



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018

Fakultet for realfag og teknologi

Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse

Elisabeth Tatjana Grothe Hauge

Maskin, prosess- og produktutvikling

Forord

Masteroppgaven er gjennomført ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet ved fakultet for realfag og teknologi våren 2018. Oppgaven er siste del av sivilingeniørstudiet på maskin, prosess- og produktutvikling, der studiet er spesialisert innen kjemi og prosesssteknikk. Omfanget på masteroppgaven er 30 studiepoeng.

Hovedmålet i oppgaven ble gitt til meg av min hovedveileder Volha Shapaval som leder et prosjekt kalt LipoFungi prosjektet. Dette er et prosjekt der en prosess hittil er utført på laboratorieskala, hvor målet i masteroppgaven ble å dimensjonere og oppskalere prosessen til et industrianlegg. For meg var dette en spennende oppgave der jeg interesserte meg for biologien/kjemien bak prosessen. Kunnskaper fra studieretningen ble godt å ha med seg da jeg så på ulike muligheter for komponenter som kan brukes på industriskala for å gjennomføre den samme prosessen som var gjennomført på laboratoriet. Jeg liker spesielt godt at dette er en prosess som er utviklet for å finne bærekraftige og innovative løsninger på å utnytte et biprodukt som anses som avfall. Dette ble derfor både et nyttig og realistisk prosjekt.

Jeg ønsker å takke min hovedveileder førsteamanuensis Volha Shapaval for selve oppgaven og for rollen som min hovedveileder. Hun har vært en god støttespiller under arbeidet og hjulpet til med faglig veiledning. Vil også takke Milan Certik fra STU (Slovak University of Technology in Bratislava) som er en del av LipoFungi prosjektet, som også har gitt faglig veiledning. Ønsker også å takke Ola Sørby Omberg som har vært min biveileder, og en takk til Stine Vornes som god diskusjonspartner.

Norges miljø og biovitenskapelige universitet, Ås
Juni 2018

Sammendrag

I denne masteroppgaven beskrives en prosess hvor biprodukt fra slakteindustrien benyttes som råstoff i en prosess der biproduktet, animalsk fett, skal konverteres til en biomasse med høy andel av flerumettede fettsyrer. Dette gjøres ved hjelp av fermentering med mikroorganismen *Mortierella alpina* som er en oljeproduserende muggsopp spesielt god på å produsere blant annet arakidonsyre som er en ettertraktet fettsyre. Muggsoppen næres på animalsk fett, og kan dermed konvertere og akkumulere store mengder olje inne i cellen. I oppgaven skal denne prosessen oppskaleres fra laboratorieskala til industriskala. Prosessanlegget dimensjoneres utfra en råstoffmengde på 1000 kg animalsk fett som prosesseres til en tørket cellemasse inneholdende sunn olje. Utbytte fra 1000 kg animalsk fett er 190 kg intracellulær olje fra muggsopp.

Oppgaven beskriver komponentene som benyttes i anlegget og det blir gjennomført masseberegninger og energiberegninger som brukes videre til å dimensjonere de ulike komponentene. Sonikator benyttes for å lage en emulsjon av substratblanding og animalsk fett, og det velges å bruke en airlift bioreaktor som fermenteringstank. Videre er det valgt å bruke en tallerken sentrifuge for å sentrifugere bort restene av substratblandingen og til slutt benyttes en roterende tørketrommel for å tørke cellemassen fra sentrifugeringen. Ferdigproduktet i prosessanlegget er en tørket cellemasse på 514,9 kg.

Abstract

This master thesis describes a process in which by-product from the slaughter industry is used as a raw material in a process where by-product animal fat is converted into a biomass with a high proportion of polyunsaturated fatty acids. This is done by fermentation with the microorganism *Mortierella alpina* which is an oleaginous fungus especially good at producing, among other fatty acids, arachidonic acid which is a high-value fatty acid. The fungus is fed with animal fat, thus converting and accumulating large quantities of intracellular fungal oil. In this task, the process will be scaled up from bench top scale to industrial scale. The process plant is dimensioned from a feedstock of 1000 kg of animal fat processed to a dried cell mass containing healthy oil. Yield from 1000 kg of animal fat is 190 kg of intracellular fungal oil.

The task describes the components used in the plant, and mass calculations and energy calculations are used to further dimension the various components. A sonicator is used to make an emulsion of substrate mix and animal fat, and it is chosen to use a concentric airlift bioreactor as a fermentation tank. Furthermore, it is preferred to use a disc centrifuge to separate the remains of the substrate mixture and finally use a rotary dryer to dry the cell mass. The finished product in the processing plant is a dried pellet cell mass of 514.9 kg.

Innholdsfortegnelse

FORORD	I
SAMMENDRAG	III
ABSTRACT	V
INNHALDSFORTEGNELSE	VII
FIGURLISTE	XI
TABELLISTE	XIII
1 INTRODUKSJON	1
1.1 BAKGRUNN FOR OPPGAVEN	2
2 OPPGAVEN OG DENS RAMMER	3
2.1 HOVEDMÅL OG DELMÅL	3
2.1.1 Problemstilling	3
2.1.2 Hovedmål	3
2.1.3 Delmål	3
2.2 ANTAGELSER OG BEGRENSNINGER	4
3 PROSESSBESKRIVELSE	5
3.1 FRA LABORATORIET TIL INDUSTRI	5
3.2 PROSESSEN OPPSKALERES	6
4 INNLEDENDE	9
4.1 SUBSTRATBLANDINGEN	9
4.1.1 Hva er fett?	9
4.1.2 Gjærekstrakt	11
4.1.3 Mineraler	12
4.2 OLJEPRODUSERENDE MUGGSOPP	12
4.3 PRODUKTET	13
5 TEORI	15
5.1 AUTOKLAVERING	15
5.1.1 Sterilisering av substrat	15
5.1.2 Sterilisering av komponenter	15
5.2 SONIKATOR	16
5.3 BIOREAKTOR	18

5.3.1	Valg av type bioreaktor	21
5.4	AVVANNING – SENTRIFUGE	22
5.4.1	Valg av type sentrifuge.....	24
5.5	TØRKEMASKIN	24
5.5.1	Valg av type tørkemaskin	28
6	BEREGNINGER.....	29
6.1	BALANSER FOR MASSE OG ENERGI	29
6.1.1	Substratblanding	29
6.1.2	Sterilisering.....	31
6.1.3	Sonikering.....	34
6.1.4	Fermentering.....	34
6.1.5	Sentrifugering	36
6.1.6	Tørking	37
6.1.7	Produkt.....	43
6.2	OPPSUMMERING AV RESULTATER	44
6.3	DIMENSJONERING OG KAPASITET.....	45
6.3.1	Lagring.....	45
6.3.2	Sterilisering av substrat	46
6.3.3	Sonikator.....	46
6.3.4	Bioreaktor.....	47
6.3.5	Sentrifuge.....	49
6.3.6	Tørker	50
7	FLYTDIAGRAM.....	51
8	DISKUSJON.....	53
9	KONKLUSJON	57
9.1	VEIEN VIDERE	57
10	BIBLIOGRAFI.....	59
VEDLEGG A	61
VEDLEGG B	62
VEDLEGG C	63
VEDLEGG D	64
VEDLEGG E	65
VEDLEGG F	67

Figurliste

- Figur 1.1: Verdipyramide for ubehandlede råvarer t.v for pyramiden og foredlede råvarer t.h for pyramiden. Pilen t.v indikerer at kiloprisen stiger for kategoriene oppover i pyramiden. Pilen t.h indikerer at det potensielle volumet av produkt er stiger for kategoriene nedover i pyramiden. Konsekvensen oppover i pyramiden er mindre produkt produsert per mengde råvare, samtidig som kiloprisen stiger for det gjeldende produktet. Trekanten i midten viser ulike metoder som kan benyttes for å oppgradere råvare til ferdigprodukt. 1*
- Figur 3.1: figuren viser stegene i den oppskalerte prosessen. 6*
- Figur 4.1: Illustrasjon av et glyserolmolekyl og en fettsyre og hvordan de slår seg sammen til et triglyserid(nederst). 9*
- Figur 4.2: Illustrasjon av bindingene i (a)mettet fettsyre og (b) enumettet fettsyre. Mettede fettsyrer har kun enkeltbindinger mellom alle karbonene og umettede fettsyrer har én eller flere dobbeltbindinger mellom karbonene. 10*
- Figur 4.3: produksjonslinjen for både animalsk fett og mel. Prosessen viser både et steriliseringssteg og et rensesteg før det animalske fettet er ferdigstilt. (Norsk Protein AS, 2018) 11*
- Figur 4.4: forstørret bildet av *Mortierella alpina* som vokser i næring. Her har den dannet et mycel. 13*
- Figur 5.1: Bildet viser hovedkomponentene til et sonikatorsystem, her i laboratoriestørrelse. (a) Generator. (b) Konverterer. (c) Probe/horn. 16*
- Figur 5.2: Bildet illustrerer kun konsept og prinsipp. (a) Ved tilførsel av mekanisk kraft genereres det en elektrisk ladning på overflaten av krystallen. (b) Ved tilførsel av spenning vil krystallen endre form ved kontraksjon/ekspansjon. Dette forårsaker vibrering. Bildet gjenskapt fra EPSON. 17*
- Figur 5.3: Bildet illustrerer hvordan sonikering foregår på laben. Her sonikeres vann(rødt) og olje(gult). Mye energi forårsaker kavitasjon som får oljen til å spre seg i vannet som små stabile nanodråper. 17*
- Figur 5.4: Enkel illustrasjon av en kontinuerlig omrøringstank. 20*
- Figur 5.5: illustrasjon av en boblekolonne bioreaktor. Her vil det foregå naturlig sirkulasjon av mediet i tanken på grunn av lufttilførsel. 20*
- Figur 5.6: illustrasjoner av ulike typer airlift bioreaktorer sett fra siden og sett oven i fra. (a) airliftreaktor med internt omløp av væske, med baffel som skiller mellom riser og downcomer. (b) airliftreaktor med internt omløp der et indre rør skiller mellom riser og downcomer. (c)*

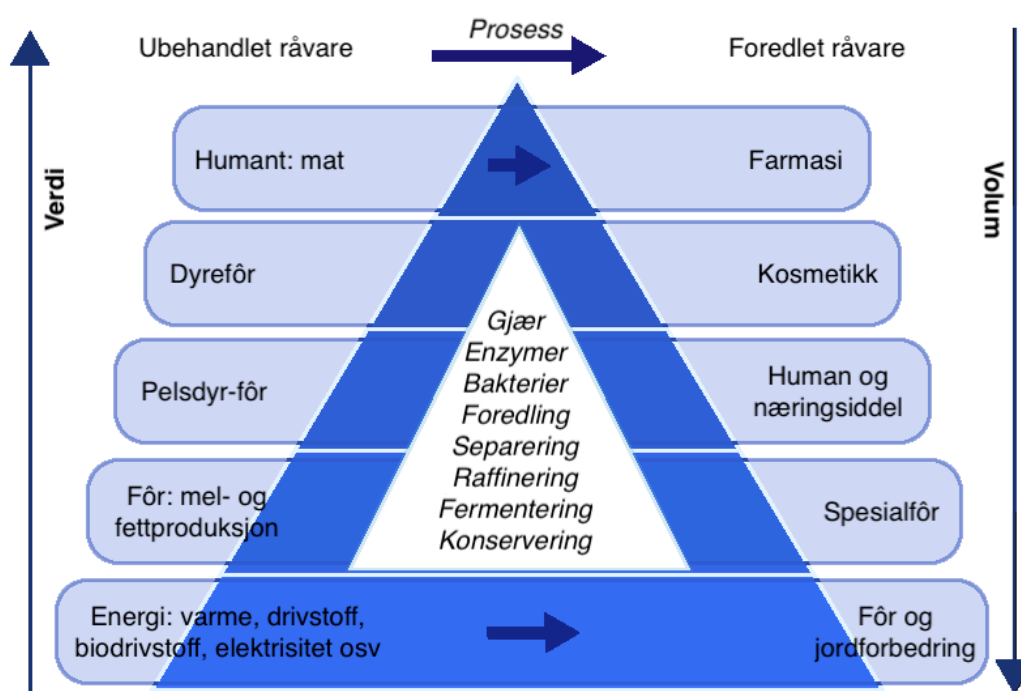
<i>airliftreaktor med eksternt omløp av væske der riser og downcomer skilles med forskjellig rør.</i>	21
.....	
<i>Figur 5.7: Skisse av dekantersentrifuge og dens komponenter.</i>	22
<i>Figur 5.8: figuren viser hvordan en tallerkensentrifuge fra Alfa Laval ser ut på utsiden (t.v) og på innsiden(t.h). Modifisert bilde fra Alfa Laval.</i>	23
<i>Figur 5.9: figuren viser hvilke mengder av fast stoff og hvilken partikkelstørrelse de ulike sentrifugene jobber best innenfor. Modifisert bilde fra Alfa Laval.</i>	24
<i>Figur 5.10: (a) Grafen viser at tilgjengelig fuktighet synker med tiden. (b) Grafen viser de tre stadiene i en tørkeprosess, første (1), andre (2) og tredje stadiet (3). Tørkehastigheten synker samtidig som tilgjengelig fuktighet synker.</i>	26
<i>Figur 5.11: skisse av en brett tørker.</i>	27
<i>Figur 5.12: Skisse av en roterende tørketrommel.</i>	27
<i>Figur 5.13: Skisse av en trommeltørker</i>	28
<i>Figur 6.1: Skisse av stegene i prosessen fra substratblanding til produkt.</i>	29
<i>Figur 6.2: Fasediagram for vann.</i>	33
<i>Figur 6.3: viser grafen for kokepunkt ved økende trykk.</i>	34
<i>Figur 6.4: Skisse av systemet for tørkeren. Systemet er avgrenset med stiplet linje og symbolene viser i hvilken retning massene kommer inn og ut. Skissen viser også at oppvarming av luft ikke inngår i balansen da det skjer utenfor den stiplede linjen.</i>	37
<i>Figur 6.5: Illustrasjon av sammenheng mellom trykk og temperatur ved 1 atm med kurve....</i>	39
<i>Figur 6.6: skisse av konsentrisk airlift bioreaktor. Den er ikke riktig proporsjoner på skissen, og skal kun illustrere målene som dimensjoneres.</i>	47
<i>Figur 6.7: viser volum vs høyde. Økningen av volum i forhold til høyde er eksponentiell.....</i>	48
<i>Figur 6.8: dimensjonene til Culturefuge 300 hentet fra Alfa Laval. (a) viser ytterkantene fra siden. (b) viser mål av ytterkanten oven i fra.</i>	50
<i>Figur 7.1Flytskjema av prosessen. inkluderervolum, masser, temperatur og trykk.</i>	51

Tabelliste

<i>Tabell 4.1: Tabellen viser hovedsammensetningen av animalsk fett fra anlegget på Hamar. Tall hentet fra datablad til Norsk Protein og analyser fra LipoFungiprojektet. Tabellen viser et gjennomgående høyt innhold av mettet fett for animalsk innhold sammenlignet med olivenolje (Matvaretabellen, u.d.).....</i>	<i>11</i>
<i>Tabell 4.2: Tabellen viser hovedsammensetningen av oljen produsert av M. alpina. Tall hentet fra analyse fra LipoFungiprojektet.....</i>	<i>13</i>
<i>Tabell 6.1: Viser konsentrasjon av stoffene per liter vann i SB. Konsentrasjonene er hentet fra forsøk gjennomført på RealTek under LipoFungi prosjektet.</i>	<i>30</i>
<i>Tabell 6.2: Viser mengde stoff og summen av volumet av disse i SB. Da gjærekstrakt og mineraler er lettløselige i vann antas det at volumet på vannet ikke endres ved tilsetning av disse da det er små mengder i forhold til mengde vann.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabell 6.3: oversikt over hvilke verdier og parametere som brukes for beregning av ferdigprodukt. Prosentene er oppgitt i vektprosent.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabell 6.4: Forholdet mellom temperatur og damptrykk ved vannoverflaten til rent vann ved 1 atm.</i>	<i>39</i>
<i>Tabell 6.5: Varmekapasitet for luft og vanndamp. Bruker gjennomsnittsverdien av to verdier.</i>	<i>41</i>
<i>Tabell 6.6: viser kapasitet og volumstrøm/strømningshastighet for utvalgte sonikatorer som emulgerer stoffer. Tall hentet fra Hielscher ultrasonics.</i>	<i>46</i>
<i>Tabell 6.7: beregnede verdier fra forholdene oppgitt ovenfor.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabell 6.8: tabellen oppgir spesifikasjoner ved Culturefug 300.....</i>	<i>50</i>

1 Introduksjon

Kjøttindustriene produserer mye avfallsprodukter som animalsk fett. I 2017 ble det produsert 351 285 tonn kjøtt som var godkjent som folkemat. Det var en økning på 7 232 tonn fra året før og kjøttproduksjonen øker stadig. Samtidig blir også fokuset på sunt kosthold større og helsedirektoratet råder folk om å velge bort mettete fett og heller spise magert kjøtt. Konsekvensen er mer avskjæringer i kjøttproduksjonen og mer animalske biprodukter. I dag blir overskuddsfettet ofte brukt til energiproduksjon, noe som generer lave verdier. For eksempel lanserte Statoil en type biodiesel kalt Hydrogenert vegetabilsk olje (HVO100), men da prisene på fossil diesel ble billigere er det vanskelig å få forbrukerne til å velge miljøvennlig. (KILDE) Figur 1 viser sammenhengen mellom verdien av råvarer og ferdigproduserte råvarer.



Figur 1.1: Verdipyramide for ubehandlede råvarer t.v for pyramiden og ferdigproduserte råvarer t.h for pyramiden. Pilen t.v indikerer at kiloprisen stiger for kategoriene oppover i pyramiden. Pilen t.h indikerer at det potensielle volumet av produkt er stiger for kategoriene nedover i pyramiden. Konsekvensen oppover i pyramiden er mindre produkt produsert per mengde råvare, samtidig som kiloprisen stiger for det gjeldende produktet. Trekanten i midten viser ulike metoder som kan benyttes for å oppgradere råvare til ferdigprodukt.

Norsk Protein er en bedrift som tar imot biprodukter og avskjæringer fra slaktedyr som kommer fra slakterier etc. Dette videreføres til mel og fett i tre kategorier. Det animalske fett som produseres i Norge kan være av kategori 1, 2 eller 3 der kategori 3 er det fett som er beregnet

på konsum, men som allikevel blir skjært bort fra kjøttet. Kategori 1 fett er risikomerket og kan blant annet brukes i produksjon av biodiesel. Kategori 3 fett har derfor et større potensial da det opprinnelig kan konsumeres. I 2017 solgte Norsk Protein 21 400 tonn kategori 3 fett. Å finne en bærekraftig løsning på håndtering av kategori 3 fett kunne derfor vært gunstig for både miljø og produsent.

I mer enn 100 år har det vært kjent at mikroorganismer er i stand til å lagre energi i cellen ved å akkumulere lipider intracellulært. Disse lipidene er essensielle oljer som både mennesker og noen dyr bør få tilført gjennom kosthold. Ved å utføre neddykket fermentering med oljeprodukerende soppceller er det mulig å produsere essensielle og sunne oljer i større mengder enn det som ellers finnes naturlig i blant annet fisk, morsmelk og eggeplomme (Gill & Valivety, 1997) (Ratledge, 2004). Oljeprodukerende sopp er spesielt gode på å akkumulere essensielle oljer hvor opptil 50% av tørr cellevekt(DCW) kan bestå av olje. [KILDE] Denne kunnskapen i kombinasjon med behovet for å behandle overflødig animalsk fett fra kjøttindustrien har resultert i prosjektet kalt LipoFungi.

1.1 Bakgrunn for oppgaven

Denne masteroppgaven baserer seg på LipoFungi prosjektet som NMBU for tiden leder. LipoFungi prosjektet har som mål å øke verdien på animalsk fettbiprodukt da dette har liten verdi i sin opprinnelige form. Gjennom en bærekraftig soppgjæringsprosess skal fett med mettede triglyserider (SAT-tags) konverteres til flerumettede fett av triglyserider(PUFA-tags). Dette gir en biomasse med sunnere fett og høyere verdi. I prosjektet blir blant annet soppen *Mortierella alpina* brukt til produksjon av olje da denne soppen er spesielt god på å produsere arachidonic acid (ARA) som skal være bra for spedbarns hjerne under utvikling. Selve masteroppgaven fokuserer på å oppskalere denne prosessen og prosjektere og dimensjonere et prosessanlegg som tar imot animalsk fett og prosessere og oppgraderer dette.

2 Oppgaven og dens rammer

I denne masteroppgaven skal LipoFungi prosjektet oppskaleres. Et anlegg skal prosjekteres slik at hovedprosessen som foregår på laboratoriet kan gjennomføres på industriskala. Hovedprosessen i anlegget skal oppgradere avfall fra kjøttindustrien, nærmere bestemt animalsk fett, til en høyverdig PUFA-biomasse som videre kan brukes til dyre- eller fiskefôr eller til bruk i den kosmetiske industrien. Anlegget skal prosessere 1000 kg animalsk fett per batch og skal derfor dimensjoneres ut i fra denne mengden. Enhetsprosesser som gjennomføres på lab er ikke nødvendigvis gjennomførbart på industriskala og dette må derfor tas hensyn til ved bestemmelser av metoder og komponenter for anlegget.

2.1 Hovedmål og delmål

2.1.1 Problemstilling

Mens de globale miljø- og klimautfordringene øker har det blitt økt fokus på et grønt skifte. Store og små bedrifter kan legge om sine rutiner og redusere miljøbelastningen fra deres produksjon. Ordet avfall

Si litt om kjøttindustrien og at behovet for en bærekraftig behandling av avfallet stadig blir større da mer og mer fett fra kjøttindustrien må hives. Det er også en kunst å kunne oppskalere det som skjer på laben til noe som gjennomføres i industriskala. Det som virker som økonomisk bærekraftig og miljøvennlig på laben fungerer ikke alltid i storskala.

2.1.2 Hovedmål

Prosjektore og dimensjonere et anlegg med ulike komponenter og maskiner som kan prosessere animalsk fett som råvare. Anlegget skal prosessere 1000 kg animalsk fett per batch.

2.1.3 Delmål

- Produksjonsplan: beskrivelse av antagelser og forutsetninger. Beskrivelse av produkt og råvarer, og andre faktorer ved prosessen.
- Prosessbeskrivelse
- Bestemme komponenter og gi en beskrivelse av disse
- Massebalanser og energibalanser
- Dimensjonering av de enkelte komponentene

- Flytskjema for oversikt over prosessen

2.2 Antagelser og begrensninger

- Det antas at det animalske fett holder seg i flytende tilstand gjennom prosessen og at emulsjonen mellom substratblanding og animalsk fett er stabil under hele fermenteringen.
- Det blir satt verdier for temperaturer og fuktighet til luften i tørkeren, for at det ikke skal bli for mange ukjente verdier i ligningen for fuktighetsbalansen og massebalansen.
- Det blir ikke lagt vekt på hastigheten enkeltoperasjonene skal skje i. Prosessen skal foregå fra mandag til fredag. Vanlig hastighet på fluid i rør er 1 m/s i prosessanlegg.
- Det er ikke lagt vekt på økonomiske kostnader, og det blir ikke gjort noen økonomiske beregninger.
- Beskrivelse av bygg og lokaler vil ikke være en del av oppgaven.
- Det blir kun gjort energiberegninger for enkeltoperasjonene til komponentene.
- Forflytting av materialer vil ikke være en del av energiberegningene, dette omfatter beltetransport eller pumping av fluidene fra en komponent til en annen. Dette er ikke videre spesifisert i oppgaven.

3 Prosessbeskrivelse

I dette kapittelet forklares først metoden for laboratorieforsøket, deretter beskrives prosessen i oppskalert skala.

3.1 Fra laboratoriet til industri

På laboratoriet blir muggsopp dyrket på agar for å lage sporer som senere kan brukes til inokulering av substratblanding, og deretter blir de plassert i et nitrogen-fattig medie for å stimulere muggsoppen til å akkumulere lipider. Agar, nitrogenfattig-medie og beholdere er autoklavert på forhånd.

Mediet eller substratblandingen som inokuleres med sopp sporer blir laget til ved å bruke animalsk fett, gjærekstrakt og nødvendige mineraler i en blanding med vann. Det er også gjort forsøk ved å bruke glukose sammenlignet med animalsk fett som karbonkilde for deretter å sammenligne produktet ved de to forsøkene, se Vedlegg D. Det er også utprøvd å bruke hele fettmolekylet, samt gjennomført hydrolyse for kun å tilsette glyserol som karbonkilde til muggsoppen. Substratblandingen autoklaveres før inokulering. Etter inokulering holdes miljøet stabilt under kontrollerte forhold i noen dager slik at muggsoppen konsumerer næringen og akkumulerer lipider. Tilslutt overføres fermenteringsblandingen til eppendorfrør som sentrifugeres. Biomassen(muggsoppen) havner nederst mens supernatanten, væsken på toppen, overføres til en ny beholder. Biomassen vaskes og tørkes, og både biomassen og supernatanten analyseres for å se hvor mye muggsoppen har konsumert av næring, og for å se hvor mye lipider som er akkumulert. For å hente ut oljen fra cellene blir det brukt sonikering for å ødelegge og åpne cellene og deretter kan superkritisk CO₂ ekstraksjon brukes. Dette er en grov oversikt over det som skjer på laben. For å ta skrittet videre til industriskala må noen steg gjøres om.

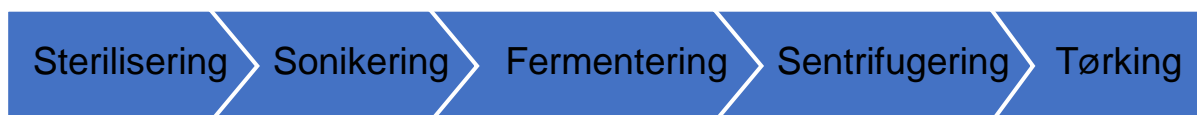
Fra labforsøkene ble det funnet ut at *M. alpina* var i stand til å konsumere hele fettmolekylet, ved at den produserer enzymer som utfører hydrolyse utenfor cellen og dermed kan muggsoppen ta opp både fettsyrene og glyserol i egenkontrollerte forhold. Det ble derfor i denne prosessbeskrivelsen antatt at det ikke er nødvendig å gjennomføre hydrolyse på det animalske fett før substratblandingen tillages. Da fettmolekyler er hydrofobe må substratblandingen være en emulsjon der det animalske fett er jevnt fordelt i blandingen. Det finnes stoffer som fungerer som emulgatorer som kan tilsettes slik at fett og vann kan blandes til

en emulsjon, slik som for eksempel polysorbat (Labolytic, 2018). Emulgatorer er store molekyler som består av en hydrofil ende og en hydrofob ende, de kan derfor binde stoffer som består av forskjellig polaritet. Det er allikevel kommet maskiner på markedet som er i stand til å lage emulsjoner uten emulgatorer. Disse maskinene kalles sonikatorer og det velges derfor i denne masteroppgaven å ikke benytte emulgator.

Under selve veksten av muggsoppen og dens produksjon av lipider er det kun en fermentor som har evnen til å holde levevilkårene for muggsoppen stabilt og kontrollere forholdene til enhver tid. Etter fermenteringen er det ønskelig å skille de ferdigvokste muggsoppcellene fra store mengder væske (restene av substratblandingen). På laben gjennomføres avvanningen med sentrifuge og det vil det også gjøres i industriskala. Etter at muggsoppcellene er skilt fra væsken inneholder de fortsatt 68% vann i cellene. Dette tørkes bort med en industritørkemaskin. Produktet blir dermed små pellets av døde inntørkede celler som inneholder sunnere lipider. Dette vil være en biomasse som kan ha mange bruksområder både innen kosmetikk, helse, dyre- eller fiskefôr mm.

3.2 Prosessen oppskaleres

Ut ifra stegene fra laboratoriet, vil stegene i den industrielle prosessen være som vist i figur 4.1.



Figur 3.1: figuren viser stegene i den oppskalerte prosessen.

Det animalske fettene fraktes fra Norsk Protein til anlegget på tanker med lastebiler. Fettene ankommer i flytende tilstand. Alle råvarene oppbevares i lukkede siloer i anlegget. Det animalske fettene steriliseres i egen tank, der det vil holdes under 115°C i 15 minutter ved 1 bar. Gjærsopp ekstrakten og mineralene ankommer anlegget i pulverform. Disse er lett løselige og blandes med vann etter riktige forhold i egen tank. Også denne blandingen steriliseres under 115°C i 15 minutter, under noe høyere trykk. Det animalske fettene og mineral- og gjærekstraktblandingen som holder svært høye temperaturer etter steriliseringen kjøres gjennom varmevekslere slik at varmen kan gjenvinnes. Herfra pumpes stoffene parallelt til miksestasjonen. Det animalske fettene skal blandes med resten av substratblandingen og det må derfor lages en emulsjon slik at fettene holder seg jevnt fordelt i substratblandingen. For tillaging

av emulsjonen benyttes en sonikator. Blandingen sonikeres kontinuerlig og pumpes videre til fermenteringstankene. Fermenteringen er av typen neddykket fermentering. På grunn av store mengden substratblanding blir det benyttet flere fermenteringstanker parallelt. Tankene inokuleres med soppsporer og under fermenteringen benytter muggsoppen seg av det animalske fettene og næringen i blandingen. Muggsoppen vokser mens den akkumulerer olje inne i cellen. Fermenteringsprosessen tar fire dager og det antas da at soppen har benyttet seg av all næringen i tanken. Videre må soppcellene gjennom en avvanningsprosess der cellene skilles fra væsken de har vokst i. Det benyttes her en sentrifuge som sentrifugerer kontinuerlig. Vannet som sentrifugeres bort går i avløpet mens muggsoppmassen føres videre til en tørkemaskin. Her skal resten av vannet tørkes bort, også det intracellulære vannet i cellene. Ut av tørkeren kommer det en tørr pellet-biomasse med en mer ettertraktet fettsyreprofil (beskrevet i neste kapittel under «produkt»).

4 Innledende

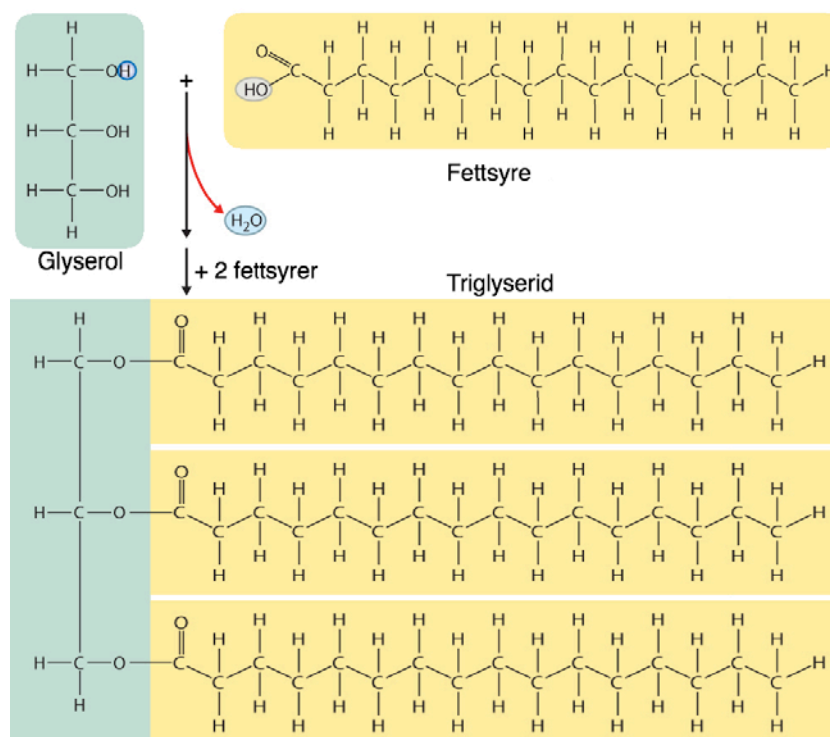
I dette kapittelet beskrives substratblandingen og dens komponenter, og til slutt produktet og mikroorganismen som skal produsere det.

4.1 Substratblandingen

Substratet som soppen skal vokse i skal bestå av vann, animalsk fett, gjærekstrakt og salter/mineraler. Disse stoffene må steriliseres, blandes og tempereres før soppsporene kan tilsettes. I prosessanlegget blir animalsk fett, gjærekstraktet og en miks av saltene oppbevart i hver sin tank. Hver av substratene blir pumpet videre til en felles tank der det mikses og gjøres klar for sterilisering. Forblandingen bør holde en temperatur på minst 40/60 °C da det er ved denne temperaturen at fett er flytende.

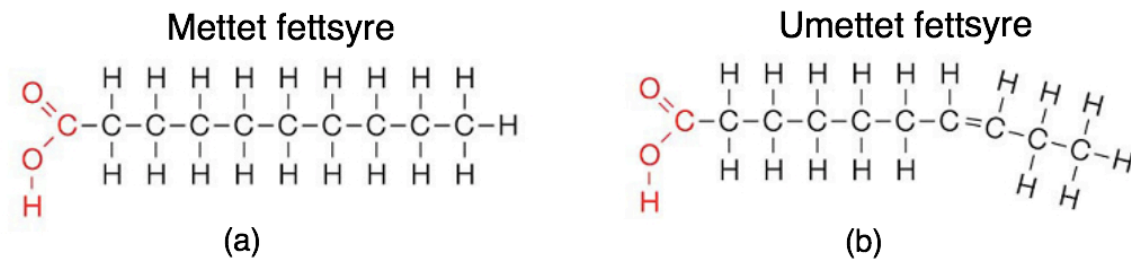
4.1.1 Hva er fett?

Fett er en generell betegnelse på organiske molekyler kalt lipider. Lipider består av karbon, hydrogen og oksygen. Den vanligste formen for fett er triacylglycerol(TAG), også kalt triglyserid, som består av et glyserolmolekyl og tre fettsyrer illustrert i Figur 4.1.



Figur 4.1: Illustrasjon av et glyserolmolekyl og en fettsyre og hvordan de slår seg sammen til et triglyserid(nederst).

Fettsyrer er lange kjeder av hydrokarboner med forskjellige lengder. Fettsyrene kan enten være mettet på hydrogenatomer, eller umettet ved at det er en eller flere dobbeltbindinger mellom karbonatomene vist i Figur 4.2.

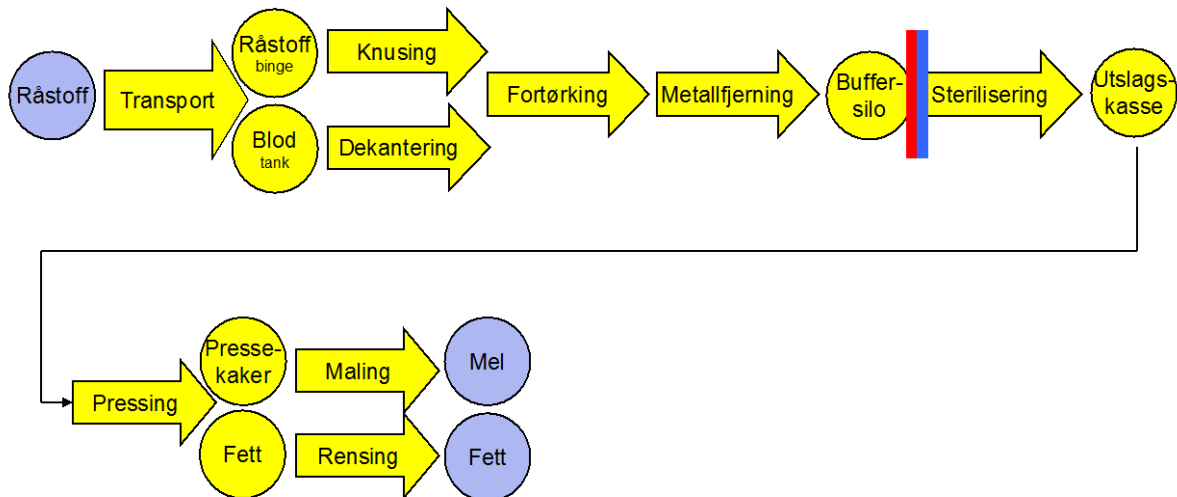


Figur 4.2: Illustrasjon av bindingene i (a)mettet fettsyre og (b) enumettet fettsyre. Mettede fettsyrer har kun enkeltbindinger mellom alle karbonene og umettede fettsyrer har én eller flere dobbeltbindinger mellom karbonene.

Ved romtemperatur er mettet fett oftest fast mens umettet fett er flytende. Fett som er flytende ved romtemperatur kalles ofte oljer. Bindingen mellom atomene med svart farge i Figur 4.2 er upolare og dette gjør at fett er et hydrofobt stoff. Fett og oljer er derfor ikke blandbare med hydrofile stoffer som vann (Anon., 2018).

Animalsk fett

Det animalske fett som teoretisk blir brukt i denne oppgaven blir forbehandlet av Norsk Protein. De har produksjonsanlegg som tar imot biprodukter fra kjøttindustrien og videreforedler dette til renere produkter som animalsk kategori 3 fett og mel (Norsk Protein AS, 2018). Kategori 1 og 2 fett produseres også på andre anlegg, og det er såkalt spesifisert risiko materiale(SRM) eller kadaver, skrotter og biprodukter fra dyr som ikke kan brukes til konsum. Animalsk kategori 3 fett kommer opprinnelig fra slaktedyr som er beregnet som mat til mennesker. En prosess som bruker dette som substrat kan derfor oppnå et produkt som kan konsumeres av mennesker. Se Figur 4.3 for produksjonslinjen til animalsk fett hos Norsk Protein.



Figur 4.3: produksjonslinjen for både animalsk fett og mel. Prosessen viser både et steriliseringssteg og et rensessteg før det animalske fett er ferdigstilt. (Norsk Protein AS, 2018)

Andre eksempler på animalsk fett kan være smør lagd fra fløte. Animalsk fett har en relativt høy andel av mettet fett sammenlignet med for eksempel olivenolje, og er derfor fast ved romtemperatur. Dette er en sammensetning som helsedirektoratet mener er ugunstig for mennesker (Helsedirektoratet, 2016). Se Tabell 4.1 for sammensetningen av animalsk fett fra Norsk Protein og olivenolje til sammenligning.

Tabell 4.1: Tabellen viser hovedsammensetningen av animalsk fett fra anlegget på Hamar. Tall hentet fra datablad til Norsk Protein og analyser fra LipoFungiprojektet. Tabellen viser et gjennomgående høyt innhold av mettet fett for animalsk innhold sammenlignet med olivenolje (Matvaretabellen, u.d.).

Type	Hamar fett, se vedlegg A	Hamar fett, se vedlegg B	Animalsk fett, se vedlegg C	Olivenolje, extra virgin (per 100g)
Mettet fett	44,0 %	46,3 %	45,6 %	13,9 g
Enumettet fett	42,2 %	40,3 %	46,9 %	74,5 g
Flerumettet fett	6,2 %	6,5 %	7,1 %	7,5 g

4.1.2 Gjærekstrakt

Gjærekstrakt består av proteiner, aminosyrer, karbohydrater, vitaminer og mineraler. Det kommer i pulverform og er et dødt materiale. Det produseres fra gjær som er encellede mikroorganismer innenfor soppriket. Gjær gjennomgår en fermenteringsprosess der de først vokser på en karbonkilde, ofte glukose, i tanker med gunstige forhold for vekst. Temperatur og

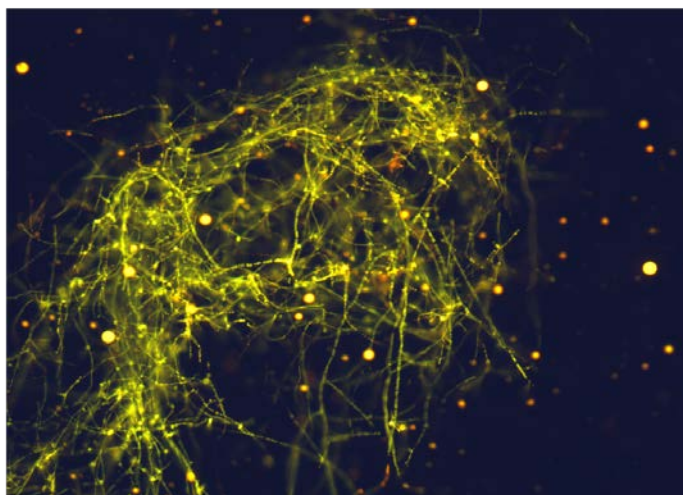
oksygentilgang er tilpasset gjæren. Når den er ferdigvokst gjennomgår cellene autolyse der enzymer i gjæren bryter ned celleveggen. Alt gjæren har produsert av mindre molekyler og næring kommer dermed ut av gjærcellen og det er dette som er gjærekstraktet. Gjærcellene er ødelagte og næringen fra cellene separeres og tørkes til pulver. Dette pulveret kan både brukes som smakserstatter i matvarer og fungere som nitrogenkilde og næring til andre soppkulturer som skal gjennomgå en vekstfase (European Association for Specialty Products , 2016). I forbindelse med LipoFungi prosjektet blir gjærekstrakt brukt som nitrogenkilde til muggsoppen *M. alpina*.

4.1.3 Mineraler

For at soppen skal fermenteres og vokse under de mest gunstige forholdene trenger den i tillegg til karbonkilde og nitrogenkilde også salter og mineraler. Det blir derfor laget en mineralløsning som blandes sammen med resten av substratet. Det er viktig å ha nøyaktige mengder med de ulike saltene da for mye eller for lite salt blant annet kan føre til osmose. Osmose er en prosess der forskjeller i saltkonsentrasjon utlignes automatisk. For celleveggen som er semipermeabel vil det derfor være mulig med en utligning av saltkonsentrasjon. For mye salt i miljøet rundt cellen kan føre til osmose der vannet i cellen diffunderer ut. Dette kan igjen føre til død av cellen (Pedersen, 2018).

4.2 Oljeproduserende muggsopp

Det finnes mer enn 1,6 millioner sopparter (Institutt for biovitenskap, 2011) og en av typene som blir brukt i LipoFungi prosjektet og i denne masteren er en Zygomycota muggsopp kalt *Mortierella Alpina*. Disse er trådformede heterotrofe mikroorganismer på størrelse mellom 1-5 mikrometer. At muggsoppen er trådformet, eller filamentøs, betyr at den danner trådformede greiner når den vokser i næring. Disse greinene kalles hyfer og når flere hyfer samles dannes et mycel. Se Figur 4.4 for bildet av *M. alpina*.



Figur 4.4: forstørret bildet av *Mortierella alpina* som vokser i næring. Her har den dannet et mycel.

Sopp er heterotrof som betyr at den trenger organiske molekyler for å generere energi og utføre syntese av cellemateriale. Den må derfor ha en organisk karbon- og nitrogenkilde, og mineraler for å leve. Eksempel på karbonkilde for sopp i industrisammenheng er ofte glukose, men det kan også være glyserol og fett/oljer (Cutler, 2012) (Institutt for biovitenskap, 2011). *M. alpina* er en oljeprodukerende sopp og er den mikroorganismen som er mest effektiv i produksjonen av ARA. Muggsoppen slipper ut enzymer som gjennomfører hydrolyse av triglyseridene (det animalske fettet). Deretter konsumerer den fettsyrene og glyserolet. Inne i cellen transformeres molekylene til en olje med en sammensetning vist i Vedlegg B og Tabell 4.2.

4.3 Produktet

Produktet som blir produsert i denne prosessen er en olje som akkumuleres inne i muggsoppcellen. I Vedlegg B bakerst i oppgaven vises sammensetningen av oljen som muggsoppen produserer sammenlignet med det opprinnelige animalske fettet. En forenklet sammensetning av produktet fremgår i tabell Tabell 4.2.

Tabell 4.2: Tabellen viser hovedsammensetningen av oljen produsert av *M. alpina*. Tall hentet fra analyse fra LipoFungiprojektet.

Type fett	Olje produsert av <i>M. alpina</i> , se vedlegg B
Mettet fett (SAT)	33,5 %
Enumettet fett (MUFA)	30,8 %
Flerumettet fett (PUFA)	28,0 %

De fire viktigste flerumettede fettsyrene som muggsoppen produserer er omega-3 fettsyren eikosapentaensyre(EPA) og omega-6 fettsyrene gammalinolensyre(GLA), dihomo-GLA(DGLA) og arakidonsyre(ARA). Vevet i hjernen og netthinnen hos mennesker består av omlag 30% EPA, dokosaheksaensyre(DHA) og GLA. Det er derfor viktig å få tilført disse fettsyrene gjennom kosthold da kroppen ikke kan fungere optimalt uten. EPA kan omdannes til DHA, og DHA og ARA er blant annet spesielt viktig for fosterets utvikling av hjernen og hjerneceller de første leveårene. GLA, DHA og ARA finnes i blant annet i morsmelk. Det er stor interesse rundt ARA da denne kan omdannes videre til eikosanoider som er viktige signalmolekyler for ulike celletyper og som gir ulike biologiske effekter Oljen som muggsoppen *M. alpina* produserer har derfor en essensiell og verdifull sammensetning.

5 Teori

I dette kapittelet vil det komme en beskrivelse av hver enkelt komponent i prosessen der det i noen steg inngår et komponentvalg.

5.1 Autoklaving

Sluttproduktet i denne prosessen er en biomasse som kan tenkes å brukes til bruk eller konsum av mennesker eller dyr. Dette innebærer at systemet må renses jevnlig slik at ikke mikroorganismer kan vokse på fuktige steder og kan fraktes videre i prosessen. Både substratet og noen komponenter må steriliseres jevnlig.

5.1.1 Sterilisering av substrat

For at fermenteringen skal foregå under best mulig forhold må substratblandingen steriliseres før soppkulturen tilsettes. Fermenteringstanken og tilhørende deler må også renvaskes mellom hver bruk/batch. Sterilisering gjennomføres for å drepe uønskede bakterier og andre mikroorganismer og dermed hindre vekst av disse under selve fermenteringen. Det finnes ulike måter å oppnå sterilisering på alt ettersom hva som skal steriliseres, og hva formålet med steriliseringen er. Generelt skal sterilisering sørge for et fullstendig fravær av visse typer mikroorganismer. Dette inkluderer også bakteriesporer. Noen bakterier kan under næringsfattige forhold danne bakteriesporer som fungerer som et hvilestadium. I en spore er celleveggen tykk og omgitt av et proteinlag. Dette gjør bakteriesporene svært tollerange ovenfor varme, stråling og høy/lav pH med mer. Om bakteriesporen får næring igjen kan den spire og formere seg. Dette kan føre til forgiftning hos de som konsumerer dette. Når det gjelder mat- og drikkevarer er det samtidig ønskelig å beholde smak og næring etter sterilisering.

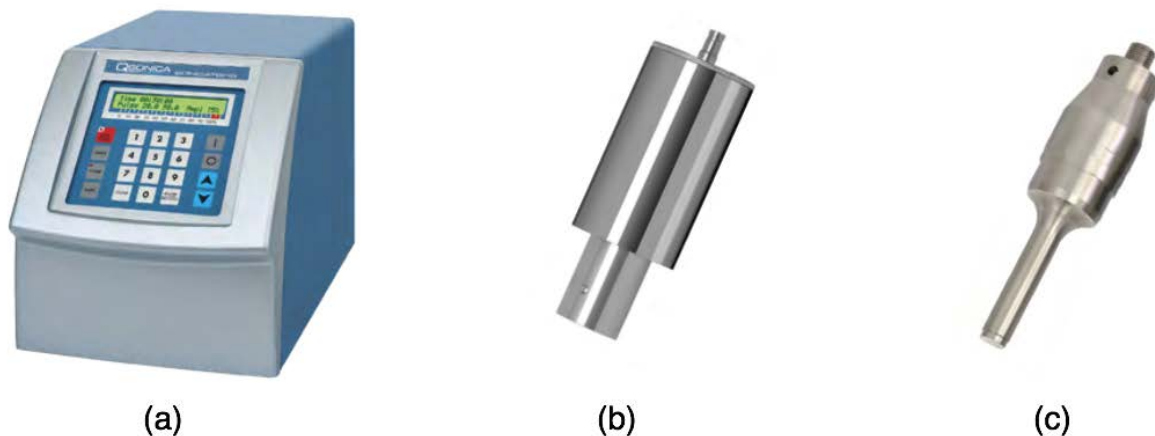
Ved sterilisering brukes oftest fysikalske eller kjemiske metoder. Fysikalske metoder innebærer bruk av varme, stråling eller filtrering. Ved bruk av varme inngår koking, bruk av mettet vanndamp, oppvarmning i tørr luft, gløding og flampering. Kjemiske metoder innebærer bruk av kjemiske stoffer som syrer og baser.

5.1.2 Sterilisering av komponenter

Prosesen foregår i batch. Mellom hver batch må både fermentor og sentrifuge renses. Dette er innebygde programmer i komponentene og gjøres ofte ved damp for fermentor og tilbakeskylling for sentrifugen.

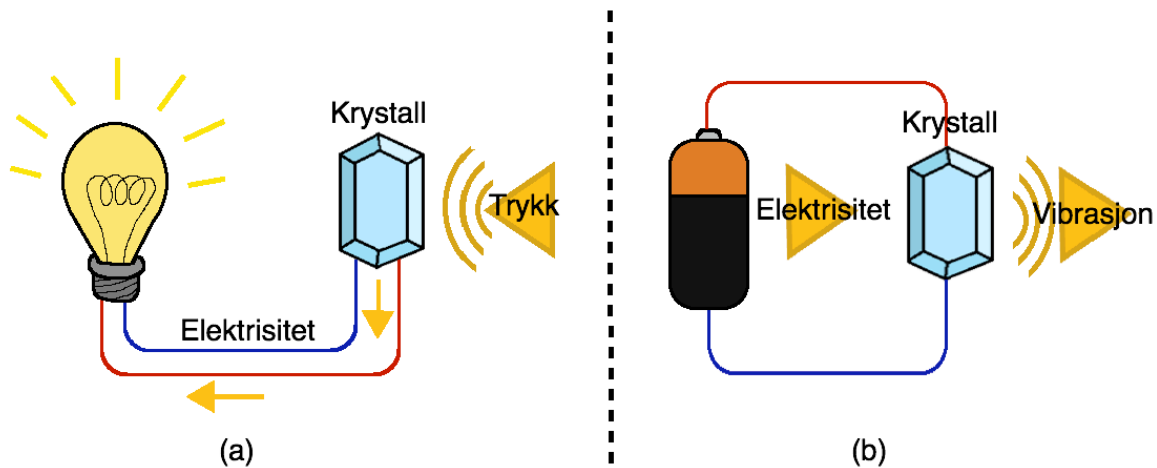
5.2 Sonikator

En sonikator er et ultralydapparat som bruker lydenergi til å utføre en rekke ulike applikasjoner, som blant annet å lage stabile emulsjoner mellom hydrofobe og hydrofile væsker. Dette utnyttes mye i prosessindustrier innen eksempelvis mat og kosmetikk. En sonikator kan også utføre ekstrahering av intracellulært materiale, aktivering og deaktivering av enzym-reaksjoner, homogenisering av blandinger, tillaging av emulsjoner, mikrooppmaling, osv (Hielscher, 2018).



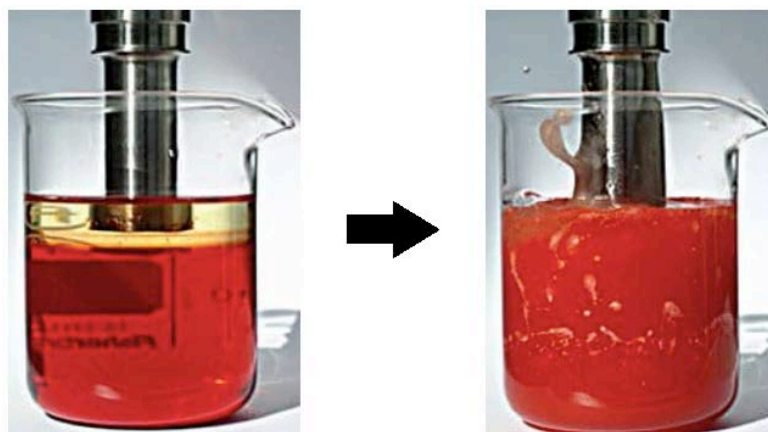
Figur 5.1: Bildet viser hovedkomponentene til et sonikatorsystem, her i laborierestørrelse. (a) Generator. (b) Konverterer. (c) Probe/horn.

Et sonikatorsystem består i av tre hovedkomponenter; en generator, en konverterer(omformer) og et horn, også kalt probe. Se Figur 5.1 for bilder av komponentene. Generatoren er en ultrasonisk elektronisk transformator som omformer vekselstrøm til høyfrekvent elektrisk energi(hertz). Sonikatorparameterne styres fra generatoren. Den elektriske energien driver en piezoelektrisk transduktor, også kalt konverterer, som er koblet til generatoren med en høyspenningskabel. Den er sylindrisk og har indre krystaller med egenskaper som konverterer energi fra en form til en annen. En sonikator omformer alltid elektrisk energi fra generatoren til mekanisk vibrasjon i proben. Illustrerer prinsippet bak konvertering av signaler med piezoelektriske krystaller i Figur 5.2.



Figur 5.2: Bildet illustrerer kun konsept og prinsipp. (a) Ved tilførsel av mekanisk kraft genereres det en elektrisk ladning på overflaten av krystallen. (b) Ved tilførsel av spenning vil krystallen endre form ved kontraksjon/ekspansjon. Dette forårsaker vibrering. Bildet gjenskapt fra EPSON.

Vibrasjonen fra krystallene forsterkes og overføres videre til proben. Proben kontraherer og ekspanderer og dette fører til kavitasjon. Ved kavitasjon begynner væsken å koke på grunn av lavt trykk rundt proben som vibrerer. Det oppstår mikrobobler fylt med damp ved probens overflate og disse imploderer(kollapser). Imploderingen forårsaker mye energi, som for eksempel kan brukes til å lage emulsjoner (se Figur 5.3). Sonikeringen genererer også energi i form av varme og for systemer som tåler dette foregår sonikeringen kontinuerlig. For systemer som ikke tåler dette kjøres sonikeringen på et pulserende program.



Figur 5.3: Bildet illustrerer hvordan sonikering foregår på laben. Her sonikeres vann(rødt) og olje(gult). Mye energi forårsaker kavitasjon som får oljen til å spre seg i vannet som små stabile nanodråper.

5.3 Bioreaktor

Funksjonen til en fermentor, også kalt bioreaktor, er å tilrettelegge og optimalisere levestandardene for mikroorganismer slik at de så effektivt som mulig kan produsere et ønskelig produkt. Fermentoren må designes for den spesifikke mikroorganismen som benyttes i prosessen, og etter hvilken skala det skal produseres i. Fermentoren må også ha en form for omrøring og oksygentilførsel for aerobe mikroorganismer som krever oksygen for å leve. Fermentering (i denne sammenheng) er en prosess der mikroorganismer dyrkes og næres på en substratblanding, som mikroorganismen deretter transformerer til et produkt. Dette foregår i en bioreaktortank(fermentor) som er designet for å håndtere levende celler. I tanken skal det være sterile forhold og sensorer som kan måle pH, temperatur og oppløst oksygen for å holde verdiene stabile.

Selve tanken er ofte laget av rustfritt stål og må tåle høy temperatur, trykk og jevnlig sterilisering. De vanligste komponentene i en bioreaktor er:

Omrørere – denne skal sørge for miksing av innholdet i bioreaktoren slik at miljøet blir mest mulig homogent for mikroorganismen. Dette sikrer cellene et bedre opptak av næring og oksygen slik at den kan produsere det ønskede produktet. Omrøreren består av en type propell som kan plasseres i topp eller i bunn. Plassering i bunn gir mer plass på toppen til prober for måling av ulike verdier som skal holdes konstant, og innløpsrør.

Baffel – mange bioreaktorer har baffler som skal hindre en eventuell virvelstrøm forårsaket av propellene til omrøreren. Bafflene er tynne vegger som plasseres loddrett, vinkelrett på veggen i tanken.

Spreader – ved aerob fermentering trenger mikroorganismene oksygen. Spreaderen skal forsyne tanken med luft slik at mikroorganismene har tilgang på oksygen. Boblene som kommer ut av spreaderen hjelper også til å mikse innholdet i tanken.

Kappe – denne skal hjelpe til å holde temperaturen i tanken konstant. Det er en slags kappe som omringer tanken, hvor det sirkulerer vann eller damp som kan varme opp eller kjøle ned tanken. Det kan også være spoler eller rør rundt tanken med vann eller damp.

Sensorer – som kan overvåke og kontrollere fermenteringsprosessen.

Prøvetakingsventil – som kan ta ut prøver å gjøre ulike analyser.

Antiskummiddel – tanken bør være utstyrt med antiskummiddel i tilfelle skumming.

(Hitesh, et al., 2010)

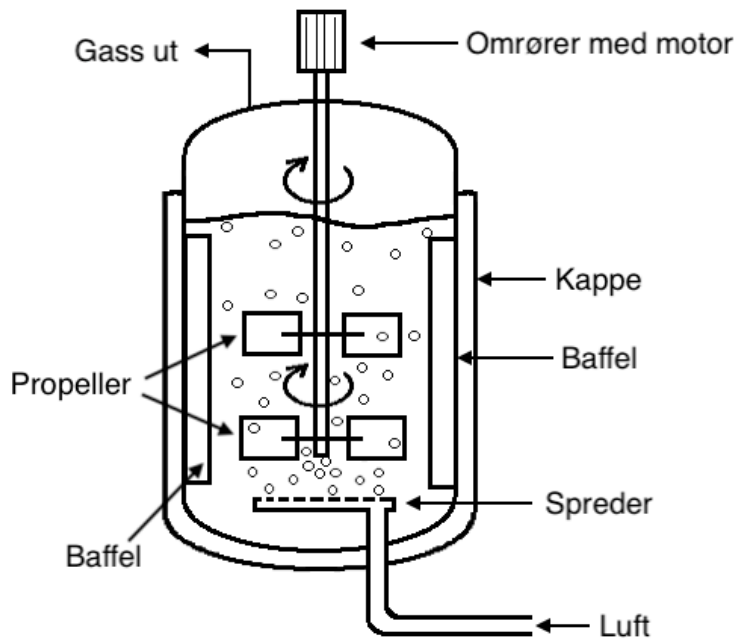
Første steg i fermenteringsprosessen er sterilisering av tanken. For at fermenteringen skal bli vellykket må forholdene i tanken være aseptiske. Det innebærer selve tanken, mediet og luften som tilsettes. Tanken og mediet kan enten steriliseres separat, eller samtidig i tanken. Separat sterilisering av tank foregår med varm vanndamp. Dette er en mer energibesparende metode enn å sterilisere substrat og tank sammen. Når både tank og substratblanding er sterilisert og tanken er fylt opp, inokuleres den med sporer av mikroorganismen som skal produsere ønsket produkt.

For å kontrollere og stabilisere forholdene i tanken under fermenteringen overvåkes tanken med sensorer og prober som måler temperatur, pH, oksygen nivå, skumdannelse og konsentrasjon av næring. Om noe skulle komme utenfor ønsket område, feks om pH synker, tilsettes det base slik at pH holder seg innenfor ønsket område. Etter at fermenteringen er over må tanken steriliseres igjen før neste batch tilsettes.

Substratet i tanken skal ha et volum på omtrent 70% av tankens volum. Det skal både være plass til at substratet endrer noe volum og plass til CO₂-dannelse og luft som stiger opp til overflaten. Når luft tilsettes vil luftboblene spres utover i mediet mens de stiger. Ettersom at luftboblene opptar volum vil volumet på substratet i tanken blir noe større. Mikroorganismer produserer også CO₂ som fjernes ved hjelp av luften. Gassen slippes ut gjennom en utgang på toppen av tanken.

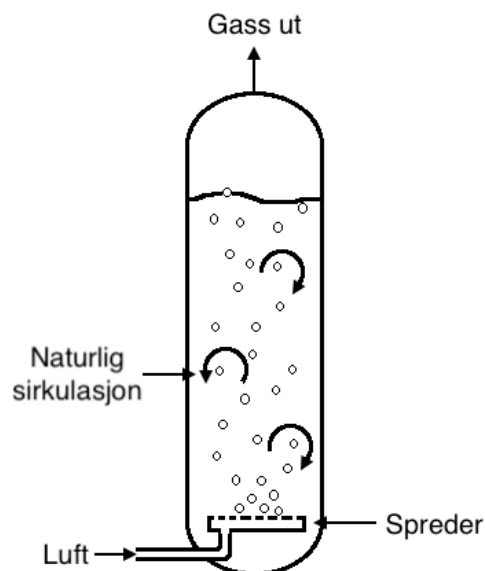
Det finnes ulike typer tanker, og det er flere faktorer som spiller inn på valg av type bioreaktor for en biologisk fermenteringsprosess. Det nevnes her tre ulike typer som er mye brukt i industrien:

Kontinuerlig omrøringstank – dette er en sylindrisk tank med et omrøringssystem i midten av tanken. En eller flere propeller er festet til et skaft som roterer i midten av tanken og blander innholdet. Antall propeller kommer an på høyden i forhold til diameter på tanken. Dette forholdet er vanligvis på 3-5. Luften tilsettes ved hjelp av en spreder og mikses inn med tankens innhold ved hjelp av propellene. Figur 5.4 inkluderer de viktigste komponentene i omrøringstanker.



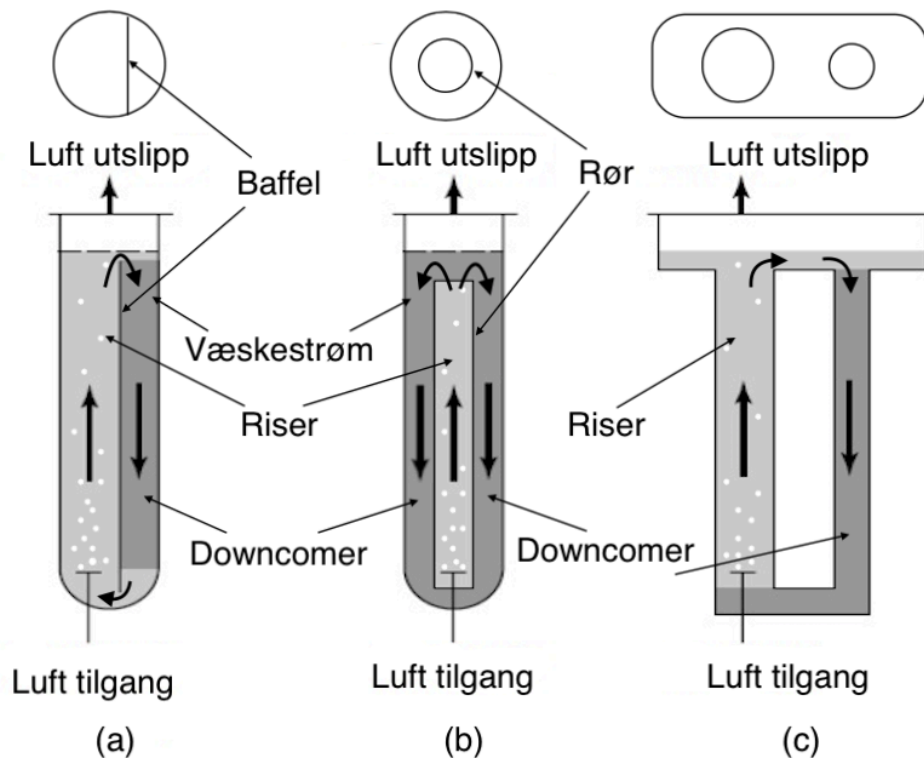
Figur 5.4: Enkel illustrasjon av en kontinuerlig omrøringstank.

Boblekolonne – i denne bioreaktoren tilsettes luften i bunnen av tanken gjennom en hullede plate, pipe, eller en spreder med mikrohull. Det kan også settes inn flere hullede plater i tanken for å forbedre oksygenopptaket og spredningen. Tanken er sylindrisk og forholdet mellom høyde og diameter ligger på 4-6. Enkel illustrasjon av boblekolonne i Figur 5.5.



Figur 5.5: illustrasjon av en boblekolonne bioreaktor. Her vil det foregå naturlig sirkulasjon av mediet i tanken på grunn av lufttilførsel.

Airlift bioreaktor – denne tanken kan ha ulike former. Hovedprinsippet er at den har to områder i tanken som kalles «riser» og «downcomer». I området kalt riser, tilsettes luften i bunn. Her vil luftboblene stige til overflaten og sette i gang en sirkulasjon av mediet i tanken. I området kalt downcomer vil mediet i tanken synke da det ikke er lufttilførsel. Det er to hovedtyper airlift bioreaktorer, disse vises i Figur 5.6.



Figur 5.6: illustrasjoner av ulike typer airlift bioreaktorer sett fra siden og sett oven i fra. (a) airliftreaktor med internt omløp av væske, med baffel som skiller mellom riser og downcomer. (b) airliftreaktor med internt omløp der et indre rør skiller mellom riser og downcomer. (c) airliftreaktor med eksternt omløp av væske der riser og downcomer skiller med forskjellig rør.

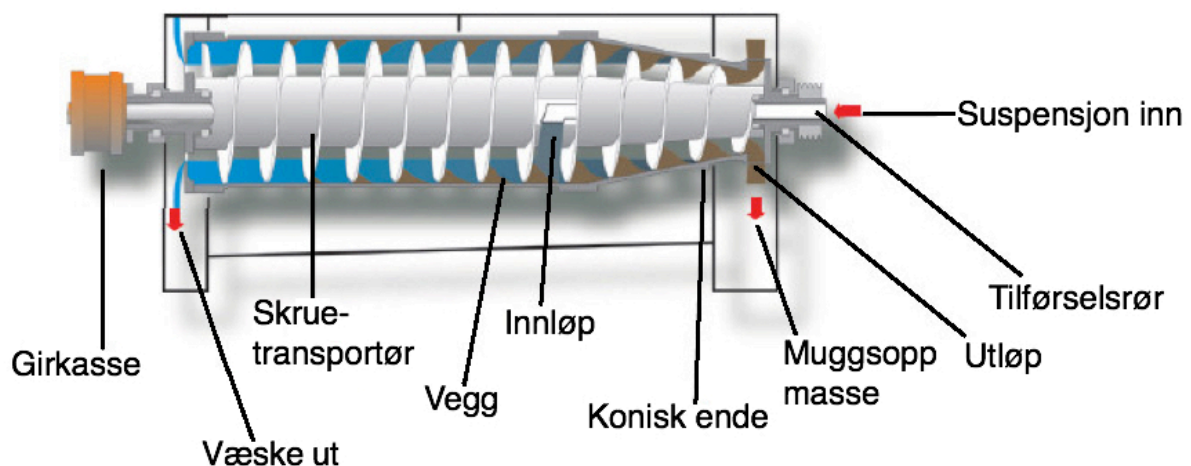
5.3.1 Valg av type bioreaktor

I dette prosessanlegget blir det lagt vekt på at muggsoppen *M. alpina* er en filamentøs sopp som danner hyfer og mycel. Hyfene er små greiner som kan skades av et omrøringsystem med propeller som kan forårsake skjæringskrefter på cellene. Det er derfor valgt å ikke benytte en mekanisk omrører. Både boblekolonner og airlift bioreaktorer kan designes uten propeller. I forhold til boblekolonner har airlift bioreaktorer en mer effektiv naturlig sirkulasjon. Med to soner i tanken, «riser» og «downcomer», vil det være en fullstendig sirkulasjon som sørger for god miksing av alle områder i tanken.

5.4 Avvanning – sentrifuge

Etter fermenteringen må biomassen, muggsoppcellene, avvannes. Denne operasjonen utføres av en sentrifuge. Det er store mengder vann som skal separeres fra biomassen og her brukes prinsippet om tyngdekraft, tetthet og sedimentasjon. Tyngdekraften kommer av at jordkloden trekker på legemer med masse inn mot sentrum av jordkloden. Sedimentasjon er når partikler i en væske synker ned mot bunnen i væsken som en følge av at partiklene har høyere tetthet enn væsken. I væsker vil partikler trekkes nedover i en lavere hastighet enn i luft. En sentrifuge er et instrument som kan forsterke sedimentasjonsprosessen opp mot 10 000 ganger. Den bruker rotasjon til å tvinge partikler som er fordelt i en suspensjon ut mot periferien av den roterende sentrifugen. Jo større differanse i tetthet mellom partiklene og væsken de befinner seg i, jo bedre vil resultatet av separasjonen bli. Det samme gjelder når to væsker med ulik tetthet skal separeres. Det beskrives her to ulike sentrifuger som er mye brukt i industriskala.

Dekanter sentrifuge

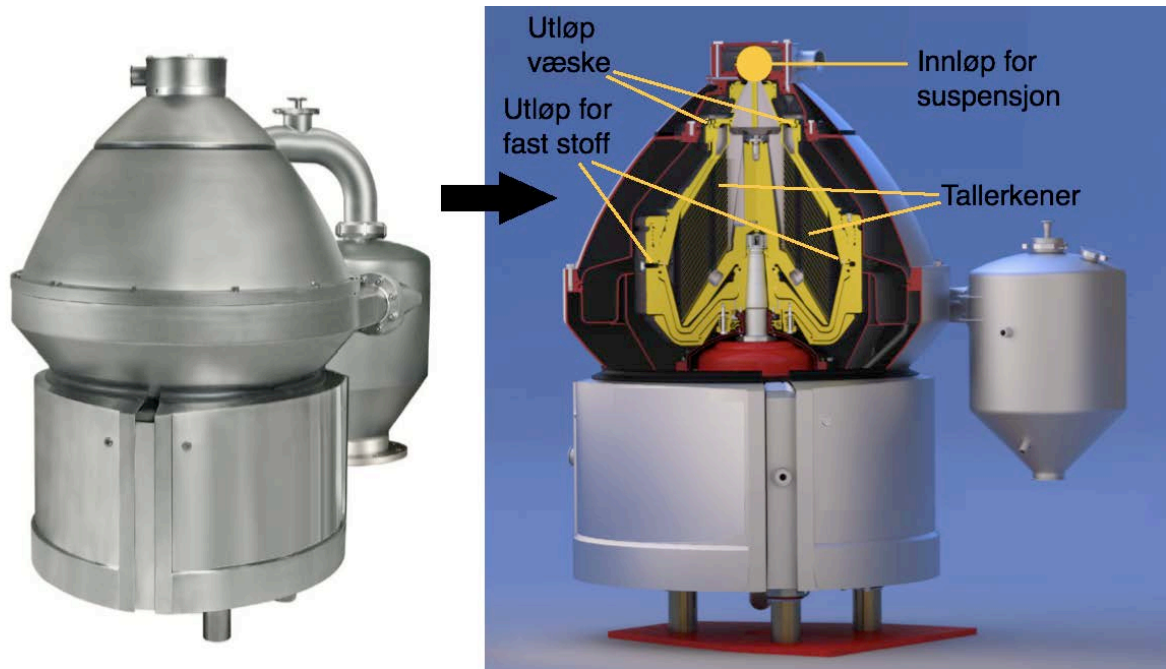


Figur 5.7: Skisse av dekanter sentrifuge og dens komponenter.

En dekanter sentrifuge består av en horisontal sylindrisk tank med en svær skruelignende komponent innvendig som separerer og transporterer bort de faste partiklene. Den fungerer slik at en suspensjon kommer inn gjennom et tilførselsrør i den ene enden av sentrifugen (høyre ende i Figur 5.7) og slippes ut inne i sentrifugen gjennom et innløp. Hele den sylindriske tanken roterer og sentrifugalkraften gjør at de tyngre elementene i suspensjonen fester seg langs veggene inne i sylindertanken. Skovlene på skruetransportøren inne i sentrifugen roterer i samme retning men med en litt annen hastighet og skyver den tyngre massen bortover langs veggene mot den koniske enden av sentrifugen (mot høyre i Figur 5.7). Her blir den tyngre

massen komprimert og sluppet ut gjennom åpningen. Samtidig vil væsken havne innerst langs skruen og strømme i motsatt retning av massen, og ut i motsatt ende sentrifugen (til venstre i Figur 5.7).

Tallerken sentrifuge

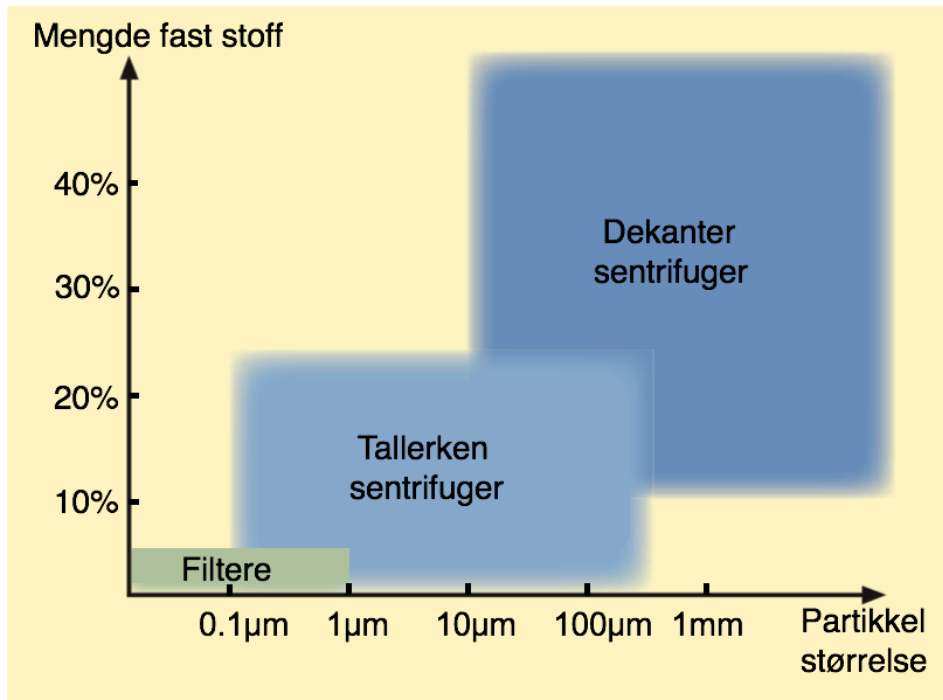


Figur 5.8: figuren viser hvordan en tallerkensentrifuge fra Alfa Laval ser ut på utsiden (t.v) og på innsiden(t.h). Modifisert bilde fra Alfa Laval.

Den er formet som en bolle med innvendige stablede tallerkener. Fire viktige områder i en tallerkensentrifuge er inngang for suspensjon, tallerkener, utgang for væske og utgang for fast stoff. Platene i tallerkensentrifugen gir et større areal for de tynge partiklene der setter seg og føres utover mot ytterste vegg i bollen. Separeringsprosessen går dermed kjappere. Inngangssonen akselererer suspensjonen til samme hastighet som den roterende bollen. Sonen er designet slik at den hindrer både skumming og skjæringskrefter på produktet, og den skal hindre temperaturstigning og andre forstyrrelser i separeringsprosessen. De stablede tallerkenene skal sørge for et jevnt og optimalt strømningsmønster for de tynge partiklene. Det er huller i diskene for at suspensjonen skal spres jevnt mellom alle diskene. En god måte å slippe ut den adskilte væsken på er med en åpen utgang. I de fleste tilfeller trengs et overtrykk. Dette genereres av en stasjonær plate. Platen bremser opp den roterende væsken og overfører den kinetiske energien i væsken til et trykk, og presser dermed væsken ut av separatoren via

kanaler i disken. Trykket som er nødvendig for de enkelte separasjonsprosessene reguleres av en ventil ved utløpet. Det faste stoffet kan både slippes ut kontinuerlig, ved intervaller eller manuelt. (Alfa Laval)

5.4.1 Valg av type sentrifuge



Figur 5.9: figuren viser hvilke mengder av fast stoff og hvilken partikkelstørrelse de ulike sentrifugene jobber best innenfor. Modifisert bilde fra Alfa Laval.

Dekanter sentrifuger brukes generelt for større konsentrasjon av faste stoffer og større partikkelstørrelser. Tallerkensentrifuge fungerer best for lavere faststoff-konsentrasjoner og mindre partikkel størrelser. Mengde celler i forhold til resten av innholdet i fermenteringstanken som skal sentrifugeres bort er ca. 2 %. Sporene til muggsoppen kan være 5-7 µm. Mens muggsoppen vokser kan hyfene bli svært lange i forhold til utgangspunktet. Figur 5.9 viser hvilke områder de ulike sentrifugene fungerer best innenfor. Figuren viser derfor at det beste valget for avvanning i prosessanlegget er tallerken sentrifuge. Denne håndterer lav andel med fast stoff og størrelsen på muggsoppen er også innenfor størrelsesintervallet.

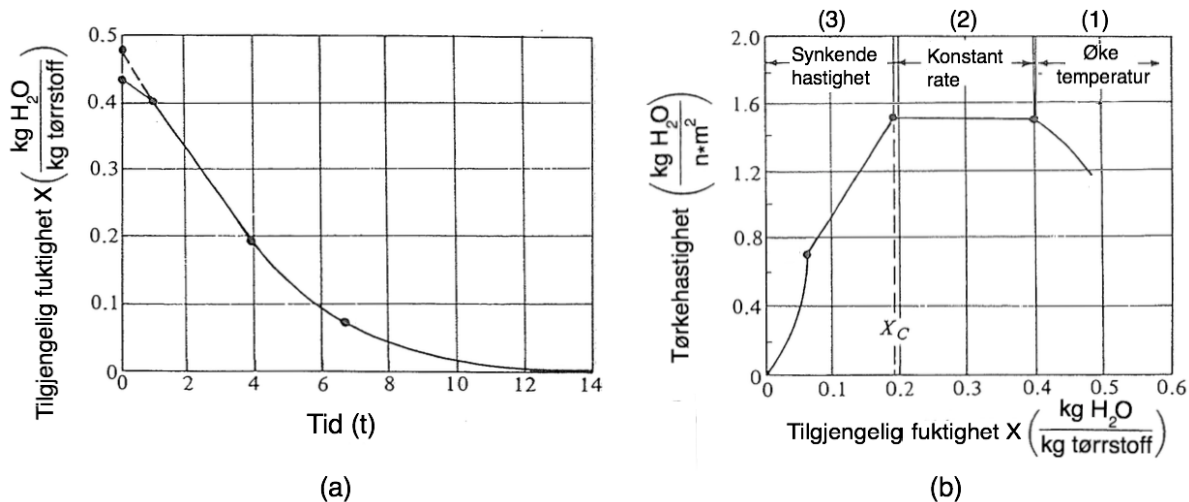
5.5 Tørkemaskin

Biomassen og væsken ble adskilt i sentrifugen. Muggsoppcellene inneholder 68% intracellulært vann, noe som tar opp mye volum i biomassen. Ved tørking av biomasse menes det i denne

sammenheng å minske det intracellulære vannet i cellene. Volumet av biomassen vil da minske betraktelig og konsentrere produktet ytterligere.

En tørkemaskin må ha en varmekilde, en metode for å fjerne det fordampede vannet og et rulleringssystem der tørket materiale kommer ut og nytt materiale kommer inn for tørking. Metodene de ulike tørkemaskene gjennomfører dette på er det som skiller dem. I prinsippet finnes det to måter varmen kan brukes på for å tørke materialet; direkte tørking og indirekte tørking. Ved direkte tørking blir materialet direkte eksponert for den varme gassen som skal tørke materialet. Gassen kan være varm luft eller varm damp. Ved indirekte tørking blir varmen overført til materialet ved hjelp av et eksternt medium som for eksempel metall som materialet er i kontakt med. (McCabe, et al., 2005)

Tørkeprosessen kan deles opp i tre stadier (se Figur 5.10(b)). I det første stadiet må temperaturen på materialet heves til et punkt (våtkuletemperaturen) der det er nok krefter til at vannet forlater materialet. I det andre stadiet fordampes overflatevannet, altså det vannet som ligger utenpå cellene. Dette skjer i en konstant rate. Når alt overflatevannet er fordampet bort starter det tredje stadiet i tørkeprosessen. I det tredje stadiet er cellene tørre utenpå, men har fortsatt intracellulært vann. Temperaturen på materialet må i dette stadiet heves enda mer for å få vannet ut til overflaten og slik at det kan fordampes bort. I denne siste fasen synker hastigheten eller raten på tørkingen da mindre og mindre vann er tilgjengelig for å tørkes bort. I dette stadiet synker temperaturen på materialet til våtkuletemperaturen. Når materialet er ferdigtørket og det ikke er mer vann i cellene vil temperaturen igjen stige. Ved tørking av brennbare materialer er det viktig å designe tørkeren slik at brannfaren blir minimal. En tørkemaskin med høy temperatur kan være mindre i størrelse, og samtidig tørke bort samme mengde vann på like lang tid som en større tørkemaskin med lavere temperatur. Her må faren for antenning tas i betraktning. Se Figur 5.10(a) og (b) for kurvebeskrivelser av tørkeprosessen.



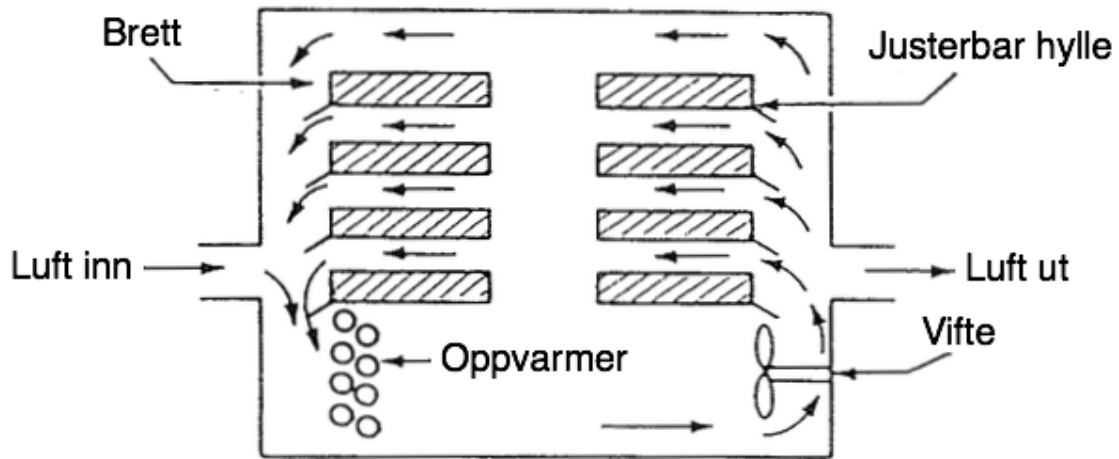
Figur 5.10: (a) Grafen viser at tilgjengelig fuktighet synker med tiden. (b) Grafen viser de tre stadiene i en tørkeprosess, første (1), andre (2) og tredje stadiet (3). Tørkehastigheten synker samtidig som tilgjengelig fuktighet synker.

Faren for antenning er størst ved to kritiske anledninger under tørkingen. Den første etter tørkestadiet (1) er over. Da er materialet tørt utenpå, og kan antenne om temperaturen på materialoverflaten stiger til forbrenningstemperaturen før vannet inne i materialet rekker å komme til overflaten. Den andre faren er når vannet inne i materialet er tørket bort. Da vil temperaturen på materialet stige og kan antennes ved forbrenningstemperaturen, eller om luften eller gassen som tørker materialet varmes til flammepunktet. Det er derfor ikke sjeldent at materialet tørkes 100%.

Typer tørkemaskiner

Brett tørker

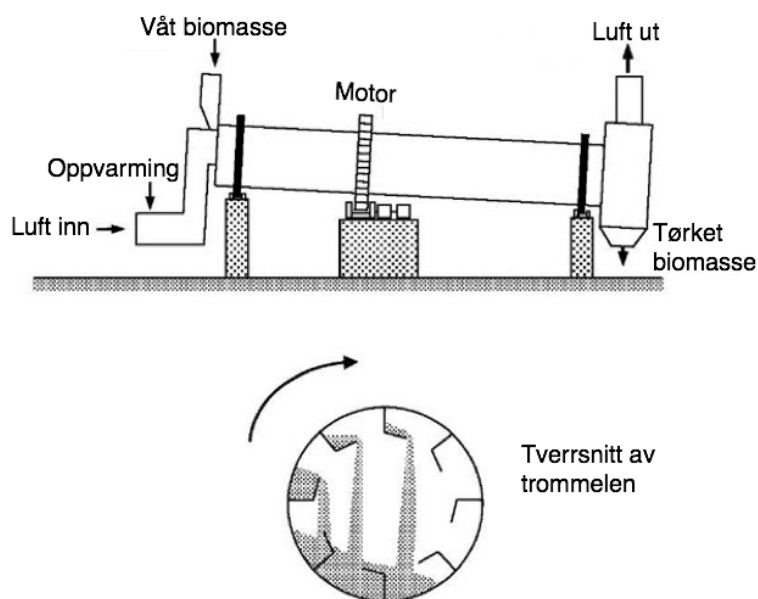
I en brett tørker (se Figur 5.11) er materialet som skal tørkes ofte deigaktigt eller klumpete. Massen spres jevnt utover brettene i et kabinett med en dybde på massen på 10-100 mm. Dampfylt luft resirkuleres ved hjelp av en vifte inne i kabinettet. Kun 10-20% av luften er ny luft, resten er resirkulert. Kabinettet er lukket mens tørkingen pågår og når tørkingen er ferdig erstattes brettene av nye brett med ny masse.



Figur 5.11: skisse av en brett tørker.

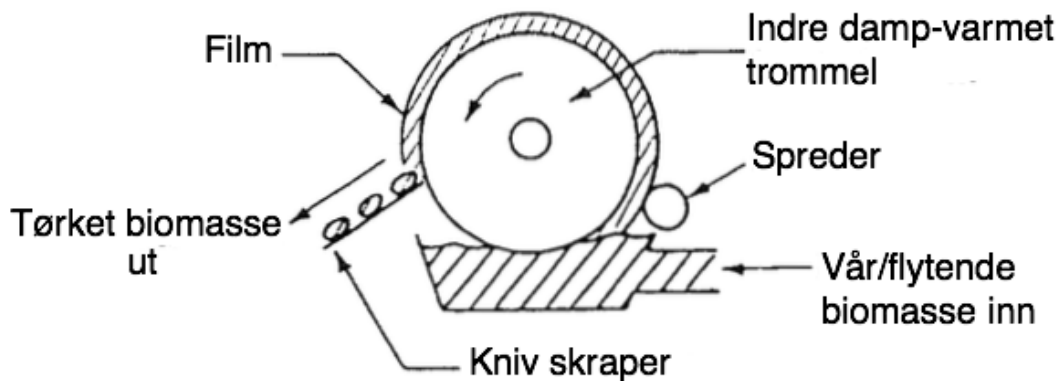
Roterende tørketrommel

Denne består av en hul sylinder (se Figur 5.12) hvor den våte massen tilsettes i toppen. Trommelen er tiltet nedover som gjør at massen roteres mot utgangen (til høyre i skissen). Tørkingen skjer ved direkte kontakt med den varme luften som strømmet i motsatt retning av den våte massen (motstrøms bevegelse). Massen som tørkes roteres rundt, løftes og tromles mens den varme luften passerer inne i tørkeren. Dette gir en bedre varme- og masseoverføring. Det er også mulig med indirekte oppvarming i tørketromler. Da tørkes massen ved kontakt med den varme sylinderveggen. Tørketromler kan håndtere suspensjoner og våte granulære masser.



Figur 5.12: Skisse av en roterende tørketrommel.

Trommeltørker – denne består av en oppvarmet metallrull. Massen føres inn til tørkeren og spres utover rullen av en spreder. I kontakt med den varme overflaten fordampes vannet i massen. Metallrullen roterer, og det tørkede materialet skrapes av som vist i Figur 5.13. Trommeltørkere egner seg til deigaktige eller slamlignende materialer som skal tørkes. Den fungerer både som en fordampner og en tørker. Tørkeren kan også modifiseres med flere metallruller. Et eksempel på bruk av trommeltørker er ved tillaging av potetgull, der potetmasse tørkes og «kjevles» flat av metallrullene.



Figur 5.13: Skisse av en trommeltørker

5.5.1 Valg av type tørkemaskin

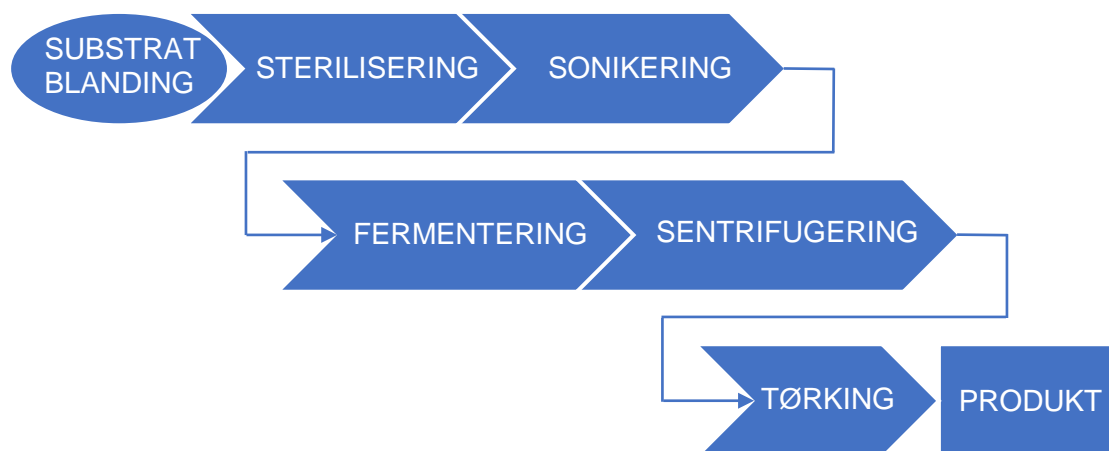
Både brett tørker, roterende tørketrommel og trommeltørker er brukt i industrien. Brett tørkeren har mindre kapasitet enn de andre tørkemaskinene da massen må spres utover i et tynt lag på hvert brett, noe som er tidskrevende og krever store arealer. Trommeltørkeren har noe av den samme ulempen som brett tørkeren, da det må være en tynn film av materiale som skal tørkes utenpå metallrullen. Dette gjør at kapasiteten i forhold til areal blir mindre. Det blir derfor valgt å benytte roterende tørketrommel i prosessanlegget, der biomassen roteres og får en jevnest mulig tørkeprosess. Biomassen vil både tørkes indirekte av den varme sylinderveggen og direkte av den varme luften.

6 Beregninger

I dette kapitlet blir masse- og energibalanser for hvert av trinnene i prosessen gjennomført. Det vil deretter komme en oppsummering av resultatene, som kommer til nytte i siste del av kapitlet som omhandler dimensjonering av komponentene.

6.1 Balanser for masse og energi

Utgangspunktet for beregningene er at 1000 kg animalsk fett (AF) skal prosesseres slik at utbyttet blir størst mulig. Det antas at 100% AF konverteres til biomasse og CO₂. Antagelser rundt mengder og beregninger baserer seg på verdier fra forskning, vitenskapelige artikler og laboratorieforsøk fra LipoFungi prosjektet – «Bioconversion of low-cost fat materials into high-value PUFA-Carotenoid-rich biomass» (Prosjektnr. 260987). For å konvertere AF til høyverdige lipider benyttes muggsoppen *Mortierella alpina*. Det vil bli gjennomført nødvendige beregninger for hver enkelt komponent trinnvis i prosessens naturlige rekkefølge. Figur 6.1 viser stegene i prosessen.



Figur 6.1: Skisse av stegene i prosessen fra substratblanding til produkt.

6.1.1 Substratblanding

Det er nødvendig med en substratblanding (SB) for å sikre en stabil vekst av muggsoppen *M. alpina* og en stabil produksjon av høyverdige lipider. SB inneholder en nitrogenkilde (gjærekstrakt) og mineraler i tillegg til AF som fungerer som en karbonkilde. Det tilsettes også oksygen i form av luft fordi *M. alpina* er en aerob mikroorganisme. Massene av de ulike stoffene i substratet beregnes ut i fra Tabell 6.1.

Tabell 6.1: Viser konsentrasjon av stoffene per liter vann i SB. Konsentrasjonene er hentet fra forsøk gjennomført på RealTek under LipoFungi prosjektet.

Stoff	Konsentrasjon av stoff (g/L)
Animalsk fett	50
Gjærekstrakt	10
Mineraler	
KH_2PO_4	7
Na_2HPO_4	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,008
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.001
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0001
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0001
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0001
Sum mineraler	10,6123

Beregning av mengde og volum av stoff i SB:

For å beregne de ulike volumene og massene brukes følgende sammenheng:

$$V = \frac{m}{c} \quad (6.1)$$

V – volum

m – masse

c – konsentrasjon

Mengde animalsk fett (AF):

$$m_{AF} = 1000 \text{ kg}$$

Mengde vann:

$$\begin{aligned} V_{vann} &= \frac{m_{AF}}{c_{AF}} \\ &= \frac{1000 \text{ kg}}{0,050 \text{ kg/L}} \\ &= 20\,000 \text{ L} \end{aligned}$$

Mengde gjærekstrakt (YE – yeast extract):

$$\begin{aligned} m_{YE} &= c_{YE} V_{vann} \\ &= 0,01 \frac{kg}{L} (20\ 000L) \\ &= 200\ kg \end{aligned}$$

Mengde mineraler (M):

$$\begin{aligned} m_M &= c_M V_{vann} \\ &= 0,0106 \frac{kg}{L} (20\ 000\ L) \\ &= 212,25\ kg \end{aligned}$$

Oppsummering av massene av de ulike stoffene i SB vises i Tabell 6.2.

Tabell 6.2: Viser mengde stoff og summen av volumet av disse i SB. Da gjærekstrakt og mineraler er lettløselige i vann antas det at volumet på vannet ikke endres ved tilsetning av disse da det er små mengder i forhold til mengde vann.

Stoff	Symbol	Mengde	Tetthet	Volum
Animalsk fett	m_{AF}	1000 kg	884 kg/m ³	1,13 m ³
Vann	V_{vann}	20 000 L	1 kg/L, 1000 L/m ³	20 m ³
Yeast extract	m_{YE}	200 kg	490 kg/m ³ [1]	-
Mineraler	m_M	212,25 kg	-	-
Sum substratblanding	V_{SB}			21,13 m³

6.1.2 Sterilisering

Massebalanse/masseberegning

Massen og volumet forblir det samme før og etter sterilisering.

Animalsk fett: $m_{AF} = 1000\ kg, V_{AF} = 1,13\ m^3$

Vannblanding: $m_{vb} = 20\ 412,25\ kg, V_{vb} = 20\ m^3$

Energibalanse/energiberegning

Fettet steriliseres i egen beholder. Resten av substratet er blandet med vann og steriliseres også i egen beholder før alt sonikeres til en emulsjon.

Alt som skal steriliseres varmes opp til 121 °C og holdes på denne temperaturen i 10-15 minutter. Det antas minimalt med varmetap da dette skal foregå i isolerte tanker. Animalsk fett har et brennpunkt på 190 °C og vil derfor ikke ta skade av og varmes opp til 121 °C.

Det blir gjort et overslag over hvor mye varmeenergi som trengs for å varme AF og SB til 121 °C hver. Formelen for varmeenergi (6.2) benyttes:

$$Q = mc\Delta T \quad (6.2)$$

Q – varmeenergi [J]

m – massen til substansen [kg]

c – spesifikk varmekapasitet for substansen [J/kgK | J/kg°C]

ΔT – forandring i temperatur [K | °C]

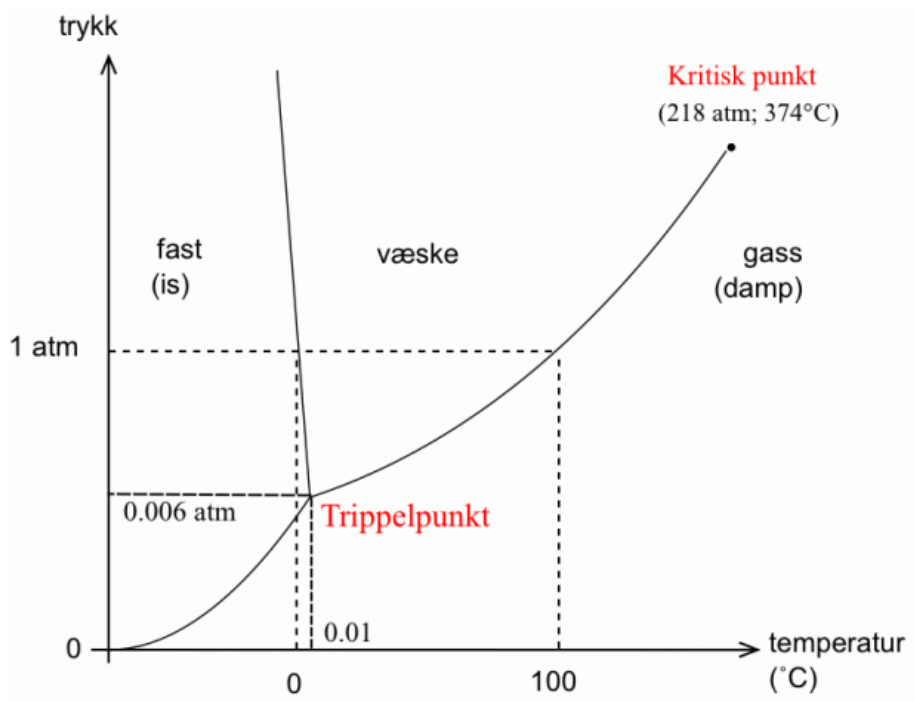
Varmeenergi for animalsk fett (AF):

Varmekapasiteten til svinefett på 2,26 kJ/kg°C benyttes for varmekapasiteten til AF. Fettet holder opprinnelig en temperatur på 60 °C da det er flytende og leveres til anlegget i tanker ved denne temperaturen.

$$\begin{aligned} Q_{AF} &= 1000(2,26)(121 - 60) \\ &= 137,86 \text{ kJ} \end{aligned}$$

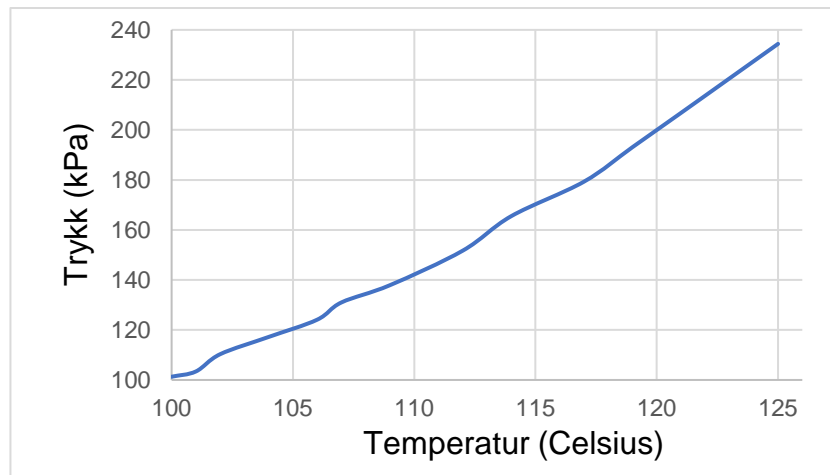
Varmeenergi for substrat blanding (SB):

Vann kan generelt eksistere som is, væske eller damp. Dens fysiske tilstand bestemmes av trykk og temperatur. Se figur 6.2 for de ulike fysiske tilstandene av vann ved ulike trykk og temperaturer.



Figur 6.2: Fasediagram for vann.

Koking av vann skjer når damptrykket til vannet er likt som totaltrykket over vannoverflaten. Det gjennomsnittlige trykket i atmosfæren ved havoverflaten er 101,3 kPa eller 1 atm. Det betyr at ved 100 °C (kokepunktet til vann) er damptrykket i vannet like høyt som trykket ved havoverflaten. Det er ikke mulig å gjøre damptrykket i vannet høyere enn totaltrykket ved vannoverflaten, og det betyr at vann i væskeform ved 1 atm ikke kan varmes til mer enn 100 °C. For å gjøre vannet varmere må det påsettes trykk slik at trykket ved vannoverflaten blir større enn 1 atm. Dette må skje i en tett beholder slik at trykket holdes konstant. Først da vil vannet kunne oppnå en høyere temperatur ved oppvarming. Dette gjøres ved sterilisering av substratet da det ikke holder med 100 °C for å få bort uønskede mikroorganismer. Figur 6.3 viser sammenhengen mellom trykk og kokepunkt for vann.



Figur 6.3: viser grafen for kokepunkt ved økende trykk.

Av figur 6.3 kommer det frem at trykket må være over 206,8 kPa for at substratet skal nå en temperatur på 121 °C. Formel (6.2) benyttes for å gjøre et overslag på mengde varmeenergi som trengs for sterilisering av SB. Det blir gjort en forenkling ved at kun vannets varmekapasitet på 4,187 kJ/kg°C benyttes i beregningen av varmeenergi for SB. SB inneholder opprinnelig vann, mineraler og gjærekstrakt. Benytter også sammenhengen 1 L vann = 1 kg.

Benytter ligning (6.2) og gjør et overslag på hvor mye varmeenergi som trengs for oppvarming av SB:

$$\begin{aligned}
 Q_{SB} &= (m_{vann} + m_{YE} + m_M)c_{p,vann}\Delta T \\
 &= (20\,000 + 200 + 212,25)(4,187)(121 - 20) \\
 &= 8,632\text{ GJ}
 \end{aligned}$$

6.1.3 Sonikering

Massebalanse/masseberegning

Massen og volumet forblir det samme før og etter sterilisering.

$$\text{Substrat blanding: } m_{SB} = 21\,412,25\text{ kg}, V_{SB} = 21,13\text{ m}^3$$

6.1.4 Fermentering

Tanken fylles med SB og den inokuleres med muggsopp. Det tilsettes 20 ml sporeblanding av *M. alpina* per L SB.

$$V_{M.alpina} = \frac{0,02L}{L} (21,13\text{ m}^3) \left(1000 \frac{L}{m^3}\right)$$

$$= 422,6 \text{ L} \approx 0,42 \text{ m}^3$$

Totalt arbeidsvolum ved fermentering (*ferm*) blir da:

$$V_{ferm} = V_{SB} + V_{M.alpina} = 21,55 \text{ m}^3$$

Mengde oksygen/luft som tilsettes:

Da muggsoppen er en aerob mikroorganisme trenger den oksygen for å leve. Ved bruk av airlift reaktor er det gjort forsøk som viser at en lufttilgang på 2 vvm gir best produksjonsresultat. Vvm står for volum gass per volum væske per minutt. Dette kan omformuleres til liter gass per minutt (LGM). Bruker det totale arbeidsvolumet og finner mengde luft som trengs:

$$21,55 \text{ m}^3 = 21\,550 \text{ L}$$

$$2 \text{ vvm} = 2(21\,550)$$

$$= 43\,100 \text{ LPM}$$

$$= 43,1 \text{ m}^3 \text{ luft/min}$$

$$m_{luft} = \left(1,2 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right) * \left(43,1 \frac{\text{m}^3}{\text{min}}\right) = 51,72 \text{ kg luft per minutt}$$

For å opprettholde en lufttilgang på 2 vvm må det tilsettes 43,1 m³ (51,72 kg) luft i minuttet. Dette skal sikre en god oksygentilgang for muggsoppen.

Under fermenteringen antas det at muggsoppen utnytter alt av næring i tanken. Soppens celler vokser og den akkumulerer olje inne i cellene samtidig som den produserer CO₂ som et avfallsprodukt. Mengde CO₂ som blir dannet blir ikke tatt med i masseberegningene. Konsekvensen av dette er at mengde produkt og mengde vann som skal sentrifugeres bort får en noe høyere masse da ikke CO₂ mengden trekkes fra. Verdier brukt i beregning av mengde tørket cellevekt (TCV) og mengde olje i TCV er beregnet fra tabeller i appendix, og vises her i tabell 6.3.

Tabell 6.3: oversikt over hvilke verdier og parametere som brukes for beregning av ferdigprodukt. Prosentene er oppgitt i vektprosent.

Strain	DCW (tørr cellevekt)	Mengde vann i cellen (% w/w)	Total mengde lipid i DCW (% w/w)	Mengde PUFA (% w/w)
<i>Mortierella alpina</i>	21,5 g/L ^[1]	68 ^[4]	41 ^[2]	28 ^[3]

^{[1],[3],[4]} (Kosa, 2016)

^[2] (Certik & Shimizu, 1999)

6.1.5 Sentrifugering

Konsentrasjonen av tørr cellevekt etter fermenteringen er 0,0215 kg/L (fra forsøk i LipoFungi prosjektet). Disse cellene inneholder opprinnelig 68% vann. Cellemengden som skal adskilles fra resten av blandingen beregnes ut i fra disse verdiene. Vannmengden er det som blir til overs. Benytter at 1 L vann = 1 kg. Bruker formelen (6.1).

Cellemengde:

$$\begin{aligned}
 m_{DCW} &= c_{DCW} V_{ferm} * 1000 \text{ kg/m}^3 \\
 &= 0,0215 \frac{\text{kg}}{\text{L}} (21,55 \text{ m}^3) * 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \\
 &= 463,4 \text{ kg}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 m_{celler} &= \frac{463,4 \text{ kg}}{32} * 100 \\
 &= 1448,1 \text{ kg}
 \end{aligned}$$

Vannmengden som sentrifugeres bort (S.vann):

$$\begin{aligned}
 m_{S.vann} &= \left(1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} * V_{subs} \right) - m_{celler} \\
 &= \left(1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} * 21,55 \text{ m}^3 \right) - 1448,1 \text{ kg} \\
 &= 20101,9 \text{ kg} \approx 20101,9 \text{ L}
 \end{aligned}$$

NB: Ved fermentering blir det også dannet CO₂. Mengde CO₂ er ikke tatt med i massebalansene da det er en vanskelig mengde å beregne uten en kjemisk ligning og uten målinger. Fermenteringstanken vil dimensjoneres slik at det er plass til gassdannelse. Mengde tørr

cellevekt ville blitt noe mindre om CO₂ var tatt med i beregningene. Mengde O₂ nødvendig for at bakteriene skal vokse beregnes senere.

6.1.6 Tørking

Cellene inneholder vann, og dette skal tørkes bort for å oppkonsentrere produktet. For at det ikke skal være fare for selvantennelse i tørkeren vil det ferdigtørkede produktet inneholde 10% vann. Det skal beregnes hvor mye vann som tørkes bort og hvor mye varm luft som trengs for å tørke denne mengden med vann. Det skal også beregnes hvor mye energi som går med til å tørke cellene.

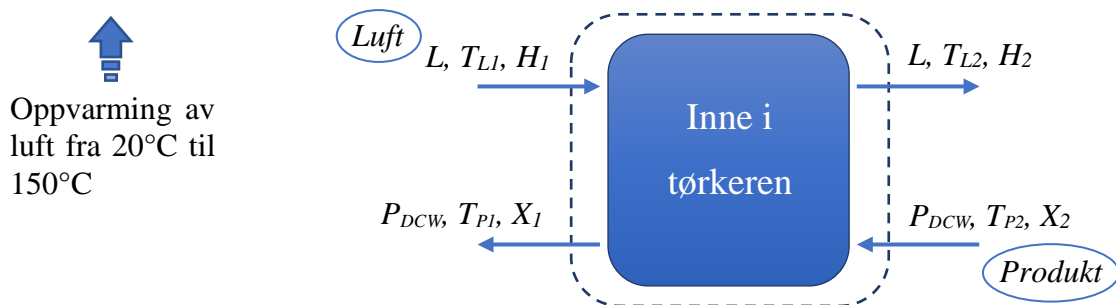
Mengde tørket vann (*t.vann*):

$$\begin{aligned} m_{t.vann} &= m_{celler} - m_{10\%.DCW} \\ &= 1448,1 \text{ kg} - \left(\frac{463,4 \text{ kg}}{90} * 100 \right) \\ &= 933,2 \text{ kg} \end{aligned}$$

Når vannet tørkes bort fra cellene blir den varme luften i tørkeren fuktigere. Tørkeren i prosessanlegget skal tørke biomassen ved konstant trykk, isobar, ved 1 atm.

Mengde varm luft:

For å beregne hvor mye luft som trengs for å tørke cellene, skisseres tørkesystemet for en kontinuerlig tørker der massestrømmen mellom varm luft og fast stoff er motstrøms. Skissen illustreres i figur 6.4.



Figur 6.4: Skisse av systemet for tørkeren. Systemet er avgrenset med stiplede linje og symbolene viser i hvilken retning massene kommer inn og ut. Skissen viser også at oppvarming av luft ikke inngår i balansen da det skjer utenfor den stiplede linjen.

Fuktighetsbalanse:

Fuktighetsbalansen (6.3) viser at den samme mengden fuktighet passerer inn og ut av tørkeren. Mesteparten av fuktigheten inn til tørkeren befinner seg i cellene, mens ut av tørkeren er store deler av fuktigheten overført til luften.

$$LH_1 + P_{DCW}X_2 = LH_2 + P_{DCW}X_1 \quad (6.3)$$

Symbolforklaring

L – massestrøm for tørr luft per time [$\text{kg}_{\text{tørrluft}}/\text{time}$]

T_{L1} – luftens temperatur inn til tørkeren [$^{\circ}\text{C}$] (antatt 150°C)

H_1 – luftens fuktighet inn til tørkeren [$\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{tørrluft}}$]

P_{DCW} – massestrøm for fast stoff, tørr cellevekt per time [$\text{kg}_{\text{DCW}}/\text{time}$]

T_{P2} – produktets temperatur inn til tørkeren [$^{\circ}\text{C}$] (antatt romtemp. 20°C)

X_2 – produktets fuktighetsinnhold inn til tørkeren, tørr base [$\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{DCW}}$]

T_{L2} – luftens temperatur ut av tørkeren [$^{\circ}\text{C}$] (antatt 50°C)

H_2 – luftens fuktighet ut av tørkeren [$\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{tørrluft}}$]

T_{P1} – produktets temperatur ut av tørkeren [$^{\circ}\text{C}$] (antatt 80°C)

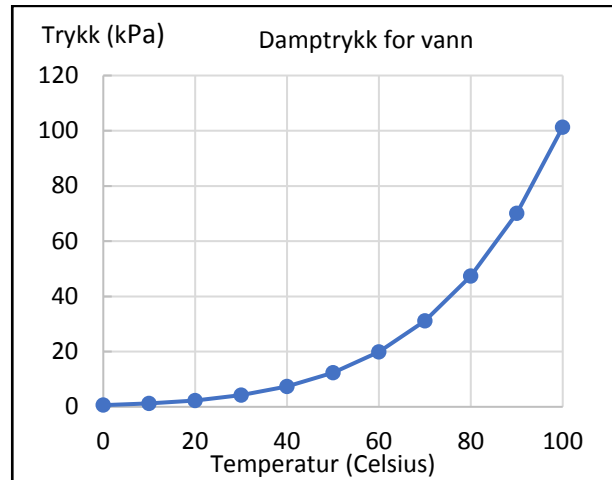
X_1 – produktets fuktighetsinnhold ut av tørkeren, tørr base [$\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{DCW}}$]

Fuktighet

Fukigheten H (*humidity*) i luft er definert som mengde kg vanndamp per kg tørr luft. Fukigheten er kun avhengig av partielltrykket, p_A , til vanndampen i luften og av totaltrykket P . Totaltrykket i tørkeren er konstant ved $101,3 \text{ kPa}$. Partielltrykket til vanndampen i luften er vanskelig å anslå, og det gjøres derfor beregninger med maks luftfuktighet, H_m . Maks luftfuktighet eller mettet luftfuktighet er når partielltrykket til vanndampen i luften, p_A , er like stort som damptrykket ved overflaten til rent vann, p_{Am} , ved de gitte betingelsene for temperatur og trykk. Tabell 6.4 og figur 6.5 viser damptrykk ved vannoverflaten for ulike temperaturer ved $101,3 \text{ kPa}$ (1 atm).

Tabell 6.4: Forholdet mellom temperatur og damptrykk ved vannoverflaten til rent vann ved 1 atm.

Temperatur °C	Damptrykk p_{Am} [Pa]
0	611
20	2 338
30	4 242
40	7 375
50	12 333
60	19 920
70	31 160
80	47 340
90	70 110
100	101 325



Figur 6.5: Illustrasjon av sammenheng mellom trykk og temperatur ved 1 atm med kurve.

For å sette en realistisk verdi på fuktigheten i luften inn til tørkeren (H_I) beregnes det først hvor mye vanndamp det maksimalt kan være i luften (H_m). Den varme luften som ankommer tørkeren er forvarmet fra romtemperatur (20 °C) til 150°C uten å ha blitt tilført fuktighet. Den maksimale fuktigheten i luften beregnes derfor ut i fra 20 °C. Deretter antas det at fuktigheten i luften (H_I) er 33% av maksimal fuktighet (H_m) da luftfuktigheten inne ved romtemperatur ikke er opp mot 100%. Molekylvektene for vann (18,02 g/mol) og luft (28,97g/mol) benyttes i beregningene.

Følgende formel for H_m benyttes:

$$\begin{aligned}
 H_m \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}} &= \frac{p_{Am}}{P-p_{Am}} \left(\frac{\text{kg mol H}_2\text{O}}{\text{kg mol luft}} \right) \left(\frac{18,02 \text{ kg}}{\text{kmol}} \right) \left(\frac{1}{\frac{28,97 \text{ kg}}{\text{kmol}}} \right) \\
 &= \frac{18,02}{28,97} \left(\frac{p_{Am}}{P-p_{Am}} \right) \quad (6.4)
 \end{aligned}$$

Maks luftfuktighet ved 20 °C:

$$\begin{aligned}
 H_{m.20} &= \frac{18,02}{28,97} \left(\frac{2338 \text{ Pa}}{101325 \text{ Pa} - 2338 \text{ Pa}} \right) \\
 &= 0,015
 \end{aligned}$$

33% av H_m gir en absolutt luftfuktighet på $H_I = 0,005$ kg vanndamp/kg tørr luft

Fuktighetsinnhold på produkt inn:

$$X = \frac{\text{mengde vann}}{\text{mengde tørr cellevekt}}$$

$$X_2 [kg_{H_2O}/kg_{DCW}] = \frac{m_{celler} - m_{DCW}}{m_{DCW}} \\ = 2,125 \text{ kg vann/kg tørr cellevekt}$$

Fuktighetsinnhold på produkt ut:

$$X_1 [kg_{H_2O}/kg_{DCW}] = \frac{m_{10\%DCW} - m_{DCW}}{m_{DCW}} \\ = 0,111 \text{ kg vann/kg tørr cellevekt}$$

Setter alle foreløpige verdier inn i fuktighetsbalansen (6.3):

$$L(0,005) + 463,4(2,125) = LH_2 + 463,4(0,111)$$

Tørkeprosessen foregår adiabatisk. Det antas ingen varmetap og det betyr at Q i energibalansen (6.5) er null.

Energibalanse:

$$LH'_{L1} + P_{DCW}H'_{P2} = LH'_{L2} + P_{DCW}H'_{P1} + Q \quad (6.5)$$

Der

H'_L – den totale entalpien per kg luft og dens vanndampinnhold, tørr base [kJ/kg_{tørrluft}]

H'_P – den totale entalpien til det faste stoffet, tørr base [kJ/kg_{DCW}]

Formel for entalpi:

$$H'_L [kJ/kg_{tørr\ luft}] = c_s(T_L - T_0) + H\lambda_0 \quad (6.6)$$

$$H'_P [kJ/kg_{DCW}] = c_{PP}(T_P - T_0) + Xc_{pH_2O}(T - T_0) \quad (6.7)$$

c_s – varmekapasiteten til fuktig luft [kJ/kg°C]

T_0 – fast punkt som entalpien refereres til. Lik verdi benyttes for begge komponenter [0 °C]

H – absolutt fuktighet [kg_{H2O}/kg_{tørr luft}]

λ_0 – latent varme for vanndamp ved T_0 [2501,4 kJ/kg]

c_{PP} – varmekapasitet for det tørre stoffet ved konstant trykk [kJ/kg°C]

c_{pH_2O} – varmekapasitet for vann ved konstant trykk [4,187 kJ/kg°C]

Fuktighetsvarmen c_s er varmekapasiteten til fuktig luft og er mengden varme målt i J som trengs for å heve temperaturen på 1 kg tørr luft i tillegg til dens vanndamp med 1 K eller 1 °C.

Verdien for c_s :

$$c_s = \text{varmekapasitet for tørr luft} + (\text{varmekapasitet for vanndamp} * H)$$

der H er absolutt fuktighet [$\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{tørr luft}}$]. Varmekapasiteten for tørr luft og vanndamp varierer med temperatur og det beregnes derfor en gjennomsnittsverdi innenfor temperaturintervallet det tørkes i. Luften i tørkeren holder en temperatur på mellom 50 °C og 150°C. Tabell 6.5 viser oversikt over de to varmekapasitetene ved temperaturer i dette området.

Tabell 6.5: Varmekapasitet for luft og vanndamp. Bruker gjennomsnittsverdien av to verdier.

Temperatur (°C)	Varmekapasitet for vanndamp	Temperatur (°C)	Varmekapasitet for tørr luft
100	1,888 kJ/kgK	50	1,007
148,9	1,909	140	1,013
Gj.snitt	1,900	Gj.snitt	1,010

Varmekapasiteten til luften bestemmes å være:

$$c_s = 1,01 + 1,9H$$

Varmekapasiteten c_{PP} for det tørre stoffet antas å være det samme som for mel da mel har omtrent samme vanninnhold som det ferdigtørkede produktet (Geankoplis, 1993).

$$c_{PP} = 1,84 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C}$$

Finner den totale entalpien til luften inn:

$$\begin{aligned} H'_{L1} &= c_s(T_{L1} - T_0) + H_1\lambda_0 \\ &= (1,01 + 1,9(0,005))(150 - 0) + 0,005(2501,4) \\ &= 165,43 \text{ kJ/kg}_{\text{tørr luft}} \end{aligned}$$

Total entalpi for luft ut:

$$\begin{aligned} H'_{L2} &= c_s(T_{L2} - T_0) + H_2\lambda_0 \\ &= (1,01 + 1,9H_2)(50 - 0) + H_2(2501,4) \\ &= 50,5 + 2596,4H_2 \end{aligned}$$

Total entalpi for produkt inn til tørker:

$$\begin{aligned} H'_{P2} &= c_{PP}(T_{P2} - T_0) + X_2c_{pA}(T_{P2} - T_0) \\ &= 1,84(20 - 0) + 2,125(4,187)(20 - 0) \\ &= 214,75 \text{ kJ/kg}_{DCW} \end{aligned}$$

Total entalpi for produkt ut av tørker:

$$\begin{aligned} H'_{P1} &= c_{PP}(T_{P1} - T_0) + X_1c_{pA}(T_{P1} - T_0) \\ &= 1,84(80 - 0) + 0,111(4,187)(80 - 0) \\ &= 184,38 \text{ kJ/kg}_{DCW} \end{aligned}$$

Setter inn i energibalansen (6.5):

$$L(165,43) + 463,4(214,75) = L(50,5 + 2596,4H_2) + 463,4(184,38)$$

Fra tidligere ser fuktighetsbalansen (6.3) slik ut:

$$L(0,005) + 463,4(2,125) = LH_2 + 463,4(0,111)$$

Løser ligningene (6.3) og (6.5) og finner mengde luft L og dens fuktighet ut av tørkeren H_2 :

$$L = 22793,3 \text{ kg}_{tørr \text{ luft}}/\text{time} = 18994,4 \text{ m}^3/\text{time} *$$

$$H_2 = 0,046 \text{ kg}_{H_2O}/\text{kg}_{tørr \text{ luft}}$$

*om hele batchen tørkes i løpet av 1 time.

Dette blir en energimengde på 3,87 GJ i timen.

Energioverslag for tørkeren

Mengden vann som tørkes bort fra muggsoppcellene er 933,2 kg (dette er intracellulært vann, men ved denne estimeringen behandles vannet som fritt vann). Ifølge likning (6.2) og likningen for fordampningsvarme (6.8) gjøres det et overslag på hvor mye energi det kreves for å tørke bort vannmengden:

$$Q_{vap} = L_{vap}m \quad (6.8)$$

Q_{vap} = fordampningsenergi

L_{vap} = fordampningsvarme [2256,4 kJ/kg]

m = masse (vann)

$$\begin{aligned} Q_{TOT} &= mc\Delta T + L_{vap}m \\ &= 933,2(4,187)(100 - 20) + 2256,4(933,2) \\ &= 2\,418,4 \text{ MJ} \end{aligned}$$

Da det er luften som skal tørke biomassen, så brukes energien først på å varme luften opp. Det gjøres derfor et overslag over hvor mye energi dette krever ved bruk av ligning (6.2):

$$\begin{aligned} Q_{luft} &= 22793,3(1,010)(150 - 20) \\ &= 2992,76 \text{ MJ} \end{aligned}$$

6.1.7 Produkt

Det beregnes til slutt hvor mye olje cellene inneholder, og hvor mye av dette som egentlig er de sunne oljene.

Den tørre cellevekten inneholder 41 % olje (verdi fra Tabell 6.3):

$$m_{olje} = 463,4 \text{ kg} * 0,41 = 190 \text{ kg}$$

Av denne mengden med olje består 18% av de sunne flerumettede fettsyrene GLA, DGLA, ARA og EPA (Kosa, 2016).

$$m_{PUFA} = 190 \text{ kg} * 0,18 = 34,2 \text{ kg}$$

6.2 Oppsummering av resultater

Substrat blanding

Total vekt: 21 412,25 kg

Totalt volum: 21,13 m³

Sterilisering

Total vekt: 21 412,25 kg

Totalt volum: 21,13 m³

Energioverslag: 8,63 GJ går med på å sterilisere substratet.

Sonikering

Totalt volum: 21,13 m³

Fermentering

Totalt volum: 21,55 m³ driftsvolum + 43,1 m³ luft/min

Type: Airlift bioreaktor (konsentrisk)

Sentrifugering

Total biomasse: 1448,1 kg

Mengde væske: 20101,9 L væske sentrifugeres bort

Tørking

Mengde vann: 933,2 kg intracellulært vann tørkes bort

Mengde luft: 18994,4 m³ varm luft går med til å tørke cellene (per batch)

Energioverslag: ca. 3 GJ kreves for å varme opp luften som skal tørke cellene

Produkt

Mengde celler: 514,9 kg tørket muggsopp

Mengde olje: 190 kg

Mengde PUFA: 34,2 kg

6.3 Dimensjonering og kapasitet

Etter å ha gjennomført masse- og energibalanser brukes resultatene til å dimensjonere og finne riktig kapasitet på komponentene. Slik ser en uke ut i prosessanlegget:

- Mandag:** Sterilisering, sonikering og starte fermenteringen.
- Tirsdag:** Fermentering og prøvetaking/analyser.
- Onsdag:** Fermentering og prøvetaking/analyser.
- Torsdag:** Fermentering og prøvetaking/analyser.
- Fredag:** Avslutte fermenteringen. Sentrifugering og tørking.

6.3.1 Lagring

Det antas at det ukentlig kommer leveranse med råstoff til anlegget. Det er et mottakslager som tar imot animalsk fett, gjærekstrakt og mineraler. Animalsk fett leveres ukentlig på isolerte tanker med varmesløyfe. Gjærekstrakt og mineraler leveres til anlegget i pulverform, en gang i måneden.

Animalsk fett

Det ankommer 1000 kg i uken, noe som tilsvarer et volum på $1,13 \text{ m}^3$. Lageret er fylt med en måneds leveranse, men det bør påberegnes plass til 6 ukers leveranse, altså $6,78 \text{ m}^3$, med animalsk fett i tilfelle driftsfeil ved maskiner eller andre forsinkelser i prosessen. Holdbarheten er 3 måneder fra produksjonsdato (Vedlegg A) slik at det fint kan stå en måned på lager.

Gjærekstrakt

Det trengs ukentlig 200 kg med gjærekstrakt for prosessen. Det blir levert 800 kg, $1,63 \text{ m}^3$ per måned og lageret bør ha plass til 2 måneders forbruk, altså $3,26 \text{ m}^3$.

Mineraler

Det trengs ukentlig 212,2 kg mineraler for prosessen. Det blir levert 848,8 kg i måneden, og lageret bør ha kapasitet til 2 måneders forbruk, altså 1697,6 kg.

Muggsoppspor

Oppbevares i fryst tilstand. Bestilles inn når nødvendig.

Produkt

Det produseres 514,9 kg med tørket muggsopp i uken. Dette oppbevares på fryselager med plass til minst 2 måneders produksjon, 4119 kg.

6.3.2 Sterilisering av substrat

Råstoffet blir sterilisert i tanker laget av rustfritt stål. Disse tåler høye temperaturer og høyt trykk. De skal

6.3.3 Sonikator

Sonikatorer kommer i ulike størrelser og med ulik styrke. Generelt er det diameteren på probetuppen som bestemmer hvor stort volum som kan blir prosessert. Tynne probetipper(mikrotip prober) leverer høy-intensitets-sonikering og energien fokuseres innenfor et lite, konsentrert område. Større tuppdiometre kan prosessere større volum, men leverer liten intensitet. Boostere og High Gain horn kan brukes til å øke utgangen av store probediometre. Probene er laget av titan og de kommer både som utbyttbare tupper eller faste tupper. (Hielscher ultrasonics gmbh)

Ved å sette flere sonikatorer sammen blir det mulig å øke kapasiteten ytterligere. Tabell 6.6 viser en oversikt over sonikatorer med ulik styrke ved emulgering. Type prosess virker inn på hvor stort volum sonikatorer kan prosessere. Den kan for eksempel prosessere mindre volum ved celleekstraksjon enn ved emulgering av olje og vann. (Hielscher ultrasonics gmbh)

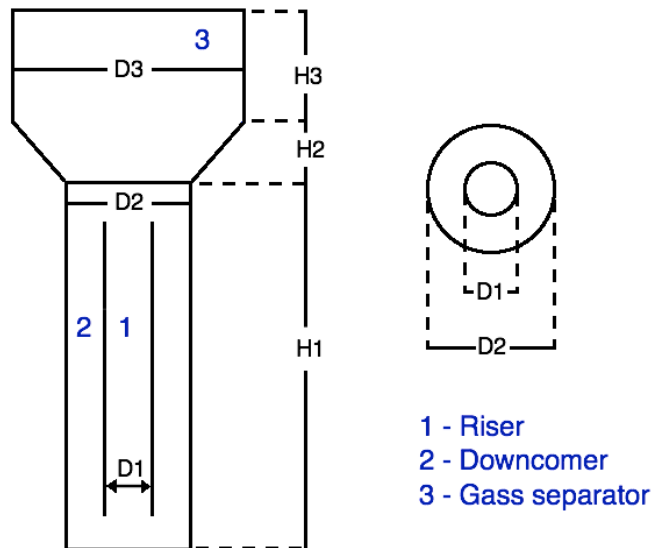
Tabell 6.6: viser kapasitet og volumstrøm/strømningshastighet for utvalgte sonikatorer som emulgerer stoffer. Tall hentet fra Hielscher ultrasonics.

Sonikator	Kapasitet	Volumstrøm	Strømningshastighet
UIP2000hd	2000W, 20kHz	2-10m ³ /dag	1,0-8,0 L/min
24 x UIP2000	48 000W	6m ³ /time	100L/min
UIP4000	4000W, 20kHz	0,4-2m ³ /time	6,7-33,3L/min
UIP10000	10 000W, 20kHz		
4 x UIP10000	40 000W	4-20m ³ /time	66,7-333,3L/min
UIP16000	16 000W, 18 kHz		
4 x UIP16000	64 000W	6-32m ³ /time	100-533,3L/min

Volumet som skal prosesseres er $21,13 \text{ m}^3$ og skal utføres på mandag. Det bør ta maks tre timer å prosessere hele volumet da steriliseringen skal gjennomføres og fermenteringen skal settes i gang samme dag. Ifølge tabellen kan det være lurt å bruke sonikatormodellen UIP10000 i serie med 10 stykker. Denne har høyere frekvens enn UIP16000 og med serie på 10 gir det en kapasitet på $100\,000 \text{ W}$ som kan prosessere $10\text{-}50 \text{ m}^3/\text{time}$. Ved oppskalering av en prosess er det likevel anbefalt å spesial optimalisere forholdene til den spesifikke prosessen på laben. Dette gjøres med modellen UIP1000hd og resultatene av de optimale parameterne kan oppskaleres lineært.

6.3.4 Bioreaktor

Valget av type tank ble konsentrisk airlift bioreaktor. Denne er skånsom mot filamentøse mikroorganismer og er enklere å oppskalere enn en omrøringstank. I tillegg vil oppskalering av omrøringstank senke kvaliteten på miksing av innhold, og kreve mer energi ved bruk enn hva en airlift bioreaktor krever. Ved oppskalering kan også sirkulasjonen av innholdet i airlift bioreaktoren holdes konstant.



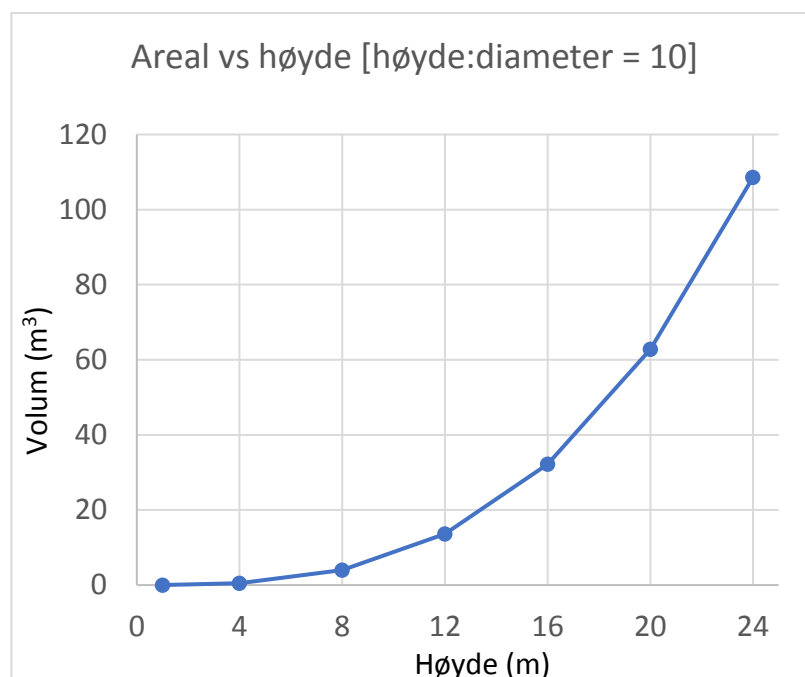
Figur 6.6: skisse av konsentrisk airlift bioreaktor. Den er ikke riktig proporsjoner på skissen, og skal kun illustrere målene som dimensjoneres.

Dimensjoneringen av tanken er gjort ved hjelp av Vedlegg E case A, Vedlegg F og etter forhold oppgitt i studien gjort om design av airlift fermentorer (Chen, 1990). Der er det oppgitt at for

airlift bioreaktorer er forholdet mellom H1 og D2 opp mot 10. Forholdet mellom D1 og D2 (riser og downcomer) bør være mellom 0,6-0,8 for optimalt resultat og oksygenoverføring.

Airlift bioreaktor har et smalt design. Dette gjør at det hydrostatiske trykket blir høyt om tanken fylles med et visst volum, sammenlignet om en bredere tank skulle bli fylt. Det hydrostatiske trykket avhenger kun av høyden på vannsøylen, og for airlift bioreaktorer vil det være høyere enn for andre tanker med bredere design. Det positive med høyere hydrostatisk trykk er at det øker partielltrykket til oksygen nederst i tanken der det tilsettes, og dette gir en høyere oksygenoverføring, noe som er positivt for aerobe organismer. Sirkulasjonen i tanken blir også bedre jo større differanse i det hydrostatiske trykket mellom riser og downcomer.

Da tankens design er smal, vil endring av høyden under 10 m gi lite utslag i volum mens over 10 m vil det endring av høyden på tanken gi større utslag. Dette grunnet eksponentiell økning av volum i forhold til høyden. Grafen i Figur 6.7 viser denne sammenheng.



Figur 6.7: viser volum vs høyde. Økningen av volum i forhold til høyde er eksponentiell.

Det bestemmes å dele det totale volumet på to tanker, da ytterligere flere tanker vil gå utover materialkostnader og plass i prosessanlegget.

Det totale driftsvolumet er 10,775 m³ per tank. Dette skal være 70-75% av volumet til tanken. Tankens volum må derfor være på 14,37-15,4 m³.

Forholdet mellom H1 og D2 settes til 10.

Forholdet mellom D1 og D2 settes til 0,6.

Forholdet mellom D2 og D3 settes til 0,67.

Forholdet mellom H2 og H1 settes til 0,12.

Forholdet mellom H2 og H3 settes til 0,6.

H2 og H3 beregnes etter hvilket volum tanken totalt skal ha.

I følge Figur 6.7 må høyden på tanken(H1) være ca 10-11 for å romme litt over 10 m³.

H1 settes til 10,5 m. De andre verdiene beregnes og settes inn i Tabell 6.7.

Tabell 6.7: beregnede verdier fra forholdene oppgitt ovenfor.

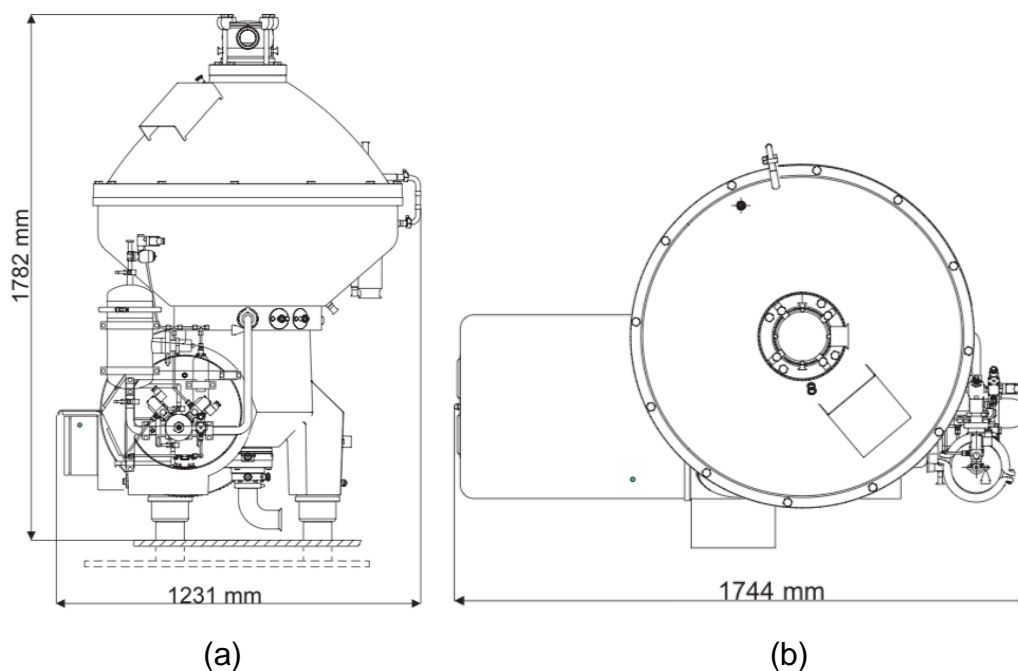
H1	H2	H3	D1	D2	D3
10,5 m	1,5 m	2,5 m	0,63 m	1,05 m	1,57 m

Volum på sylinder: 9,09 m³

Volum på gass-separator: 5,91 m³

6.3.5 Sentrifuge

Valget av sentrifuge ble tallerken sentrifuge. Det antas at muggsoppmassen har en høyere densitet enn vannet som skal sentrifugeres bort. Ved dimensjonering av sentrifuge er det sett på alternativer hos produsenten Alfa Laval. De har mange ulike disksentrifuger, også kalt sentrifugale separatore. Mengden vann som skal sentrifugeres bort er 20 101 liter vann. Dette skal gjennomføres den siste dagen, på fredagen. Det bør derfor bli valgt en tallerkensentrifuge som håndterer denne mengden væske iløpet av to timer, da tørkingen også skal gjennomføres på fredagen. Alfa Laval har en sentrifuge kalt Culturefuge som separerer celler fra fermenteringsprosesser. Den kommer i 5 ulike varianter, og det er er valgt å bruke den mellomste størrelsen, Culturefuge 300. Dimensjonene vises i Figur 6.8 og spesifikasjoner i Tabell 6.8.



Figur 6.8: dimensjonene til Culturefuge 300 hentet fra Alfa Laval. (a) viser ytterkantene fra siden. (b) viser mål av ytterkanten oven i fra.

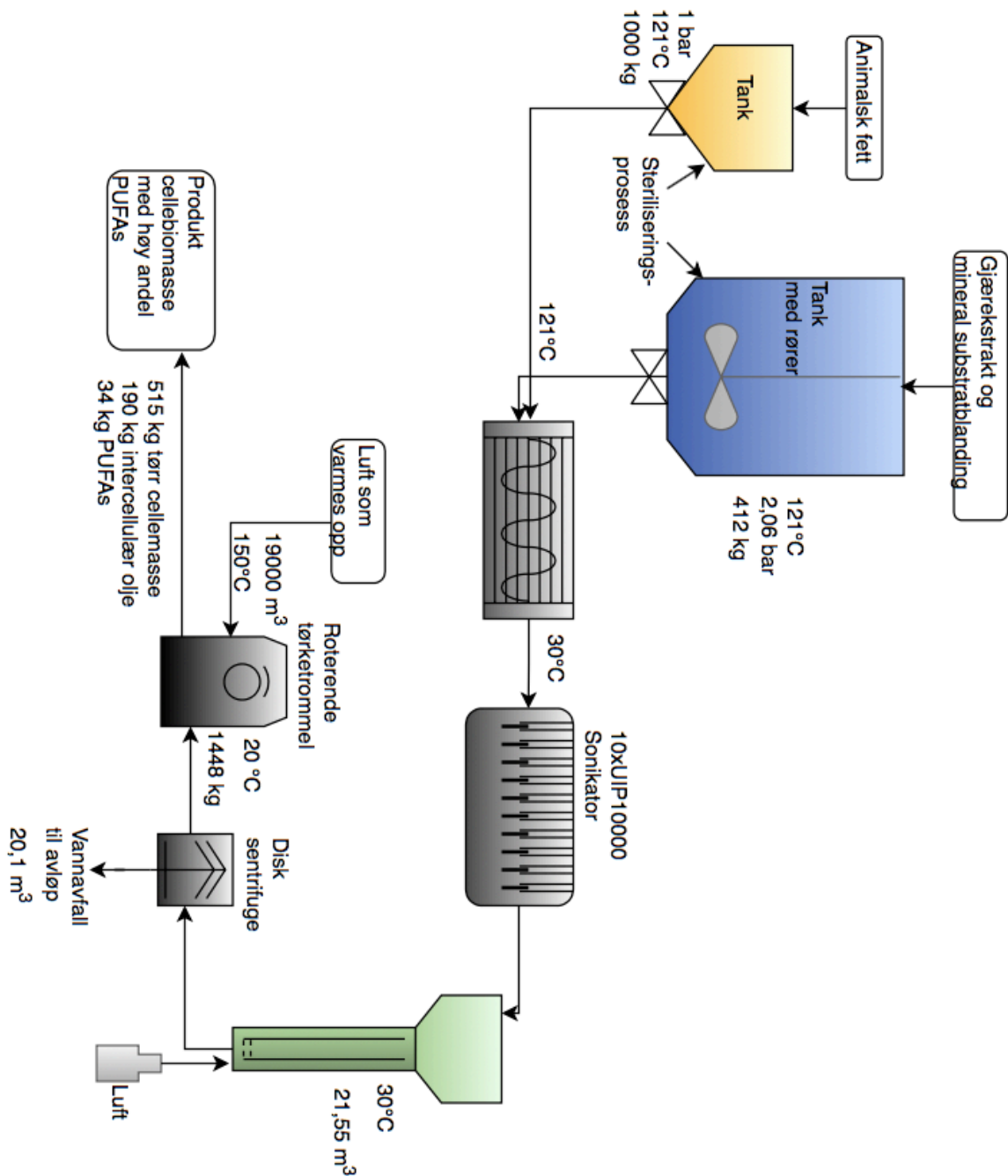
Tabell 6.8: tabellen oppgir spesifikasjoner ved Culturefug 300

Elektrisk energi	Maks 20 kW
Kapasitet	Maks 20 m ³ /time
Bolle volum	30 L
G-kraft	Maks 7,425
Start tid	8/10 min
Stoppe tid	10 min

6.3.6 Tørker

Mengden intracellulært vann som skal tørkes bort er 933,2 liter. Cellene skal tørkes i en roterende tørketrommel der varm luft skal trekke ut vannet fra cellene. Energien som kreves for å varme opp all luften som trengs for å tørke bort vannet er ca. 3 GJ. Om det estimeres at tørketiden skal være to timer, krever dette en kapasitet på 417kW. Den roterende tørketrommelen må altså ha minst denne kapasiteten.

7 Flytdiagram



Figur 7.1 Flytskjema av prosessen. inkluderer volum, masse, temperatur og trykk.

8 Diskusjon

Oppgavens hovedmål var å prosjektere et prosessanlegg bestående av ulike komponenter som skal utføre enhetsprosesser for å konvertere animalsk fett fra kjøttindustrien til en biomasse som er rik på flerumettede fettsyrer. Dette produktet er mer ettertraktet og koster mer per kilo enn animalsk fett. Prosessen er steril og råvarene som er brukt er beregnet på konsum for mennesker. Dette gjør at produktet opprinnelig kunne vært brukt som kosttilskudd til både mennesker og dyr, eller til bruk i den kosmetiske industrien. Det bidrar til sirkulærøkonomi og bærekraftighet rundt kjøttindustrien. Det kan også brukes som fôr i fiskeindustrien og til dyr. Hva som er best å bruke produktet til kommer an på renheten i prosessen, komponentene og det økonomiske utbytte.

Sterilisering

For at prosessen skal være så ren som mulig steriliseres både substratblandingen og det animalske fettene i prosessanlegget før det sonikeres til en emulsjon. Dette er et trinn som kanskje ikke er like nødvendig. Figur 4.3 viser oversikten over produksjonslinjen til det animalske fettene. Her kommer det frem at råstoffet både steriliseres og renses før det settes på tanker og er klart for utlevering. Om dette er god nok sterilisering kan steriliseringssteget av animalsk fett i dette prosjekterte prosessanlegget være overflødig. Steriliseringen av substratblandingen kan også gjøres annerledes, da gjærekstrakten og mineralene leveres i pulverform. En annen måte å sterilisere disse på er ved bestråling. Vannet er såpass rent at det kan være overforbruk av energi å koke hele den utblandede substratblandingen. Om det likevel skulle kokes, kan det være nødvendig å sette inn en varmeveksler som kan gjenvinne varmen til andre steder i anlegget eller bygget. Dette er gjort i flytskjemaet i kapittel 7.

Oljeproduserende muggsopp

Det er gjort mange studier på muggsoppen *M. alpina* og morfologien kan endres utifra substratet. I LipoFungi prosjektet er det bevist at muggsoppen er i stand til å hydrolysere fett slik at den splitter triglyseridet til glyserol og fettsyrer utenfor cellen før den tar opp molekylene i cellen. Mange studier er gjort hvor muggsoppen bruker glukose som karbonkilde. Dette ble også utprøvd i LipoFungi prosjektet (se Vedlegg D). Det er også gjort studier på *M. alpina* glyserol er brukt som karbonkilde. Dette gav lovende resultater, og kan være bedre for muggsoppen å ta opp fremfor å jobbe med et triglyserid, da for mye fettsyrer kan være skadelig for muggsoppen. Det kan derfor være nødvendig å sette inn hydrolyse av fett som et steg i

prosessen, da dette kan være enklere for muggsoppen å kun ta opp glyserol. Det er likevel ønskelig å finne en løsning rundt dette da fettmolekylet kun består av rundt 10% glyserol. Om soppen skal jobbe med hele triglyseridet er det viktig at det er lett tilgjengelig i substratblandingen, som emulsjon.

Emulsjon

På Norsk Protein sine sider står det at det animalske fettene har et smeltepunkt på 38°C (Norsk Protein, 2018). I produktdatabladet om det animalske fettene står det at fettene er flytende ved 60°C. Muggsoppen *M. alpinajobber* best ved 30°C. Dette betyr at det animalske fettene ikke er flytende ved denne temperaturen. I oppgaven er det antatt at emulsjonen holdes stabil under hele fermenteringsprosessen. I praksis kan disse opplysningene gi komplikasjoner ved prosessen da det kan hende det animalske fettene vil klumpe seg sammen i fermenteringstanken da tanken holder en temperatur hvor fettene i praksis er fast. Under laboratorieforsøk i LipoFungi prosjektet er det ved flere anledninger blitt dannet kuler av fettene i substratet som fermenteres. Dette er ikke ønskelig ved industriell oppskalering. For å danne en best mulig emulsjon kan det være nødvendig å tilsette polysorbat. Dette er en emulgator som brukes til å blande oljer og hydrofile stoffer som vann. Den brukes blandt annet i kosmetiske kremer for å blande inn fettsyrer. Polysorbat gjør også fettene lettere opptagbart for muggsoppen. Dette er grunnen til at bakterier kan trives godt i kremer. I en industriell fermenteringsprosess er dette en fordel og det kan derfor være en bedre løsning å tilsette polysorbat, også kalt tween, i blandingen før sonikeringen. Sonikatoren lager da emulsjonen som vanlig og polysorbatet kan sørge for en mer stabil emulsjon som varer alle dagene med fermentering.

Bioreaktor

Det ble valgt konsentrisk airlift bioreaktor blant annet fordi denne er skånsom mot muggsoppen som danner hyfer når den vokser. Det er ikke ønskelig at muggsoppen skades under fermenteringen da dette går utover mengde utbytte av produkt. Denne har også bedre sirkulasjon av innholdet i tanken enn en boblereaktor. Det utfordrende var imidlertid å dimensjonere tanken. Det er gjort undersøkelser på at oksygenopptaket og jo høyere hydrostatisk trykk, jo høyere er oksygenopptaket. Dette gjør det fristende å dimensjonere en lang smal kolonne. Samtidig gjør det smale designet det vanskelig å avgjøre hvor mange tanker driftsvolumet skal fordeles på. Figur 6.7 viser at volumet stiger eksponentielt med høyden av tanken (bildet illustrerer kun for volumet av en sylinder, men airlift reaktor også består av en gass separator). Ved små høyder på tanken vil ikke volumet endres i stor grad i forhold til

høyden. Ved små driftsvolumer vil det derfor være gunstig å kun benytte seg av én tank. Det er ikke gjort beregninger på hvilken høyde det begynner å bli ugunstig å velge, ved et driftsvolum på 21,55 m³. Figur 6.7 viser likevel at kurven stiger forholdsvis lite ved volum lavere enn 20 m³. For at kostnader av komponenter skulle bli lavest mulig ble det derfor valgt å lage to tanker, men med tanke på at grafen har liten stigning kunne det vært mest kostnadsgunstig å kun dimensjonere én tank.

Sentrifuge

Figur 5.9 viser hvilke områder sentrifugene jobber best innenfor. Andelen fast stoff ble beregnet ut i fra sporekulturen som ble tilsatt substratblandingen. Dette er ikke en nøyaktig andel da muggsoppen i løpet av fire dager har vokst i vekt og volum. Andelen ble beregnet til 2% fast stoff(celler) men dette ser derfor ut til å være en nøyaktig verdi. Ved å beregne ut i fra cellevekten som til slutt sentrifugeres ut, 1448 kg, blir dette nærmere 7% fast stoff. Dette kan innvirke på valg av sentrifuge. Det ser allikevel ut som det fortsatt ikke er aktuelt med dekanter sentrifuge da arbeidsområdet til dekanter sentrifuger er fra mengder med fast stoff høyere enn 10%.

Tørkemaskin

Det ble valgt roterende tørketrommel. Dette er den vanligste typen å tørke med for biomasser. Ved beregninger av mengde luft som ble benyttet ble det valgt ulike inngangs- og utgangstemperaturer for både cellemassen og luften. Dette er ikke nødvendigvis realistiske verdier da det ikke er blitt gjort målinger på hva som er utgangstemperaturen ved en bestemt inngangstemperatur. Temperaturene er satt for å kunne gjøre beregninger og vise til en sammenheng mellom temperatur, luftfuktighet og energi som kreves for å tørke produktet. Luftfuktigheten inn og ut for luften er også satt for å kunne gjøre beregningene. For at fuktighetsbalansen skulle gå opp ble det nødvendig å sette energitapet lik null. Dette er noe urealistisk da både det tørkede produktet og luften kommer ut av tørkeren med høyere temperatur, og dermed høyere energi, enn da de kom inn.

Produkt

Det blir produsert 514,9 kg tørkede celler, som inneholder 190 kg akkumulert olje og 34,2 kg flerumettede fettsyrer. Selve prosessen tilbyr et produkt med en ettertraktet fettsyresammensetning som inneholder både GLA, DGLA, ARA og EPA. Om dette er en lønnsom prosess kommer an på mange faktorer, både valg av enhetsprosesser, valg av

komponenter, renheten i prosessen og på hva oljen benyttes til i videre bruk. Figur 1.1 viser hvilke områder et stoff eller produkt har størst verdi. Om et produkt kan brukes i farmasi eller kosmetikk har dette altså større verdi enn om det brukes til næringsmiddel eller spesialfôr. Det ville derfor vært gunstig å bruke det i kosmetikk bransjen, da disse fettsyrene kan tilsettes kremer. Som kosttilskudd til mennesker kan det også ha stor verdi. Det er altså nødvendig å avgjøre hvilket marked man skal satse på og markedsføre produktet innenfor.

9 Konklusjon

I dette prosessanlegget blir det produsert 190 kg med olje fra muggsopp, ut i fra 1000 kg animalsk fett, 200 kg gjærekstrakt og 212 kg mineraler. Prosessen er dimensjonert med tanke på at 1000 kg animalsk fett skal prosesseres. Dette er en oppgave med et stort omfang og det ble ikke gått grundig nok inn på hver enkelt komponent og hvilke ulemper/fordeler og utfordringer det er ved oppskalering. Utifra det som teoretisk er beregnet er det et svært godt utbytte da det er ca 20% utbytte fra animalsk fett til produkt. Da produktet koster opptil 100 ganger mer per kilo, kan dette alt i alt være en lønnsom prosess.

9.1 Veien videre

Det bør gjøres flere undersøkelser på hvordan industrielle maskiner virker i stor skala. Å gå videre med en komponent av gangen kunne vært en grundigere gjennomgang av et prosessanlegg. Det ville kommet frem flere detaljer for hver enkelt enhetsprosess og det ville blitt oppgaver med mer spesialiserte fagfelt. Det bør også gå grundigere gjennom hvor mye som prosesseres hver time, og kjøre anlegget 24/7 fremfor kun i ukedagene. Det ville vært interessant å finne ut hvor mye produkt som dannes i uken eller per år. Om det finnes et simuleringsprogram som kan ta inn verdiene og kjøre dette for alle de ulike komponentene ville det også vært gode forutsetninger for oppskalering av prosessen.

10 Bibliografi

- Alfa Laval, u.d. *Alfa Laval*. [Internett]
Available at: https://www.alfalaval.com/globalassets/documents/industries/pulp-and-paper/pchs00022en_lowres.pdf
- Alfa Laval, u.d. *Alfa Laval*. [Internett]
Available at: <https://www.alfalaval.com/globalassets/images/products/separation/centrifugal-separators/separators/alfa-laval-disc-stack-separators.pdf>
- Anon., 2018. *EBC easy biology class*. [Internett]
Available at: <http://www.easybiologyclass.com/difference-between-animal-fats-and-plant-fats-oils/>
- Certik, M. & Shimizu, S., 1999. REVIEW Biosynthesis and Regulation of Microbial Polyunsaturated Fatty Acid Production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, pp. 1-14.
- Chen, N., 1990. The Design of Airlift Fermenters for use in Biotechnology. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, pp. 379-396.
- Cutler, J., 2012. [Internett]
Available at: <http://eol.org/info/452>
- EPSON, u.d. *EPSON exceed your vision*. [Internett]
Available at: https://global.epson.com/innovation/topics/201401_01.html
- European Association for Specialty Products , 2016. *European Association for Specialty Products*. [Internett]
Available at: <http://www.yeastextract.info/yeast-extract/how-it-s-made>
- Geankoplis, C. J., 1993. *Transport processes and Unit Operations*. s.l.:Prentice-Hall International.
- Gill, I. & Valivety, R., 1997. Polyunsaturated acids, Part 1: occurrence, biological activities and applications.. *Trends Biotechnol.*, pp. 401-409.
- Helsedirektoratet, 2016. *Kostråd fra helsedirektoratet*. [Internett]
Available at: <https://helsedirektoratet.no/folkehelse/kosthold-og-ertering/kostrad-fra-helsedirektoratet#7.-la-magre-meieriprodukter-være-en-del-av-det-daglige-kostholdet>
- Hielscher ultrasonics gmbh, 2018. *Hielscher Ultrasound Technology*. [Internett]
Available at: https://www.hielscher.com/i16000_p.htm
- Hielscher ultrasonics gmbh, u.d. [Internett]
Available at: <https://www.hielscher.com>

Hielscher ultrasonics gmbh, u.d. *Hielscher Ultrasound Technology*. [Internett]
 Available at: <https://www.sonicator.com/pages/catalog-data-sheets/>

Hielscher, 2018. [Internett]
 Available at: <https://www.hielscher.com/ultrasonic-homogenizers-for-liquid-processing-3.htm>

Hitesh, J. et al., 2010. An Overview of Fermenter and the Design Considerations to Enhance Its Productivity. I: *Pharmacologyonline*. Manipal University, Manipal, Karnataka, India: s.n., pp. 261-301.

Institutt for biovitenskap, 2011. *UiO*. [Internett]
 Available at: <http://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/m/mycel.html>

Kosa, G., 2016. *LipoFungi Project: Biotransformation of animal fat with filamentous fungi(ex novo production)*, s.l.: s.n.

Labolytic, 2018. *Labolytic*. [Internett]
 Available at: <https://labolytic.no/produkter/tween-20>

Matvaretabellen, u.d. [Internett]
 Available at: <http://matvaretabellen.no/olivenolje-extra-virgin-jomfruolje-08.112>

McCabe, W. L., Smith, J. C. & Harriott, P., 2005. *Unit operations of chemical engineering*. s.l.:s.n.

Norsk Protein AS, 2018. *Norsk Protein*. [Internett]
 Available at: <https://www.norskprotein.no/om-oss.aspx>

Norsk Protein AS, 2018. *Norsk Protein*. [Internett]
 Available at: <https://www.norskprotein.no/fôr-og-gjødsel/produksjon.aspx>

Norsk Protein, 2018. *Norsk Protein ressursvennlig gjenvinning -trygge produkter*. [Internett]
 Available at: <https://www.norskprotein.no/fôr-og-gjødsel/fôrprodukter.aspx>

Pedersen, B., 2018. *Store Norske Leksikon*. [Internett]
 Available at: <https://snl.no/osmose>

Ratledge, C., 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production.. *Biochimie*, pp. 807-815.

Vedlegg A



ANIMALSK FETT - FØR KVALITET

PRODUKTDATABLAD

PRODUKTTYPE OG SAMMENSETNING:

Animalsk fett, førkvalitet er produsert av kategori 3 materiale fra drøvtyggere, svin og fjærfe.

INNHold:	Typisk verdi	Max
Vann	0,25 %	0,5%
Smuss	< 0,15 %	< 0,15 %
Frie fettsyrer	6,0 %	12,0 %
Totale fettsyrer	96,0 %	

Fettsyresammensetning	i %
C ₁₀ – C ₁₂	0,2
Myristinsyre C ₁₄	2,0
Palmitinsyre C ₁₆	22,0
Palmitoleinsyre C ₁₆₋₁	2,1
Stearinsyre C ₁₈	19,8
Oljesyre C ₁₈₋₁	40,1
Linolsyre C ₁₈₋₂	5,1
Linolensyre C ₁₈₋₃	0,9
C ₂₂₋₅ + C ₂₂₋₆	< 0,2

TILSATT ANTIOKSIDANT

Rendox liquid, 500 ppm

BRUKSVOLUM OG EGENSKAPER

Volumvekt: 884 kg pr m³ ved 60°C. Produktet er flytende ved 60°C. Leveres i bulk.

PRODUKSJON OG BEHANDLING

Produksjonen skjer iht. FOR 2007-10-27 nr 1254: Forskrift om animalske biprodukter som ikke er beregnet på konsum.

Produktet er varmebehandlet ved 133°C ved 3,0 bar (absolutt) i 20 min og er mekanisk rensert til et smuss innhold < 0,15 %.

HOLDBARHET:

3 måneder fra produksjonsdato.

PRODUSENT

Norsk Protein AS avd. Hamar,
Smiuhagan 25, 2323 Ingeberg, Norge
www.norskprotein.no

Vedlegg B

Tabell B. 1: tabellen viser fettsyresammensetningen av animalsk fett fra Norsk Protein og akkumulert olje fra to ulike muggsopper (med animalsk fett som karbon-kilde). Analysen av fett og oljen er gjort i forbindelse med LipoFungi-prosjektet.

Hamar fat vs fungal oil			
Fatty acids	Hamar fat (%)	M. Circinelloides oil after growing on Hamar fat (%)	M. alpina oil after growing on Hamar fat (%)
14:0	2,8	3,5	1,2
16:0	25,8	21,5	19,6
16:1	2,6	4,4	2,1
18:0	17,7	9,4	12,7
18:1n9c	37,7	29,8	28,7
18:2n6c	6,5	13,7	10,0
18:3n6 (GLA)	0	10,6	5,0
20:3n6c (DGLA)	0	0	1,0
20:4 (ARA)	0	0	11,6
20:5 (EPA)	0	0	0,4
SAT	46,3	34,4	33,5
MUFA	40,3	34,2	30,8
PUFA	6,5 (18:2n6c)	13,7 (GLA)	28,0 (GLA, DGLA, ARA, EPA)

Vedlegg C

Tabell C. 1: analyse av animalsk fett utført av Milan Certik.

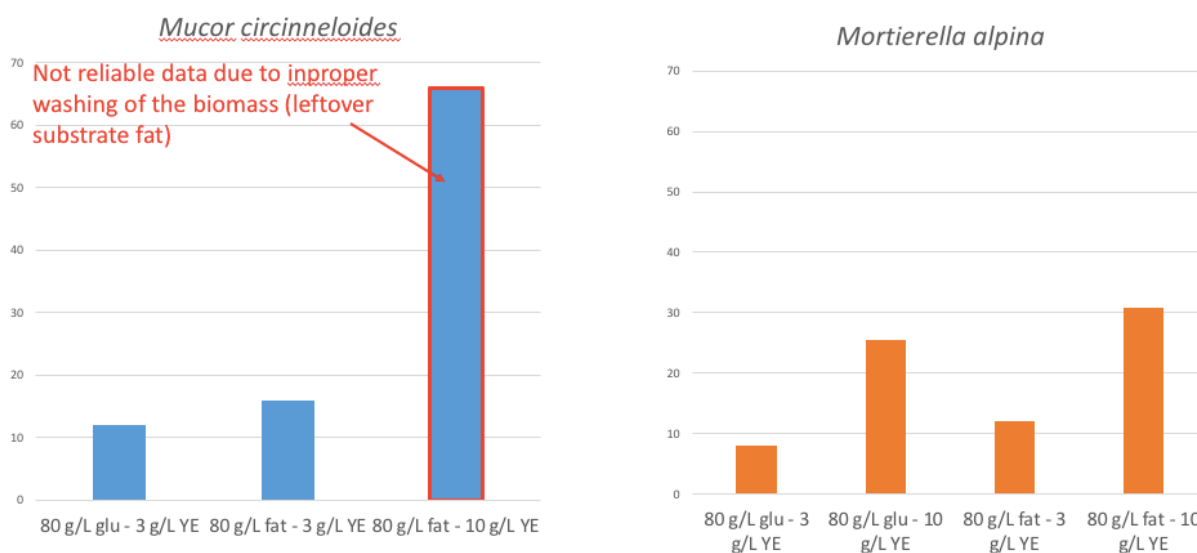
Total fatty acid composition	
GC analysis	
Main fatty acids	%
C14:0	2,2
C16:0	23,6
C16:1 Δ 7	0,4
C16:1 Δ 9	2,4
C17:0	0,9
C17:1	0,6
C18:0	18,7
C18:1 Δ 9t	2,1
C18:1 Δ 9c	39,3
C18:1 Δ 11	1,9
C18:2 Δ 9,12	5,9
C18:3 Δ 9,12,15	0,9
C20:0	0,2
C20:1	0,6
C20:2	0,3

Vedlegg D

Tabell D. 1: I tabellen sammenlignes oljen produsert av to ulike muggsopper som har vokst på to ulike næringer, glukose og animalsk fett. Sopp-olje fra glukose vs sopp-olje fra fett.

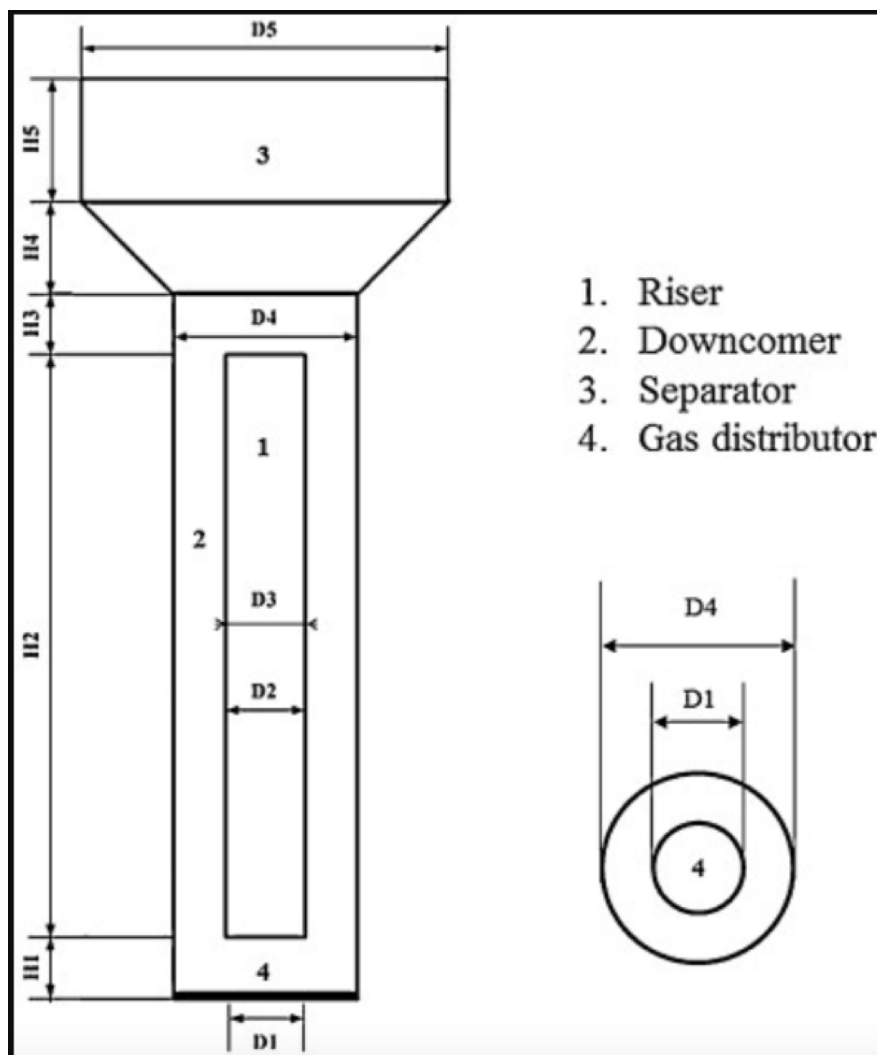
Fatty acids	M.Circinelloides oil after growing on glucose (%)	M.alpina oil after growing on glucose (%)	M.Circinelloides oil after growing on Hamar fat (%)	M.alpina oil after growing on Hamar fat (%)
14:0	1,2	1,0	3,5	1,2
16:0	17,8	18,9	21,5	19,6
16:1	4,7	0,3	4,4	2,1
18:0	4,3	8,9	9,4	12,7
18:1n9c	38,2	17,4	29,8	28,7
18:2n6c	17,0	11,2	13,7	10,0
18:3n6 (GLA)	11,1	7,5	10,6	5,0
20:3n6c (DGLA)	0	4,4	0	1,0
20:4 (ARA)	0	22,5	0	11,6
20:5 (EPA)	0	0	0	0,4
SAT	23,3	28,8	34,4	33,5
MUFA	42,9	17,7	34,2	30,8
PUFA	28,1 (GLA)	45,6	13,7 (GLA)	28,0 (GLA, DGLA, ARA, EPA)

Biomass concentrations at day5 (dry cell weight g/L)



Figur D. 1: Illustrerer sammenligningen i tabell D.1 i et stolpediagram. Her kommer det frem at *M. alpina* produserer mer olje ved å nære seg på animalsk fett fremfor glukose.

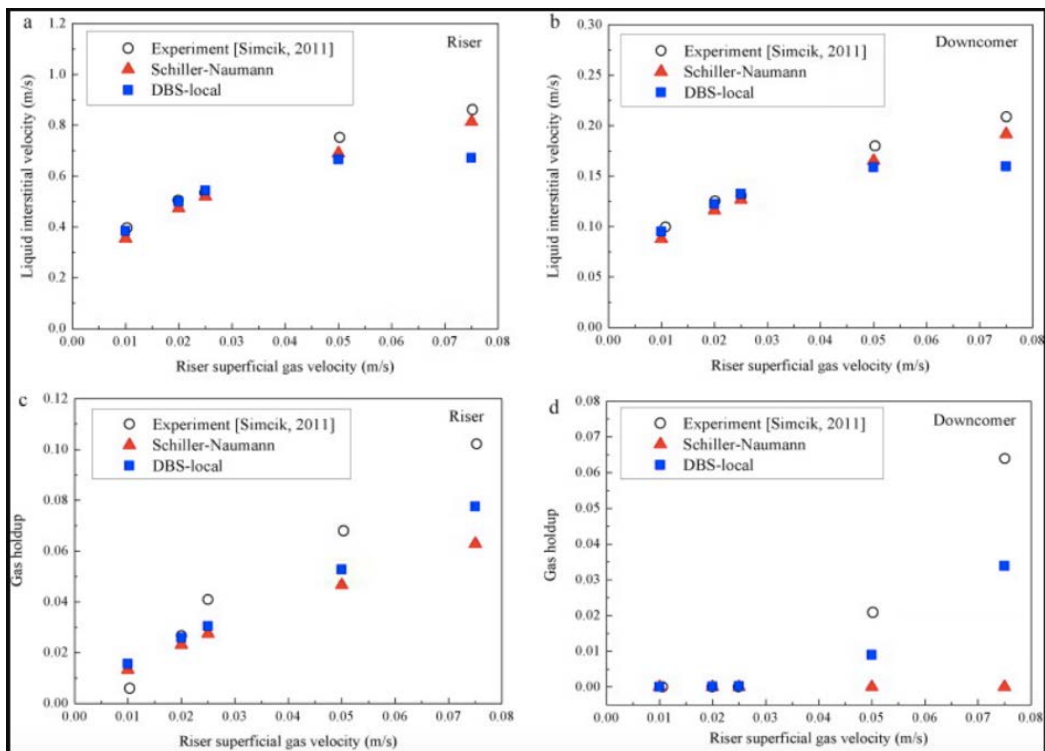
Vedlegg E



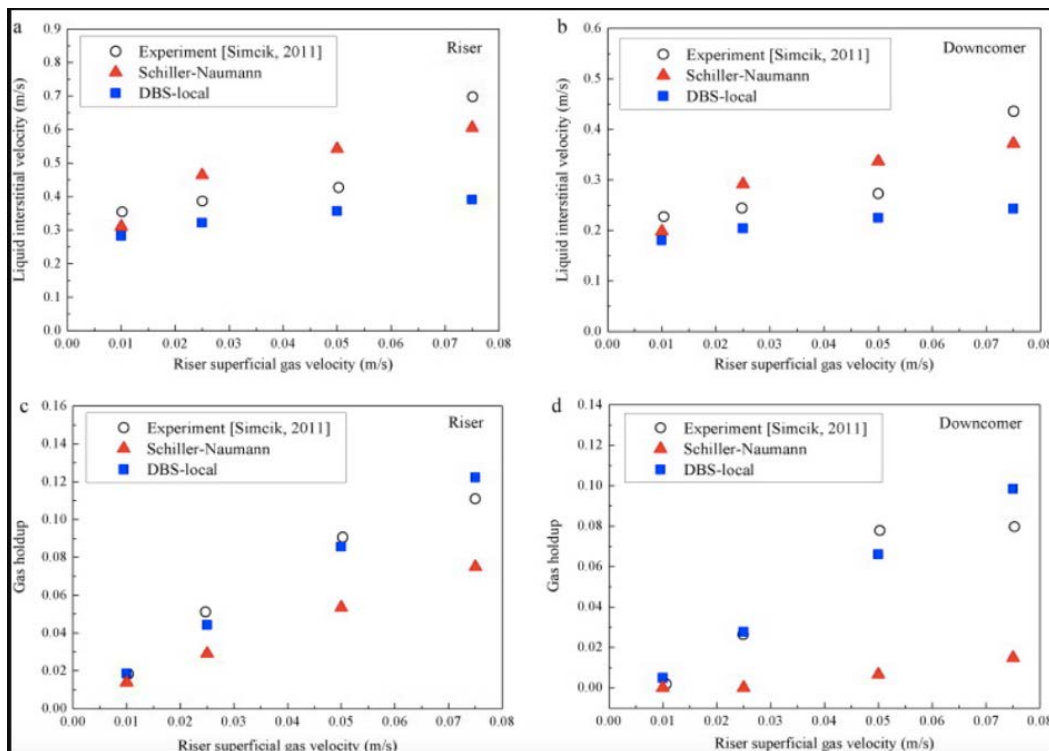
Figur E. 1: viser en skisse over airlift bioreaktor.

Tabell E. 1: viser målene i figur E.1.

	D1	D2	D3	D4	D5	H1	H2	H3	H4	H5
Case A (mm)	62	62	70							
Case B (mm)	87	87	92	142	420	23	1200	200	170	240

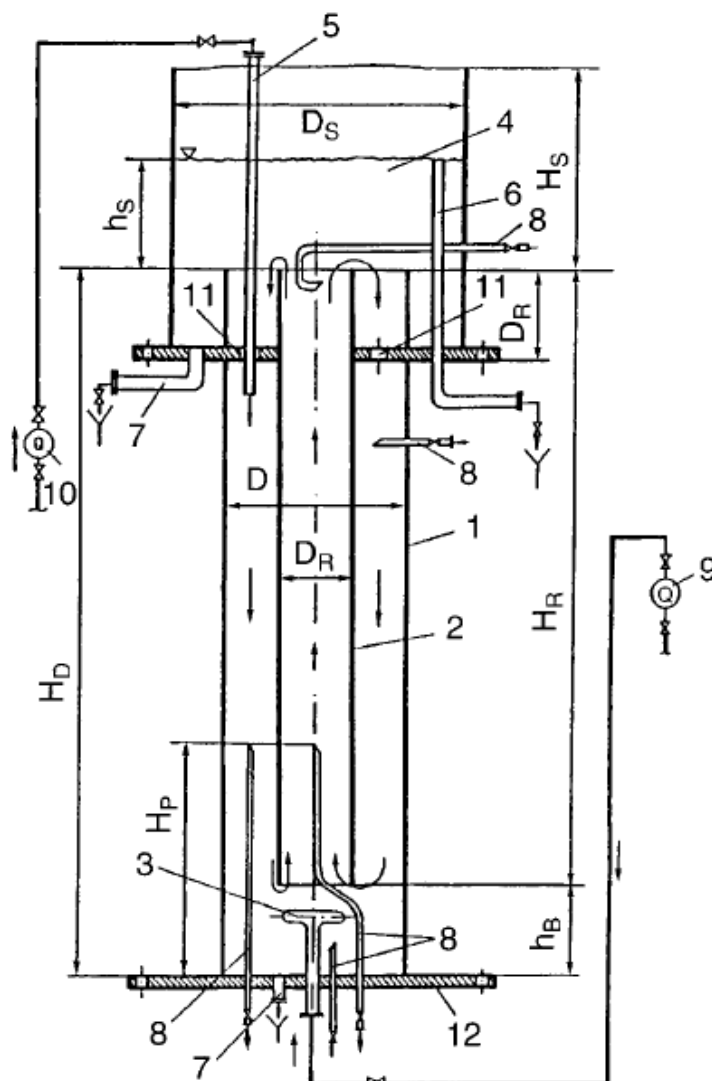


Figur E. 2 viser sirkulasjonen av væsken i tanken båd i riser(a) og i downcomer(b), og «gas holdup» i riser(c) og downcomer(d). Dette er analyser av tanken med målene fra case A i tabell E.1.



Figur E. 3 viser sirkulasjonen av væsken i tanken båd i riser(a) og i downcomer(b), og «gas holdup» i riser(c) og downcomer(d). Dette er analyser av tanken med målene fra case B i tabell E.1.

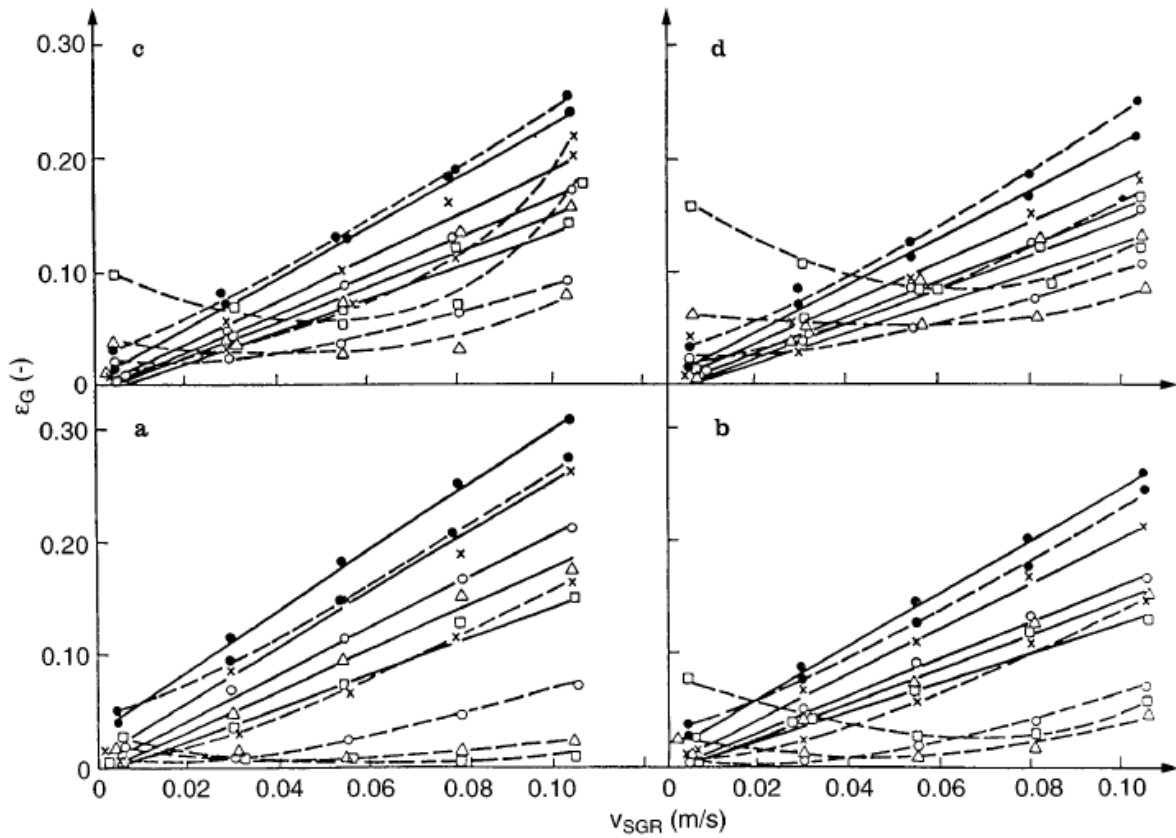
Vedlegg F



Figur F. 1 Skisse av konsentrisk airlift reaktor. 1 reaktor body, 2 draft-tube, 3 gas sparger, 4 gas-separator, 5 liquid feed pipe, 6 overflow pipe, 7 liquid drain pipe, 8 sampling and ports, 9 air rotameter, 10 liquid flowmeter, 11 holes in the upper plate for liquid recirculation in downcomer, 12 bottom plate

Tabell F. 1 viser dimensjonene til airlift reaktoren i figur G.1.

Characteristic	Symbol	Unit	RIMP	RIS-1	RIS-2
Reactor diameter	D	m	0.200	0.600	0.900
Riser diameter	D_R	m	0.100	0.400	0.600
Gas-separator diameter	D_S	m	0.300	0.600	0.900
Gas-separator height	H_S	m	0.560	1.820	1.300
Bottom clearance	h_B	m	0.07–0.25	0.216	0.291
Top clearance	h_S	m	0–0.28	0	0
Draft tube height	H_R	m	1.68	8.26	6.53
Height of pressure measuring point	H_P	m	0.43	0.60	0.90
Liquid nominal volume	V_L	m ³	0.07	2.50	5.20



Figur F. 2: analyse over airlift reaktoren hvor den testes ut med ulike h_B (avstand fra bunn til indre rør). ($A_d/A_R = 0,5$; **a** $h_B = 0,07$ m **b** $h_B = 0,16$ m **c** $h_B = 0,205$ m **d** $h_B = 0,25$ m \bullet $h_S = 0,1$ m, \circ $h_S = 0,25$ m, Δ $h_S = 0,21$ m, \square $h_S = 0,28$ m)



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway