähän*. Näin tehdään, koska viimeisessä kiteytyksessä erottuvassa mehussa on liian korkea epäpuhtauspitoisuus, jonka vuoksi sitä ei voida käyttää kidesokeria valmistettaessa [2, s. 479].

Viimeisen uudelleenkiteytyksen jälkeen eronnut keittomehu siirretään takaisinottoprosessiin, jossa tummasta ja korkeasti epäsokeripitoisesta mehusta otetaan talteen kaikki hyödyllinen. Takaisinotto perustuu yksinkertaiseen periaatteeseen, eli sakkaroosihäviön tulee puhdistuksen aikana olla mahdollisimman pieni. Lisäksi takaisinottoprosessissa luodaan sekundäärituotteita eli ns. jälkipäätuotteita, jotka voidaan käyttää muun muassa rehuna [2, s. 482].

Linkouksen jälkeen sakkaroosikiteet siirtyvät kuivausvaiheisiin. Kuivausvaiheessa sakkaroosikiteiden ulkopuolista kosteutta korjataan, jotta sokeri ei pilaannu säilössä tai siirrossa. Sokerikiteessä voidaan katsoa olevan kolmenlaista kosteutta, johon pyritään vaikuttamaan. Nämä kosteustyytit ovat vapaa kosteus, sidostekosteus ja inherentti- eli hilakosteus. Liiallinen kosteus aiheuttaa paakkuuntumista ja pilaantumista, joten se halutaan korjata optimaaliseksi.

Kuivauksessa eniten vettä poistuu tuotekidesokerista vapaana kosteutena (*engl. Free water*) eli kiteen ulkopuolisena kosteutena. Tämä kuivaus tapahtuu rumpukuivureissa. Lopputuloksena sokerikiteet eivät paakkuunnu yhteen ja muihin kosteudenmuotoihin voidaan vaikuttaa. [2, s. 499].

Sidoskosteus (*engl. Bonded moisture*) on sokerimassan seassa olevaa ei-vapaata kosteutta. Sidoskosteus aiheuttaa pääasiassa paakkuuntumista [2, s.210]. Sidoskosteutta eliminoidaan ilmastamalla sokerikiteitä säilönnän aikana, jolloin kosteutta vapautuu hitaasti sokerimassasta. Sidoskosteutta poistuu myös sokerin siirron aikana, sokerikiteiden hangatessa toisiinsa.

Hilakosteus (*engl. Inherent moisture*) on sakkaroosimolekyylihiilojen sisälle jäänyttä vettä. Hilansisäiseen kosteuteen on vaikea vaikuttaa suoranaisesti, mutta kidesokeri *ehdollistetaan* eli sokeri mukautuu riittävän säilöajan kautta ympäröivään siiloilmaan, jolloin paakkuuntumisongelmia tavataan jatkokäsittelyssä ja pakkauksissa vähemmän. [2, s. 510].

4 Entsyymit

Entsyymit ovat proteiineja, jotka toimivat luontaisia reaktioita kiihdyttävänä tai parantavina aineina. Entsyymireaktiot ovat katalyyttisiä, eli entsyymi ei kulu tai lopullisesti muokkaudu reaktiossa. Entsyymit eivät vaikuta tapahtuvien reaktioiden reaktiotasapainoon, vaan mahdollistavat tasapainotilan saavuttamisen monin kerroin nopeammin kuin ilman entsyymiä [9, s. 453].

Entsyymien käyttö perustuu siihen, miten paljon nopeammin katalysoitu reaktio tapahtuu verrattuna sen käänteiseen reaktioon. Entsyymit ovat helpommin kohdistettavia ja spesifejä muihin katalyytteihin verrattaessa. Kaikki luontaiset prosessit tarvitsevat entsyymejä, ja vaikka luonnolliset reaktiot tapahtuisivat myös ilman entsyymejä, ne tapahtuisivat huomattavan paljon hitaammin. Esimerkiksi kaikkien solujen aineenvaihduntareaktiot perustuvat entsyymien toimintaan [9, s. 453].

Entsyaattisten reaktioiden valjastamisella ihmisen käyttöön on pitkät juuret historiassa, ja entsyymiprosesseja onkin hyödynnetty tuhansia vuosia esimerkiksi erilaisten elintarvikkeiden valmistuksessa, vaikka tuolloin entsyymien toimintaperiaatetta ei ymmärretty. Entsyymien tarkempi tutkimus ja massatuotanto ovat tulleet 1900-luvun aikana suureen suosioon [10, s. 2–3].

Entsyymit nimetään lisäämällä reaktion substraatin eli reaktion kohteen nimen perään suffiksi – aasi. Esimerkiksi kasvien soluseinässä esiintyvää polysakkariidia, selluloosaa, pilkkovasta entsyymistä käytetään nimitystä sellulaasi. Tämän yleisen nimeämismallin lisäksi tieteessä ja tuotannossa on käytössä virallinen standardoitu malli, jonka tuolloinen IUB (*The International Union of Biochemistry*), nykyinen IUBMB, (*The International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) kehitti. Tässä numerointimallissa jokainen entsyymi nimetään numerolla. Kukin numero kuvaa omaa entsyymireaktiotyyppiä. Alla on listattu kaikki 7 entsyymien pääluokkaa järjestyksessä: numero – nimi – reaktiotyyppi [10, s. 3]:

- EC 1 – oksidoreduktaasit – Hapetus-pelkistysreaktioita aiheuttavat entsyymit.
- EC 2 – transferaasit – Entsyymireaktiot, joissa funktionaalinen ryhmä siirtyy substraatilta toiselle.
- EC 3 – hydrolaasit – Entsyymireaktiot, joissa substraattiin liittyy tai siitä poistuu vettä.
- EC 4 – lyaasit – Entsyymireaktiot, joissa eliminoidaan sidoksia, eli substraatissa syntyy kaksoissidoksia tai renkaita
- EC 5 – isomeraasit – Entsyymireaktiot, joissa substraatin ulkomuoto muuttuu

- EC 6 – ligaasit – Entsyymireaktiot, joissa kaksi molekyyliä yhdistetään kovalenttisin sidoksin.
- EC 7 – translokaasit – Entsyymireaktiot, joissa ioni tai molekyyli siirtyy membraanin läpi.

[10, s. 3].

4.1 Entsyymikinetiikka

Entsyymireaktioiden on todettu noudattavan useimmiten ennustettavaa ja laskennallista mallia. Reaktiomallilla pystytään ennustamaan reaktioiden nopeutta ja tehokkuutta eli entsyymireaktioiden reaktiokinetiikkaa. Yksi yleisesti käytetty entsyymikinetiikan malli on Michaelis-Mentenin *malli*, joka on nimetty tunnettujen entsyymireaktiotutkijoiden mukaan, vaikkakin havainnollistavan ja yleisesti käytetyn kaksireaktiomallin formuloi alun perin kemisti Victor Henri. Tämä kaksiosainen reaktiosarja voidaan ajatella seuraavasti: ensimmäiseksi entsyymi (kaava 1, E) ja substraatti (kaava 1, S) reagoivat yhdessä muodostaen entsyymi-substraattikompleksin (kaava 1, ES) [10, s. 4]. Entsyymi-substraattikompleksi käy sitten läpi reaktiosarjan toisen reaktion (kaava 2), jossa ES-kompleksi hajoaa takaisin entsyymiksi (kaava 2, E) ja muokatuksi substraatiksi eli tuotteeksi (kaava 2, P).



Entsyymireaktio on tasapainoreaktio, jossa k_{+1} kuvaa reaktion nopeusvakiota, jolla reaktion ensimmäinen osa tapahtuu ja k_{-1} kuvaa käänteistä reaktiota kompleksista takaisin entsyymiksi ja substraatiksi [10, s. 4].

Käänteisen reaktion nopeusvakion k_{-1} oletetaan Michaelis-Mentenin mallissa olevan pieni verrattaessa vakioon k_{+1} , jolloin entsyymireaktio etenee pääasiassa oikealle [10, s. 4].



Entsyymireaktiosarjan toisessa osareaktiossa syntyvä tuote P on pysyvä muoto, eli osareaktiossa ei tapahdu merkittäviä määriä käänteistä reaktiota, joka palauttaisi tuotteen substraatiksi. Entsyymin irtautuessa substraatista reaktion jälkeen se voi katalysoida seuraavan substraatin reaktion, eli entsyymi ei kulu [10, s. 7].

4.2 Entsyymit elintarviketeollisuudessa

Entsyymeitä on käytetty elintarvikkeiden tuotannossa historiallisesti. Ihmiset hyötyivät tietämättään entsyymitoiminnasta ruuassa, mutta hiljalleen kehityksen ja löydösten myötä tekniikkaa alkoi muodostua entsyymien käytöstä. [9, s. 456]. Entsyymeillä on suuret markkinat, ja esimerkiksi lihateollisuudessa lihatuotteita mureutetaan eri entsyymejä hyväksikäyttäen. Historiallisesti merkittävä entsyymien avulla tuotettu tuote on viini ja muut käymisteitse tuotetut juomat [9, s. 454].

Entsyymien käyttö on kasvanut valtavasti tuhansien vuosien takaisesta. Elintarviketeollisuudessa entsyymikäyttö on tullut edullisemmaksi entsyymejä tuottavien tuotantolaitosten yleistyessä. Viimeisen sadan vuoden aikana onkin hyppäty epämääräisestä ja epätarkasta entsyymien toiminnan ymmärtämisestä spesifiin kuvaan entsyymaattisesta toiminnasta, ja jopa synteettisten entsyymien formulointiin ja tuotantoon [9, s. 456].

4.3 Entsyymit sokerin puhdistuksessa

Entsyymit ovat yleisessä käytössä monilla sokeripuhdistamoilla. Sokeripuhdistamoiden puhdistusprosessit eroavat usein merkittävästi toisistaan [8]. Puhdistamoiden toiminnan takana olevat pääperiaatteet ovat kuitenkin samoja puhdistamosta riippumatta. Tästä syystä entsyymien käytön tarpeellisuus riippuu kunkin sokeripuhdistamon tarpeesta ja ongelmista.

Sokeripuhdistamoilla yleisimmin käytetyt entsyymit ovat α -amylaasi ja dekstranaasi. Nämä entsyymit auttavat primäärisesti tärkkelyksen ja dekstraanin aiheuttamien ongelmien kanssa, mutta niiden yhteisvaikutus entsyymiseoksena on merkittävä ja synerginen [3, s. 85].

α -amylaasi (EC 3.2.1.1) on endohydrolaasi-entsyymi, joka pilkkoo optimiloissa satunnaisesti tärkkelyksen α -1,-4-glykosididoksia. α -amylaasi pilkkoo tärkkelyspolysakkaridijuosteesta dekstriiniyksiköitä, maltoosi- ja glukoosiyksiköitä rikkoen juosteet pienempiin osiin [9, s. 456].

α -amylaasi ei pilko α -1-6-sidoksia eikä polysakkaridijuosteen päätyjen α -1-4-sidoksia, vaan tuottaa keskittyneesti oligosakkaridejä [11, s. 658].

Dekstranaasi-entsyymi (EC-3.2.1.11) katalysoi α -1–6 sidosten pilkkoutumista dekstraanisokereissa (D-glukaanit) vapauttaen glukoosiyksiköitä [3, s. 85].

4.4 Entsyymiseokset

Tutkimuksissa on huomattu, että sokerin puhdistusprosessin raaka-aineongelmiin vaikuttaminen spesifeillä entsyymeillä voi tuottaa arvaamattomia ja ei merkityksellisiä lopputuloksia. Tutkimuksissa on todettu, että spesifin yksittäisen entsyymin käyttö voi sivuuttaa alkuperäiset ongelmat lähtökohdissaan. On huomattu, että tiettyjen synergisesti toimivien entsyymien sekoituksen käytöstä voi olla merkittävää apua kaikkien epäsokereiden ja polysakkaridien vähentämisessä. Midland Research Laboratoriesin löydösten mukaan yksinkertainen jopa vain kahden entsyymin seos pilkkoo kaikkia merkittäviä polysakkarideja (*engl. total polysaccharides*). Tutkimuksen mukaan polysakkaridiongelmiin voidaan vaikuttaa merkittävästi kahden entsyymin seoksella. Sopivan entsyymiseoksen käytön vaikutus on synergisyyden takia enemmän kuin yksittäisten entsyymien vaikutusten summa [3, s. 85–89].

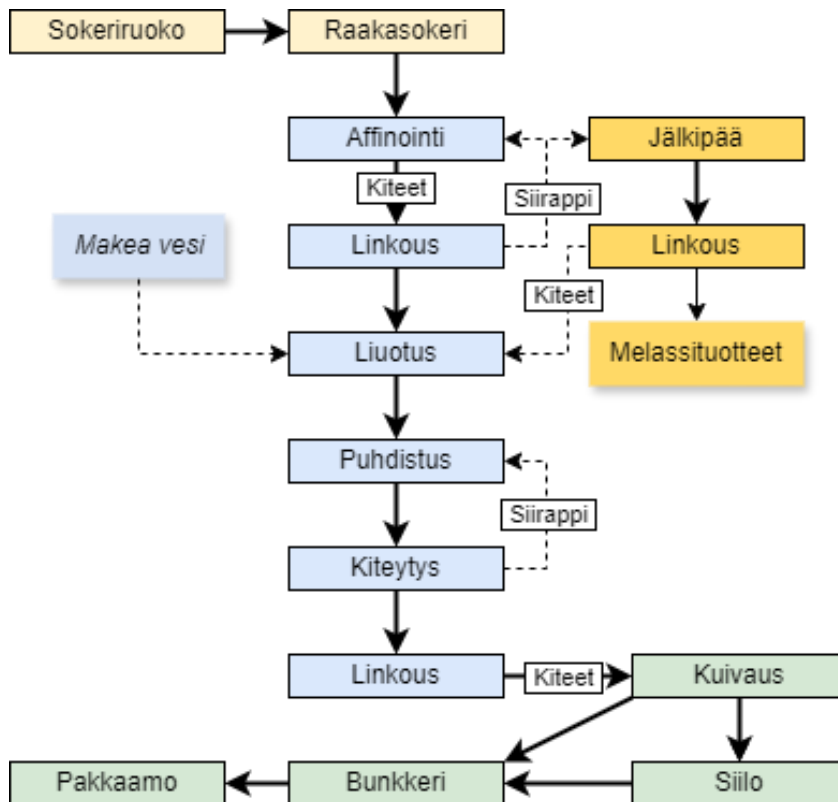
Midland Research Laboratoriesin löydökset tukevat väittämää: ei ole kannattavaa keskittää pilkkovaa entsyymiä yhtä polysakkaridia tai epäsokeria kohtaan,

koska epäsokerien ja polysakkaridien yhteisvaikutuksia läpimenoon on mahdollista tietää tai tutkia kustannustehokkaasti. On kannattavampaa ja tehokkaampaa etsiä monientsyymi tai luoda entsyymiseos, joka toimii puhdistamokohtaisesti [3, s. 89].

5 Kantvikin sokeripuhdistamo eli Porkkalan tehdas

Kantvikin sokeripuhdistamo eli Porkkalan tehdas sijaitsee Kirkkonummella. Puhdistamon toiminta alkoi vuonna 1965. Porkkalan tehtaalla puhdistusprosessi noudattaa suurelta osin kappaleessa 3 kuvailtua yleistä sokerinpuhdistusprosessia.

Sokerin puhdistuksen prosessimallit voidaan jakaa nimellisesti saittoprosessin mukaan. Prosessimalleista Porkkalan tehtaalla on käytössä hiilidioksidilla sakkauttava malli (*engl. carbonation*). Tässä mallissa saostusreaktio saadaan aikaan hapattamalla reaktorissa oleva kalkkimaidolla kyllästetty sokeriliuos. Saostuma ja sokeriliuos ovat vielä reaktorissa sekoittuneina ja näiden faasien erotus tapahtuu vasta suotimissa. Vuokaaviossa (kuva 5) on esitetty sokerin puhdistusprosessin vaiheet Porkkalan tehtaalla.



Kuva 5. Yksinkertaistettu vuokaavio sokerin puhdistus- ja kiteytysprosessista Porkkalan tehtaalla. Kuvassa vaalean keltaisella värillä on kuvattu raaka-aineen ja toimituksen vaiheet, sinisellä puhdistamon puhdistusprosessi, tummankeltaisella uudelleenliuotus- ja jälkipäänprosessit ja vihreällä säilömissen ja pakkaamisen vaiheet. Vuokaaviossa sivuvirrät on kuvattu katkonaisilla viivoilla ja erinäiset tuotteet ja prosessiliuokset laatikoissa ja varjostuksella.

5.1 Affinointi eli raakasokerin esipuhdistus

Puhdistusprosessi Porkkalan tehtaalla alkaa raakasokerin affinoinnilla (kuva 5, affinointi), eli raakasokerikiteen pinnassa olevan siirappifilmin pehmentämisellä ja epäpuhtauksien liuottamisella. Affinointia voidaan pitää ensimmäisenä kahdesta pääpuhdistuksesta, joka raakasokerille tapahtuu Porkkalan tehtaan puhdistusprosessissa [8].

Affinoinnin aikana itse raakasokerikiteet eivät liukene ympäröivään nestefaasiin eli niin sanottuun affinointiryönään, vaan ainoastaan kiteen pinnan epäpuhtaudet ja osa raakasokerikiteen pinnan pehmenneestä filmistä.

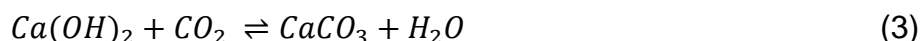
Tämän liukenemisen johdosta raakasokerikiteet ja suuri osa epäpuhtauksista pystytään erottamaan toisistaan. Raakasokerikiteiden ja affinoitiryönän erottaminen toisistaan tapahtuu linkoamalla suurella kierrosnopeudella, jolloin affinoitiryönä erottuu keskipakovoimalla linkoverkon lävitse ja kiteet jäävät linkoverkkoon. Linkoverkkoon jäänyt sokerikide siirretään lingoilta eteenpäin puhdistusprosessissa [2, s. 485–494]. Lingoilta linkouksen aikana erottuvaa affinoitiryönää käytetään sivuvirtana muissa puhdistamon prosesseissa [2, s. 446–447].

Linkoamalla erotettu kidemäinen sokeri siirtyy lingoilta liuotuspannuille (kuva 5, liuotus). Liuotuspannujen tarkoitus on saattaa kidemäinen sokeri nestemäiseen muotoon seuraavia puhdistusvaiheita varten. Liuotuspannuihin syötetään affinoitujen sokerikiteiden lisäksi muita uudelleenpuhdistettavaksi ohjattuja sokeriteita, kuten tuotteeksi kelpaamattomat sokerit. Liuotuspannuille ohjataan myös kidesokerin siirtojen yhteydessä tapahtuvien seulontojen ylitteitä ja alitteita. Näiden sivuvirtojen takaisinoton tarkoitus on kerätä kaikki sakkaroosipitoinen aines takaisin prosessiin. Uudelleenliuotus ja puhdistus tehdään, jotta ei tapahdu sakkaroosihukkaa. Liuotuspannuissa liuennut sokeri on homogeenista ja nestemäistä sokeriliuosta. Tämä sokeriliuos ottaa uuden nimen *sokerimehu* sen siirryessä liuotuspannuilta saittoon eli mehupuhdistukseksi kutsuttujen vaiheiden ensimmäiseen osaan [8].

5.2 Saitto

Saitosta alkavat mehupuhdistukseksi kutsutut puhdistusvaiheet. Nämä puhdistusvaiheet ovat prosessin toinen kattava puhdistuskokonaisuus. Mehupuhdistuksen alle lukeutuvat kaikki vaiheet liuotuksen jälkeen, ennen kiteytysvaiheita (kuva 5, Liuotus - kiteytys). Mehupuhdistuksessa sokeriliuokselle tehdään tärkeä kemiallinen puhdistus ja sokeriliuoksen väriä korjataan erilaisilla vaiheilla [8].

Saitto-osaprosessin päätarkoituksena on jo affinoimalla puhdistetun sokerin jatkopuhdistus kemiallisesti. Saiton reaktoreissa tapahtuu kemiallinen saostusreaktiosarja, jonka sivutuotteena syntyy kalsiumkarbonaattia. Porkkalan tehtaalla on käytössä kalsiumkarbonaattia sivutuotteena tuottava hiilidioksiditoiminen saitto. Alla esitetty reaktioyhtälö (kaava 3) on yksinkertaistettu versio siton toiminnasta [2, s. 455].



Porkkalan tehtaan saitossa ensimmäiseksi liuotuspannuilta tuleva sokeriliuos kalkitaan kalsiumhydroksidin ja veden seoksella. Kalkittu sokeriliuos on hyvin emäksinen (pH jopa 10–12 syöttökohdassa). Emäksinen liuos reagoi kaasumaisen hiilidioksidin kanssa, jolloin tapahtuu kemiallinen saostuminen. Tällöin pH:n laskiessa kalsiumhydroksidi ja sen muodostamat kompleksit reagoivat hiilidioksidin kanssa [2, s. 455].

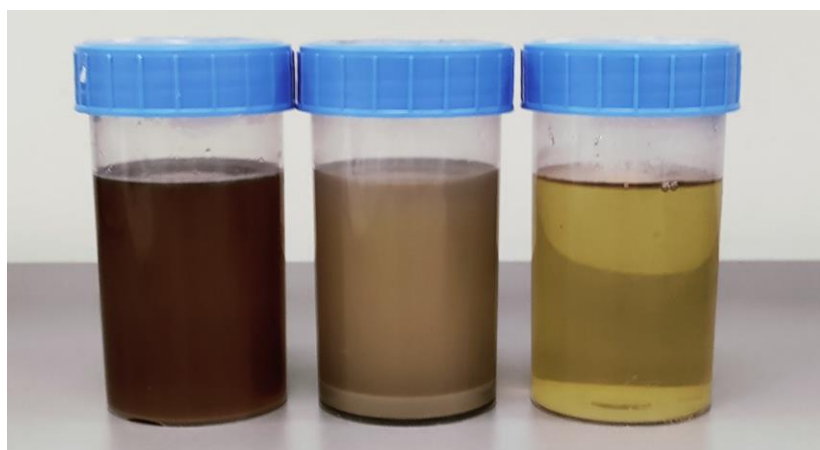
Saitossa saostumalla muodostuvien kiteisten kalsiumkarbonaattihilojen sisään jää liuokseen liukenemattomia epäpuhtauksia. Vastaavasti liuokseen lienneet epäpuhtaudet ja epäsokerit kiinnittyvät saostuvan kalsiumkarbonaattihilan pintaan. Reaktiosarjassa liuoksesta saostuu myös huomattava määrä epäpuhtauksia kalsiumionien muodostaessa suoloja. Kalsiumsuoloina poistuu muun muassa fosfaatteja, polysakkarideja ja väriaineita. Saitossa tapahtuvat reaktiot ovat happo-emästasapainossa, joten minkään epäpuhtauden tai epäsokerin poistuminen ei ole täysin absoluuttista [2, s. 455].

Saostuessaan aineet poistuvat nestefaasista kiinteänä sakkana tai leijailevina partikkeleina. Tässä muodossa sakka ja sokeriliuos voidaan erottaa toisistaan [2, s. 455].

5.3 Suodatusprosessit ja puhdistus

Porkkalan tehtaalla suodatusprosessit alkavat siton jälkeen. Saitosta lähtevä liuos sisältää kemiallisesti puhdistettua sakkaroosia ja saostunutta ainesta eli

sakkaa nestefaasissa. Pääsuotimina heti saiton jälkeen toimivat isot leaf & blade -tyyppiset kangassuodatinkoneistot, joista käytetään nimeä *autosuotimet*. Autosuotimet ovat jatkuvatoimisia, ja ne pysäytetään ainoastaan pesusyklejä varten. Pesusyklin aikana suotimeen kerääntynyt saostussakka pestään pois. Pesusykli tehdään, jotta suodattimen suodatusteho ei laske sakasta tukkeutuneen kankaan vuoksi. Suodatusmäärää ($\text{m}^3/\text{suodatusjakso}$), jonka kukin rinnakkaisista autosuotimista pystyy suodattamaan ennen pesusekvenssiä, kutsutaan läpimenoksi [2, s. 451]. Läpimeno on puhdistusprosessissa indikaattoriarvo, joka kuvaa sokeriliuoksen suodatettavuutta käytännössä. Suodattimien läpimenoon vaikuttavat useat eri tekijät, mutta tässä työssä keskitytään epäsokereiden vaikutuksen vähentämiseen [8]. Kuvassa 6 on havainnollistava kuva suodatusprosessien puhdistavasta vaikutuksesta.



Kuva 6. Prosessiliuokset mehupuhdistuksen erivaiheista. Ennen saittoa (vas.) saitossa (kesk.) ja autosuotimen jälkeen (oik.)

5.4 PCC

PCC (engl. precipitated calcium carbonate) eli saostunut kalsiumkarbonaatti on Porkkalan tehtaalla saitossa käytettävä apuaine. Kalsiumkarbonaatin toiminta perustuu sen suureen reaktiopinta-alaan. PCC-molekyylin pinta toimii saittoreaktioiden tapahtumispaikkana, ja tästä syystä sitä lisätään saittoreaktoreihin.

PCC:n käyttö tehostaa siton kemiallisia reaktioita ja osaltaan myös parantaa suodatettavuutta [8].

5.5 Entsyymien käyttö sokeripuhdistamolla

Entsyymit ovat käytössä jo monessa sokeripuhdistamossa [3, s. 84]. Tässä luvussa käydään läpi teoriassa huomattuja entsyymien käyttöön liittyviä hyötyjä ja mahdollisia haittoja ja haasteita sokerin puhdistusprosessissa.

5.5.1 Hyödyt

Tämän työn kannalta erityisen kiinnostavaa on hydrolaasientsyymien (EC 3) vaikutus sokerin puhdistusprosessiin. Oikein valitulla ja käytetyllä hydrolaasientsyymillä voidaan olettaa olevan seuraavia hyötyjä, kun epäsokerien ja polysakkaridien määrä pienentyy puhdistettavassa sokerissa:

- Tuottokapasiteetin ja tuotantotehokkuuden kasvu suodatusvaiheiden pulonkaulan poistuessa [3, s. 81]. Tehokkuuden ja tuotantomäärän kasvuun liittyy monia entsyymien parantavia vaikutuksia, esimerkiksi läpimenon kasvaminen, joka on yksi työn pääkysymyksistä.
- Sokeriliuoksen liiallisen viskositeetin alentaminen entsyymien pilkkovan vaikutuksen johdosta. Positiivinen vaikutus voidaan nähdä monissa osaprosesseissa, mutta etenkin haihdutuksessa ja kiteytyksessä [8].
- Kidesokerin kidemuoto paranee. Kiteestä halutaan kiteytyksessä tasamuotoista ja saman kokoista, ja epätavallisia sauvamaisia kiteitä syntyy epätasaisen kiteytymisen takia. Sauvamaiset ja terävät (*engl. Needle grain*) kiteet ovat erityisen ei-haluttuja, sillä ne aiheuttavat ongelmia linkouksessa ja sauvamaiset kiteet ovat pilaannuttava ominaisuus tuotteessa [3, s. 82–84]. Sauvamaiset kiteet ovat tunnettu ongelma, ja yleisimmin niitä tavataan sokeripuhdistamolla invertoitumisen ja

sokerimehun liiallisen tuhkan takia [8], mutta polysakkaridit aiheuttavat sauvamaisuutta sakkaroosissa ja myös polysakkaridit muodostavat itse epäkurantteja kiteitä [3, 82].

- Sakkaroosipitoisuusmittausten tarkkuuden paraneminen. Hyöty ilmenee laboratoriomittauksissa, koska tietyt sakkaroosin määriä vääristävät polysakkaridit vähenevät entsyymien johdosta, mikä pienentää sakkaroosimittausten epävarmuutta [1, s. 1171/ 3, s. 81].
- Saittoreaktioiden saanto paranee. Polysakkaridit kykenevät liittämään sakkaroosiyksiköitä saitossa saostuvaan sakkaan, jolloin sakkaroosia ei saada talteen suodatusvaiheissa [3, s. 82]. Entsyymit hajottavat näitä polysakkarideja
- Sokeriliuosten ja sokerikiteiden värin väheneminen. Epäsokerit, kuten tärkkelys, kykenevät siirtymään sokerikidehilan sisään kiteytyksessä, jolloin epäpuhtauksia ja väriainesta siirtyy epäsokerin mukana kidehilaan [3, s. 82, s. 84]. Entsyymit hajottavat näitä epäsokereita.
- Jälkipään sakkaroosin takaisinoton paraneminen. Vaikutus syntyy entsyymien viskositeettia korjaavasta vaikutuksesta, jolloin takaisinoton toiminta paranee [8].
- Konehuoltojen väheneminen. Korkean lämpötilanprosesseissa- ja laitteissa muodostuu karstaa epäsokereiden vaikutuksesta. Etenkin haihduttimia ja lämmönvaihtimia pitää puhdistaa karstasta ja epäorgaanisesta aineksesta, ja karstautumista lisäävien aineiden vähentyessä koneiden ylläpito- ja kunnossapito kustannukset pienenevät [8].

Edellä mainitut entsyymien tuotantoprosessia parantavat ominaisuudet ovat teorialähteissä oletettuja hyötyjä, mutta niiden soveltuvuudesta käytännössä eri sokeripuhdistamoilla ei ole takuuta. Tämän kaltaisia vaikutuksia voidaan

kuitenkin odottaa, mikäli oikea entsyymiseos otetaan käyttöön Porkkalan tehtaan puhdistamoprosessissa.

5.5.2 Mahdolliset ongelmat ja haitat

Elintarviketeollisuudessa tuoteturvallisuus on ensisijaisen tärkeää, sillä lopullisena tuotteena on syötäväksi tarkoitettu elintarvike, jolloin pilaantuneen tuotteen haitta on potentiaalisesti hyvin korkea ja pahimmassa tapauksessa terveysriski. Varteenotettavana ongelmana sokeripuhdistamoille on, että entsyymien lisäys puhdistusvaiheissa voi tuottaa pilaantumista ”jälkipäätuotteissa”. Erityisesti jälkipään melasseihin konsentroituvan α -amylaasin katsottiin olevan mahdollinen este entsyymien lisäykselle puhdistamonprosessiin. Melasseja käytetään erityisesti leipomoteollisuudessa, minkä vuoksi reaktiivisen entsyymien konsentroituminen voisi pahimmassa tapauksessa pilkkoa tärkkelystä asiakkaan käytössä ja pilata näin tuotteita asiakkaan puolella [8].

Pilaannuttavan vaikutuksen takia entsyymi pitäisi saada inaktiiviseen muotoon ennen jälkipään vaiheita, jotta pilaantumiselta vältyttäisiin. Toisin sanoen entsyymien inaktivoiminen tulisi tapahtua ennen kiteytysvaiheita. Porkkalan tehtaan prosessissa on otollisesti haihdutusvaihe osaprosessina, jossa lämpötilat ovat yli 100 °C. Tällä lämpötila-alueella entsyymit denaturoituvat eli inaktivoituvat eivätkä enää pysty toimimaan [8].

On tiedossa, että kaikilla entsyymeillä on ominainen denaturoitumislämpötilansa, jossa entsyymien kolmiulotteinen rakenne hajoaa ja muuttuu juosteiseksi. Esimerkiksi hedelmämeijerijäätelötuotannossa pektinaasiseokset denaturoidaan lämmöllä, jotta pektiinin pilkkonta saadaan loppumaan halutussa vaiheessa tuotantoa [9, s. 457].

Elintarviketeollisuudessa entsyymejä käytetään huomattavasti, ja tutkimusta elintarvike-entsyymien turvallisuudesta on paljon. Lisäksi tiedetään, että elintarvikkeissa käytetyt entsyymit eivät aiheuta oikein käytettyinä allergisia tai patogeenisiä ongelmia lopputuotteissa [10, s. 14].

Yksi merkittävistä mahdollisista esteistä entsyymiseoksen käyttöönotossa soke-ripuhdistamalla tuoteturvallisuusongelmien lisäksi on sakkaroosipitoisen sokerimehun invertoituminen eli sakkaroosimolekyylin hajoaminen monosakkaridiksi-
köiksi. Invertoituminen aiheuttaa suuria ongelmia muun muassa sokerimehun puhdistusvaiheissa ja tuotelinkoamisessa. Invertoituneen sakkaroosin eli invertisokerin ongelmana on sen erilaiset fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet. Nämä erot ilmenevät puhdistusprosessissa esimerkiksi kiteytymisen hankaloitumisena ja kidesokerin muodon ja kidekoon ongelmina [9, s. 464]. Kuitenkaan työssä käytettävien entsyymien aiheuttamiin reaktioihin ei pitäisi kuulua invertoitumista, sillä invertoitumisreaktiossa sakkaroosin monosakkaridien välinen glykosididos (α -1,2-sidos) hajoaa vapauttaen monosakkaridiksi-
köiksi. Työssä käytettävät entsyymit eivät aiheuta invertoivia reaktioita, sillä kumpikaan entsyymeistä ei kykene katkaisemaan α -1,2-glykosidista sidosta [11, s. 659–660].

6 Materiaalit ja menetelmät

Työn analyyseissä käytettiin Porkkalan tehtaan omaa prosessilaboratoriota, jossa suoritettiin kaikki läpimenon ja entsyymien toiminnan analysointi. Laboratoriossa suoritetuissa analyyseissä käytettiin laboratorion omia työohjeita ja henkilökunnan kanssa sovittuja menettelytapoja [13]. Työtä tehdessä tutkittavana raaka-aineena oli käytössä raakasokeri-M, jota otettiin edustava näyte raakasokeribunkkerista työn testejä varten. Raakasokeri-M-näytteestä tehtiin kantaliuos, joka oli pohjana kaikille työn analyysille. Raakasokeri-M:n koostumus tunnettiin ennen työn analyysijä (liite 1), mutta koostumusspesifikaatiossa ei ole tunnettuja rajoja, joten niiden käyttö työn laskuissa ei ollut oleellista, vaan ainoastaan suuntaa antavaa [8].

6.1 Raakasokeri

Työssä käytetyn raakasokerin, raakasokeri-M:n kanssa on ollut huomattavia läpimeno-ongelmia, minkä vuoksi se soveltuu entsyymientestauksiin.

Raakasokeri-M:n ominaisuuksia (liite 1) tarkisteltaessa huomattiin alkoholisementuvien aineiden määrän olevan hyvin korkea (~ 4 000 mg/kg) verrattessa muihin raakasokereihin (~2 000 mg/kg), joita on ollut tuotannon raaka-aineena [8]. Alla kuvassa 7 on raakasokeri-M-näyte ennen raakasokeriliuoksen muodostamista.



Kuva 7. Työssä käytetty raakasokeri-M eli esikiteytetty sokeri.

6.2 Entsyymit

Entsyymit tilattiin työn tutkimusosaa varten ulkopuoliselta yrityskumppanilta. Tilattaviksi entsyymeiksi valittiin tutkimussuunnitelman mukaisesti kaksi eri entsyymiä. Yrityksen tuotevalikoimasta valittiin yksi α -amylaasi-entsyymi ja yksi monisellulaasientsyymi. Molemmat entsyymit ovat elintarvikekelpoisia polysakkarideja pilkkovia hydrolaasientsyymejä. Tilatusta α -amylaasituotteesta käytetään tässä työssä yleisnimeä α -amylaasi tai ”Entsyymi-A.”. Tilatusta monisellulaasientsyymistä käytetään yleisnimeä sellulaasi tai ”Entsyymi-D”. Yleisnimiä käytetään yrityskumppanin tuotteiden kaupallisten nimien välttämiseksi.

6.3 Analyysilaitteistot

Työssä käytettiin kolmea päälaitteistoa raakasokerin analysoimisessa: Büchner suodatuslaitteisto, HPLC-nestekromatografi ja raakasokeriemäliuoksen valmistamisessa käytetty sekoittava lämpöhaude.

Büchner-suodatuslaitteistoa käytettiin raakasokerinäytteiden suodatuksissa. Büchner-suodatuksen periaatteena on alipainetta hyväksikäyttäen saada tutkittava liuos suodatusmateriaalin läpi. Alipaine mahdollistaa täydellisemmän suodatustuloksen ja vain kiinteä aines pidättyy suodatuspaperiin (kuva 8), kun nestefaasi pääsee paperin läpi. Työn laboratoriossa suoritetuissa suodatusanalyysissä käytettiin Büchner-suodatinta. Tällöin reagoitettu raakasokeriliuosnäyte imettiin alipaineella suodatuspaperin läpi ja suodatusaika mitattiin sekuntikellolla. Sekuntikello käynnistettiin, kun laitteiston alipaine kytkettiin päälle ja pysäytettiin, kun suodatuksen lopuksi suodatuspaperi tuli silmämääräisesti ”kuivaksi”. Suodatusanalyysissä oli käytössä Porkkalan tehtaalla jo ennestään käytössä ollut 8.0 μm :n huokoskoon suodatuspaperi (*Cytiva Membrane Filter Cellulose Nitrate 10405076, 8.0 μm , 47 mm*). Suodatuslaitteiston alipaine pidettiin päällä sekuntikellon pysäyttämisen jälkeen ja suodatuspaperia huuhdeltiin ionivaihdetulla vedellä, jotta kaikki suodattuvaaines saatiin suodatuspaperin

lävitse. Suodatuspaperin huuhtelu tehtiin, jotta myöhemmässä vaiheessa tehdyt suodatinpaperin punnitukset vastaisivat tarkemmin todellisuutta [13].

Suodatettujen näytteiden punnitukset (kuva 8) tehtiin analyysivaa'alla kahdessa vaiheessa. Ennen analyysien aloittamista kaikki käytössä olleet suodatuspaperit valmisteltiin suodatuksia varten suodattamalla kuumaa ionivaihdettua vettä kunkin suodatuspaperin lävitse. Suodatuspaperin esivalmistelu tehtiin, jotta mahdolliset säilönnän aikana tarttuneet epäpuhtaudet suodattuisivat pois suodatuspaperin pinnalta. Valmistelu tehtiin suodatuspapereille myös siksi, että sen aikana nähtiin, oliko suodatuspapereissa reikiä tai muita epäedustavan suodatuksen aiheuttavia tekijöitä. Suodatuspaperit esipunnittiin ja jokaisen suodatuspaperin massa otettiin ylös. Suodatuspaperit säilytettiin lämpökaapissa standardilämpötilassa (60 °C) ennen suodatuksia. Büchner-suodatusten jälkeen jokainen suodatuspaperi kuivattiin lämpökaapissa, jotta ne saatiin kuivumaan ennen toista punnitusta. Kuivatut suodatuspaperit punnittiin uudestaan, jotta saatiin selville ei-suodattuneen aineksen eli suodatussakan massa. Suodatuspaperin pinnalle jääneen sakan määrä selviää, kun suodatetusta suodatuspaperin massasta vähennetään kyseisen suodatuspaperin esipunnittu massa. Suodatuspaperien punnitusmenetelmät ja toimintaperiaatteet olivat olleet käytössä Porkkalan tehtaalla jo aiemmin [13].



Kuva 8. Suodatuspaperit ennen suodatusta (vas.) ja suodatuksen jälkeen ennen kuivausta (oik.)

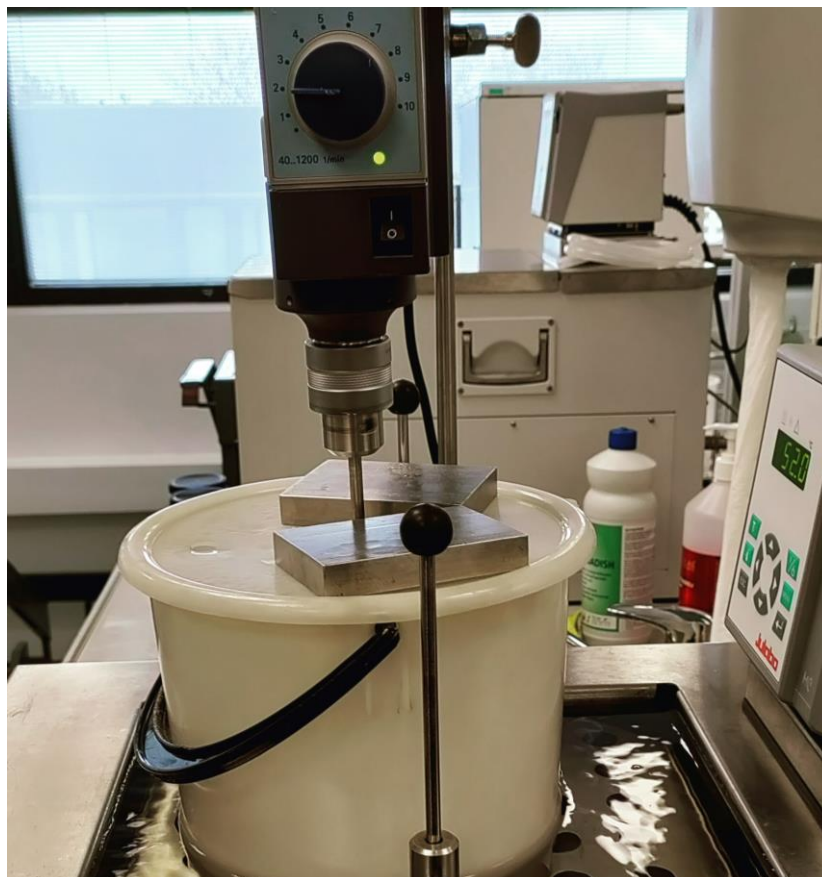
Työn raakasokerin koostumusanalyysit suoritettiin Porkkalan tehtaan laboratorion HPLC-nestekromatografilaitteistolla (*Agilent 1200 Infinity Series*). HPLC-nestekromatografilla tutkittiin joka näytteestä otettu otanta reagoittamisen jälkeen, ennen suodatusta.

Kromatografialla tarkoitetaan useaa eri analyysitekniikkaa, joissa tarkoituksena on saada selvyyttä tutkittavan seoksen molekyyllisestä koostumuksesta. Kromatografiaa käytetään laajalti laboratorioissa ja teollisuudessa maailmanlaajuisesti. Kromatografiassa tutkittava näyte ajetaan liikkuvassa faasissa (engl. *Mobile phase*) pysyvän kiinteän faasin (engl. *Stationary phase*) yli. Paikallaan pysyvä faasi pidättää tutkittavaa liikkuvaa faasia eri vahvuuksilla riippuen näytteen koostumuksesta ja komponenttien pitoisuuksista. Lopputuloksena näytteen eri osat poistuvat kromatografian kolonnista eri aikoihin, jotka voidaan havaita kromatografilaitteiston kolonnista anturilla. Anturi näyttää poistuneet osat kromatogrammissa *piikkeinä*. Kromatografian anturilta saatua dataa voidaan verrata tunnettuun ominaiskäyrään, jossa valmiin kromatogrammin piikit tunnetaan. Lopputuloksena saadaan kvalitatiivista sekä kvantitatiivista dataa näytteen koostumuksesta [12, s. 2]. Porkkalan tehtaalla sokerianalyseissa käytetään HPLC-nestekromatografilaitteistoa (High Performance Liquid Chromatography), jolla tarkoitetaan kromatografityyppiä, jossa liikkuva faasi on nestemäinen, ja se pumpataan kolonnin läpi korkealla paineella [12, s. 2–4].

Tämän työn raakasokerinäytteiden koostumukselliset analyysit tehtiin Porkkalan tehtaassa HPLC-nestekromatografilla. Raakasokerinäytteistä määritettiin HPLC-nestekromatografilla sakkaroosin, fruktoosin, raffinoosin ja glukoosin määrät. Lisäksi kromatografian tuloksina antamia ominaiskäyriä voidaan visuaalisesti analysoida muiden rakenteellisten osien selvittämisessä. Ominaiskäyrästä voidaan myös tehdä visuaalisia johtopäätöksiä, näytesarjojen sisällä. Toisin sanoen kahta vertauskelpoista ominaiskäyrää voidaan verrata toisiinsa poikkeamien hahmottamiseksi. Tuntemattomia ominaiskäyrän piikkejä ei voi kuitenkaan suoraan tunnistaa tietyiksi molekyyleiksi [13], vaan tällöin on käytettävä tarkempaa analyysilaitteistoa, esim. massaspektrometriä.

Ensyymien vaikutusta sokeriliuosten suodattavuuteen selvitettiin suodatuskokeilla, jotka suoritettiin Porkkalan tehtaassa tuote- ja prosessilaboratoriossa. Raakasokerianalyysiin käytettiin emäliuosta, josta otettiin kaikki analyysiin tarvittavat näytteet. Emäliuos muodostettiin Raakasokeri-M:stä ja ionivaihdetusta vedestä niin, että liuoksen kuiva-ainepitoisuus oli 50,0. Valmiin emäliuoksen pH oli 6,3. Emäliuoksen kuiva-ainepitoisuus ja pH olivat kirjallisuuden mukaan optimaalisella alueella suodatusanalyysijä varten [11, s. 659]. Kokeissa käytettiin vakioitua emäliuosta, jotta sokeripitoisuus ja raaka-ainekoostumus olisi sama kaikkien testattavien näytteiden sisällä.

Suodatuskokeet tehtiin kirjallista ohjetta (Shahad f. Hassan *et al.*) [11, s. 659] mukaisesti ja Porkkalan tehtaassa laboratoriomenetelmiä ja -ohjeistuksia noudattaen. Kirjallisen ohjeen kautta valittiin reaktioaika, jonka entsyymit reagoivat raakasokerinäytteen kanssa. Reaktioaikana näytteille oli 30 minuuttia 50 °C:ssa. Näytteet pidettiin lämpöhauteessa (kuva 9) ja reagoivaa näytettä sekoitettiin immersiosekoittimella (n. 120 rpm) optimaalisen reagoimisen mahdollistamiseksi.



Kuva 9. Suodatusanalyseissä käytetty lämpöhaude ja immersiosekoitin.

Suodatuskokeet suoritettiin rinnakkaisina suodatusajoina, jolloin kullekin verrattavalle näytteelle teetettiin yhteensä kolme rinnakkaista suodatusta, jotta mitaukset olisivat luotettavampia ja saatu data merkitsevämpää. Suodatuksia tehtiin yhteensä 12 kappaletta. Jokaisesta suodatusnäytteestä otettiin myös ennen suodatuksia oma osanäyte HPLC-nestekromatografilla suoritettavia analyysejä varten.

Suodatuskokeiden reagoitetut liuokset nimettiin seuraavasti: Liuos-V = raakasokeriliuos, johon ei ollut lisätty entsyymiä. Liuos-A = raakasokeriliuos, johon oli lisätty 5 ml entsyymi-A:ta ja annettu reagoida 30 min 50 °C:ssa. Liuos-D = raakasokeriliuos, johon oli lisätty 5 ml entsyymi-D:tä ja annettu 30 min 50 °C:ssa. Liuos-A+D = raakasokeriliuos, johon oli lisätty 5 ml entsyymi-A:ta ja 5 ml

entsyymi-D:tä ja annettu reagoida 30 min 50 °C:ssa. Näitä liuksien nimiä käytetään tulosten analysoinnin yhteydessä.

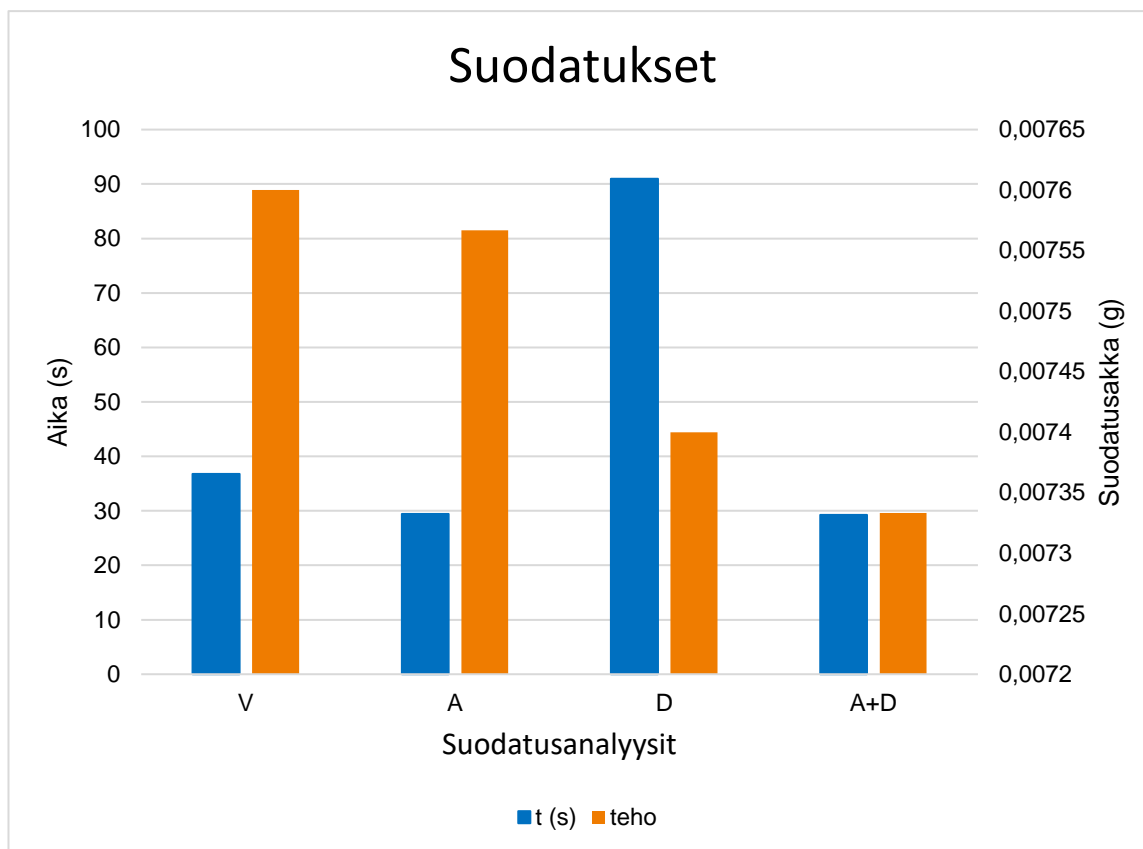
7 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Kaikki tämän insinööriyön analyysit onnistuivat niille asetetuissa raameissa. Reagoineiden raakasokerinäytteiden tulokset (kuva 10 ja 11) myötäilivät esioletuksia ja tieteellistä teoriaa [3, s. 89–90]. Oletuksena oli, että entsyymien lisääminen parantaisi raakasokeriliuosten suodatustehoa ja suodatusaikaa. Vastavasti HPLC-tuloksista oletettiin, että kokonaissokerien määrä pysyisi samana kaikissa näytteissä ja että entsyymien olemassaolo jokaisessa entsyymiä sisältävässä näytteessä olisi huomattavissa HPLC-ajon ns. *hännästä* eli viimeiseksi kolonnista poistuneesta aineksestä.

7.1 Suodatusanalyysien tulokset

Laboratoriossa tehdyistä suodatusanalyyseistä kerätystä datasta huomataan testattujen entsyymien vaikuttaneen suodatuksiin seuraavasti alla olevasta kuvasta (kuva 10). Kuvassa sivuakseleilla on suodatukseen kulunut aika sekunteina ja suodatussakan määrä eli kuinka paljon suodatuksesta jäi suodatuspaperin pinnalle sakkaa. Vaaka-akselilla on testattujen entsyymien ja vertailuliuksen tulosten keskiarvo. Jokainen nimetty pylväs kuvaa kolmea rinnakkaista

suodatusta.



Kuva 10. Suodatuskokeiden tulokset. Pystyakselilla on suodatuksiin kulunut aika ja suodatussakan määrä. Vaaka-akselilla on testatut entsyymit ja vertailuliuos nimettyinä. V= vertailuliuos ilman entsyymiä, A= liuos, jossa käytettiin α -amylaasientsyymiä, D = liuos, jossa käytettiin monisellulaasientsyymiä suodatustulokset. A+D = liuos, jossa käytettiin α -amylaasi-entsyymiä ja monisellulaasi-entsyyminseosta. Jokainen pylväs kuvastaa kolmen analyysin keskiarvoa.

Suodatusaika kuvaa sokeripuhdistamon autosuotimien läpimenoa. Läpimenoa simuloivan suodatusajan lyhentyessä voidaan todeta entsyymien vaikuttavan positiivisesti testattuun raakasokeriliuokseen. Työn suodatuskokeiden tuloksista nähdään, että suodatusaikakeskiarvot pysyivät kaikkien paitsi D-näytteiden kanssa samankaltaisina (+/- 7 sekuntia). D-näytteiden suodatusaikakeskiarvo oli huomattavasti suurempi kuin vertailulioksen suodatuskeskiarvo.

On mainittavaa, että A- ja A+D-näytteiden suodatusaikakeskiarvot olivat hieman vertailunäytteen suodatusaikakeskiarvoja pienempiä, mutta ero näiden välillä oli hyvin pieni (< 10 s).

Suodatusaikakeskiarvot eivät todentaneet merkittävää suodatusnopeuden muutosta entsyymejä käytettäessä. Merkittävää vaihtelua tapahtui erityisesti monisellulaasientsyymien suodatuksissa, jolloin suodatusaikojen keskiarvot kasvoivat merkittävästi (37,8 sekuntia) vertailusuodatuksen keskiarvoon verrattuna. Monisellulaasientsyymien suodatusten keskiarvo oli toisin sanoen yli puolet pidempi kuin vertailusuodatusten keskiarvo. Tämä vaihtelu voi johtua pitkäketjuisten selluloosajusteiden pilkkoutumisesta lyhyemmiksi partikkeleiksi, jotka kykenivät tukkimaan käytössä olleen suodatuspaperin tehokkaammin kuin yksittäinen pidempi selluloosajuste. Voi myös olla, että monisellulaasientsyymi reagoi suodatuspaperin materiaalin kanssa aiheuttaen pidemmät suodatukset. Se on kuitenkin epätodennäköistä, koska entsyymiseossuodatuksissa (kuva 10, A+D) suodatusaika oli miltei sama kuin α -amylaasientsyymien suodatusten keskiarvot (kuva 10, A). Monisellulaasientsyymien mahdollinen vaikutus suodatuspaperiin on kuitenkin hyvä huomioida tuloksia tarkastellessa. Kaiken kaikkiaan suodatusaikojen tulokset myötäilevät kirjallista teoriaa entsyymien vaikutuksesta sokerialiuoksen suodattavuuteen. Suodatussakan määrää (kuva 10, oranssin väriset pylväät) tarkisteltaessa huomataan yhteinen trendi kaikissa entsyymeillä käsitellyissä liuoksissa verrattuna vertailuliuokseen. Entsyymikäsittely vähensi selvästi suodatuspaperiin pidättyneen sakan määrää. Pienempi määrä sakkaa suodatuspaperin pinnalla kuvaa optimaalisempaa suodattumista. Näin ollen voidaan sanoa, että entsyymiä käyttäessä raakasokerisuodatukset tapahtuivat optimaalisemmin kuin ilman entsyymiä. Käytännössä voidaan ajatella, että todellisen osaprosessin tapauksessa autosuotimen suodatuskankaaseen jäisi entsyyminkäytöllä vähemmän pidättävää eli tukkivaa ainesta suodatusmäärää kohden. Parempi suodattavuus myötäilee teoriaa entsyymien kyvystä pilkkoa polysakkarideja lyhyemmiksi ketjuiksi, jotka kulkevat suodatinmateriaalin läpi paremmin [3, s. 89–90].

Suodatuskokeiden tulokset todistavat, että entsyymit vaikuttivat käytettyyn raakasokeriin ja sen suodattavuuteen. Tulokset eivät suoraan mahdollista entsyymien käyttöönottoa Porkkalan tehtaan prosessiin, mutta ne todistavat

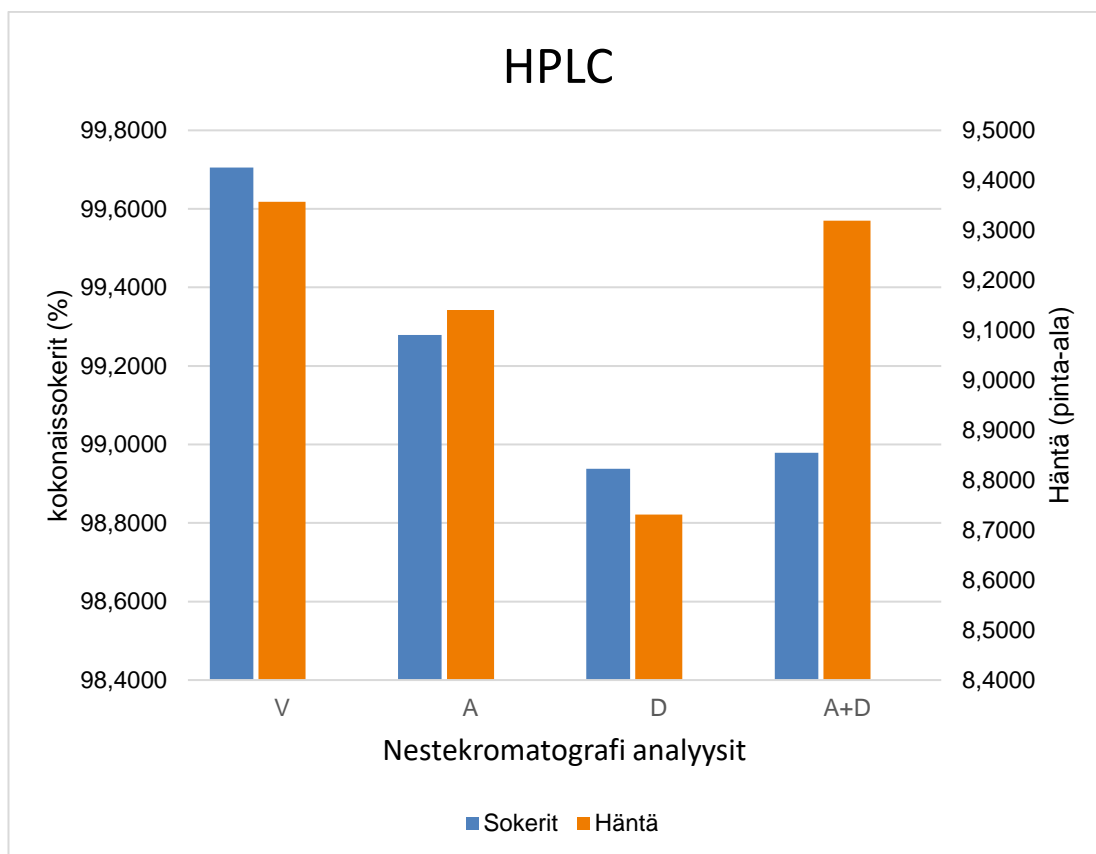
entsyymien toiminnan tieteellistä perustaa, ja niiden pohjalta voidaan miettiä jatkokutkimuksia ja viedä prosessin kehitystyötä eteenpäin [3, s. 89–90].

7.2 HPLC-analyysien tulokset

Raakasokerinäytteistä (V, A, D ja A+D) tutkittiin tarkempi koostumus HPLC-nestekromatografilla. Jokainen nestekromatografilla tutkittu osanäyte tehtiin samasta reagoitetusta näytteestä kuin aikaisemmassa suodatusanalyysivaiheessa. Nestekromatografilla saadut tulokset näkyvät alla olevassa kuvassa 11.

Kuvan 11 pystyakseleilla ovat näytteen kokonaissokerien määrä ja häntäalueen pinta-ala. Kokonaissokereilla tarkoitetaan kaikkia sokereiksi luokiteltuja yhdisteitä, jolloin pienentynyt kokonaissokerin määrä analysoitavassa näytteessä tarkoittaisi, että sokerien rakenteet olisivat alkaneet hajota. Häntäalueen pinta-ala kuvaa puolestaan nestekromatografiajon lopussa poistuvia pieniä molekyylejä. Pienistä molekyyleistä puhutaan, kun kyseisellä ajoasetuksella kromatografista poistuvien molekyyliden määrää tai kokoa on vaikea analysoida. Tätä epävarmaa aluetta kutsutaan nestekromatografiajon hännäksi [13]. Tämä häntäalue annetaan pinta-alana, koska yleisesti tulosalue on epämääräinen ja sen osia ja niiden määriä on mahdotonta määrittää tarkasti kromatografilla. Nestekromatografiajon hännäksi kutsuttu alue on merkittävä tämän työn kannalta, koska tällä alueella poistuvat testauksissa käytössä olleet entsyymit ja epäpuhtaudet. Hännän tuloksista ei kuitenkaan voi päätellä, ovatko entsyymit vaikuttaneet raakasokeriliuoksiin suodattavuutta parantavalla tavalla, vaan lähinnä tulokset kertovat, ovatko sakkaroosimolekyylit hajonneet monosakkaridiksi eli ettei sakkaroosi ole *invertoitunut* glukoosi- ja fruktoosiksi [13].

Nestekromatografituloksista huomataan vasemmalta oikealle etenevä trendi kokonaissokerien vähenemisestä. Tämän vähenemisen syystä ei voida olla täysin varmoja, mutta on oletettavaa, että mikrobiologista käymistä on voinut tapahtua emäliuoksessa analyysijä suorittaessa. Mikrobiologinen käyminen näkyisi näytteissä tuloksista huomattavalla tavalla. Mahdollinen näytteiden käyminen vähentäisi kokonaissokerien määrää, kun sokeriyksiköt hajoavat alkoholeiksi.



Kuva 11. Nestekromatografianalyysien tulokset. Vaaka-akselilla on pylväissä näytesarjat aikaisemmin kuvatulla tavalla (kuva 10). Pystyakseleilla vasemmalla on kokonaissokerien suhteellinen määrä eri näytteissä. Oikealla pystyakselilla on kromatografianalyysien häntäalueen pinta-ala.

7.3 Työn tuloksiin liittyvä epävarmuus

Tämän työn analyysien tuloksia tarkasteltaessa tulee ottaa huomioon asioita, jotka voivat heikentää saatujen tulosten luotettavuutta. Ensisijaisesti merkittävien tulosten luotettavuutta heikentävä tekijä on raakasokerianalyysien vähäinen määrä ja tästä johtuva pieni otanta. Otannan niukkuus johtuu analyysien luonteesta, sillä tämä työ toimii pääasiassa menetelmien ja teorian testauksena, joka on osa myöhemmin suoritettavaa laajempaa entsyymien käyttöönottoa.

Tulosten luotettavuutta heikensi myös esimerkiksi suodatusanalyysien suodatusaikaa mitattaessa tapahtunut systemaattinen virhe. Tulosepävarmuutta raakasokerin koostumuksellisiin analyysihin toi esimerkiksi mahdollinen

mikrobiologinen aktiivisuus raakasokeriliuoksessa. Mikrobiologista aktiivisuutta voidaan katsoa tapahtuneen analyysien aikana. Emäliuos säilytettiin kylmäkaapissa, mutta se otettiin analyysijä varten lämpimään. Tätä siirtelyä tapahtui useita kertoja analyysijä tehtäessä. Usean lämpövaihtelujakson johdosta emäliuos koostumus altistui mahdolliselle mikrobiologiselle toiminnalle. Mikrobiologisen aktiivisuuden aiheuttamaan tulosepävarmuuteen olisi voitu vaikuttaa paremmalla näytteiden satunnaistamisella ja esimerkiksi ennakkoon tehtävällä maljauksella [13].

8 Yhteenveto

Tämä insinööri työ tehtiin Suomen Sokeri Oy:n Kantvikin sokeripuhdistamon toimeksiantona kehitystyöksi sokeripuhdistamon prosessiin. Tavoitteena oli tutkia sokeripuhdistamon autosuodatus-osaprosessin läpimenoa ja perehtyä läpimennon parantamiseen entsyymeillä. Tämä insinööri työ on osa isompaa projektia, jonka tarkoituksena on parantaa sokerin puhdistusprosessin kannattavuutta ja energiatehokkuutta. Entsyymien vaikutusta raakasokeriliuokseen testattiin laboriotestein. Työn laboratorioanalyysit onnistuivat ja saatu data noudattaa teorioita ja aikaisempaa tiedettä entsyymien hyödyntämisestä sokeripuhdistamoilla.

Työn raakasokerin suodatusanalyysien tulokset indikoivat, että entsyymien käyttö parantaa suodatusten läpimenoa. Suodatusanalyysit simuloivat autosuotimien suodatusolosuhteita. Työn suodatusnäytteiden suodatusnopeudet nopeutuivat entsyymien ansiosta lukuun ottamatta sellulaasientsyyminäytteitä, joissa suodatukset hidastuivat hieman. Sellulaasientsyyminäytteiden hitaammat suodatukset johtuivat todennäköisesti siitä, että entsyymi pilkkoi pitkäketjuisia polysakkaridejä lyhyemmiksi, ja tukkivat suodatuspapereita. Molempien testattujen entsyymien yhteisseoksen suodatuksissa suodattavuudet olivat nopeampia kuin pelkän sellulaasientsyyminäytteen suodatuksissa, mikä todentaa teoriaa siitä, että α -amylaasientsyymi pilkkoo sellulaasientsyymien tuottamia lyhyempiä polysakkaridiketjuja edelleen lyhyemmiksi sokeriyyksiköiksi, jotka kulkevat suodatusmateriaalin läpi.

Raakasokerin HPLC-nestekromatografilla saadut koostumustulokset näyttävät, ettei entsyymien käyttö analysoitavissa näytteissä aiheuttanut sakkaroosi yksiköiden invertoitumista eivätkä kokonaissokerien suhteelliset määrät vähentyneet entsyymien takia. Nestekromatografilla tutkituissa näytteissä näkyi vaihtelua kokonaissokereissa. Kokonaissokerien määrän vähenemisen voidaan olettaa johtuvan mikrobiologisesta käymisestä laboratoriotestauksien aikana. Käyminen olisi voinut tapahtua raakasokeriemäliuoksen toistuneen lämpiämisen takia.

Työn analyysitulokset mahdollistavat laajempien tuotantoskaalan testauksien toteuttamisen ja lopulta entsyymien tai entsyymiseoksen käyttöönoton läpimenoa parantavana apuaineena.

Lähteet

- 1 Fraser-Reid, B.O. Tatsuta, K. Thiem, J. 2008, Glycoscience Chemistry and Chemical Biology 2nd Edition, Springer-Verlag.
- 2 Chen, J.C.P. Chou, C. 1993. Cane Sugar Handbook, Twelfth. New Orleans, Louisiana: John Wiley & Sons, Inc.
- 3 Cuddihy, James A Jr. Porro, Miguel E. Rauh, James S. 2001, The Presence of Total Polysaccharides in Sugar Production and Methods for Reducing Their Negative Effects, Journal American Society of Sugar Cane Technologists Vol.21
- 4 Dr. Kennepohl, D. prof. Farmer, S. prof.em. Reusch, W. Libretexts, 2.2: Classifications of Carbohydrates, Verkkoaineisto. [2.2: Classification of Carbohydrates - Chemistry LibreTexts](#). Luettu 24.10.2024
- 5 Dr. Kennepohl, D. prof. Farmer, S. prof.em. Reusch W. Libretexts, 2.4: D and L Monosaccharides, Verkkoaineisto. [2.4: D and L Monosaccharides - Chemistry LibreTexts](#). Luettu 24.10.2024
- 6 Dr. Kennepohl, D. prof. Farmer, S. Libretexts, 2.9: Disaccharides and Glycosidic Bonds, Verkkoaineisto. [2.9: Disaccharides and Glycosidic Bonds - Chemistry LibreTexts](#). Luettu 24.10.2024
- 7 Dr. Kennepohl, D. prof. Farmer, S. Libretexts, 2.6: Cyclic Structures of Monosaccharides, Verkkoaineisto. [2.6: Cyclic Structures of Monosaccharides - Chemistry LibreTexts](#). Luettu 24.10.2024
- 8 Heiska, Mikko, 2024, Kehityspäällikkö, Suomen Sokeri Oy, Kantviikin sokeripuhdistamo, keskustelu, 5.6.2024.

- 9 Pariza, M.W. Foster E.M. 1982, Journal of Food Protection Vol. 46, No.5: Determining the Safety of Enzymes Used in Food Processing, Food Research Institute, University of Wisconsin.
- 10 Whitehurst, Robert J. Oort, Maarten van. 2010, Enzymes in Food Technology 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc.
- 11 Hassan, Shahad F. *et al*, 2022, Egyptian Journal of Chemistry Vol 65, no.3, Effect of operating parameters on amylase efficiency in a selected Sugar refinery
- 12 Moldoveanu, S. C. David, V. 2013, Essentials in Modern HPLC Separations, Elsevier
- 13 Viianranta, Jaani. Laboratorioinsinööri, Suomen Sokeri Oy, Kantviikin sokeripuhdistamo, keskustelu, 9.4.2024.

Käytössä olleen raakasokerin ominaisuudet

Taulukko 1 Pohjatiedot raakasokerin tunnetuista ominaisuuksista.

Ominaisuus	Yksikkö	Raakasokeri
Ruokoraakasokeri		Raakasokeri-M
True purity / pol	°Z	99,29
pH	pH	6,5
Tuhka	%	0,11
Liukenemattomat	g/kg	0,5
Glukoosi (HPLC)	%	0,07
Fruktoosi (HPLC)	%	0,07
Invertti (HPLC)	%	0,14
Tärkkelys (SPRI ICUMSA)	µg/g	239
Dekstraani (MAU)	MAU	0
Alkoholisamentuneet	mg/kg	4055
Kosteus	%	0,085