



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018 30 stp
Fakultet for realfag og teknologi

Produksjon av mikrobiell olje fra animalsk fett: prosessdesign, masse- og energibalanse

Production of microbial oil from animal fat: process
design, mass- and energy balance

Ole Ileby Eriksen
Maskin-, prosess- og produktutvikling

Forord

Denne masteroppgaven er utført ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), høsten 2018, ved fakultet for realfag og teknologi. Masteroppgaven teller 30 studiepoeng, og er siste akademiske arbeid på linjen maskin-, prosess- og produktutvikling, med studieretning innen energi- og prosesssteknikk.

I denne oppgaven blir det sett nærmere på produksjon av verdifulle oljer i mikrobiell biomasse. Masse- og energibalanse med oppskalering fra laboratoriet til dimensjonering på industriell skala er viktige nøkkelord i denne sammenhengen. Denne oppgaven har mange forskjellige aspekter; det biologiske, det kjemiske og det fysiske elementet som gjør denne oppgaven interessant. Dessuten inneholder denne masteroppgaven noe unikt fra NMBU, nemlig fokuset på miljø, og det å finne gode, bærekraftige, miljøvennlige løsninger.

Denne oppgaven har vært spennende og givende. Den har engasjert og motivert meg. Den ga meg muligheten til å benytte erfaring opparbeidet fra fagene TMPP 251: Energi- og prosesssteknikk, og TMPP 350: Energi- og prosesssteknikk- Hovedkurs. Dette var interessante fag som hadde relevans og drøftet forhold rundt teknikk som det var mulig å gjenkjenne i denne masteroppgaven.

Jeg vil gjerne få takke min hovedveileder Volha Shapaval for denne flotte oppgaven, for råd og veiledning som hovedveileder, og for alltid å være tilgjengelig og svare på spørsmål i løpet av kort tid. Dessuten ønsker jeg å takke Milan Certik, biveileder, fra Slovak University of Technology in Bratislava, han var til stor hjelp innledningsvis i arbeidet.

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, ÅS

07.12.2018

Ole Ileby Eriksen

Sammendrag

Det er ikke alt som slaktes på slakteriene som ender opp som matprodukter. Det oppstår også biprodukter, restavfall, som ikke kan utnyttes i matvarehandelen. Restavfallet deles grovt inn i to kategorier; det som ikke kan konsumeres av mennesker, og substanser som er ufarlige for mennesker, både til mat, kosmetikk og farmasi. Denne masteroppgaven dreier seg om den siste kategorien, animalsk fett, kategori 3. Problemstillingen er hvordan omgjøre animalsk fett til verdifulle oljer, på et industrielt anlegg med utgangspunkt i eksperimenter fra laboratoriet. Aktuelle leverandører til prosessenhetene i anlegget er oppgitt i sammendraget.

Utgangspunktet er 1000 kg animalsk fett fra slakteindustrien. Den kan lagres i en dyp-kjegle prosessenhet, med oppvarmingsfunksjon om nødvendig, fra Paul Mueller Company. Det animalske fettene blandes med en vannblanding bestående av 20 000 liter, med 200 kg gjærekstrakt og 212,25 kg mineraler som oppløses i vannet. Dette kan lagres i silo fra samme leverandør som over. I beregningene er det tatt med sterilisering av animalsk fett og sterilisering av vannblanding hver for seg. For det animalske fettene er dette gjort på forhånd fra leverandør, og hvis vannet holder en god, ren standard er det ikke nødvendig å sterilisere dette. Om sterilisering forekommer, bør det benyttes varmeveksler etter sterilisering i tank for å gjenbruke energien derfra. Varmeveksleren kan være av type Aalborg MD avløpskjøler fra Alfa Laval. Uten sterilisering forbruker prosessen 200 MJ mer per prosess.

Når det animalske fettene og vannblandingen er ren, så skal substansene videre til sonikator. Fett og vann er ikke blandbart, de oppløser seg ikke i hverandre. Sonikatoren forbinder vannet med fettene til en løsning, og kan godt være fra Hielscher Ultrasonics, med en kapasitet på 10 kW. Væsken kan sammenlignes med slam, fordi primærslam inneholder omtrent 93-97% vann. I væsken med animalsk fett og vannblanding, også kalt substrat, utgjør vannet 95%, hvorav resten er fettstoffer. Poenget er da at de suspenderte stoffene foreligger som små partikler i vannet på samme måte som det animalske fettene i substratet.

I fermentoren inokuleres substratet med muggsoppen *Mortierella alpina*. Det kan benyttes en fermentor fra Bioengineering AG. I denne sammenhengen brukes neddykket fermentering og direkte oppgradering. Direkte oppgradering betyr at muggsoppen har enzymer som er i stand til å bryte ned triacylglyserider, som er fettsyrer som forekommer ofte i dyr, til glyserol og fettsyrer, i denne sammenheng, oljesyre, for konsumering av *Mortierella alpina*. Dette er beskrevet kjemisk i fire reaksjonsligninger, de to første reaksjonsligninger representerer omdannelse til biomasse, dette gjelder 60% av stoffene, men de to siste reaksjonsligningene beskriver stoff som ikke reagerer med muggsoppen, representert som de siste 40% av stoffene.

Ut av fermentoren er det så beregnet at det kommer 273 kg med biomasse og 254 kg med triasylglyserider, uspist substrat, store mengder karbondioksid og nesten 1,7 tonn vann. Biomassen er egentlig muggsoppen. Under fermenteringen konsumerte den 60 % av substratet, og det ble dannet verdifulle oljer inne i muggsoppen.

Til avvanning av vannet benyttes en hulfibermembran. En aktuell hulfibermembran er fra i2m-LLC med filtreringsareal på 4 m². Denne fjerner vannet og triasylglyseridene, mens muggsoppen blir sittende fast i membranen. Etter membranfiltreringen, som er å fjerne overflødig vann utenfor cellen, går biomassen videre til fjerning av overflødig vann inne i cellen, som er tørking. Det er mulig å få kjøpt tørker fra Earth Care Products Inc, for eksempel, den enveis-roterende tørketrommelen. Etter tørking har biomassen minsket til omtrent 22 kg.

Etter tørking må de verdifulle oljene trekkes ut fra de avdøde cellene ved hjelp av superkritisk CO₂- ekstraksjon, dette utstyret kan bestilles fra Scientific and Medical Products Ltd, og da gjenstår det 16,35 kg med olje. Av disse besto nesten 5 kg av flerumettede fettsyrer, PUFA, hvor det kunne utvinnes 2,06 kg av den viktigste fettsyren ARA og bare 70,3 g EPA, som det var minst av. ARA er viktig for nerver, skjelett og immunsystem, mens EPA kan muligens forebygge hjerte- og karsykdommer.

Abstract

Not entirely everything slaughtered at the abattoir, can be obtained as food products. Bi-products, which are not fit to be consumed by humans, are a product of the food trade. The garbage is mainly divided into two categories; the one who should not be consumed by people, and the substances which is not considered a hazard to human health, when it comes to both food, cosmetics and pharmacy. This master thesis is about the last category, animal fat, category 3. The issue is how to make animal fat into valuable oil, on an industrial plant, with laboratory experiments as the foundation for the process. Possible manufacturers for the process units are included in this abstract.

The starting point is 1000 kg animal fat from the slaughterhouse. It can be stored in a deep-bottom cone process unit, with possibilities of heating, if necessary, from Paul Mueller Company. The animal fat is blended with a water solution consisting of 20 000 litres, with 200 kg yeast extract and 212,5 kg minerals which is solvable in water. This can be stored in a silo from the same manufacturer as the previous one. In the calculations, sterilization of the fat and sterilization of the water solution is done separately. When it comes to the animal fat, it has already been sterilized in advance from the manufacturer, and if the water has maintained its healthy, clean standard, it is not necessary to sterilize this. If sterilizing is being used, a heat exchanger should be put in place to reuse the energy from the sterilization. The heat exchanger could be a Aalborg MD drain cooler from Alfa Laval. Without the sterilization the process is consuming 200 MJ more in each process.

When the animal fat and the water solution is clean, then the substances are moving unto the sonicator. Fat and water do not dissolve in each other. The sonicator connects the water to the fat and compounds it into a solution, and that sonicator could be purchased from Hielscher Ultrasonics, with a capacity of 10 kW. This fluid can be compared with sludge, because primary sludge contains of 93-97% water. In the fluid, with animal fat and water solution, also called substrate, the water consists of 95%, of which the rest are fat substances. The point is that the suspended solids are present as small particles in the water, the same way the animal fat is present in the substrate.

In the fermenter the substrate is inoculated with the mould *Mortierella alpine*. A fermenter from Bioengineering AG can be utilised. In this context submerged fermentation and direct upgrading are applied. Direct upgrading means that enzymes from the mould breaks down the triacylglycerols, which are fatty acids commonly found in animals, unto glycerol and fatty acids. The fatty acids are in this situation, oleic acid, to be consumed by *Mortierella alpine*. This is described chemically in four chemical equations. The first two of them represents the formation of biomass, and this is the case for 60% of the substances. The two last chemical equations describe substances that do not react with the mould, which constitutes the last 40% of the substances.

From the fermenter it is calculated a biomass of 273 kg, and a mass of 254 kg of triacylglycerols, this is uneaten substrate, large amounts of carbon dioxide and nearly 1,7

tons of water. The biomass is actually the mould. During fermentation it consumed 60% of the substrate, and valuable oils were formed in the mould.

For dewatering a hollow fiber is used. One of the hollow fibers that could be obtained is from i2m-LLC, type Cera-Dur 6 Series, with a filtration area of 4 m². This membrane removes the water and the triacylglycerols, while the mushroom remains in the membrane. After the membrane filtration, which is taking away redundant water outside of the cell, the drying removes the superfluous water inside of the cell, which is described as drying. It is possible to buy an industrial dryer from Earth Care Products Inc., for example, the single-pass rotary dryer. After drying, the biomass has diminished to about 22 kg.

After drying, the valuable oils must be extracted from the dead cells by the means of supercritical CO₂- extraction, and this equipment can be ordered from Scientific and Medical Products Ltd, and then there is 16,35 kg with oil. Out of the 16 kg, nearly 5 kg consisted of polyunsaturated fatty acids, PUFA, with the possibility of extracting 2,06 kg of the important fatty acid ARA, while EPA, only consisting of 70,3 g, was the least present of all the PUFA. ARA is important to the nerves, the skeleton and the immune system, while EPA is likely to prevent cardiovascular disease.

Innholdsfortegnelse

Forord	II
Sammendrag	III
Abstract	V
Innholdsfortegnelse	VII
Bildeliste	X
Tabelliste	XII
1 Introduksjon	1
1.1 Problemstilling.....	2
1.2 Forutsetninger for oppgaven	2
2 Komponentene i prosessen.....	3
2.1 Substrat	3
2.1.1 Fett	3
2.1.2 Gjærekstrakt.....	4
2.1.3 Mineraler	5
2.2 Mortierella alpina- muggsopp som produserer olje	5
2.3 De verdifulle oljene	6
2.3.1 Ulike typer fett til sammenligning	7
3 Prosessbeskrivelse.....	7
3.1 På laboratoriet.....	7
3.2 Prosessen overføres til industri.....	8
4 Massebalanser.....	9
4.1 Oversikt over substratberegninger/sterilisering/sonikering.....	9
4.1.1 Masse- og volumbalanse for stoff i S:	10
4.1.2 Masse- og volumbalanse til sterilisering, i varmeveksler, og under sonikering:.....	11
4.2 Fermentering.....	11
4.2.1 Fremstilling av biomasse fra glyserol	12
4.2.2 Fremstilling av biomasse fra oljesyre	15
4.2.3 Dannelse av triglyserider fra glyserol	17
4.2.4 Dannelse av triglyserider fra oljesyre.....	19
4.3 Membranfiltrering.....	21
4.4 Tørking.....	21
4.4.1 Fast stoff av muggsopp, biomasse, i blanding, m_{fast_stoff} , etter tørking:.....	21
4.4.2 Sammenhengen mellom fast og flytende stoff i blanding, m_B :	22
4.4.3 Sammenhengen til biomassen- hvor mye vann fjernes, m_{H2O} :.....	22

4.5	Superkritisk CO ₂ - ekstraksjon:	22
4.6	Mengden olje i biomassen:	23
4.6.1	Mulig økonomisk utbytte:	24
5	Energibalanse	25
5.1	Sterilisering av animalsk fett og andre substratkomponenter.....	25
5.1.1	Energibalanse for sterilisering av animalsk fett:	25
5.1.2	Energibalanse for sterilisering av andre substratkomponenter:.....	25
5.2	Energibalanse for varmevekslerne:.....	26
5.2.1	Energibalanse for varmeveksler før sonikator:	26
5.2.2	Energibalanse for varmeveksler etter tørking:.....	26
5.3	Energibalanse i tørker.....	27
5.3.1	Luft inne i tørker ved 150°C	27
5.3.2	Entalpi inne i tørker ved 250°C	28
5.3.3	Luft ut av tørker:.....	28
5.3.4	Entalpi ut av tørker:.....	29
5.4	Entalpi på biomasse.....	29
5.4.1	Entalpi på biomasse inn i tørker;.....	30
5.4.2	Entalpi på biomasse ut av tørker;.....	30
5.5	Luftbehov;	30
5.6	Energiforbruk;.....	31
6	Oversikt over masse- og energibalanse.....	32
7	Prosessenheter	33
7.1	Tank til sterilisering og oppbevaring av animalsk fett og gjærekstraktblanding	33
7.2	Valg av varmeveksler	34
7.2.1	Generelt om varmevekslere	34
7.2.2	Rør-i-skall-varmeveksler	34
7.2.3	Valg av varmeveksler fra leverandør.....	35
7.2.4	Beregning av overordnet varmeovergangstall, U:	35
7.2.5	Beregning av LMTD eller ΔT_{lm} :.....	36
7.2.6	Beregning av kapasitet og lengde	37
7.3	Sonikator	39
7.4	Fermentor- bioreaktor for utvikling av MA.....	40
7.5	Membranfiltrering.....	42
7.6	Tørking.....	43
7.7	Varmeveksler etter tørking	44
7.8	Superkritisk CO ₂ -ekstraksjon	45

8	Skjematisk tegning over dimensjonert prosess.....	46
9	Diskusjon	47
9.1	Muggsoppen <i>Mortierella alpina</i>	47
9.2	Sterilisering.....	47
9.3	Varmevekslerne.....	48
9.4	Emulsjon	48
9.5	Fermentor.....	49
9.6	Membranfiltrering.....	50
9.7	Tørking.....	50
9.8	Superkritisk CO ₂ -ekstraksjon og de verdifulle oljene	50
10	Konklusjon	52
11	Referanseliste	53
12	Vedlegg.....	57
12.1	Vedlegg 1	57
12.1	Fortsettelse av vedlegg 1.....	58
12.1	Fortsettelse av vedlegg.....	59
12.2	Vedlegg 2	60

Bildeliste

Figur 1: Foredling av råvarer. SlidePlayer.(2015). MER KRAFT FRA KJØTTINDUSTRIEN, slide 9. Tilgjengelig fra: https://slideplayer.no/slide/3625420 (lest 14.11.2018)	1
Figur 2: Generell struktur til en TAG. Angela, J.(2018). Triacylglycerol: Structure & Function. Tilgjengelig fra: https://study.com/academy/lesson/triacylglycerol-structure-function.html (lest 14.11.2018)	3
Figur 3: Mettet- og umettet fett. Naturfagsiden til 1STB. (2010). Fett. Tilgjengelig fra: https://sml.snl.no/triglyserider (lest 15.11.2018)	4
Figur 4: Mycel fra <i>Mortierella alpina</i> . Hentet fra: Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse, Hauge, E.T.G.(2018).NMBU	5
Figur 5: Oversikt over industriell prosess	9
Figur 6: Den mest representative formelen for fettstyre	15
Figur 7: Generell triglyserid. ResearchGate.(2018). Triacylglycerol(TAG) structure showing glycerol with three fatty acids. Tilgjengelig fra: https://www.researchgate.net/figure/Triacylglycerol-TAG-structure-showing-glycerol-with-three-fatty-acids_fig1_3167878 (lest 25.11.2018)	17
Figur 8: Sammenheng mellom lufttetthet og spesifikk vekt. Engineering Toolbox.(2003). Air- Density, Specific Weight and..Temperature and Constant Pressures. Tilgj.fra: https://www.engineeringtoolbox.com/air-density-specific-weight-d_600.html (lest 26.11.2018)	27
Figur 9: Sammenheng mellom fordampingsvarme og temperatur. Engineering Toolbox.(2010). Water-Heat of Vaporization. Tilgjengelig fra: https://www.engineeringtoolbox.com/water-properties-d_1573.html (lest 26.11.2018)	28
Figur 10: Tilpasset dyp-kjggle prosessenhet. Paul Mueller Company. (u.d). Processors. Tilgjengelig fra: https://www.paulmueller.com/food-processing-equipment/processors (lest 20.11.2018).....	33
Figur 11: Bilde av silo fra Paul Mueller. Paul Mueller Company.(u.d). Silo tank. Tilgjengelig fra: https://uk.paulmueller.com/products/milk-cooling-tanks/new-mueller-milk-cooling-tanks/silo-tank (lest 20.11.2018).....	33
Figur 12: Bilde av rør-i-skall-varmeveksler. General Cargo Ship.(u.d.). Shell and tube heat exchangers for engine cooling. Tilgjengelig fra: http://generalcargoship.com/shell-and-tube-heat-exchangers.html (lest 21.11.2018)	34
Figur 13: Varmeveksler, type Aalborg MD avløpskjøler. Alfa Laval. (u.d.) Aalborg MD. Tilgjengelig fra: https://www.alfalaval.com/products/heat-transfer/tubular-heat-exchangers/shell-and-tube-heat-exchanger/aalborg-md (lest 21.11.2018).....	35
Figur 14: Skjematisk skisse over rør-i-skall- varmeveksler. WATTCO. (u.d.). HEAT EXCHANGERS. Tilgjengelig fra: https://www.wattco.com/casestudy/heat-exchangers (lest 21.11.2018).....	36
Figur 15: Sonikatorsystem. WENSAR. (2016). Probe Sonicator with Sound Proof Enclosure. Tilgjengelig fra: https://www.wensar.com/product_detail.php?id=25 (lest 21.11.2018).....	39
Figur 16: Dannelse av en emulsjon med sonikator Hauge, E.T.G.(2018). Figur 5.3. Tilgjengelig fra: https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2572336/Hauge.pdf?sequence=4&isAllowed=y (lest 21.11.2018)	39
Figur 17: Fire enheter UIP satt sammen i fraktcontainer. Hielscher.(u.d). UIP 10 000- High Power Ultrasonic Clusters. Tilgjengelig fra: https://www.hielscher.com/i10000_p.htm (lest 21.11.2018)	40
Figur 18: Fermentorsystem. BIOENGINEERING. (u.d.). Fermentors. Tilgjengelig fra: http://bioengineering.ch/plants/fermentor (lest 22.11.2018)	41
Figur 19: Ulike typer membranfiltrering. Aquarden Technologies. (u.d.). Membrane types. Tilgjengelig fra: http://aquarden.com/technology/membrane-filtration (lest 23.11.2018)	42

Figur 20: Hulfibermembran i keramikk. i2M.(2018). Cera-Dur 6 Series. Tilgjengelig fra: https://www.i-2-m.com/ceradur-6-series (lest 24.11.2018)	42
Figur 21: Bildet viser størrelsen på en industriell tørker. Earth Care Products, Inc. (u.d.). Rotary Dryers. Tilgjengelig fra: http://ecpsystems.com/dehydration (lest 24.11.2018).....	43
Figur 22: Utstyr til superkritisk karbondioksid-ekstraksjon. Scientific & Medical Products Ltd. (u.d.). Pilot and Production Scale Systems. Tilgjengelig fra: https://www.scimed.co.uk/product/pilot-production-scale-systems (lest 24.11.2018)	45

Tabelliste

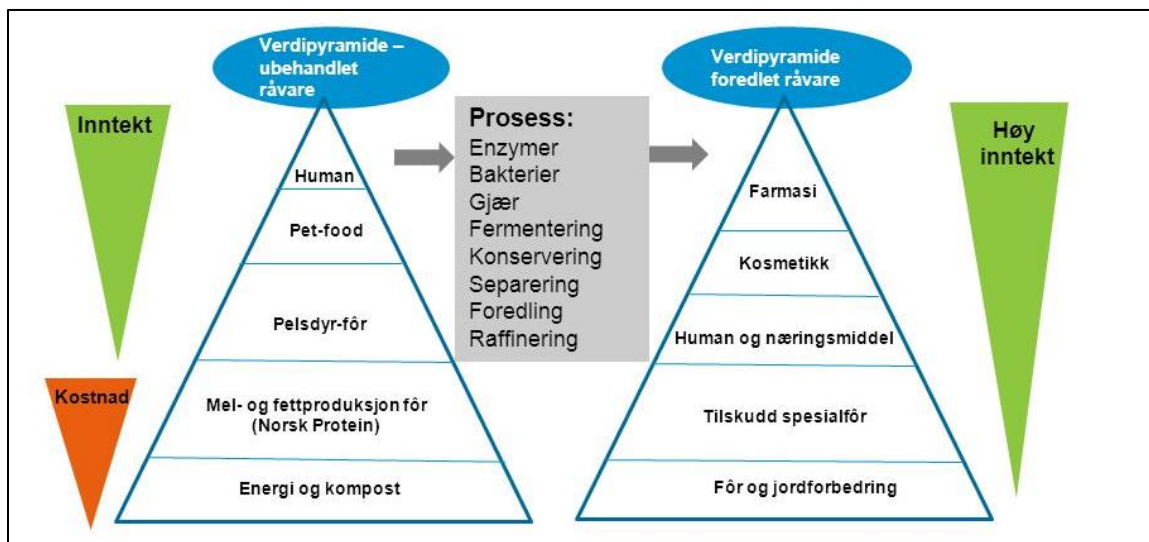
Tabell 1: Oversikt over ulike fettyper. Hentet fra: Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse, Hauge, E.T.G.(2018).NMBU[6].....	7
Tabell 2: Oversikt over mengdene i substratet	10
Tabell 3: Masse- og volumbalanse til sterilisering, i varmeveksler og under sonikering	11
Tabell 4: Reaktanter og produkter fra første ligning.....	14
Tabell 5: Reaktanter og produkter fra andre reaksjonsligning.....	16
Tabell 6: Oppsummering av fremstilling av biomasse.....	17
Tabell 7: Reaktanter og produkter i tredje reaksjonsligning.....	19
Tabell 8: Reaktanter og produkter fra fjerde reaksjonsligning	20
Tabell 9: Triglyserider produsert	20
Tabell 10: Resultatene av massebalanse i fermentor	21
Tabell 11: Massebalanse i membranfiltrering og tørking	22
Tabell 12: Mengden av de verdifulle oljene i biomassen.....	24
Tabell 13: Energibalanse for steriliseringen	25
Tabell 14: Energibalanse for varmevekslerne	26
Tabell 15: Luft og entalpi i tørker	29
Tabell 16: Luftbehov og energibehov for tørker	31
Tabell 17: De viktigste resultatene i energibalanse	31
Tabell 18: Varmeoverføringskonstanter for vann og svinefett	35
Tabell 19: Inn- og utgangstemperaturer på varmeveksleren.....	37
Tabell 20: Temperatur på substans i varmeveksleren etter tørkeren	44

1 Introduksjon

I den senere tid er det et stadig, økende fokus på miljø og miljøvennlige løsninger. Det er tidligere betraktet som avfall, sees i dag som potensielle ressurser for industri og samfunn. Dette gjelder også for kjøttindustrien, hvor det oppstår bi-produkter ved slakt av dyr.

Bi-produkter fra kjøttindustrien kan inndeles i tre kategorier, avhengig av typen fett i disse. Bi-produkter med lavest innhold av fett, tilhører kategori 1, mens rester fra døde dyr på gårdsbruk, og lignende, eller med uspesifisert fett, tilhører kategori 2[1]. Kategori 1 og 2 er ikke akseptert for human bruk, og brukes hovedsakelig til produksjon av energi. Kategori 3 av bi-produktene fra kjøttindustrien, er fett som kan inntas oralt og som er ufarlig for mennesker[2].

I Norge har Norsk Protein spesialisert seg på animalsk kategori-3 fett. Årlig produserer Norsk Protein 18 200 tonn animalsk fett[2], hvorav mesteparten er ufarlig fett. I framtiden antas denne produksjonen å øke, fordi det er et stort fokus på helse og dietter med sunt fett i Norge, men også fordi kjøttproduksjonen mest sannsynlig vil øke[2].



Figur 1: Foredling av råvarer. SlidePlayer.(2015). MER KRAFT FRA KJØTTINDUSTRIEN, slide 9. Tilgjengelig fra: <https://slideplayer.no/slide/3625420> (lest 14.11.2018)

Figuren over viser ubehandlede råvarer til venstre, som via en prosess, leder til behandlede råvarer til høyre. Lav forekomst gir høy inntekt, men det sees at den nederste delen av de ubehandlede råvarene, kun er knyttet til utgifter i seg selv.

I denne oppgaven foredles det spiselige fett til mer høyverdige lipider via neddykket fermentering og behandling med muggsopp. Kroppen trenger de høyverdige lipidene- til hud[3], mot hjerte- og karsykdommer[4], og til oppbygning av kroppen og celler generelt[5] – og som gir et økonomisk utbytte. Denne oppgaven inngår som et ledd i prosjektet LipoFungi-Bioconversion of low-cost fat materials into high-value PUFA- Carotenoid-rich biomass (Prosjektnr. 260987), som baserer seg på teknologi som foredler råvarer.

1.1 Problemstilling

Hvordan kan, om gunstig og mulig, et prosjekt som går ut på fremstilling av verdifull biomasse ved hjelp av muggsoppen *Mortierella alpina*, MA, på laboratoriet, dimensjoneres og oppskaleres til et fullverdig industrielt anlegg?

1.2 Forutsetninger for oppgaven

- For hver prosess er utgangspunktet 1000 kg animalsk fett, AF
- Når det gjelder energiprosesser er det kun de mest krevende prosessenehetene det er gjort beregninger på, og dette er sterilisering, varmevekslere og tørking
- Støkiometri er blitt benyttet for teoretisk massebalanse
- Prosessdesignet er basert på og videreutviklet fra en tidligere masteroppgave[6]
- Det antas at det animalske fettene alltid er flytende underveis i hele anlegget, og at emulsjonen mellom det animalske fettene og vannblandingen alltid er stabil
- Det blir ikke redegjort for produksjonslokaler og tilhørende bygg
- Energibruken ved transport av stoffer i prosessen, med beltetransport eller pumping av substansene, blir ikke estimert i denne oppgaven
- På skjematisk tegning er temperaturer satt etter skjønn
- Det er også gjort antagelser underveis i beregningene

2 Komponentene i prosessen

Denne delen av oppgaven forklarer essensiell informasjon knyttet til de viktigste komponentene i prosessen.

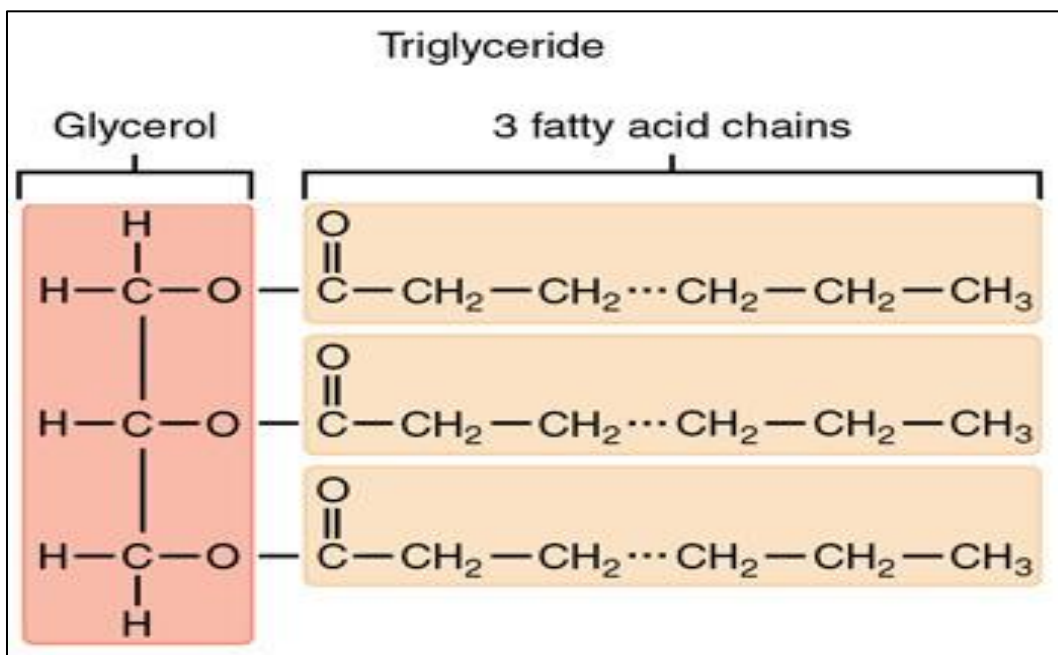
2.1 Substrat

Ved inokulering av sporene til muggsoppen i substratet må forholdene ligge til rette for at muggsoppen kan ernære seg. Substratet må bestå av de nødvendige bestanddelene, vann, animalsk fett, gjærekstrakt og mineraler, eller salter. Det animalske fettene oppbevares i egen tank, mens gjærekstrakten og saltene oppbevares i en annen tank med vann, hvor gjærekstrakten og saltene løses opp i vannet. For å kunne blande fettene med resten av substratet, er det viktig at fettene er flytende, gjerne ved 60°C. I hver sin tank steriliseres så AF og gjærekstrakt med salter, ved 115°C i 15 minutter[6].

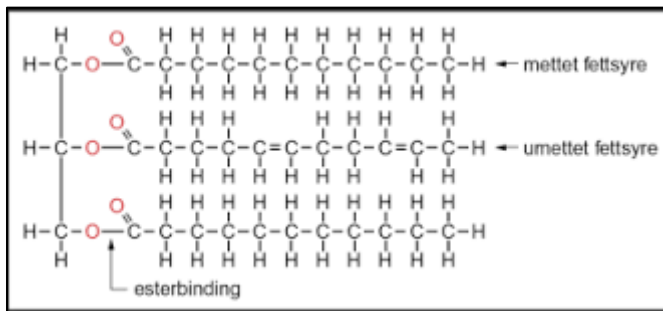
Etter sterilisering går stoffene gjennom en varmeveksler, for å gjenvinne varme, og deretter inn i miksestasjonen, en sonikator, for å endre de to bestanddelene, som er i hver sin fase, til en enkelt væske. Videre føres denne væsken til fermentor, hvor soppsporene kan inokuleres med ferdig substrat[6].

2.1.1 Fett

98-99 % av vanlig fett og fete oljer består av triacylglyserider, TAG, er en ester av den treverdige alkoholen glyserol og tre ulike fettsyrer[7]. I denne oppgaven består fettsyrene av oljesyre[8], som er en vanlig fettsyre i dyr. Som vist på figur, består fettsyrer av en karboksylgruppe(COOH), og resten av hydrokarboner.



Figur 2: Generell struktur til en TAG. Angela, J.(2018). Triacylglycerol: Structure & Function. Tilgjengelig fra: <https://study.com/academy/lesson/triacylglycerol-structure-function.html> (lest 14.11.2018)



Figur 3: Mettet- og umettet fett. Naturfagsiden til 1STB. (2010).
Fett. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/triglyserider> (lest 15.11.2018)

Fettsyrer består altså av karbon-, oksygen- og hydrogenatomer. Det er forskjell på mettet og umettet fett. Figuren viser at mettede fettsyrer kun består av enkeltbindinger, mens umettede fettsyrer kan bestå av dobbeltbindinger, én eller flere. Det vanlige er at mettet fett er i fast form, mens umettet fett er i flytende form ved romtemperatur, og også er kjent som

oljer. Fett og vann kan ikke blandes i vann fordi vann ikke kan bryte enkeltbindingene til fett. Fett betegnes hydrofobt og upolart, mens vann betegnes som hydrofilt og polart[6].

2.1.1.1 Animalsk fett

Norsk Protein produserer årlig 18 200 tonn fett, hvor det meste av dette er kategori 3 av AF[2]. Kategori 1 og 2 er fett som ikke er akseptabelt å konsumere for mennesker, det karakteriseres gjerne som spesifisert risiko materiale(SRM), og for det meste omhandler dette kadaver, skrotter og andre rester fra slakt av dyr. Stikkordet her er å endre fettene fra rikelig innhold av mettet fett, *SAT*, til enumettet fett, *MUFA*, men først og fremst, flerumettet fett, *PUFA*[2]. Alle disse typene er tilknyttet *TAGs*.

2.1.2 Gjærekstrakt

Gjærekstrakt er ikke det samme som gjær og gjærceller. Gjær er en sopp, en levende, ofte encellet mikroorganisme[9], mens gjærekstrakt foreligger som pulver og ikke er en levende mikroorganisme. Gjærekstrakt kan for eksempel bestå av aminosyrer, karbonkilde, nitrogenkilde, vitaminer og salter- dette avhenger av hvilken type muggsopp som skal ernære seg på substratet, som gjærekstrakten utgjør en del av[6].

Fremstillingen av gjærekstrakten kan minne om fremstillingen av de verdifulle oljene i denne oppgaven. Under fermentering ernærer gjæren seg av en karbonkilde, gjerne glukose, i tanker hvor temperatur og tilførsel av oksygen blir nøye regulert for at gjæren skal vokse optimalt[6].

Etter vekstfasen, bryter enzymer i gjæren ned celleveggen, slik at innholdet kommer ut, og næringen herfra, er det som betegnes som gjærekstrakt. Gjærekstrakten skilles fra cellene og tørkes til pulver. Pulveret kan benyttes til næring for andre typer sopper, være smakserstatter i mat, men brukes i denne oppgaven som nitrogenkilde for *Mortierella alpina*[6].

2.1.3 Mineraler

Substratet består også av ulike type mineraler, i tillegg til animalsk fett, gjærekstrakt og vann. Mineraler er bare små bestanddeler i en stor helhet, men de er helt nødvendige for at muggsoppcellene skal klare seg, små forskjeller kan få store, osmotiske utslag. Osmose foregår over en cellevegg, som er semipermeabel. Dette betyr at celleveggen tillater diffusjon av vann, men ikke av salter. Ved osmose vil ulike ujevnheter i konsentrasjon av salter over celleveggen utlignes. For mye salt utenfor cellen, kan medføre at vannet diffunderer ut, og at cellen skrumper, mens for mye salt inne i cellen, kan medføre at vannet diffunderer inn og at cellen eksploderer[6].

2.2 *Mortierella alpina*- muggsopp som produserer olje

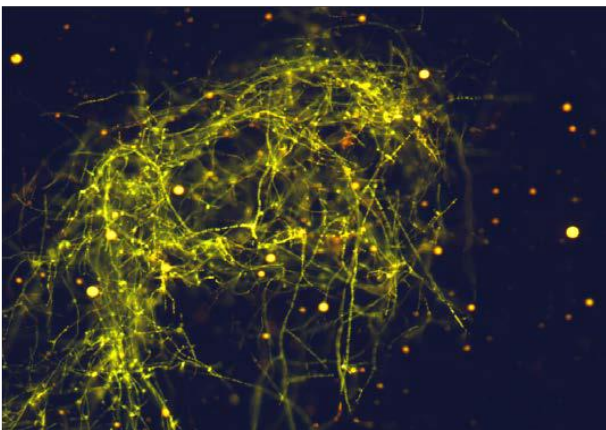
Det er over 144 000 kjente arter som hører til under soppriket, og soppriket består av gjær, rust, smuss, meldugg, mugg og vanlig sopp[10].

MA er av typen Zygomycota, men siden 1998 blir den benevnt som tilhørende orden Mortierellales. Den trives og vokser best, raskest med en temperatur på rundt 28°C, **og** har en diameter på 1-5 µm[6].

Mortierella alpina er en filamentøs sopp. Filamentøse sopper danner hyfer, og vokser i lengden med trådformede forgreninger, ved spredning av sporer[11]. Når hyferne går sammen, dannes et mycel[6].

Tidligere ble mineralenes rolle i substratet behandlet. Siden sopper er organiske og heterotrofe mikroorganismer, det vil si i live og at ernæringen er organiske næringsstoffer[11],

er det nødvendig med energi som den får fra substratet, for å gjennomføre syntese av cellemateriale. Karbonkilden kan være glukose, eller glyserol og fett i en eller annen form. Muggsoppen sender ut enzymer som hydrolyserer triglyseridene, slik at den kan konsumere spaltningsproduktene, glyserol og fettsyrer.



Figur 4: Mycel fra *Mortierella alpina*. Hentet fra: Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse, Hauge, E.T.G.(2018).NMBU

2.3 De verdifulle oljene

Inne i muggsoppen dannes de verdifulle oljene, ettersom MA spiser mer og mer av substratet.

Arakidonsyre(ARA):

ARA er en omega-6-fettsyre, den finnes i morsmelk, og kan være viktig for fosterets utvikling av hjernen og hjerneceller de første leveårene[6]. Den kan også omdannes til eikosanoider, som er viktig for signalmolekyler i ulike celletyper. Videre finnes ARA i den biologiske cellemembranen, i nerver og skjelett, og også i immunsystemet[5].

Linolensyre metyl-ester:

LA- metyl-ester er en omega- 6-fettsyre, den benyttes som smakstilsetning og er befinner seg i den ekstracellulære siden av cellemembranen[12].

Gammalinolensyre(GLA):

GLA er en omega-6-fettsyre, den finnes også i morsmelk[Hauge], og kan muligens også bevare fuktighet i huden[3].

Dihomo-gammalinolensyre(DGLA):

DGLA er en omega-6-fettsyre, og kan ha anti-inflammatoriske egenskaper[13].

Dokosaheksaensyre(DHA):

DHA er en omega-3-fettsyre, finnes i morsmelk[6], er også spesielt viktig for fosterets utvikling av hjernen og hjerneceller de første leveårene. Den kan også ha en effekt imot hjertekarsykdommer, depresjon og finnes dessuten i tran[14].

Eikosapentaensyre(EPA):

EPA er en omega-3- fettsyre, og kan også ha en effekt imot hjerte- og karsykdommer, depresjon og tran[14].

Vevet i hjernen og netthinnen hos mennesker består av omlag 30% EPA, DHA og GLA. Det er derfor viktig å få tilført disse fettsyrene gjennom kosthold, da kroppen ikke kan fungere optimalt uten[6].

Dette er altså de viktige bestanddelene som muggsoppen *M. alpina* produserer inne i cellene sine.

2.3.1 Ulike typer fett til sammenligning

Type fettsyrer	Hamar fett	Mortierella alpina dyrket på fett	Mucor circinelloides dyrket på fett	Mortierella alpina dyrket på glukose	Mucor circinelloides dyrket på glukose
SAT	46,3	33,5	34,4	28,8	23,3
MUFA	40,3	30,8	34,2	17,7	42,9
PUFA	6,5	28,0	13,7	45,6	28,1

Tabell 1: Oversikt over ulike fettyper. Hentet fra: Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse, Hauge, E.T.G.(2018).NMBU[6]

Type fett, i tabellen over, er angitt som SAT, MUFA, og PUFA, og innholdet av disse vises på ulike type fett, raden øverst, og er angitt i prosent. Hamar står for det ubehandlede fett, av kategori-3 fra Hamar.

Tallene som er aktuelle her, er fra Hamar og H-MA, hvor en ser at PUFA øker kraftig, men det observeres også at fett behandlet med glukose av MA, gir størst utbytte av de verdifulle oljene, de såkalte PUFA'ene. Fett behandlet med glukose av Mucor Circinelloides, gir størst, samlet utbytte av umettede fettsyrer.

3 Prosessbeskrivelse

Følgende skal fremgangsmåten bak eksperimentet i laboratoriet forklares, for videre å forsøke og overføre dette oppskalert til industrielt format med tanke på kommersiell virksomhet.

3.1 På laboratoriet

Innledningsvis skal sporer fra muggsopp dyrkes fram på laboratoriet på agar-agar[15]. Videre skal sporene inokuleres med substrat, plasseres i fermentor, og her utvikler muggsoppen lipider i cellene sine. For å hindre utvikling av bakterier og andre uønskede organismer, er fermentor og beholdere autoklavert og sterilisert[6].

Substratet, også kalt medium, består av animalsk fett, gjærekstrakt og viktige mineraler blandet med vann. Det er substratet som inokuleres med sopp sporer, som får næring fra substratet. I laboratoriet, men ikke utførlig behandlet i denne oppgaven, har en også byttet ut animalsk fett med glukose som karbonkilde, i tillegg til forsøk med hydrolyse av det animalske fett på forhånd, tilsatt glyserol. Sistnevnte prosess er unødvendig fordi muggsoppen, *Mortierella alpina*, danner enzymer som hydrolyserer hele fettmolekylet utenfor muggsoppen, til fettsyrer og glyserol, slik at disse kan opptas av muggsoppen[6].

I dette prosjektet er det skissert opp to metoder for å gjennomføre prosjektet; indirekte- og direkte oppgradering. Indirekte oppgradering innebærer hydrolyse før fermentering, mens

direkte oppgradering betyr at det animalske fettene tilsettes uten denne forbehandlingen. Laboratorieforsøk viste at indirekte oppgradering er unødvendig, fordi muggsoppen som sagt, utfører hydrolysen selv, og derfor er det direkte oppgradering det fokuseres på i denne sammenheng[2].

Før substratet inokuleres med sopp sporer, må den autoklaveres[16], for å være steril. For at muggsoppen skal ta til seg næring, er det viktig at substratet og det animalske fettene er blandet mest mulig homogent, at det dannes en emulsjon. Til dette formålet er det mulig å bruke en emulgator. En emulgator er et makromolekyl med en hydrofil ende og en hydrofob ende, som kan binde sammen stoffer av ulik polaritet. Til denne oppgaven benyttes moderne maskiner, såkalte sonikatorer, som er kapabel til å lage emulsjoner, uten emulgator[6].

Deretter ernærer muggsoppen seg av substratet i en fermentor, som overvåker forholdene slik at pH, temperatur og trykk er optimale for akkumulering av lipider. Etter behandlingen i fermentor skal blandingen membranfiltreres.

Under membranfiltrering med hulfibermembran, separeres de faste cellene fra væsken. Væsken filtreres ut i midten av hulfiberen, mens potensialet for biomasse blir sittende i lagene til hulfiberen. Denne har en høy pakningstetthet[17], noe som medfører at vannet filtreres godt ut, slik at nesten all masse blir sittende igjen. Deretter må massen, den hele massen av lipider, celler, eventuelle rester av substrat, og annet, analyseres, så en har et mål på hvor mye lipider som har blitt produsert.

Til slutt benyttes sonikering til destruksjon av celleveggene i muggsoppen, slik at superkritisk CO₂- ekstraksjon kan hente ut oljen.

3.2 Prosessen overføres til industri

Den beskrevne prosessen gir en oversiktlig forklaring på hvordan en fremstiller den verdifulle oljen på laboratoriet. For å omgjøre denne prosessen til en kommersiell virksomhet industrielt, er det nødvendig å gjøre noen endringer.

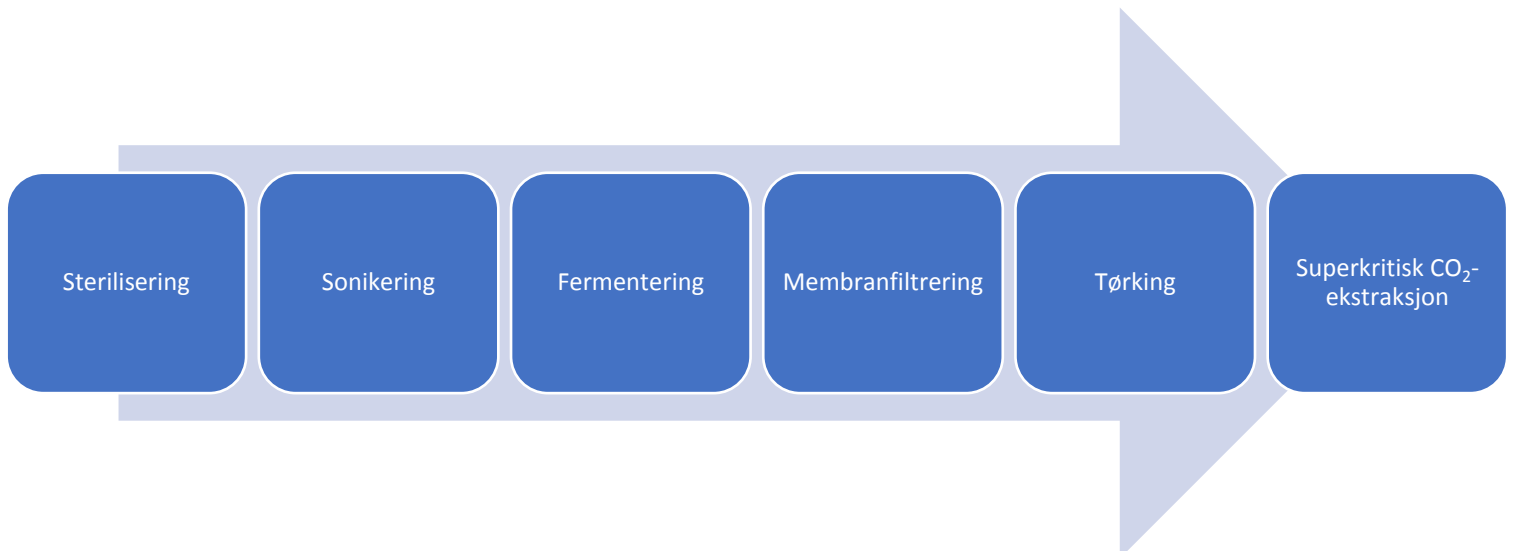
Det animalske fettene ankommer i flytende form fra Norsk Protein på lastebiler. Det er viktig å beskytte fettene fra uønskede elementer i lukkede siloer, hvor det steriliseres, under 121°C, i 15 minutter, under 1 bars trykk[6].

Gjærekstrakten og mineralene befinner seg i pulverform, som det er enkelt å løse i vann, med forhold som er ønskelig ellers i tanken. Gjærekstrakten og mineralene gjennomgår samme prosess som det animalske fettene, bare under høyere trykk. Fettene og blandingen går deretter gjennom varmevekslere for å gjenvinne energi, før det transporteres til sonikatoren[6].

I sonikatoren blandes det animalske fettene, gjærekstrakt og mineraler, til substrat, som er optimalt for ernæring til muggsoppen. Fettene er nå fordelt jevnt innad i hele blandingen. Fra sonikatoren går substratet til fermentor, for å gjennomgå neddykket fermentering. Det tar fire dager før cellen har konsumert mengden det er snakk om. Deretter inokuleres substratet med sopp sporer, slik at muggsoppen kan produsere olje i cellene sine ved konsumering av substrat[6].

For å separere muggsoppceller fra substratvæske, restene fra substratet, benyttes hulfiber-membran-filtrering. Det er betydelige mengder substratvæske som skal fjernes, og fortsatt mer vann i cellene, og tilbakespyling gjør at vannmengden øker[18], og dettes fjernes med en industriell tørkemaskin.

Etter tørking har de døde cellene form av små pellets med verdifull og sunn olje i seg. Det intracellulære vannet er ikke lenger tilstede. Cellene er biomassen vår. Denne oljen fra muggsoppen, kan anvendes til ulike bruk, primært til kosmetikk og helse. Under vises det en oversikt over hele prosessen i industrien.



Figur 5: Oversikt over industriell prosess

4 Massebalanser

Dette kapitlet omhandler massebalanser for de ulike prosessenhetene i produksjonslinjen til biomassen med de høyverdige lipidene. 1000 kg AF omgjøres til biomasse ved hjelp av muggsoppen MA i en fermenteringstank.

4.1 Oversikt over substratberegninger/sterilisering/sonikering

Substratet(S) består av animalsk fett, gjærekstrakt, mineraler og vann. For at MA skal produsere de verdifulle oljene (de høyverdige lipidene), må S inneholde denne blandingen for konsumering av og utvikling av muggsopp. Det er viktig å ha en nitrogenkilde, i dette tilfellet fra gjærekstrakt, en karbonkilde, i denne oppgaven fra animalsk fett, i tillegg til mineraler og oksygen i det MA er en aerob mikroorganisme. Se vedlegg for innhold av gjærekstrakt.

Fremgangsmåten til beregningene knyttet til substrat, sterilisering og sonikering er stort sett inspirert av en annen masteroppgave[6].

Tabell 2 oppgir konsentrasjonen av stoffene i substratet[6], og er inndelt i tre hovedkategorier; animalsk fett, gjærekstrakt og mineraler.

Komponent	Konsentrasjon av stoff (g/L)
Animalsk fett	50
Gjærekstrakt	10
Mineraler	
KH ₄ PO ₄	7
Na ₂ HPO ₄	2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,5
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,008
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,001
CoSO ₄ ·7H ₂ O	0,0001
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0001
MnSO ₄ ·5H ₂ O	0,0001
Sum mineraler	10,6093

Tabell 2: Oversikt over mengdene i substratet

4.1.1 Masse- og volumbalanse for stoff i S:

Formelen for beregning av volum og masse:

$$V = \frac{m}{c}$$

hvor V : volum, m : masse, og c : konsentrasjon

Massen av AF, m_{AF} :

$$m_{AF} = 1000kg$$

Volum av AF, V_{AF} :

Tettheten til AF, er gitt[19], $c_{AF} = 872,4kg/m^3$

$$V_{AF} = \frac{m_{AF}}{c_{AF}} = \frac{1000kg}{872,4 kg/m^3} = 1,146m^3$$

Volum av vann, V_{vann} :

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

Massen av gjærekstrakt(G), m_G :

$$m_G = c_G V_{H_2O} = 0,01 \frac{kg}{L} \cdot (20\ 000L) = 200kg$$

Massen av mineraler(M), m_M :

$$m_M = c_M V_{H_2O} = 0,0106 \text{ kg/L} \cdot (20\ 000\text{L}) = 212,25\text{kg}$$

4.1.2 Masse- og volumbalanse til sterilisering, i varmeveksler, og under sonikering;

Det antas at det under sterilisering, i varmeveksler og under sonikering, ikke skjer noen endringer i masse- og volumbalanse.

Animalsk fett: $m_{AF} = 1000\text{kg}, V_{AF} = 1,15\text{m}^3$

Vannblanding, m_{vb} og V_{vb} : $m_{vb} = m_{H_2O} + m_G + m_M$
 $= (20\ 000 + 200 + 212,25)\text{kg} = 20\ 412,25\text{kg}, V_{vb} = 20\text{m}^3$

Komponent	Masse	Tetthet	Volum
Animalsk fett	1000 kg	872.4 kg/m ³	1,15 m ³
Vann	20 000 L	1000L/m ³	20 m ³
Gjærekstrakt	200 kg		
Mineraler	212,25 kg		
Sum S	21 412,25 kg		21,15 m ³

Tabell 3: Masse- og volumbalanse til sterilisering, i varmeveksler og under sonikering

Tabell 3 oppgir resultatene så langt; volumet til gjærekstrakten og mineralene er ikke utregnet, fordi det forutsettes at de løses opp i vannet.

4.2 Fermentering

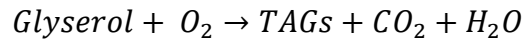
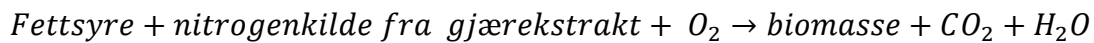
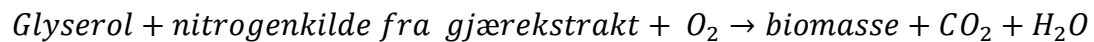
Fremgangsmåten til utregningene under fermentering er også inspirert av en annen masteroppgave[20].

I fermentortanken omdannes S når MA spiser opp S. Inne i cellen til muggsoppen dannes det blant annet PUFA, og det er de fettsyrene en forsøker å få dannet mest mulig av.

Muggsoppen har den spesielle egenskapen at den hydrolyserer TAG utenfor cellen til glyserol og fettsyrer ved hjelp av spesielle enzymer[2]. Ved inokulering omdanner muggsoppen glyserolen og fettsyren til biomasse. Dette er beskrevet i de to første, kjemiske reaksjonsligningene nedenfor. Den delen av glyserolen og fettsyren som muggsoppen ikke konsumerer, blir omdannet tilbake til triasyglyserider, og dette er beskrevet i de to siste, kjemiske reaksjonsligningene.

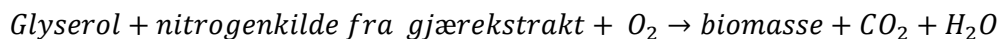
Det forutsettes at alle reaksjonsligningene er fullstendige.

I fermentoren inokuleres MA med S, og denne prosessen beskrives med fire kjemiske ligninger;



De to første ligningene står for 60% av stoffene, en kalkulerer altså med at 60% av stoffene blir konsumert av MA, mens de to siste ligningene, som står for 40%, ikke kommer i ordentlig reaksjon med muggsoppen.

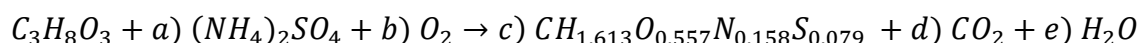
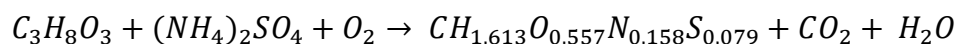
4.2.1 Fremstilling av biomasse fra glyserol



Denne reaksjonsligningen representerer 30% av stoffene i reaktor. Nitrogenkilden ble funnet, se vedlegg 1, fra et datablad, fra firmaet Biolife. I vedlegget er det oppgitt mange substanser, men under Yeast Nitrogen Base, er forekomsten av nitrogenkilden sterkt dominerende i forhold til de andre stoffene. Det velges derfor å se bort fra de andre elementene, og kun bruke nitrogenkilden, $(NH_4)_2SO_4$, i reaksjonsligningen.

Molekylformelen til biomassen er hentet fra nettet[21], $CH_{1,613}O_{0,557}N_{0,158}$, og det er egentlig molekylformelen til spirende gjær generelt[22]. *Saccharomyces cerevisiae* er også omtalt som spirende gjær, det er en sopp, og den anvendes mye til forskning i bioteknologien og industrielle prosesser[23]. Siden molekylformelen er angitt som spirende gjær generelt, og det dreier seg om en sopp, antas det at denne formelen gir en god tilnærming til molekylformelen til MA.

I og med at svovel er med i gjærekstrakten, kommer den også til uttrykk i biomassen.



- Svovelbalanse- $S_{inn}=S_{ut}$:

$$a = 0,079 c, \text{ vi antar at } c = 1 \Rightarrow a = 0,079$$

- Nitrogenbalanse- $N_{inn} = N_{ut}$:

$$2a = 0,158c, \text{ denne ligningen tilsvarer den over}$$

- Karbonbalanse- $C_{inn} = C_{ut}$:

$$3 = c + d \Rightarrow d = 2$$

- Hydrogenbalanse- $H_{inn}=H_{ut}$:

$$8 + 8a = 1,613c + 2e$$

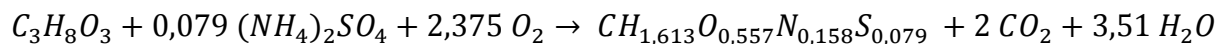
$$e = \frac{8+8\cdot 0,079-1,613\cdot 1}{2} = 3,51$$

- Oksygenbalanse- $O_{inn}=O_{ut}$:

$$3 + 4a + 2b = 0,557c + 2d + e$$

$$b = \frac{0,557+2\cdot 2+3,51-(3+4\cdot 0,079)}{2} = 2,375$$

Balansert reaksjonsligning:



Mengden biomasse dannet i fermentor med glyserol:

Celltørrvekten til MA, er 21,5 g/L [6], og det antas at MA, innenfor de 30% av massen det gjelder, har spist opp all S. Beregning av mengden til biomasse, $m_{biomasse}$:

$$21,5g/L = m_{biomasse}/21,146m^3$$

$$m_{biomasse} = 21,5g \cdot 21146 \cdot 0,3 = 21146g = 136,4kg$$

Molekylvekt av stoffene i første reaksjonsligning

For å finne stoffmengdene av ulike stoffer, må molekylærvekten først beregnes i formel :

$$M_w = \left(\sum (\text{andel atomer} \cdot \text{atommasse}) \right)$$

Produkter i første ligning

$$\begin{aligned} M_{w,biomasse} &= (1 \cdot 12 + 1,613 + 0,557 \cdot 16 + 0,158 \cdot 14 + 0,079 \cdot 32)g/mol \\ &= 27,265kg/kmol \end{aligned}$$

$$M_{w,CO_2} = (12 \cdot 1 + 2 \cdot 16)g/mol = 44kg/kmol$$

$$M_{w,H_2O} = (2 \cdot 1 + 16)g/mol = 18kg/kmol$$

Reaktanter i første ligning

$$M_{w,glyserol} = (3 \cdot 12 + 8 + 3 \cdot 16)g/mol = 92kg/kmol$$

$$M_{w,(NH_4)_2SO_4} = (2 \cdot 14 + 8 + 32 + 4 \cdot 16)g/mol = 132kg/kmol$$

$$M_{w,O_2} = (2 \cdot 16)g/mol = 32kg/kmol$$

Beregning av massene i reaksjonsligning 1:

Formel for beregning av mol, stoffmengde, n :

$$n = \frac{m}{M}$$

hvor n : mol, m : masse, og M : molekylvekt

$$n_{biomasse} = n_{glyserol} = \frac{136,3kg}{27,265 kg/kmol} = 4,99kmol$$

Av reaksjonsligningen observeres det at stoffmengden for biomasse og for glyserol er den samme.

Mengden av de ulike substansene i reaksjonsligningen:

Mengdene i reaksjonsligningen regnes ut etter den generelle formelen under, hvor x står for en av substansene:

$$m_x = n_{biomasse} \cdot \text{tilhørende koeffisient} \cdot M_{w,x}$$

Mengden av karbondioksid dannet i fermentor, m_{CO_2} , regnet ut som ett eksempel:

$$m_{CO_2} = 4,99kmol \cdot 2 \cdot 44 \frac{kg}{kmol} = 439,88kg \approx 440kg$$

Verdiene til alle parameterne er utregnet etter den generelle formelen for m_x ovenfor.

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Glyserol	460 kg	Reaktant
Nitrogenkilde	52,1 kg	Reaktant
Oksygen	380 kg	Reaktant
Biomasse	136,3 kg	Produkt
Karbondioksid	440 kg	Produkt
Vann	316 kg	Produkt

Tabell 4: Reaktanter og produkter fra første ligning

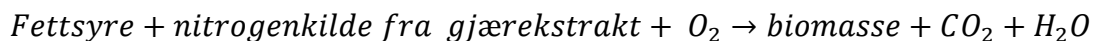
Ut fra første reaksjon dannes det 136,3 kg biomasse, 440 kg karbondioksid og 316 kg vann, ut fra 460 kg glyserol, 52 kg gjærekstrakt og 380 kg oksygen.

4.2.2 Fremstilling av biomasse fra oljesyre

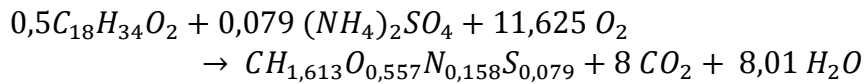
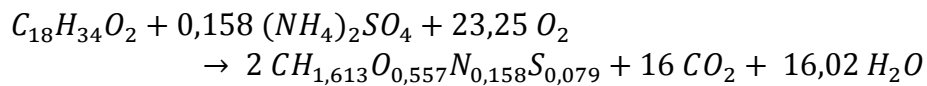
Når det gjelder bruken av fettsyre, er det laget en analyse av animalsk fett. I tabellen under vises resultatene fra dette arbeidet, og det vises også hvorfor oljesyre er valgt som fettsyre. De to første kolonnene til venstre er analysen, molekylformelen for stoffene er deretter funnet til høyre, og det er beregnet hvor stor andel det er av henholdsvis karbon, hydrogen og atomer totalt i fettene for de ulike fettsyrene. Ved å summere opp innholdet finnes den mest representative molekylformelen, som er formelen for oljesyre, $C_{18}H_{34}O_2$, siden en ikke kan avrunde nedover. Se vedlegg 2 for utgangspunktet for analysen.

Analyse av animalsk fett av Milan Certik og bearbeiding for å finne generell formel					
<i>Fettsyrer</i>	<i>Andel i %</i>	<i>Molekylformel</i>	<i>C</i>	<i>H</i>	<i>O</i>
C14:0	2 %	$C_{14}H_{28}O_2$	0,308	0,616	0,044
C16:0	24 %	$C_{16}H_{32}O_2$	3,776	7,552	0,472
C16:1Δ7	0 %	$C_{16}H_{30}O_2$	0,064	0,12	0,008
C16:1Δ9	2 %	$C_{16}H_{30}O_2$	0,384	0,72	0,048
C17:0	1 %	$C_{17}H_{34}O_2$	0,153	0,306	0,018
C17:1	1 %	$C_{17}H_{32}O_2$	0,102	0,192	0,012
C18:0	19 %	$C_{18}H_{36}O_2$	3,366	6,732	0,374
C18:1Δ9t	2 %	$C_{18}H_{34}O_2$	0,378	0,714	0,042
C18:1Δ9c	39 %	$C_{18}H_{34}O_2$	7,074	13,362	0,786
C18:1Δ11	2 %	$C_{18}H_{34}O_2$	0,342	0,646	0,038
C18:2Δ9,12	6 %	$C_{18}H_{32}O_2$	1,062	1,888	0,118
C18:3Δ9,12,15	1 %	$C_{18}H_{30}O_2$	0,162	0,27	0,018
C20:0	0 %	$C_{20}H_{40}O_2$	0,04	0,08	0,004
C20:1	1 %	$C_{20}H_{38}O_2$	0,12	0,228	0,012
C20:2	0 %	$C_{20}H_{36}O_2$	0,06	0,108	0,006
			17,391	33,534	2

Figur 6: Den mest representative formelen for fettstyre



Balansert reaksjonsligning:



Framgangsmetoden for støkiometri og balansering av reaksjonsligningen er vist tidligere.

Mengden av biomasse dannet fra oljesyre:

Celletørrvekten og volumet i fermentoren er lik som i den forrige reaksjonsligningen, det betyr at mengden av biomassen og stoffmengden er den samme, $m_{biomasse} = 136,4kg$ og $n_{biomasse} = 4,99kmol$.

Molekylvekt av oljesyre, $M_{w,oljesyre}$:

$$M_{w,oljesyre} = (18 \cdot 12 + 34 + 2 \cdot 16) \frac{kg}{kmol} = 282kg/kmol$$

Mengden av de ulike substansene i reaksjonsligningen:

Mengdene i reaksjonsligningen regnes ut etter den generelle formelen under, hvor x står for en av substansene:

$$m_x = n_{biomasse} \cdot \text{tilhørende koeffisient} \cdot M_{w,x}$$

Mengden av vann dannet i fermentor, m_{H_2O} , regnet ut som ett eksempel:

$$m_{H_2O} = 4,99kmol \cdot 8,01 \cdot 18 \frac{kg}{kmol} = 720,7kg \approx 721kg$$

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Oljesyre	705 kg	Reaktant
Nitrogenkilde/gjærekstrakt	52,1 kg	Reaktant
Oksygen	1860 kg	Reaktant
Biomasse	136,3 kg	Produkt
Karbondioksid	1760 kg	Produkt
Vann	721 kg	Produkt

Tabell 5: Reaktanter og produkter fra andre reaksjonsligning

Den andre reaksjonsligningen gir også 136,3 kg biomasse, som i første reaksjonsligning, 1760 kg med karbondioksid, og 721 kg vann, ut fra 705 kg oljesyre, nitrogenkilde på 52 kg og 1860 kg oksygen.

De to første reaksjonsligningene viser først og fremst hvor mye biomasse som kan dannes i fermentor. Tabell 5 viser en oppsummering av resultatene så langt.

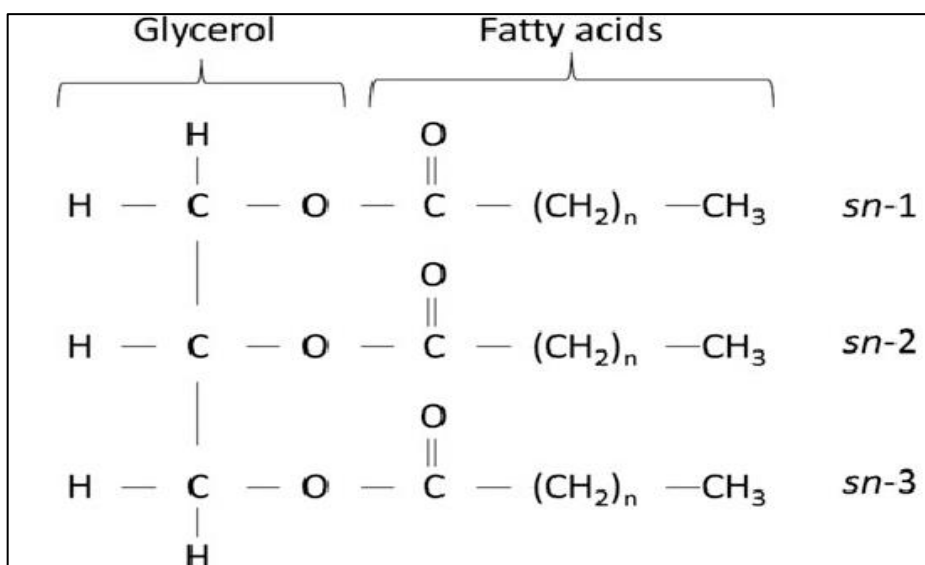
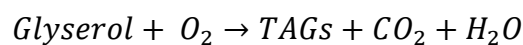
Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Oljesyre	705 kg	Reaktant
Glyserol	460 kg	Reaktant
Nitrogenkilde/gjærekstakt	104,2 kg	Reaktant
Oksygen	2240 kg	Reaktant
Biomasse	272,6 kg	Produkt
Karbondioksid	2200 kg	Produkt
Vann	1037 kg	Produkt

Tabell 6: Oppsummering av fremstilling av biomasse

Det dannes nærmere 273 kg med biomasse, og for å få til det, må det tilsettes litt over 100kg pulver gjærekstrakt. I prosessen utvikles omtrent like mye karbondioksid som det tilføres luft i form av oksygen. Det dannes også betydelige mengder med vann.

Biomasse er en betegnelse på totalvekten av levende organismer i gjeldende område[24], og i dette tilfellet blir dette da, muggsoppen med oljene i seg, og eventuelle gjenværende sporer.

4.2.3 Dannelse av triglyserider fra glyserol

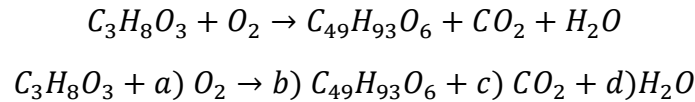


Figuren til venstre viser den generelle oppbygningen av et triglyserid (TAG). Fra figuren kan en se at glyseroldelen av molekylet til venstre, bidrar med 3 karbonatomer og 5 hydrogenatomer, og at molekylet ellers består av tre fettsyrer til høyre. I denne oppgaven

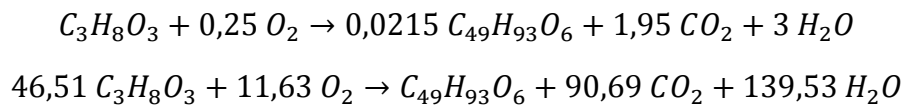
Figur 7: Generell triglyserid. ResearchGate.(2018). Triacylglycerol (TAG) structure showing glycerol with three fatty acids. Tilgjengelig fra: https://www.researchgate.net/figure/Triacylglycerol-TAG-structure-showing-glycerol-with-three-fatty-acids_fig1_3167878 (lest 25.11.2018)

består de 3 fettsyrene av oljesyre, og triglyseridet av 90% fettsyrer og 10% glyseroldel.

Molekylformel for triglyseridet er derfor; $triglyserid = 0,1 \cdot glyseroldel + 0,9 \cdot fettsyredel = 0,1 \cdot [C_3H_5] + 0,9 \cdot 3 \cdot [C_{18}H_{34}O_2] = C_{48,9}H_{92,3}O_{5,4}$ - uttrykket for molekylformelen, blir derfor: $C_{49}H_{93}O_6$.



Balansert reaksjonsligning:



Beregningen av forholdene i reaksjonsligningen er vist tidligere.

Mengden triacylglyserider dannet i fermentor fra glyserol:

Celletørrvekten til TAG, er satt til 30 g/L, slik som i eksperimenter i LipoFungi[2], og det antas at TAGs, innenfor de 20% av massen det gjelder, begge ligningene utgjør 40% av total masse, reagerer fullstendig. Beregning av mengden til biomasse, $m_{biomasse}$:

$$30g/L = m_{TAG} / 21,146m^3$$
$$m_{TAG} = 30g \cdot 21146 \cdot 0,2 = 126877g = 126,87kg \approx 127kg$$

Molekylvekt og stoffmengde av TAG:

Molekylvekt av TAG, $M_{w,TAG}$:

$$M_{w,TAG} = (49 \cdot 12 + 93 + 6 \cdot 16) kg/kmol = 777kg/kmol$$
$$n_{TAG} = \frac{126,78kg}{777 kg/kmol} = 0,163 kmol$$

Mengden av de ulike substansene i reaksjonsligningen:

Mengdene i reaksjonsligningen regnes ut etter den generelle formelen under, hvor x står for en av substansene:

$$m_x = n_{TAG} \cdot \text{tilhørende koeffisient} \cdot M_{w,x}$$

Mengden av oksygen som må tilføres fermentor, m_{O_2} , regnet ut som ett eksempel:

$$m_{O_2} = 0,163 \text{ kmol} \cdot 11,63 \cdot 18 \frac{\text{kg}}{\text{kmol}} = 34,1 \text{ kg} \approx 34 \text{ kg}$$

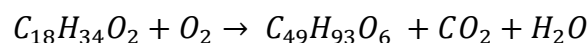
En oppsummering av resultatene fra tredje reaksjonsligning, er gitt i tabellen, under:

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Glyserol	698,2 kg	Reaktant
Oksygen	34 kg	Reaktant
Triglyserid	127 kg	Produkt
Karbondioksid	651,1 kg	Produkt
Vann	410 kg	Produkt

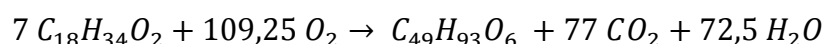
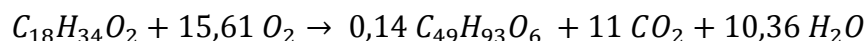
Tabell 7: Reaktanter og produkter i tredje reaksjonsligning

Ut fra tredje reaksjonsligning krever det nesten 700 kg med glyserol og bare 34 kg med oksygen, for å få dannet 127 kg med triacylglyserider, 651 kg med karbondioksid, og 410 kg med vann.

4.2.4 Dannelse av triglyserider fra oljesyre



Under er det vist forholdene i stoffmengde utregnet, som vist før:



Mengden av triacylglyserider dannet fra oljesyre:

Celletørrvekten av TAG, og volumet i fermentoren er lik som i den forrige reaksjonsligningen, det betyr at mengden av biomassen og stoffmengden er den samme, $m_{TAG} = 127 \text{ kg}$ og $n_{TAG} = 0,163 \text{ kmol}$.

Mengden av de ulike substansene i reaksjonsligningen:

Mengdene i reaksjonsligningen regnes ut etter den generelle formelen under, hvor x står for en av substansene:

$$m_x = n_{TAG} \cdot \text{tilhørende koeffisient} \cdot M_{w,x}$$

Ett eksempel- utregning av mengden av oljesyre, $m_{oljesyre}$, i fermentor:

$$m_{oljesyre} = 0,163 \text{ kmol} \cdot 7 \cdot 282 \frac{\text{kg}}{\text{kmol}} = 321,76 \text{ kg} \approx 322 \text{ kg}$$

Tabellen under viser resultatene fra reaksjonsligning 4:

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Oljesyre	322 kg	Reaktant
Oksygen	570 kg	Reaktant
Triglyserid	127 kg	Produkt
Karbondioksid	552,2 kg	Produkt
Vann	213 kg	Produkt

Tabell 8: Reaktanter og produkter fra fjerde reaksjonsligning

Det dannes 127 kg med triacylglyserider her også, 552 kg karbondioksid og 213 kg vann, ut fra 322 kg med oljesyre og 570 kg med oksygen.

Reaksjonsligning 3 og 4 er oppsummert i tabell nedenfor:

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Oljesyre	322 kg	Reaktant
Glyserol	698,2 kg	Reaktant
Oksygen	631 kg	Reaktant
Triglyserid	254 kg	Produkt
Karbondioksid	1203,3 kg	Produkt
Vann	623 kg	Produkt

Tabell 9: Triglyserider produsert

Under reaksjonsligning 3 og 4, ble det dannet 254 kg med avfall, triacylglyserider, 1203 kg karbondioksid, og 623 kg med vann, ut fra 322 kg oljesyre, nesten 700 kg glyserol og 631 kg oksygen.

Resultatene fra massebalansen:

Parameter	Mengde	Reaktant/Produkt
Glyserol	1158 kg	Reaktant
Oljesyre	1027 kg	Reaktant
Nitrogenkilde	104 kg	Reaktant
Oksygen	2871 kg	Reaktant
Biomasse	273 kg	Produkt
Triglyserid	254 kg	Produkt
Karbondioksid	3403 kg	Produkt
Vann	1660 kg	Produkt

Tabell 10: Resultatene av massebalanse i fermentor

Alt i alt kan det utvinnes maksimalt 273 kg biomasse, og 254 kg triglyserider som avfall, ut fra nesten 1158 kg glyserol og 1027 kg glyserol. For å få dannet biomassen er det nødvendig med noe over 100 kg gjærekstrakt i pulverform, og fermentoren må også tilføres noe under omtrent 2,9 m³ med oksygen for at muggsoppen skal ta til seg ernæring.

4.3 Membranfiltrering

Overflødig vann er dannet i fermentor;

$$m_{\text{overflødigvann}} = m_{\text{bio}_1, \text{H}_2\text{O}} + m_{\text{bio}_2, \text{H}_2\text{O}} + m_{\text{tri}_1, \text{H}_2\text{O}} + m_{\text{tri}_2, \text{H}_2\text{O}}$$

$$m_{\text{overflødigvann}} = (316 + 721 + 410 + 213) \text{kg} = 1660 \text{kg}$$

Mengden triglyserider, som ble dannet som resultat av at det ikke reagerte med S, fjernet fra blanding etter fermentor:

$$m_{\text{triglyserid}} = 254 \text{kg}$$

4.4 Tørking

I prosessen med tørking forsvinner mesteparten av vannet inne i muggsoppen. Sopp inneholder 92% vann[25], og resten biomasse, og denne verdien brukes som en tilnærming til muggsoppen. Det forutsettes at det fortsatt er 10% vann igjen i soppen etter tørkingen, slik at tørkeren ikke begynner å brenne[6].

4.4.1 Fast stoff av muggsopp, biomasse, i blanding, $m_{\text{fast_stoff}}$, etter tørking:

$$m_{\text{fast_stoff}} = 272,78 \text{kg} \cdot 0,08 = 21,8 \text{kg}$$

4.4.2 Sammenhengen mellom fast og flytende stoff i blanding, m_B :

$$m_B = m_{fast_stoff} + m_{flytende_stoff}$$

$$m_B = 0,9m_B + 0,1m_B$$

$$m_B = 21,8 + 0,1m_B$$

$$m_B = \frac{21,8}{0,9} = 24,2kg$$

Det flytende stoffet i blandingen fjernes;

$$m_{flytende_stoff} = 0,1m_B = 0,1 \cdot 24,2kg = 2,42kg$$

4.4.3 Sammenhengen til biomassen- hvor mye vann fjernes, m_{H_2O} :

$$m_{biomasse} = m_{H_2O} + m_B$$

$$m_{H_2O} = m_{biomasse} - m_B = (272,8 - 24,2)kg = 248,6kg$$

Den gamle biomassen var på 273 kg, mens den nye, bearbejdede biomassen er på 21,8 kg, vannet er tørket vekk, og det flytende stoffet i blandingen er tørket opp.

Membranfiltreringen fjernet nesten 1,7 tonn med vann, mens tørkingen fjernet 249 kg av vann. Avfallet fra filtreringen var på 254 kg, mens det i tørking var på 2,4 kg.

Prosessenheter	Vann fjernet	Avfall fjernet
Membranfiltrering	1660 kg	254 kg
Tørking	249 kg	2,4 kg

Tabell 11: Massebalanse i membranfiltrering og tørking

4.5 Superkritisk CO₂- ekstraksjon:

For å trekke ut de verdifulle oljene er det nødvendig å benytte seg av superkritisk CO₂- ekstraksjon. Verdier for ekstraksjon fra planter ligger gjerne i intervallet 70-80% utvinning[26], for bakterieceller kan 73% være en virkningsgrad[20]. Det estimeres derfor en verdi på 75% virkningsgrad for muggsoppen.

$$m_{olje} = m_{tørket} \cdot \eta = 21,8kg \cdot 0,75 = 16,35kg$$

$$m_{celler} = m_{tørket} \cdot (1 - \eta) = 21,8kg \cdot 0,25 = 5,45kg,$$

hvor η : virkningsgrad

De verdifulle oljene er på 16,35 kg, mens cellene/cellematerialet som er tømt for oljer, utgjør nesten 5,5 kg.

4.6 Mengden olje i biomassen:

41 % av biomassen består av den totale mengden lipider[6].

$$m_{olje} = 16,35kg$$

Med utgangspunkt i vedlegg B[6], beregnes mengden av de ulike oljene. I vedlegget er summen av oljene, to steder for samme mengde, summert til 92,3%. Det skal derfor gjennomføres en omregning til vanlig prosent for å se hvor stor masse det blir av hver olje.

En generell formel for omregningen;

$$\% = \frac{100 \cdot andel}{total\ andel}$$

. Første omregning er for PUFA, nederst i vedlegg B[6];

$$\frac{28}{92,3} = \frac{\%}{100}$$
$$\% = \frac{100 \cdot 28}{92,3} = 30,3$$

I utregningene er det kun andel som endrer seg, total andel er på 92,3.

En generell formel for utbytte av de essensielle oljer;

$$m_{type_olje} = 16,35kg \cdot \frac{\%}{100}$$

Resultatene fra de to formlene er gitt i tabellen under;

Høyverdig lipid	Prosent i vedlegg	Omregning	Mengde lipid
ARA	11,6	12,6	2,06 kg
LA-metyl-ester	10	10,83	1,77 kg
GLA	5	5,4	883 g
DGLA	1	1,08	177 g
DHA[2]	1		163,5 g
EPA	0,4	0,43	70,3 g
Total andel PUFA	28	30,3	4,95 kg

Tabell 12: Mengden av de verdifulle oljene i biomassen

Den totale andelen mengden PUFA er på nesten 5 kg, eller 28%, mot 6,5% i dyrefettet, og det dannes formodentlig mest ARA av disse på 2,06 kg. LA- metyl-ester er tilstede i 1,77 kg, mens GLA finnes i 883 g, DGLA i 177 g, DHA i 163,5 g og EPA i 70,3 g.

Ellers er dyrefettet fra Hamar omfordelt til 33,5% mettet fett og 30,8% enumettet fett, mot henholdsvis 46,3% og 40,3% i det animalske fettet[6], se tabell 1- en bra omfordeling av ressurser.

4.6.1 Mulig økonomisk utbytte:

Grovt estimert er hver kg verdt 150US \$[2].

$$Innkost = 4,95kg \cdot \frac{150\$}{kg} \cdot \frac{8,15NOK}{\$} \approx 6051 NOK$$

For en prosess kan det estimeres at det blir rundt 6050 norske kroner i utbytte.

5 Energibalanse

5.1 Sterilisering av animalsk fett og andre substratkomponenter

Fremgangsmåten til beregningene er stort sett inspirert av en annen masteroppgave[20].

5.1.1 Energibalanse for sterilisering av animalsk fett:

$$Q = mC_p\Delta T$$

hvor Q : varmeenergi, m : oppvarmet masse, C_p : spesifikk varmekapasitet for massen, og

ΔT : temperaturendring

$$Q = mC_p\Delta T = 1000kg \cdot 2,26 \frac{kJ}{kg^\circ C} \cdot (121 - 60)^\circ C = 137860J \approx 137,9kJ$$

$2,26 \frac{kJ}{kg^\circ C}$ er en verdi for svinefett[6]. Det flytende fett har en temperatur på $60^\circ C$ i tanken[6]. Sterilisering krever at svinefettet oppvarmes til $121^\circ C$.

5.1.2 Energibalanse for sterilisering av andre substratkomponenter:

$$\begin{aligned} Q &= (m_{H_2O})C_{p,H_2O}\Delta T = 20000kg \cdot 4,187 \frac{kJ}{kg^\circ C} \cdot (121 - 25)^\circ C \\ &= 8039040kJ \approx 8,0GJ \end{aligned}$$

Den spesifikke varmekapasiteten for massen, er satt til varmekapasiteten til vann, $4,187 \frac{kJ}{kg^\circ C}$, i og med at vann utgjør mesteparten av substratkomponentene, og gjærekstrakt og mineraler er oppløst i vannet. Det antas at gjærekstrakten holder vanlig romtemperatur på $25^\circ C$, før den steriliseres ved $121^\circ C$.

Sterilisering	Energibalanse
Animalsk fett	138 kJ
Substratkomponenter	8,0 GJ
Substrat	8039,1MJ

Tabell 13: Energibalanse for steriliseringen

Steriliseringen av animalsk fett, krever bare 138 kJ, mens steriliseringen av de andre substratkomponentene bidrar med betydelige 8,0 GJ. Det er veldig kostnadsdyrt med sterilisering av substrat komponentene.

5.2 Energibalanse for varmevekslerne:

5.2.1 Energibalanse for varmeveksler før sonikator:

$$Q = mC_p\Delta T = (m_{AF} \cdot C_{p,AF} + m_{H_2O} C_{p,H_2O})\Delta T =$$

$$\left(1000kg \cdot 2,26 \frac{kJ}{kg^\circ C} + 20000kg \cdot 4,187 \frac{kJ}{kg^\circ C}\right) (25 - 121)^\circ C$$

$$= -8256000kJ \approx -8,25 GJ$$

Temperaturen ut fra varmeveksler er satt til 25°C.

5.2.2 Energibalanse for varmeveksler etter tørking:

Da det er gitt en biomasse på 273 kg, kan tørketrommelen dimensjoneres til 300L, eller 0,3 m³, og det resterende volumet til luft er dermed 27 kg. Den spesifikke varmekapasiteten til luft blir benyttet[6].

$$Q = mC_p\Delta T = 27kg \cdot 1,009 \frac{kJ}{kg^\circ C} \cdot (20 - 150)^\circ C = -3541,6kJ = -3,5MJ$$

Temperaturen etter membranfiltrering ligger på omtrent vanlig romtemperatur, mens den roterende tørketrommelen oppnår en temperatur på 150°C. Resultatene fra varmevekslerne er oppgitt med minustegn, fordi energien tilføres systemet. Tanken er å spare energi på oppvarming av vann.

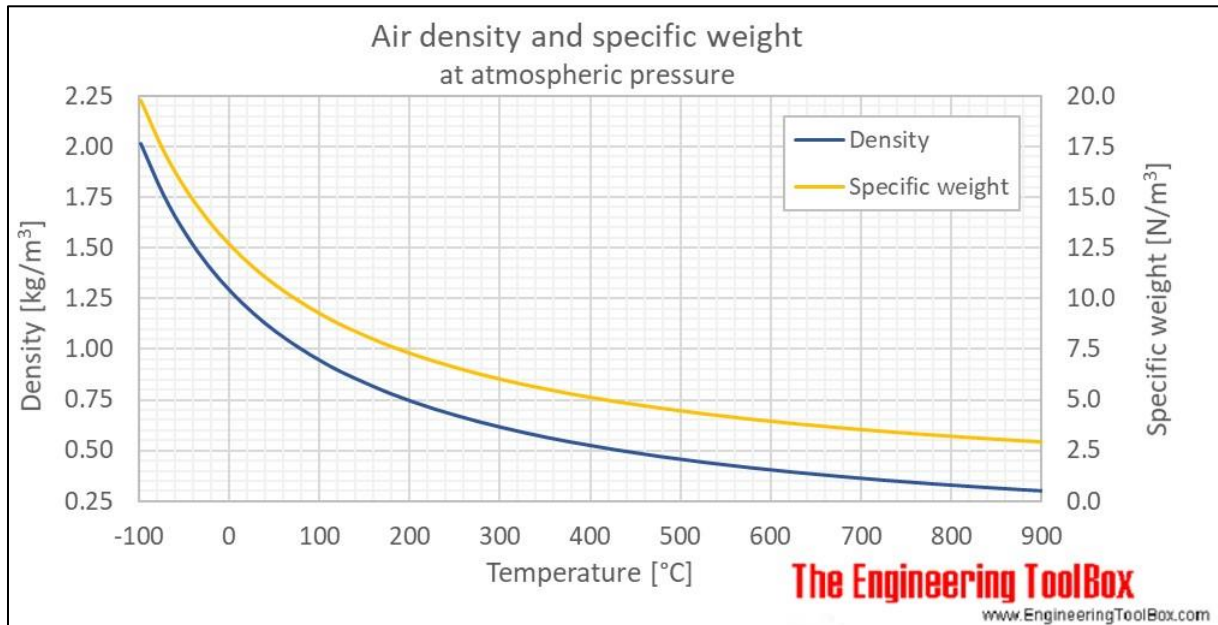
Varmeveksler	Energibalanse
Før sonikering	-8,25 GJ
Etter tørking	-3,5 MJ
Totalt forbruk	-8259,5 MJ

Tabell 14: Energibalanse for varmevekslerne

Varmeveksleren før sonikatoren bidrar med 8,25 GJ, mens varmeveksleren etter tørker bidrar med beskjedne 3,5 MJ.

5.3 Energibalanse i tørker

5.3.1 Luft inne i tørker ved 150°C:



Figur 8: Sammenheng mellom lufttetthet og spesifikk vekt. Engineering Toolbox.(2003). Air- Density, Specific Weight and..Temperature and Constant Pressures. Tilgj.fra:https://www.engineeringtoolbox.com/air-density-specific-weight-d_600.html (lest 26.11.2018)

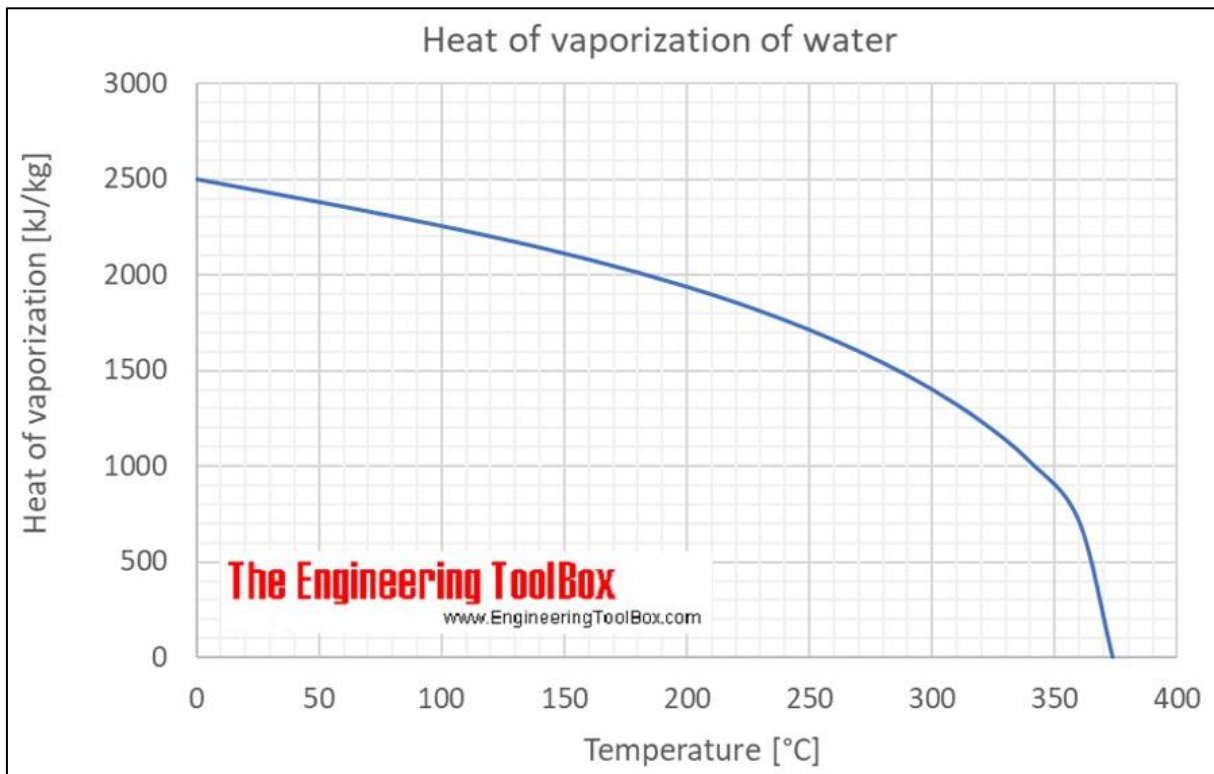
$$H_0 = \frac{M_{w,luft} \cdot \frac{n}{V}}{\rho} = \frac{M_{w,luft} \cdot \frac{P}{RT}}{\rho}$$

hvor H_0 : luftens absolute fuktighet, $M_{w,luft}$: molekylvekt til luft, n : mol, V : volum, ρ : tetthet, P : trykk, R : gasskonstanten og T : temperatur

$$\begin{aligned} \frac{M_{w,luft} \cdot \frac{P_{150}}{RT}}{\rho_{150}} &= \frac{28,96 \frac{g}{mol} \cdot \frac{475,9kPa}{8,314LkPaK^{-1}mol^{-1}(273 + 150)K}}{0,8338 \frac{kg}{m^3}} \\ &= 4,70 \frac{kg H_2O}{kg tørr luft}, \frac{kg}{m^3} = \frac{g}{L} \end{aligned}$$

Molekylvekten til luft er 28,9647 g/mol[27], trykket er funnet i lærebok, i en av tabellene til SI Units: Thermodynamics Tables, i Table B.1.1, på 150°C[28]. Tettheten ble funnet på figur 7.

5.3.2 Entalpi inne i tørker ved 250°C:



Figur 9: Sammenheng mellom fordampingsvarme og temperatur. Engineering Toolbox.(2010). Water- Heat of Vaporization. Tilgjengelig fra: https://www.engineeringtoolbox.com/water-properties-d_1573.html (lest 26.11.2018)

$$h_0 = C_{fuktighet} \cdot T + \Delta H_{VAP} \cdot H_0 = (1 + 1,88H_0) \cdot T + \Delta H_{VAP} \cdot H_0$$

hvor h_0 : luftens entalpi, $C_{fuktighet}$: varmekapasitet for luft og ΔH_{VAP} : fordampingsentalpi til vann

$$\begin{aligned} h_0 &= \left(1 + 1,88 \cdot 4,70 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}}\right) \cdot 150^\circ\text{C} + 2100 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}} \cdot 4,70 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}} \\ &= 11347,3 \frac{\text{kJ}}{\text{kg tørr luft}} \end{aligned}$$

Fordampingsentalpien er 2100 kJ/kg, og dette er lest av figur 8.

5.3.3 Luft ut av tørker:

$$\begin{aligned} H &= \frac{M_{w,luft} \cdot \frac{n}{V}}{\rho} = \frac{M_{w,luft} \cdot \frac{P_{20}}{RT}}{\rho_{20}} = \\ &= \frac{28,96 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \cdot \frac{2,3\text{kPa}}{8,314\text{LkPaK}^{-1}\text{mol}^{-1}(273 + 20)\text{K}}}{1,2 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}} = 0,023 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}} \end{aligned}$$

Trykket er funnet i lærebok, i en av tabellene til SI Units: Thermodynamics Tables, i Table B.1.1, på 20°C[28]. Tettheten ble funnet på figur 7.

5.3.4 Entalpi ut av tørker:

$$\begin{aligned}
 h &= C_{fuktighet} \cdot T + \Delta H_{VAP} \cdot H = (1 + 1,88H) \cdot T + \Delta H_{VAP} \cdot H \\
 &= \left(1 + 1,88 \cdot 0,023 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}}\right) \cdot 20^\circ\text{C} + 2450 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}} \cdot 0,023 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}} \\
 &= 213,32 \frac{\text{kJ}}{\text{kg tørr luft}}
 \end{aligned}$$

Fordampingsentalpien er 2450 kJ/kg, og dette er lest av figur 8.

Tilstand i forhold til tørker	Luft	Biomassens entalpi
Inne i	$4,70 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}}$	$11347,3 \frac{\text{kJ}}{\text{kg tørr luft}}$
Ute av	$0,023 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}}$	$213,32 \frac{\text{kJ}}{\text{kg tørr luft}}$

Tabell 15: Luft og entalpi i tørker

Luften inne i tørkeren er på 4,70 kg H₂O/kg tørr luft, mens luften på vei ut er 0,023 kg H₂O/kg tørr luft, mens biomassens entalpi er på 11 347,3 kJ/kg tørr luft inne i tørkeren, og på 213,32 kJ/kg tørr luft, på vei ut av tørkeren.

5.4 Entalpi på biomasse

Beregningen under bygger på gitte opplysninger[6]:

$$\begin{aligned}
 C_{p,biomasse_inn} &= 0,32 C_{p,sopp} + 0,68 C_{p,vann} = (3,935 \cdot 0,32 + 4,186 \cdot 0,68) \frac{\text{kJ}}{\text{kg}^\circ\text{C}} \\
 &= 4,106 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}^\circ\text{C}}
 \end{aligned}$$

$$C_{p,biomasse_ut} = 0,9 C_{p,sopp} + 0,1 C_{p,vann} = (3,935 \cdot 0,9 + 4,186 \cdot 0,1) \frac{\text{kJ}}{\text{kg}^\circ\text{C}} = 3,96 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}^\circ\text{C}}$$

$$h_{bio} = (C_{p,biomasse} + C_{p,vann} \cdot X)(T_{biomasse} - T_0)$$

$$T_0 = 20^\circ\text{C}$$

$$T_{bio,inn} = 37^\circ\text{C} \text{ og } T_{bio,ut} = 100^\circ\text{C}$$

Den spesifikke varmekapasiteten, for sopp, er $C_{p,sopp} = 3,935 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C}$, med 90% vanninnhold[29], og dette burde passe til verdien på 92% fra før, under massebalansen til tørking. Den spesifikke varmekapasiteten, for vann[30], er $C_{p,vann} = 4,186 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C}$.

Før tørking inneholder biomassen 92% vann, og X i ligningen over, angir at mengden vann i biomassen varierer, i dette tilfellet, alt ettersom før eller etter tørking;

$$X_0 = \frac{272,6 - 27,26}{27,26} = 11,51 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg TS}}$$

Det er 10% vann igjen etter tørking;

$$X = \frac{30,29}{27,26} = 1,11 \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg TS}}$$

5.4.1 Entalpi på biomasse inn i tørker;

$$h_{bio} = (C_{p,bio} + C_{vann} \cdot X) \cdot (T_{bio} - T_0)$$

$$h_{bio,0} = (4,1056 + 4,157 \cdot 11,51) \frac{\text{kJ}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} (37 - 20)^\circ\text{C} = 883,2 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}}$$

5.4.2 Entalpi på biomasse ut av tørker;

$$h_{bio} = (3,96 + 3,524 \cdot 1,11) \frac{\text{kJ}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} (100 - 20)^\circ\text{C} = 629,75 \frac{\text{kJ}}{\text{kg}}$$

Verdiene for spesifikk varmekapasitet, ved 20°C, er 4,157 kJ/kgK[31], og 3,524 kJ/kgK, er snittet av verdiene fra 140 og 160 grader celsius[31].

5.5 Luftbehov;

For å finne luftbehovet, må det settes opp en fuktighetsbalanse:

$$G \cdot H_{start} + L_{bio} \cdot X_{bio} = G \cdot H_{slutt} + L_{bio} \cdot X$$

hvor L: massestrøm for tørr luft per time, og G: massestrøm for fast stoff per time

$$G = \frac{L_{bio}(X - X_0)}{H_{start} - H_{slutt}} = \frac{21,8 \frac{\text{kg TS}}{\text{prosess}} \cdot (11,51 - 1,11) \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørrstoff}}}{(4,70 - 0,023) \frac{\text{kg H}_2\text{O}}{\text{kg tørr luft}}}$$

$$G = 48,5 \text{ kg tørr luft per prosess} \approx 48,5 \text{ kg tørr luft per prosess}$$

5.6 Energiforbruk;

$$G \cdot h_0 + L_{bio} \cdot h_{bio,0} = G \cdot h + L_{bio} \cdot h_{bio} + Q_{tørker}$$

$$Q_{tørker} = G \cdot (h_0 - h) + L_{bio} \cdot (h_{bio,0} - h_{bio})$$

hvor $Q_{tørker}$: tørkerens forbruk av energi

$$Q_{tørker} = 48,5 \text{ kg tørr luft} \cdot (11347,3 - 213,3) \frac{\text{kJ}}{\text{kg tørr luft}} + 21,808 \frac{\text{kg TS}}{\text{prosess}} \cdot (883,2 - 629,75) \frac{\text{kJ}}{\text{kg}} = 545526,2 \text{ kJ} = 545 \text{ MJ} = 0,545 \text{ GJ}$$

Luftbehov	Energiforbruk
48,5 kg tørr luft per prosess	0,545 GJ

Tabell 16: Luftbehov og energibehov for tørker

Luftbehovet er på 58,4 kg tørr luft per prosess, og energiforbruket er på 0,55 GJ.

Oppsummering av de viktigste resultatene i energibalansen;

Prosess/prosessenhet	Energiforbruk	Masse
Sterilisering	8039,1 MJ eller 8,0 GJ	
Varmeveksling	-8259,5 MJ eller -8,2 GJ	
Tørker	0,54 GJ eller 540 MJ	
Totalt energibehov	325,2 MJ	
Lufttilførsel		48,5 kg

Tabell 17: De viktigste resultatene i energibalansen

Steriliseringen koster 8 GJ, tørkeren forbruker 540 MJ, og varmevekslerne bidrar med 8,25 GJ.

Det negative fortegnet betyr at energien kan utnyttes internt i systemet, mens positiv energi betyr at energien må tilføres systemet. Varmevekslerne produserer et overskudd på 0,22 GJ varme i forhold til steriliseringsprosessen og dekker hele behovet for energi til sterilisering, og dessuten 40% av energibehovet til tørkeren på 540 MJ.

6 Oversikt over masse- og energibalanse

Substrat

Total masse: 21 412,25 kg

Totalt volum: 21,15 m³

Sterilisering

Vannblanding: 20 000 kg

Animalsk fett: 1 000 kg

Energioverslag: 8,0 GJ

Varmeveksler før sonikator

Volum/ masse: Som over i kg eller liter

Energioverslag: 8,25 GJ

I sonikator

Totalt volum: 21,15 m³

I fermentor

Vekt av biomasse: 273 kg

Totalt volum: 21,15 m³

Membranfiltrering

Mengde væske: 1660 kg vann filtrert vekk

Mengde triasylglyserider: 254 kg TAGs filtrert vekk

Tørking

Mengde væske: 249 kg vann tørket bort

Gjenværende biomasse: 21,8 kg

Energioverslag: 0,545 GJ

Varmeveksler etter tørker

Energioverslag: 3,5 MJ

Superkritisk CO₂- ekstraksjon

Olje fra biomasse: 16,35 kg

Mengde celler: 5,45 kg celler

Resultat

Mengde av PUFA: 5 kg

Mengde ARA, GLA og DGLA: 2,06 kg, 883 g og 177 g

7 Prosessenheter

I dette kapitlet sees det nærmere på hva slags type prosessenheter som inngår i bioraffineriet for fremstilling av de dyrebare PUFAer, og hvordan maskinene bør dimensjoneres. I og med at utbyttet av PUFA fra massebalansen ble sparsomt, tas det her høyde for 1000 kg animalsk fett, men også maksimalt å fordoble mengden med animalsk fett om nødvendig.

7.1 Tank til sterilisering og oppbevaring av animalsk fett og gjærekstraktblanding

Animalsk fett og gjærekstraktblandingen holdes i hver sin tank, og begge kan bli levert fra leverandøren Paul Mueller. Er det ønskelig med en større varmeoverføring til sterilisering, kan dette spesialbestilles. Leverandøren tilbyr tanker beregnet på å lagre fett og oljer i matindustrien[32].



Figur 10: Tilpasset dyp-kjegle prosessenhet. Paul Mueller Company. (u.d). Processors. Tilgjengelig fra: <https://www.paulmueller.com/food-processing-equipment/processors> (lest 20.11.2018)

Siden animalsk fett kategori 3 nettopp er animalsk fett som er spiselig for mennesker, er denne typen tanker egnet for å lagre animalsk fett fra Norsk Protein. Den valgte tanken til animalsk fett er en tilpasset dyp-kjegle prosessenhet (Cone-Bottom Processor), som tar 500 gallons, eller 1893L. I oppgaven innføres det 1000 kg med animalsk fett. Den valgte propellen er sidebunn-skrapeagitator, som går lavt ned i kjeglen med en styrke på 75 hestekrefter og en hastighet på 11 RPM. Agitatoren, propellen i tanken, tåler opptil 1500 centipoise[33, 34], mens svinefett ved omtrent 4°C, har en viskositet på 650 centipoise, og en oppslemming fra gjær holder en viskositet på 20 centipoise ved 18°C[35]. Sistnevnte betyr at gjæren helt sikkert ikke byr på noen problemer for en propell i en større sammenheng. Viskositeten synker ved temperaturøkning, så verdiene ligger trygt innenfor grensen[36].

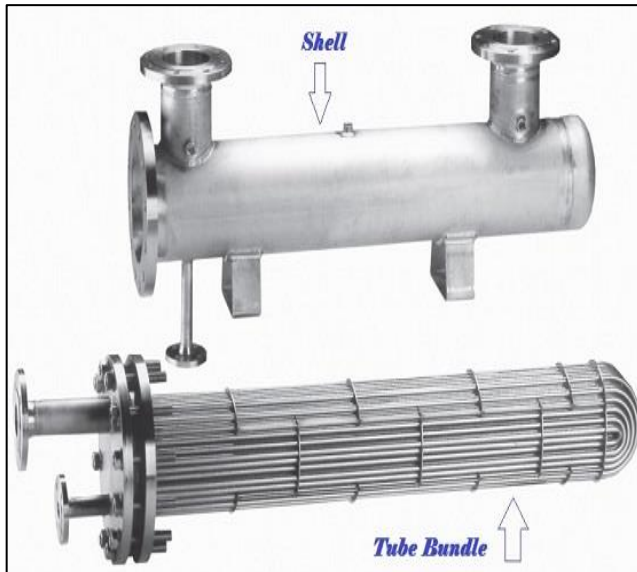


Figur 11: Bilde av silo fra Paul Mueller. Paul Mueller Company.(u.d). Silo tank. Tilgjengelig fra:<https://uk.paulmueller.com/products/milk-cooling-tanks/new-mueller-milk-cooling-tanks/silo-tank> (lest 20.11.2018)

Den valgte tanken, eller siloen til gjærekstrakten, er en Paul Mueller-silo på 6 000 gallons, eller 22 710 L. Dette er en silo med horisontal agitasjon, den også, opprinnelig beregnet til matindustri. Vekten veier 13 300 lbs, eller 6033 kg, og propellen har 2 hestekrefter og 108 omdreininger i minuttet. Den er enkel å rengjøre, ved hjelp av et sirkulasjonssystem hvor propellen er sentral[34].

7.2 Valg av varmeveksler

7.2.1 Generelt om varmevekslere



Figur 12: Bilde av rør-i-skall-varmeveksler. General Cargo Ship.(u.d.). Shell and tube heat exchangers for engine cooling. Tilgjengelig fra: <http://generalcargoship.com/shell-and-tube-heat-exchangers.html> (lest 21.11.2018)

Varmevekslerne benytter seg av varmeoverføring. Dette skjer enten via konveksjon, som er varmeoverføring fra en fast gjenstand til væske eller gass, i endene av varmeveksleren, men først og fremst via konduksjon, eller varmeledning, som er overføring av varme gjennom et materiale[37]. Meningen er å benytte seg av overskuddet med varme og energi, slik at en sparer energi til oppvarming av vann, for eksempel. En måte å inndele en varmeveksler på, er i tre kategorier; rekuperator, direkte- kontakt- og regenererator- varmeveksler[20].

I en rekuperator flyter fluidene hver for seg adskilte veier, hvor varmen overføres mellom disse gjennom en vegg som skiller fluidene[38], mens direkte-kontakt baserer seg på at mediene er i direkte kontakt med hverandre, da gjerne mellom væske og gass[20]. En regenererator overfører varme fra en lagringsplass til det kalde fluidet. Strømmen går i én retning, og her kommer varm og kald fluid annenhver gang separat igjennom varmeveksleren[38].

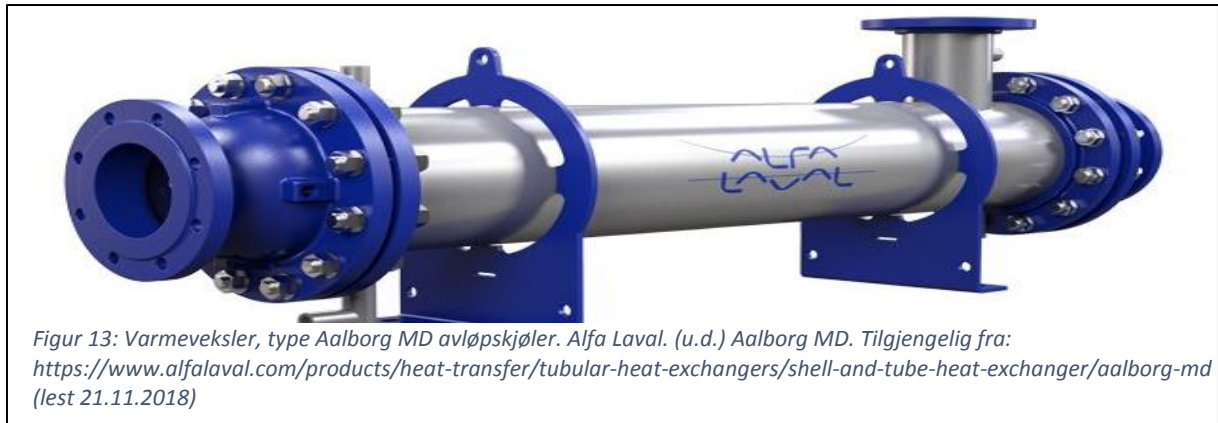
7.2.2 Rør-i-skall-varmeveksler

Den mest brukte typen er rør-i-skall-varmeveksler i industrien, og denne blir valgt til denne oppgaven. Siden dette er den vanligste typen, så er det lett å få service til den, men det er også lett å forstå hvordan den fungerer. Rør-i-skall-varmeveksleren er også den varmeveksleren som har størst virkeområde når det gjelder parametre som trykk og temperatur, dessuten har den en robust, sterk oppbygning, som tåler mer belastning enn de andre typene[39].

Denne typen varmeveksler kan ha en termisk virkningsgrad på opptil 0,9, og kan kombinere kryss-, mot- og medstrømninger. En liten diameter på rørene gir større mulighet for begroing, og gjentetting, men øker varmeoverføringskapasiteten. For å unngå begroing kan en ha væske i rørene[20].

7.2.3 Valg av varmeveksler fra leverandør

I dette tilfellet benyttes en Aalborg MD avløpskjøler, fra Alfa Laval, se figur 8. Den er designet for avløp[40], og kan derfor passe til animalsk fett, og egentlig beregnet på sjøvann, mens vannet i fabrikken muligens er renere, og gjør at varmeveksleren forhåpentligvis holder lengre.



Varmeveksleren tåler 157°C og 3 bar[41], og under sterilisering oppnås en temperatur på 115°C og 1 bar.

Videre er det utført beregninger på varmeveksler[42], og det er hentet informasjon om dette på internett.

7.2.4 Beregning av overordnet varmeovergangstall, U:

Først beregnes overordnet varmeovergangstall, U[43];

$$U = \frac{1}{\frac{1}{h_1} + \frac{1}{h_2}}$$

hvor U: overordnet varmeovergangstall og h: normalt konveksjonstall

Da må en ha de normale konveksjonstall for væskene det gjelder, og disse er tilgjengelige på Engineering Toolbox på nett, angitt som et intervall, vist i tabell 19.

Substans	Intervall-konveksjonsvarmeoverføringskoeffisient	Valgt h-verdi
Vann[44]	50-3000 $\frac{W}{m^2 \cdot C}$	2250 $\frac{W}{m^2 \cdot C}$
Svinefett[45]	30-60 $\frac{W}{m^2 \cdot C}$	50 $\frac{W}{m^2 \cdot C}$

Tabell 18: Varmeoverføringskonstanter for vann og svinefett

Det foretrekkes å bruke en mer eksakt verdi for substratet, og da må det tas hensyn til mengdene av svinefett –og gjærekstrakt/vann/mineraler. Fra før er det kjent at det er 1000 kg animalsk fett i blandingen, og 20 000L med vann i blandingen. En mer nøyaktig metode for å finne en verdi er utregnet nedenfor;

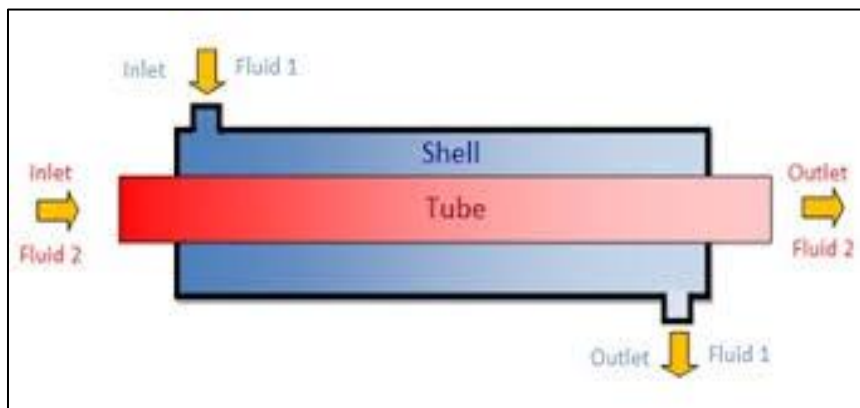
$$h_{substrat} = andel \cdot h_{fett} + (1 - andel)h_{vann}$$

$$h_{substrat} = \left(\frac{1000}{21000} \cdot 50 + \left(1 - \frac{1000}{21000} \right) \cdot 2250 \right) \frac{W}{m^2 \cdot ^\circ C} = 2145,2 \frac{W}{m^2 \cdot ^\circ C}$$

Beregning av varmeovergangstallet, U :

$$U = \left(\frac{1}{\frac{1}{2145,2} + \frac{1}{2250}} \right) \frac{W}{m^2 \cdot ^\circ C} = 1098,2 \frac{W}{m^2 \cdot ^\circ C}$$

7.2.5 Beregning av LMTD eller ΔT_{lm} :



Den røde væsken på figuren under representerer substratet, det animalske fett og gjærekstraktblanding, mens det blå feltet symboliserer vannet i varmeveksleren. Det vanlige er at den røde strømmen enten er olje eller vann. Dette er en sterkt forenklet skisse,

Figur 14: Skjematisk skisse over rør-i-skall- varmeveksler. WATTCO. (u.d.). HEAT EXCHANGERS. Tilgjengelig fra: <https://www.wattco.com/casestudy/heat-exchangers> (lest 21.11.2018)

med hensikten at en kan regne på det. Vanligvis er det flere rør i skallet, med utstående vegger, som regulerer strømmen, og designet av varmeveksleren kan godt være helt annerledes. Beregningene her tar utgangspunkt i at det bare er ett rør.

Som vist på figur 9, har Aalborg MD avløpskjøler et rør som går tvers gjennom varmeveksleren. Beregningsmetoden. Videre beregnes LMTD for varmeveksleren ut. LMTD står for den logaritmisk midlere temperaturdifferanse- i beregninger foretrekkes LMTD fremfor gjennomsnittet av den temperaturdifferansen. Det rene gjennomsnittet, eller aritmetisk middel, gjennomsnittlig temperaturforskjell på mediene inn og ut av veksler, fører til høyere

verdi, noe som medfører at det rene gjennomsnittet gir en underdimensjonering av varmeveksleren[43].

Substans	Inngangstemperatur- T_1	Utgangstemperatur- T_2
Substrat	121	25
Vann	25	20

Tabell 19: Inn- og utgangstemperaturer på varmeveksleren

I tabellen er det oppgitt inn- og utgangstemperaturer på substratet, mens vannet er temperert til andre temperaturer. Den generelle formelen for LMTD, er gitt under;

$$\Delta T_{lm} = \frac{\Delta T_1 - \Delta T_2}{\ln \frac{\Delta T_1}{\Delta T_2}} \text{ og } \Delta T = T_h - T_c$$

hvor T_h : temperatur på varm side, T_c : temperatur på kald side og LMTD = ΔT_{lm} : logaritmisk midlere temperaturdifferanse

Temperaturdifferanse på inngangsside, markert som 1:

$$\Delta T_1 = (121 - 25)^\circ\text{C} = 96^\circ\text{C}$$

Temperaturdifferanse på utgangsside, markert som 2:

$$\Delta T_2 = (25 - 20)^\circ\text{C} = 5^\circ\text{C}$$

$$\Delta T_{lm} = \left(\frac{96 - 5}{\ln \left(\frac{96}{5} \right)} \right)^\circ\text{C} = 30,8^\circ\text{C}$$

7.2.6 Beregning av kapasitet og lengde

Kalkulering av kapasitet

I følge spesifikasjonene i databladet, har Aalborg MD, en maksimal massestrøm, \dot{m} , på 6000kg/h[40]. Det velges en massestrøm på 2030 kg/h:

$$\dot{m} = 2030 \text{ kg/h} = 0,56 \text{ kg/s}$$

Med denne massestrømmen, bruker varmeveksleren en viss tid på å prosessere hele massen:

$$t = \frac{21000 \text{ kg}}{0,56 \text{ kg/s}} = 37241 \text{ s} = 10,3 \text{ h}$$

Dette er en optimal tid, men gir en viss pekepinn på hvor lang tid det tar å kjøre hele massen gjennom.

$$\dot{q} = \dot{m} (C_{p,vann} + C_{p,fett}) \cdot \Delta T$$
$$\dot{q} = 0,56 \text{ kg/s} \cdot (4,187 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C} + 2,26 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C}) \cdot (121 - 25)^\circ\text{C} \approx 349 \text{ kW}$$

Varmeveksleren har en kapasitet på 349 kW.

Kalkulering av lengden på varmeveksleren;

$$L = \frac{\dot{q}}{U \cdot \pi \cdot D_i \cdot \Delta T_{lm}}$$

hvor L : lengde, \dot{q} : effekten i kW, U : overordnet varmeovergangstall og D_i : indre diameter

$$L = \left(\frac{349 \text{ kW}}{1098,2 \cdot \pi \cdot 0,2 \cdot 30,8} \right) \text{ m} = 16,4 \text{ m}$$

Ytre diameter, diameteren på skallet, se figur 9, er på maksimalt 3 meter i spesifikasjonene[41]. Det er ikke nødvendig med så stor indre diameter, i beregningen settes indre diameter til 20 cm. Indre diameter er det samme som lumen, det innvendige hulrommet i veksleren[46], og hvis vi antar at skallet er dobbelt så stort som dette, har vi en ytre, skjelldiameter på 60 cm.

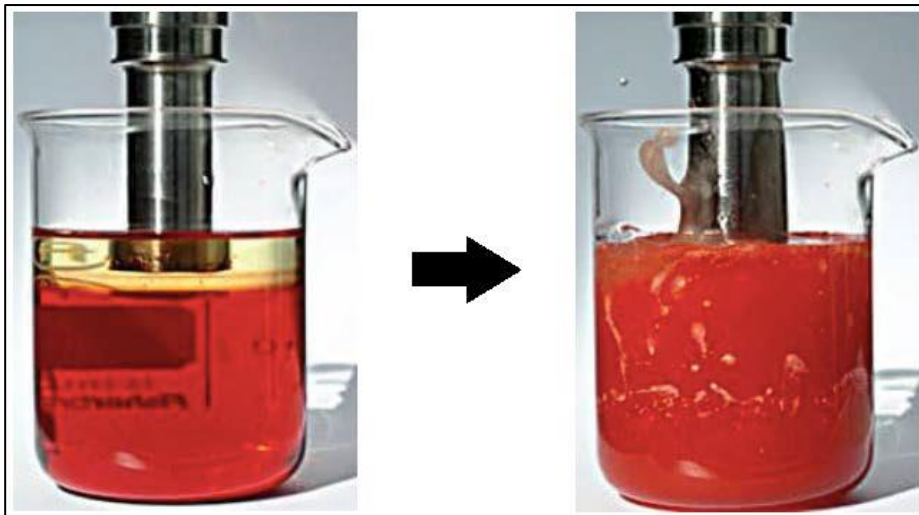
Lengden på varmeveksleren er da litt over 16 meter, og det burde det være mulig å få plass til.

7.3 Sonikator



Figur 15: Sonikatorsystem. WENSAR. (2016). Probe Sonicator with Sound Proof Enclosure. Tilgjengelig fra: https://www.wensar.com/product_detail.php?id=25 (lest 21.11.2018)

Sonikatorene baserer seg på ultralyd, lyd med høyere frekvens enn mennesket kan oppfatte[47], og denne lydenergien kan brukes til mange ulike formål, og i dette tilfelle emulsjoner, å koble hydrofobe og hydrofile væsker sammen. Ellers benyttes sonikatorene til prosessering av mat og kosmetikk, eller for eksempel, til ekstrahering av materiale på lik måte som superkritisk CO₂-ekstrahering, stoppe og starte enzymatisk aktivitet, mikroopmåling mm[6].



Figur 16: Dannelse av en emulsjon med sonikator Hauge, E.T.G.(2018). Figur 5.3. Tilgjengelig fra: <https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2572336/Hauge.pdf?sequence=4&isAllowed=y> (lest 21.11.2018)

Sonikatorsystemet er hovedsakelig konstruert i tre deler; generatoren, konvertereren og hornet, eller proben. På figur 11, er generatoren boksen til venstre, proben er den tynneste delen som stikker ned i væsken, mens konvertereren er den komponenten over proben, men under den sorte

sylindren[6].

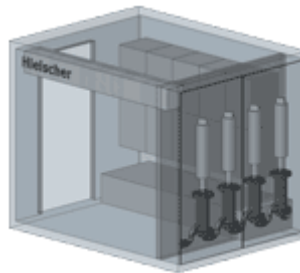
Generatoren omformer vekselstrøm til elektrisk energi inn i konvertereren, som har indre krystaller hvor energien blir omgjort til mekanisk vibrasjon i proben. Denne vibrasjonen medfører at proben trekker seg sammen og utvider seg, og det medfører kavitasjon.

Kavitasjonen forårsaker at væsken begynner å koke rundt proben fordi det er et lavt trykk rundt denne. Kokingen generer mikrobobler med damp ved overflaten rundt proben, disse bryter sammen og skaper energi som kan brukes til å lage en emusjon[6].

Til sonikering benyttes UIP 10 000 fra Hielscher Ultrasonics. Den har en kapasitet på 10 kW, en frekvens på 18 kHz og en volumstrøm på 1-10 m³/h[48].

$$\frac{21,15m^3}{6m^3/h} = 3,5h$$

Med en volumstrøm på 6m³/h, sonikeres hele massen på 3,5 timer. Den er opprinnelig tenkt for å bestå av fire eller flere enheter, og konstruert til å passe inn i en typisk frakt-container, om det er ønskelig[49].



Figur 17: Fire enheter UIP satt sammen i fraktcontainer. Hielscher.(u.d). UIP 10 000- High Power Ultrasonic Clusters. Tilgjengelig fra: https://www.hielscher.com/i10000_p.htm (lest 21.11.2018)

7.4 Fermentor- bioreaktor for utvikling av MA

Når det gjelder fermentor, skal denne ha en omrøringsfunksjon for god blanding av innholdet i fermentoren. Prinsipielt er det forskjell på en fermentor og en bioreaktor, selv om ordene brukes om hverandre- en fermentor dreier seg om behandling av mikrobielle prosesser og prokaryote celler, altså mikroorganismer, mens en bioreaktor omhandler behandling av eukaryote celler og større enheter[50].

Bioreaktorene kan inndeles i 6 ulike typer; kontinuerlig omrøringstank, lufthevings-, svevesjikts-, pakket-rør-bioreaktor, fotobioreaktor og membranbioreaktor. Lufthevings-, svevesjikts- og pakket-tube-bioreaktor har ingen omrører, og fotobioreaktor brukes til behandling av alger. Dermed står valget mellom membranbioreaktor, som kan få innsatt omrører[50], og kontinuerlig omrøringstank. Membranbioreaktor passer godt til prosessering av avløpsvann[51]. Avløpsvannet er karakterisert av suspenderte stoffer, altså oppslemming av faste partikler i væske, imidlertid er disse så små at de ikke kan sees med det blotte øyet[52]. Siden mengden fett er så liten, holder det antagelig med en kontinuerlig omrøringstank til dette formålet, selv om membranbioreaktor også er et alternativ. Substratet består av 95,2 % vann, og resten av det animalske fett, og dette samsvarer med at primærslam består av 93-97% vann[53]. En membranbioreaktor er imidlertid veldig



Figur 18: Fermentorsystem. BIOENGINEERING. (u.d.). Fermentors. Tilgjengelig fra: <http://bioengineering.ch/plants/fermentor> (lest 22.11.2018)

tettsittende, krever store investerings- og driftskostnader, og den må tilbakespyles ofte. Det kunne vært aktuelt med en biofilmreaktorbasert bevegelig bærermateriale-type(MBBR), disse benyttes til fjerning av organisk stoff, men som aerob reaktor dimensjoneres denne som regel uten omrører, mens den anoksiske reaktoren av denne typen, som regel har propell[54].

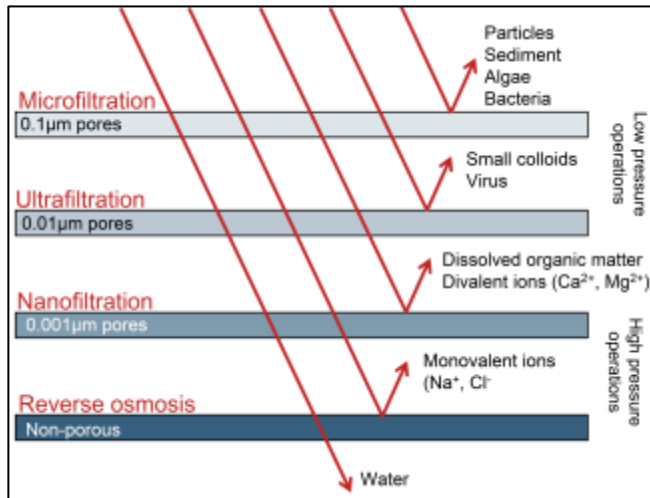
Hos Bioengineering AG er det utviklet fermentorer spesielt for mikrobielle forhold av typen CSTR. Disse er bestående av rustfritt stål, og kan variere i størrelse fra 30L til 50 000 L. Fermentoren har oksygentilgang, mikser/propell, mulighet for pH-justering og temperaturregulering. Det er mulig å tilpasse fermentoren fra leverandør. I dette tilfellet er det ønskelig å bruke en fermentor fra muligens omtrent 21 000 L og oppover[55].

I spesifikasjonene er det oppgitt;

$$h:d = 3:1$$

Hvis høyden på fermentoren er 3 meter, er da diameteren 1 meter. Hvis veggykkelsen er 10 cm, er den indre diameteren mindre enn 0,8 m. Propellen kan da dimensjoneres til for eksempel 30 cm i radius.

7.5 Membranfiltrering



Figur 19: Ulike typer membranfiltrering. Aquarden Technologies. (u.d.). Membrane types. Tilgjengelig fra: <http://aquarden.com/technology/membrane-filtration> (lest 23.11.2018)

Figur 15 viser at det finnes fire ulike typer membranfiltreringer basert på porestørrelse ved hjelp av høyt trykk[20]. Mikrofiltrering er den groveste, som kan fjerne partikler, sedimenter, alger og bakterier, som er en mikroorganisme med linje på sopp. Ultrafiltrering separerer ut små kolloider og virus, nanofiltrering kan fjerne små, divalente ioner og oppløst organisk materie. Revers osmose er den fineste membrantypen, den skiller ut monovalente ioner og slipper kun gjennom vann, akkurat som en semipermeabel cellevegg (osmose er omtalt tidligere).

Det er også hovedsakelig fire ulike typer membrantyper innen de ulike kategoriene; hulfiber-, tubulær-, spiraltvinnede- og flatarkmembraner[20]. Til mikrofiltrering er det mest normale å benytte seg av enten hulfiber- eller spiraltvinnede membraner. Hulfiberen har høyest kapasitet, med størst pakningstetthet, det vil si, at den fanger opp mest materie. Den er også billig, men blir fort slitt, på grunn av begroing, og kan derfor være krevende å rengjøre. Spiraltvinnede membraner har bedre rengjøringsmuligheter, men er dyrere, og har lavere kapasitet, derfor velges hulfibermembran fremfor den spiraltvinnede membranen [17].



Figur 20: Hulfibermembran i keramikk. i2M.(2018). Cera-Dur 6 Series. Tilgjengelig fra: <https://www.i-2-m.com/ceradur-6-series> (lest 24.11.2018)

Til membranfiltreringen ble det valgt en hulfibermembran fra i2m-LLC, med en porestørrelse på 0,13 µm, fra Cera-Dur 6 Series. Muggsoppen har 1-5µm i diameter. Her er filtreringsarealet 4 m², rørene består av keramikk som ikke ruster, noe som gjør de enklere å rengjøre. Membranen bruker krysstrøm, og filtratet går innenfra og ut. Den er valgt fordi den er testet på avløp, og produktene herfra er siktet inn på industri, og da tåler den også stoffene fra fermentoren vår[56].

En av måtene å beregne kapasitet på, er å se på LMH[57];

$$LMH = \frac{L/m^2}{h}$$

hvor L : liter gjennom membranen, m^2 : filtreringsareal, og h : tid

$$h = \frac{L/m^2}{LMH} = \left(\frac{2000/4}{200} \right) \text{ timer} = 2,5 \text{ timer}$$

Volumet som skal prosesseres er på 1660 kg vann, og med triasyglyserolene, er det 1914 kg. Denne settes derfor til 2000 L. Filtreringsarealet var på $4m^2$, og LMH bestemmes egentlig av porestrørelsen, men den er satt til 200 i dette tilfellet, uten for sikkert å si om dette er for høyt, eller ikke.

7.6 Tørking

Selv om brettørker og trommeltørker behandler deigete, biomasselignende substanser, velges roterende tørketrommel fordi den har bedre kapasitet enn de andre tørkerne, og fordi alle typene benyttes i industrien allerede[6].

Mengden til tørking er på 273 kg, da kan det tas høyde for at den roterende tørketrommelen bør romme minst 300kg, noe som tilsvarer $0,3m^3$. Tørketrommelen i leiligheten min, en



Figur 21: Bildet viser størrelsen på en industriell tørker. Earth Care Products, Inc. (u.d.). Rotary Dryers. Tilgjengelig fra: <http://ecpisystems.com/dehydration> (lest 24.11.2018)

Gorenje, Use Logic, kan tørke omtrent 120L maksimalt, er 60 cm bred totalt og har en åpning på omtrent 46 cm i diameter. I forhold til en industriell tørker, antas det derfor at radius er like

stor som diameter på en tørketrommel i husholdningen. Lengden, eller høyden, kan beregnes ved hjelp av volumet til en sylinder, og da må høyden/lengden på det minste være;

$$V = \pi r^2 h \Rightarrow h = \frac{V}{\pi r^2} = \frac{0,3m^3}{\pi \cdot 0,5^2m^2} = 0,38m$$

hvor V : volum til eventuell tørker og r : radius til eventuell tørker

Høyden, eller mer korrekt, lengden til sylindren må være mer enn nesten 40 cm. Dette er en veldig kort lengde- se figur 20.

Dette er en liten radius til en stor industriell tørker. Både lengde og diameter, i forhold til et volum på 300kg gir at de fleste tørkerne på markedet, er beregnet for større volum. En vanlig, industriell tørker på nettet tilfredsstillter derfor kravene til tørker i dette tilfellet.

Earth Care Products Inc. produserer Enveis- roterende tørketrommel, Single Pass Rotary Dryer. Det ser ut til at dette er den minst avanserte typen, og at den derfor er rimeligst[58]. Den kan håndtere mange typer substanser til tørking- deriblant også avfall fra dyr[59].

7.7 Varmevexsler etter tørking

Beregningsmetoden er vist tidligere. Først beregnes varmeovergangstallet U , ut fra koeffisientene til vann og sopp. For sopp er det angitt et intervall fra 28-132 W/m^2K [60], og gjennomsnittet av disse, 80 W/m^2K , benyttes til utregningen. U blir da kalkulert til 77,3 W/m^2K .

Substans	Inngangstemperatur- T_1	Utgangstemperatur- T_2
Biomasse	20	150
Vann	15	25

Tabell 20: Temperatur på substans i varmeveksleren etter tørkeren

Med utgangspunkt i produktbeskrivelsen fra tidligere varmeveksler velges 400kg/h- som gir en massestrøm på 0,11kg/s.

Siden C_p endrer seg i varmeveksleren, benyttes snittet av varmekapasiteten på biomassen inn og ut, hentet fra energibalansen. Effekten blir da 57,1 kW. Temperaturdifferansene regnes ut på samme måte, og $T_{lm}=37,28$. Den indre diameteren er den samme, og lengden beregnes til litt nesten 32 meter. Varmevexleren bruker ca 3,3 minutter på å få energi ut av omtrent 22 kg biomasse.

7.8 Superkritisk CO₂-ekstraksjon



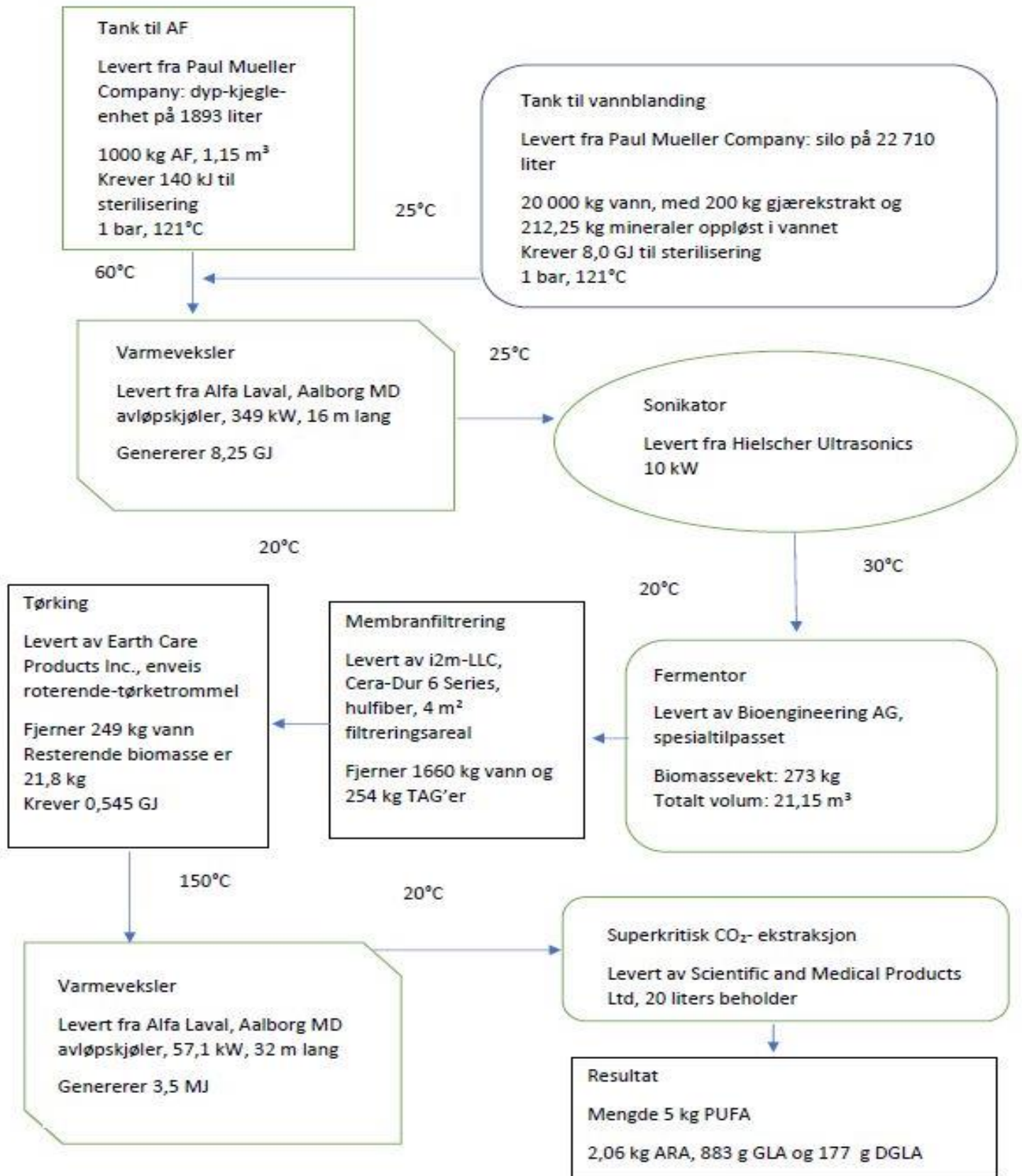
Figur 22: Utstyr til superkritisk karbondioksid-ekstraksjon. Scientific & Medical Products Ltd. (u.d.). Pilot and Production Scale Systems. Tilgjengelig fra: <https://www.scimed.co.uk/product/pilot-production-scale-systems> (lest 24.11.2018)

Etter tørking må de verdifulle oljene som er blitt i akkumulert i muggsoppen MA, trekkes ut av muggsoppen. Superkritisk karbondioksid befinner seg i to faser, gass og væske samtidig, med et trykk på 74 bar og 31°C, og en høy tetthet. Det medfører at karbondioksidet, som blandes lett med andre komponenter på sin vei innom cellene, trekker oljene ut av disse. På et visst punkt skilles oljene fra

karbondioksidet ved at trykket faller, slik at karbondioksidet øker i volum og skilles fra oljene som gass[20].

Scientific and Medical Products Ltd(SciMed) selger utstyr til superkritisk CO₂- ekstraksjon. Behovet må spesifiseres direkte i kontakt med leverandøren, men det som er felles for Pilot and Production Scale Systems, er at volumet på utstyret er over 10 L. I dette tilfellet dreier det seg om cirka 22 L, og utstyret kan kjøpes fra SciMed[61].

8 Skjematisk tegning over dimensjonert prosess



9 Diskusjon

Formålet med denne masteroppgaven var å dimensjonere en produksjonslinje for et bioraffineri[62] som fremstiller høyverdige, verdifulle lipider, såkalte flerumettede fettsyrer, PUFA. Produksjonslinjen, med alle de ulike enhetsprosessene som finner sted, tar utgangspunkt i animalsk fett fra slakterier som anses som avfall. Avfallet foredles til en biomasse som inneholder mer PUFA, som har en høyere økonomisk verdi per kilo og som gir høyest utbytte innen farmasi, og dernest kosmetikk.

9.1 Muggsoppen *Mortierella alpina*

Tidligere, under Prosessbeskrivelsen, ble det argumentert for at MA var i stand til å bryte ned triglyseridertil glyserol og fettsyrer, og at fokuset i denne oppgaven derfor lå på direkte oppgradering. Forskning viser imidlertid at for høye konsentrasjoner av fettsyrer medfører en fare for muggsoppen. Det kan derfor være en idé å benytte seg av indirekte oppgradering allikevel, med hydrolyse av fettene før inokulering, siden triglyseridene består av 90% med fettsyrer. Ved direkte oppgradering er det dessuten fordelaktig at triglyseridene er godt blandet, om massen er klumpete og inhomogen, blir det vanskeligere for muggsoppen å bryte ned triglyseridene[6].

Tabell 1 viser at det kanskje er en bedre idé å bruke glukose som karbonkilde, ettersom det er enklere å bearbeide glukose enn triglyserider.

9.2 Sterilisering

De verdifulle oljene skal mest sannsynlig brukes til kosmetikk eller farmasi, til forbruk av mennesker, og kan derfor ikke være helseskadelig. Det er derfor nødvendig å sterilisere substratet før inokulering. I produksjonsbrosjyren til Norsk Protein viser det seg imidlertid at råstoffet til fettene steriliseres og renses[63] i deres interne prosess, og det kan gjøre at det ikke er nødvendig med sterilisering i tankene. Det betyr i så fall at en slipper noen mest sannsynlig, dyre økonomiske kostnader knyttet til innkjøp av tankene.

Gjærekstrakten og mineralene kommer til anlegget som pulver, men løses opp i vannet. Hvis vannet holder en god nok standard, er det kanskje ikke formålstjenlig med sterilisering[6]. I den skjematisk tegningen over prosessen i denne masteroppgaven, er det satt inn varmeveksler før sonikering. Dette er forutsatt at steriliseringen forekommer.

9.3 Varmevekslerne

Det er satt inn to varmevekslere i denne oppgaven, en før sonikering og en annen etter tørkingen. Hensikten er å benytte seg av den overskytende varmen fra varmevekslerne, slik at denne energien kan brukes til å dekke over energikostnader andre steder i anlegget.

Under energibalansen er det beregnet at det koster 325,2 MJ med to varmevekslere til hele bioraffineret. Uten varmevekslere hadde energikostnaden vært på hele 8,58 GJ. Uten sterilisering og uten den første varmeveksleren, ligger den på 542 MJ (energi til tørkeren subtrahert med energi til den andre varmeveksleren). Om den andre varmeveksleren ikke inngår i bioraffineret beløper energikostnaden seg til 328,7 MJ.

Energiutbyttet fra den første varmeveksleren etter en eventuell sterilisering, på 8,25 GJ, er så kraftig at den nesten dekker over energikostnadene til resten av anlegget. Den andre varmeveksleren, som bidrar med 3,5 MJ virker ikke så viktig i dette regnskapet, selv om det ikke er gitt hvor dyrt 3,5 MJ er. Sterilisering uten den første varmeveksleren er derfor meningsløst, det er nesten like dyrt som ingen varmevekslere.

Spørsmålet er om det er mer lønnsomt med sterilisering kontra ingen sterilisering, med tanke på at Norsk Protein allerede har sterilisert det animalske fettene og at vannet med gjærekstraktet og mineraler muligens ikke trenger sterilisering. Dette er en økonomisk vurdering. Er det mer lønnsomt med en samlet energitgift på 325 MJ med bruk av to varmevekslere per prosess, eller er det bedre med en utgift på 542 MJ per prosess uten sterilisering- på lang sikt og på kort sikt.

Den første varmeveksleren bruker over 10 timer på å trekke ut energi fra substratet, men er bare 16,4 m lang minimalt. Om varmeveksleren skal bruke kortere tid, krever det en større massestrøm, som gir større effekt, og lengre lengde. Det er ikke sikkert at lengre lengde er foretrukket.

Den andre varmeveksleren bruker litt over 3 minutter på energiekstraksjon fra biomassen, og er 32 m lang. Den har en liten effekt og et lite varmeovergangstall i forhold til første varmeveksler, en temperaturdifferanse som nesten er lik den foregående, og lik diameter- om effekten settes ned til 10 kW, det finnes varmevekslere med denne kapasiteten på nettet[64], blir lengden omtrent 22 meter. Det kreves ikke så mye effekt å prosessere 22 kg biomasse. Det kan hende dette er et bedre alternativ.

9.4 Emulsjon

Tidligere eksperimenter i laboratoriet i LipoFungi-prosjektet, LipoFungi- Bioconversion of low-cost fat materials into high-value PUFA- Carotenoid-rich biomass (Prosjektnr. 260987), har vist at det kan oppstå fettkuler i substratet under fermentering. Det kan fort bli tilfelle i en industriell sammenheng også. For at substratet skal være lett å konsumere for muggsoppen, er det viktig å unngå dette. I beregningene er det en forutsetning at emulsjonen er stabil under fermenteringen, men i praksis er det fare for problemer knyttet til at AF kan bli klumpete.

Årsaken til at det animalske fettete kan bli klumpete, er at fermentoren holder 30°C, fordi MA har best forhold ved denne temperaturen. Fra før er det nevnt at fettete er flytende ved 60°C, og smeltepunktet for det animalske fettete er 38°C, og det medfører at fettete ikke forekommer i flytende tilstand i fermentor.

En løsning kan være å tilsette polysorbat, en emulgator, som blant annet brukes i kosmetikken. Tilsetning av polysorbat medfører at muggsoppen enklere kan konsumere det animalske fettete. Polysorbat bør da iblandes før sonikeringen, slik at sonikatoren tilveiebringer den regulære emulsjonen, som varer tiden substratet er under fermenteringen på grunn av den tilsatte emulgatoren.

9.5 Fermentor

Det er gitt at 60 % av stoffene i fermentoren blir omdannet til biomasse, og at 40% dannes tilbake til triglyserider. MA har den egenskapen at den sender ut enzymer for å bryte ned triglyseridene, slik at muggsoppen kan konsumere derivatene, glyserol og fettsyrer. Her er fettsyrene representert som oljesyre. Dette er et gitt scenario som ikke nødvendigvis avspeiler virkeligheten. I en annen oppgave hadde det kanskje vært spennende å basere utregningen på eksperimentelle resultater, slik at en hadde hatt et bedre mål på kapasiteten til MA. I tillegg må det jo nevnes at en regnet med at alle reaksjonsligningene var fullstendige, og det er ikke et realistisk utgangspunkt.

Muggsoppen produserer over 3 tonn med karbondioksidgass i prosessen, og prosessen generer over 1,6 tonn med vann. Oljesyren, eller AF (AF og glyserol krever nesten lik masse i utgangspunktet, og kan derfor sammenlignes direkte) gir høyere utbytte av biomasse enn for glyserol, hvor AF gir et utbytte på 705 kg mot 460 kg for glyserol. Det betyr at muggsoppen konsumerer en langt større grad AF enn glyserol, og glyserolen bidrar da også med over dobbelt så mye til avfall enn oljesyren. Her bidrar AF med 322 kg til avfall, mens glyserol bidrar med 698 kg. Det er tatt høyde for at glyserol bidrar med 10% til triglyseridet, mens AF står for 90% av innholdet.

Når det gjelder celletørrvekt og volum på bioreaktoren, er dette utslagsgivende for hvor store mengder det blir dannet av de ulike stoffene. Verdiene på celletørrvekten var på henholdsvis 21,5 g/L og 30 g/L, begge fra skriftlige kilder, men det var også en mulighet til å estimere verdier for celletørrvekt selv innenfor rimelighetens grenser. Om begge celletørrvektene hadde vært på 30g/L, hadde utbyttet av biomassen totalt beløpt seg til 380 kg, en økning på nær 40%, i forhold til celletørrvekten på 21,5 g/L.

Volumet spiller også inn. Jo større volumet er, dess større utbytte blir det. En fordobling av volumet gir en fordobling av mengden, hvis det for eksempel, skulle bli aktuelt å prosessere 2000 kg med animalsk fett i stedet for 1000 kg. Det er heller ikke noe problem å finne tanker med kapasitet på 40 m³, til gjærekstrakt, mineraler og vann.

Til denne oppgaven ble det valgt en kontinuerlig omrøringstank, hovedsakelig fordi den hadde agitator, altså propell. Tanken er da å forsøke og holde massen homogen, og unngå klumper i

emulsjonen. Emulsjonen inneholder 1000 kg animalsk fett blandet med 20 000 liter gjærekstrakt og mineraler oppblandet i vann, det vil si, at det er 95% vann i emulsjonen.

9.6 Membranfiltrering

En annen årsak til at hulfibermembranen ble valgt fremfor spiraltvinnemembran, er først og fremst fordi hulfibermembranen leverer bedre kvalitet enn det spiralmembranen gjør. I og med at dette dreier seg om biomasse til kosmetikk eller farmasi, verdifull biomasse, med potensiale til stort økonomisk utbytte, er det viktig med best mulig filtrering, for å få størst mulig utbytte av biomasse, som blir igjen i membranen etterpå.

Diameteren til muggsoppen har blitt anslått til 1-5 μm . Det finnes imidlertid andre kilder som hevder at MA har en diameter på 35-45 μm , mens sporene har en diameter på 12-15 μm [65]. Om dette stemmer, er en nødt til å revurdere om det er gunstig å bruke sentrifugering til avvanningen.

9.7 Tørking

I energibalansen er det tatt utgangspunkt i det atmosfæriske trykket ved avlesning av tetthet, selv om trykket varierer mye fra 20°C og til 150°C, burde dette være en grei tilnærming til virkeligheten. Under beregningene med biomasse, er biomassen satt til 100°C ut av tørker, og 37°C inn i tørker. Alle disse estimerte temperaturene, også i luften, er gitt for beregningenes skyld, men de gir et inntrykk av det som foregår i prosessen sånn rent fysisk i form av skalare størrelser.

Videre er roterende tørketrommel den mest anvendte tørketrommel i industrien for tørking av biomasse. I denne oppgaven ble den minst avanserte tørketrommelen valgt, og det betyr kanskje at en må være oppmerksom på brannfare, og det må en uansett, fordi temperaturene kan bli høye, og også fordi denne teknologien kanskje ikke er like godt utviklet som andre industrielle tørketromler.

9.8 Superkritisk CO₂-ekstraksjon og de verdifulle oljene

Det er mange fordeler knyttet til superkritisk CO₂-ekstraksjon, som kan knyttes opp til industrien, da spesielt farmasi, kosmetikk og matbransjen. Den er ikke giftig, ikke brennbar, billig og enkel å få ekstrahert stoffene ut av. Ekstraksjonsmaterialet kan beholde farge, struktur, lukt og aroma. Superkritisk CO₂-ekstraksjon oppløser upolare, eller så vidt polare stoffer- jo høyere molekylvekt, jo dårligere løser ekstraksjonsteknologien det. Angående biomassen, så er molekylformelen, CH_{1,613}O_{0,557}N_{0,158}S_{0,079}, og dette er organisk stoff tilført oksygen med en antagelig middels molekylvekt på omtrent 27 g/mol, og til dette egner superkritisk CO₂-ekstraksjon seg svært godt[66].

Under superkritisk CO₂- ekstraksjon blir det tatt ut 16,35 kg fra 21,8 kg biomasse, og 41% av de 16,35 kg, det er 6,71 kg, består av lipider herfra. Av disse er rundt 2 kg PUFA, flerumettede fettsyrer, som igjen består av stoffer som er viktige for kroppen. Det produseres mest av ARA og LA-metyl-ester, men også en del av GLA, endog under 1 kg, mens DGLA, DHA og EPA forekommer med under 10 gram hver.

Det er tidligere estimert at 1000 kg animalsk fett kan gi en inntekt på rundt 6050 NOK. Det gir en årsinntekt på rundt 200 000 kroner. Da er det viktig å huske på at om celletørrvekten til biomasse ble satt til 30 g/L, så hadde det gitt en økning på 40% av mengden med biomasse, til omtrent 8470 NOK i uka og 406 650 NOK i året. Om en, med celletørrvekt på 30 g/L for det animalske fett, tredobler det animalske fett, øker inntekten til cirka 101 660 NOK i måneden, og omtrent 1,2 millioner i året.

10 Konklusjon

Det ble gjennomført en massebalanse med utgangspunkt i 1000 kg med animalsk fett, hvor det ble beregnet at det kunne bli dannet nesten 5 kg med PUFA. ARA bidro med 2,06 kg, LA-metyl-ester med 1,77 kg, og GLA med 883 g, mens 177 g besto av DGLA, 163,5 g besto av DHA og 70,3 g kom fra EPA.

De verdifulle oljene befant seg inne i muggsoppcellene, i biomassen. Det ble dannet 273 kg biomasse i fermentor ut fra 1000 kg animalsk fett, 200 kg gjærekstrakt og 212,5 kg mineraler, fra substratet. Økt volum i fermentor øker både mengden biomasse og triasyglyserider, mens celledørrvekten, som er proporsjonal med mengden, kan estimeres til både mindre og større mengdeutbytte, innenfor rimelighetens grenser. Det er da ønskelig med mer biomasse og mindre triasyglyserider, som er avfall som kan gjenbrukes.

Det ble også utført en energibalanse til sterilisering, varmevekslere og tørker. Om det er nødvendig med sterilisering av gjærekstrakt med mineraler i vann, er det store mengder energi som kan frigjøres i en varmeveksler etter steriliseringen. Energimengdene herfra dekker nesten energibehovet til hele bioraffineriet. Energimengden generert fra varmeveksleren etter tørker er så liten, at det ikke er nødvendig å installere denne.

Videre er det forsøkt å lage en oppskalering fra laboratorieskala til industrielt format. Tankene produsert til animalsk fett og gjærekstrakt, er fra Paul Mueller Company med omrører for å sikre mest mulig homogen masse. Varmeveksleren er av type Aalborg MD avløpskjøler, den er 16,4 meter lang og har en kapasitet på nesten 350 kW. Sonikatoren kan komme fra Hielscher Ultrasonics med en kapasitet på 10 kW, og en volumstrøm på 6 m³/h. Fermentoren kan kjøpes inn fra Bioengineering AG med propell. Hulfibermembranen er fra i2m-LLC, ifra Cera-Dur 6 Series, av keramikk, og har et filtreringsareal på 4 m². Tørkeren kan bestilles fra Earth Care Products Inc., på norsk heter den enveis-roterende tørketrommel. Det er mulig å kjøpe inn utstyr til superkritisk CO₂-ekstraksjon fra Scientific and Medical Products Ltd, de leverer utstyr fra 10- 10 000L (etter tørketrommel er det igjen 22kg med biomasse).

Tidligere har det blitt gjort et overslag over hvor store inntekter et slikt anlegg kunne innbringe. 1000 kg animalsk fett, prosessert en gang i uka, gir en heller sparsom inntekt på omtrent 290 000 kroner i år. I diskusjonen ble det derfor gjort en analyse på økning av celledørrvekt til 30 g/L, som ga en inntektsøkning på 40%, og på hvor mye en tredobling, altså 3000 kg, en gang hver uke, kunne tilveiebringe av inntekter i løpet av ett år. Resultatet ble på rundt 1,2 millioner norske kroner. Om det kun er en eller to ansatte ved anlegget er dette en bærekraftig inntekt. Det anbefales derfor å gjennomføre en oppskalering av anlegget til industriell produksjon.

11 Referanseliste

- [1] Norsk Protein. (2018). *Bioenergi- Råvarer* [Online]. Available: <https://www.norskprotein.no/bioenergi/r%C3%A5varer.aspx>
- [2] A. K. V.Shapaval, V.Tafintseva, B.Zimmermann, M.Certik, I.Marova, M.Rapta, M.Szotkowski, A. Hároniková, M.Vanek og M.Mikhheichyk,, "LipoFungi- Bioconversion of low-cost fat materials into high-value PUFA- Carotenoid-rich Biomass," Norges Miljø- og biovitenskapelige Universitet- NMBU, Scientif project between different Universities 260987, 2018.
- [3] Aurela. (2011). *Kosttilskudd* [Online]. Available: <http://www.aurela.no/index.php?/Produkter/Kosttilskudd>
- [4] J.K.Innes og P.C.Calder, "The differential Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Cardiometabolic Risk Factors: A Systematic Review," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 2, p. 1, 09.02.18. [Online]. Available: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/2/532>
- [5] H. Tallima og R.E.Ridi, "Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits- A review," *Journal of Advanced Research*, vol. 11, pp. 33-41[Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123217301273>
- [6] E. T. G. Hauge, "Teoretisk oppskalering av en fermenteringsprosess der animalsk fettavfall konverteres til verdifull biomasse," Master, Fakultet for realfag og teknologi, NMBU, Ås, 2018.
- [7] B. Svihus, "fett," Store medisinske leksikon, 2018. [Online]. Available: <https://sml.snl.no/fett>.
- [8] B. Svihus, "triglyserider," Store medisinske leksikon, 2018. [Online]. Available: <https://sml.snl.no/triglyserider>.
- [9] G. B. Hårberg and T. M. Paulsen. (2017, 15.11.2018). *Bakterier og andre mikroorganismer*. Available: <https://ndla.no/nb/node/13807?fag=8>
- [10] C. J. Alexopoulos and D. Moore,
- Ahmadjian, V., "Fungus," Encyclopædia Britannica, 2018. [Online]. Available: <https://www.britannica.com/science/fungus>.
- [11] H. Aarnes, "heterotrofe organismer," Store Norske Leksikon, 2018. [Online]. Available: https://snl.no/heterotrofe_organismer.
- [12] PubChem, "Methyl Linoleate," National Center for Biotechnology Information, 2005. [Online]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/methyl_linoleate#section=Top.
- [13] B. Nees and L. Dunal. (2013). *How to use the monographs*. Available: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/dihomo-gamma-linolenic-acid>
- [14] B. Svihus, "eikosapentaensyre," Store Medisinske Leksikon, 2014. [Online]. Available: <https://sml.snl.no/eikosapentaensyre>.
- [15] Store Norske Leksikon, "agar," Store medisinske leksikon, 2018. [Online]. Available: <https://sml.snl.no/agar>.
- [16] S.Struwe. (2018). *autoklave* [Online]. Available: https://denstoredanske.dk/Natur_og_milj%C3%B8/Mikrobiologi/Bakterier_og_mikrobiologi_generelt/autoklave
- [17] Water Environment Membrane Technology Lab- WEMT. (2013). *Chapter 4- Membrane Equipment*. Available: <http://wemt.snu.ac.kr/lecture%202013-2/advanced/Ch%204%20Membrane%20Equipment%202013-2.pdf>
- [18] Minnesota Rural Water Association, "Membrane Filtration," [Online] 2005.
- [19] Aqua-calc. (2018, 25.11.2018). *Density of Animal fat, bacon grease in tabular form, in 285 units of density*. Available: <https://www.aqua-calc.com/page/density-table/substance/animal-blank-fat-coma-and-blank-bacon-blank-grease>

- [20] M. W. Jensen. (2016, 21.11.2018). *Evaluering av en kombinert produksjon av bioplast og biogass fra slam sammenlignet med tradisjonell biogassproduksjon* [Masteroppgave]. Available: https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2402837/Jensen_2016.pdf?sequence=1
- [21] R. N. Comelli, L. G. Seluy, I. E. Grossmann, and M. A. Isla, "Treatment of High- Strength Wastewater from the Sugar-Sweetened Beverage Industry by an Alcoholic Fermentation Process," *I & EC Research- Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 54, no. 31, pp. 7687-7693, 2015.
- [22] CELL BIOLOGY BY THE NUMBERS. (25.11.2018). *WHAT IS THE ELEMENTAL COMPOSITION OF A CELL?* Available: <http://book.bionumbers.org/what-is-the-elemental-composition-of-a-cell/>
- [23] Science Direct. (25.11.2018). *Saccharomyces cerevisiae- Learn more about Saccharomyces cerevisiae*. Available: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/saccharomyces-cerevisiae>
- [24] A. M. Lee, "biomasse," Store Norske Leksikon, 2009. [Online]. Available: <https://snl.no/biomasse>.
- [25] Berkely Wellness- University of California. (2011, 25.11.2018). *How Much Water is in Your Food?* Available: <http://www.berkeleywellness.com/healthy-eating/food/article/how-much-water-your-food>
- [26] Eden Labs LLC. (2016, 25.11.2018). *The Mos Common Questions on CO2 Extraction Field*. Available: <https://blog.edenlabs.com/the-most-common-questions-on-co2-extraction-yield>
- [27] Engineering Toolbox. (2004, 26.11.2018). *Air- Molecular Weight and Composition*. Available: https://www.engineeringtoolbox.com/molecular-mass-air-d_679.html
- [28] C. Borgnakke and R. E. Sonntag, "SI Version: Fundamentals of Thermodynamics," 8. ed. Singapore: John Wiley & Sons Singapore Pte.Ltd., 2014.
- [29] Google. (26.11.2018). *Determination of specific heat and thermal conductivity of mushrooms....* Available: https://www.google.no/search?q=specific+heat+capacity+of+mushroom&rlz=1C1VFKB_enN0750NO750&oq=speci&aqs=chrome.69i59j69i60j69i57j69i59j69i60l2.1995j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8
- [30] Google. (26.11.2018). *Specific heat*. Available: https://www.google.no/search?rlz=1C1VFKB_enNO750NO750&ei=ZQW2W56fNeKorgTfsqulCw&q=specific+heat+capacity+of+water&oq=specific+heat+capacity+of+water&gs_l=psy-ab.3.35i39k1j0i203k1l9.99535.102553.0.102914.13.9.0.0.0.0.332.1061.1j3j1j1.6.0...0...1.1.64.psy-ab..7.6.1058...0.BCDaGBGh9VA
- [31] Engineering Toolbox. (2004, 26.11.2018). *Water- Heat Capacity (Specific heat)*. Available: https://www.engineeringtoolbox.com/specific-heat-capacity-water-d_660.html
- [32] Paul Mueller Company. (20.11.2018). *Fat and Oil Processing Products*. Available: <https://www.paulmueller.com/food-processing-equipment/fats-and-oils-storage>
- [33] Paul Mueller Company. (20.11.2018). *Goodness, From Tank to Table*. Available: <https://www.paulmueller.com/food-processing-equipment/fats-and-oils-storage>
- [34] Paul Mueller Company. (26.11.2018). *Goodness, from Tank to Table*. Available: <https://www.paulmueller.com/hubfs/Food-Processing/Downloads/Paul-Mueller-Company-Food-Dairy-Processing-Equipment-Brochure.pdf?t=1543264520581>
- [35] BASCO- INDUSTRIAL PACKAGING AND EQUIPMENT. (20.11.2018). *Viscosity Charts & Conversion Tables*. Available: <http://bascousa.com/images/advisors/407%20condensed.pdf>
- [36] Tutorials Point (India) Pvt.Ltd. (2018, 20.11.2018). *Temperature Dependence of Viscosity* [[online video]]. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=RSEcRkowKK4>
- [37] F. R. Karlstad. (2015, 20.11.2018). *Utvikling, bygging og verifisering av varmeveksler egnet for elevøvelse* [Masteroppgave]. Available: https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/293980/Karlstad_master2015.pdf?sequence=1

- [38] J. R. Thome. (2004, 21.11.2018). *Recuperator- Heat Exchanger*. Available: <https://www.nuclear-power.net/nuclear-engineering/heat-transfer/heat-exchangers/recuperator-heat-exchanger/>
- [39] H&C- Heat Transfer Solution. (21.11.2018). *Heat Exchanger Types and Selection*. Available: <http://www.hcheattransfer.com/selection.html>
- [40] Alfa Laval. (21.11.2018). *Product range heat exchangers*. Available: <https://www.alfalaval.com/globalassets/documents/industries/marine-and-transportation/marine/product-range-heat-exchangers.pdf>
- [41] Alfa Laval. (21.11.2018). *Aalborg*. Available: <https://www.alfalaval.com/products/heat-transfer/tubular-heat-exchangers/shell-and-tube-heat-exchanger/aalborg-md/>
- [42] Learn ChemE. (2013, 07.12.2018). *Sizing a heat exchanger: Parallel Flow*. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=ezeRKqjDGIA>
- [43] Y. A. Cengel and A. J. Ghajar, *Heat and Mass Transfer*, 5. ed. New Yourk, 2015.
- [44] The Engineering Toolbox. (2003, 21.11.2018). *Convective Heat Transfer*. Available: https://www.engineeringtoolbox.com/convective-heat-transfer-d_430.html
- [45] The Engineering Toolbox. (2003, 21.11.2018). *Submerged Coils- Heat Transfer Coefficients*. Available: https://www.engineeringtoolbox.com/heat-transfer-coefficients-coils-d_178.html
- [46] E. Hem, "lumen," 2018. [Online]. Available: <https://sml.snl.no/lumen>.
- [47] Norsk forening mot støy. (21.11.2018). *Hva betyr dBA, SPI, GP og andre faguttrykk?* Available: <http://stoyforeningen.no/Fakta/Hva-betyr-dBA-SPI-GP-osv>.
- [48] Hielscher- Ultrasound Technology. (21.11.2018). *Industrial Ultrasonic Devices*. Available: <https://www.hielscher.com/industry.htm>
- [49] H.-U. Technology. (21.11.2018). *UIP 10 000- High Power Ultrasonic Clusters*. Available: https://www.hielscher.com/ui10000_p.htm
- [50] Bio-Resource. (2012, 22.11.2018). *Different Types of Fermentors/Bioreactors*. Available: http://technologyinscience.blogspot.com/2012/08/different-types-of-fermentors.html#.W_bm6zhKipo
- [51] The Membrane Bioreactors. (22.11.2018). *What are membrane bioreactors?* Available: <https://www.thembrsite.com/what-are-mbrs/>
- [52] B. Pedersen, "suspensjon-kjemi," Store norske leksikon, 2017. [Online]. Available: <https://snl.no/suspensjon - kjemi>.
- [53] Lenntech. (2018, 30.11.2018). *Sludge sorts*. Available: <https://www.lenntech.com/library/sludge/sorts/sludgesorts.htm>
- [54] H. Ødegaard, *Vann- og avløpsteknikk*, 2 ed. Hamar: Norsk Vann, 2014.
- [55] BIOENGINEERING. (22.11.2018). *Fermentors*. Available: <http://bioengineering.ch/plants/fermentor>
- [56] i2M. (2018, 24.11.2018). *Cera- Dur 6 Series*. Available: <https://www.i-2-m.com/ceradur-6-series/>
- [57] Membrane Technologies Canada. (2018, 24.11.2018). *Cera- Dur 6 Series*. Available: <http://www.cutmembranes.com/resources/engineering-tools/flux-converter/>
- [58] I. Earth Care Products. (24.11.2018). *ROTARY DRYER COMPARISON*. Available: <http://ecpisystems.com/rotary-dryer-comparison/>
- [59] I. Earth Care Products. (24.11.2018). *DEHYDRATION*. Available: <http://ecpisystems.com/dehydration>
- [60] A. Cariño-Sarabia and J. F. Vélez-Ruiz, "Evaluation of convective heat transfer coefficients between fluids and particles in suspension as food model systems for natural convection using two methodologies," *Journal of Food Engineering*, vol. 115, no. 2, pp. 173-181, 2013.
- [61] SciMed- Scientific & Medical Products Ltd. (24.11.2028). *Pilot and Production Scale Systems*. Available: <https://www.scimed.co.uk/product/pilot-production-scale-systems/>
- [62] Science Direct. (2014, 28.11.2018). *Biorefinery*. Available: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/biorefinery>

- [63] Norsk Protein. (28.11.2018). *Prosess- Norsk Protein AS*. Available: [file:///C:/Users/Ole/Downloads/Prosess+flytskjema%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Ole/Downloads/Prosess+flytskjema%20(1).pdf)
- [64] Alibaba. (2018, 29.11.2018). *heat exchanger- 10 kw*. Available: <https://www.alibaba.com/showroom/heat-exchanger-10-kw.html>
- [65] EOL, "Mortierella alpina," Encyclopedia of Life, 2015. [Online]. Available: <http://eol.org/collections/119317>.
- [66] K. A. Abbas, A. Mohamed, A. S. Abdulmir, and H. A. Abas, "A Review on Supercritical Fluid Extraction as New Analytical Method," *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, vol. 4, no. 4, pp. 345-353, 2008.

12 Vedlegg

12.1 Vedlegg 1

Biolife Italiana Srl

Technical Sheet

N°402255-REV 1 BE -1 09/204 page 1/ 3

**YEAST CLASSIFICATION MEDIA:
VITAMIN FREE YEAST BASE - YEAST CARBON BASE
YEAST MORPHOLOGY AGAR - YEAST NITROGEN BASE**
Media for the classification of yeasts

TYPICAL FORMULAS (per litre)

Compounds	Vitamin Free Yeast Base	Yeast Carbon Base	Yeast Morphology Agar	Yeast Nitrogen Base
NITROGEN SOURCES				
Ammonium sulphate	5.00 g	-	3.50 g	5.00 g
Asparagine	-	-	1.50 g	-
CARBON SOURCE				
Dextrose	10.00 g	10.00 g	10.00 g	-
AMINOACIDS				
L-Histidine	10.00 mg	1.00mg	10.00 mg	10.00 mg
LD-Methionine	20.00 mg	2.00 mg	20.00 mg	20.00 mg
LD-Tryptophan	20.00 mg	2.00 mg	20.00 mg	20.00 mg
VITAMINS				
Niacin	-	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
P-aminobenzoic acid	-	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg
Pyridoxine HCl	-	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Riboflavin	-	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg
Thiamine HCl	-	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Calcium pantothenate	-	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Inositol	-	2.00 mg	2.00 mg	2.00 mg
Biotin	-	20.00 µg	20.00 µg	20.00 µg
Folic acid	-	2.00 mg	2.00 mg	2.00 mg
TRACES ELEMENTS				
Boric acid	50 mg	0.50 mg	0.50 mg	0.50 mg
Potassium iodide	0.10 mg	0.10 mg	0.10 mg	0.10 mg
Ferric chloride	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg
Manganese sulphate	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Sodium Molybdate	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg	0.20 mg
Zinc sulphate	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Copper sulphate	40.00 µg	40.00 µg	40.00 µg	40.00 µg
SALTS				
Potassium Dihydrogen Phos.	0.85 g	0.85 g	0.85 g	0.85 g
Dipotassium Hydrogen Phos	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g
Magnesium sulphate	0.50 g	0.50 g	0.50 g	0.50 g
Calcium chloride	0.10 g	0.10 g	0.10 g	0.10 g
Sodium chloride	0.10 g	0.10 g	0.10 g	0.10 g
Agar	-	-	16.00 g	-

Media prepared according to the formulations of Wickerham, modified by Van der Walt

VITAMIN FREE YEAST BASE

Dissolve 16.79g in 100ml of cold distilled water and sterilise by filtration. The solution will be 10X strength; for the use dilute 1:10 (0.5 to 4.5ml) with a vitamin sterile solution.
Final pH: 5.6 ± 0.2.

Vitamin Free Yeast Base is a medium containing all the growth factors for the yeasts with the exception of the vitamins. It is used for the classification of the yeasts on the basis of their nutritional requirement of vitamin factors.

Use a highly diluted inoculum and incubate the tubes for 7 days at 25-28°C. Because of the inoculum vitamins may be transported and the yeast themselves are able to carry traces of vitamins, a second inoculation in Vitamin Free Yeast Base must be performed following the same procedure as for the first inoculation. Then incubate at 25-28 C for 7 days.

YEAST CARBON BASE

Dissolve 11.7g in 100ml of cold distilled water and sterilise by filtration. The solution will be 10X strength; for this use dilution factor 1:10 with a sterile solution of the chosen nitrogen-containing compound. The most frequently used compound is potassium nitrate.

Dissolve 0.078g potassium nitrate in 90ml of freshly boiled distilled water and sterilise by filtration. To 0.5ml of Yeast Carbon Base in a 16mm tube add under aseptic conditions, 4.5ml of potassium nitrate solution.
Final pH 5.8 ± 0.2.

Yeast Carbon Base is a medium containing all the growth factors for the yeasts, save the nitrogen sources, and use for the classification of the yeasts on the basis of their ability to assimilate nitrogen. Use a highly diluted inoculum and incubate the tubes for 7 days at 25 to 28 °C.

Since nitrogen containing compounds may be transported with the inoculum and as the yeasts themselves carry a supply of nitrogen in form of proteins, a second inoculation must be performed in yeast Carbon Base prepared following the same procedure as for the first inoculum. Then incubate at 25 to 28 °C for 7 days.

YEAST MORPHOLOGY AGAR

Dissolve 33g in 1000ml of cold distilled water. Bring to boil with frequent agitation, distribute and sterilise by autoclaving at 121°C for 15 minutes. Cool to approximately 50°C and pour into sterile Petri dishes. Allow the medium to dry in the dish 1 to 2 days before inoculating.
Final pH 5.8 ± 0.1

Yeast Morphology Agar is a medium containing all the growth factors for yeasts. It is used for the yeast sensitivity test to study their culture characteristics, cellular morphology, formation of mycelia and pseudomycelia, according to the methods suggested by Wickerham and Van der Walt. The technique recommended for the inoculation is that of Dolman's: a light inoculum, taken from an actively growing pure culture must be smeared in a single line at an end of the plate and in two separate points at the opposite end; lay two sterile slides respectively on the central section of the smear and on one of the two inoculation points.

After 3-4 days of incubation, take off the growth of the point inoculations and the smear, without slide, and observe under the microscope the morphology of the vegetative cells.

After 3 - 4 days observe under the microscope (dry objective 3mm ocular x 10) the zone underlying the slides for the formation of mycelium or pseudomycelium and the morphology of the colonies.

YEAST NITROGEN BASE

Dissolve 6.7g in 100ml of cold distilled water and sterilise by filtration. The solution will be 10X strength; for use dilute 1:10 with a sterile solution of the chosen carbohydrates. Dissolve 0.5g of the carbohydrate in 90ml of distilled water, sterilise by filtration and aseptically add 4.5ml of this solution to 0.5ml of Yeast Nitrogen Base.
Final pH 5.6 ± 0.2.

Biolife Italiana Srl

Technical Sheet

N° 402255-REV 1 BE -1 09/204 page 3/3

Yeast Nitrogen Base is a medium containing all the growth factors for the yeasts, with the exception of the carbon source. It is suitable for the classification of the yeasts on the basis of the oxidative utilisation of the carbon containing compounds.

Use a highly diluted inoculum and inoculate the tubes containing the carbohydrates and a control tube containing the medium diluted in sterile distilled water (1:10).

Incubate for 20-24 days at 25-28°C keeping the tubes to obtain slants with a large surface exposed to oxygenation. Observe the growth of the yeasts by placing the tubes against a white card where black lines (thickness: 3-4mm) have been drawn. If the lines are poorly visible through the culture the test is positive. The yeast growth is often yellow because of the presence of riboflavin.

STORAGE

Dehydrated media: 10-30°C (Yeast Nitrogen Base: 2-8°C)

REFERENCES

- Van der Walt, J.P. (1971) - Criteria and methods used in classification. In: «The Yeasts» ed. Lodder, J. ch.2, pp.84-113. Amsterdam: North Holland.
- Wickerham, L.J. (1951) - The Taxonomy of Yeast. Tech. Bull. U.S. Dept. Agric., n° 1029.

PACKAGING

4021902	Vitamin Free Yeast Base	500g (29.8 l)
4022152	Yeast Carbon Base	500g (42.7 l)
4022502	Yeast Morphology Agar	500g (15 l)
4022552	Yeast Nitrogen Base	500g (74.5 l)

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



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway