

## MASTER

### Een continue installatie voor de biologische ontparaaffinering van olie

Bos, J.W.

*Award date:*  
1968

[Link to publication](#)

#### **Disclaimer**

This document contains a student thesis (bachelor's or master's), as authored by a student at Eindhoven University of Technology. Student theses are made available in the TU/e repository upon obtaining the required degree. The grade received is not published on the document as presented in the repository. The required complexity or quality of research of student theses may vary by program, and the required minimum study period may vary in duration.

#### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain

TECHNISCHE HOGESCHOOL EINDHOVEN

Afdeling der Scheikundige Technologie  
Sectie Fysische Technologie

Een continue installatie voor de  
biologische ontparaffinering van olie.

Afstudeerhoogleraar : Prof. Dr. K. Rietema

Wetenschappelijk medewerker : Ir. S.F.P. Ottengraf

Afstudeerperiode : augustus 1967 - september 1968

Afstudeerder : J.W. Bos,  
Lakerstraat 22,  
Eindhoven.

## Inhoudsopgave.

	paginanummer
Samenvatting	
Hoofdstuk I Doel van het onderzoek	1
Hoofdstuk II Inleiding	
II.1. Technische ontparaffinerings processen.	2
II.2.1. De microbiologische ontparaffinering.	2
II.2.2 De productie van eiwitten door groei van micro-organismen op paraffinen.	4
Hoofdstuk III Mirco-organismen, cultuurmedium, meetmethoden.	
III.1. Micro-organismen.	5
III.2. Groeistoefvoeging en condities.	6
III.3. Meetmethoden.	7
Hoofdstuk IV Apparatuur.	
IV.1. De batchinstallatie.	
IV.1.1. Het fermentatievat.	9
IV.1.2. PH regeling.	9
IV.1.3. Temperatuurregeling.	9
IV.2. De continue installatie.	
IV.2.1. Flowschema.	10
IV.2.2. De reactor.	10
IV.2.3. Registratie van het loogverbruik	12
IV.2.4. Regeling van het vloeistofniveau in de reactor.	13
IV.2.5. De settler.	14
Hoofdstuk V Experimenten en meetresultaten.	
V.1. Batchproeven.	16
V.1.1. Keuze oliesoort.	17
V.1.2. Verband loogverbruik - hoeveelheid geproduceerde gist.	18
V.1.3 Zuurstofconsumptie per gram gevormde droge stof.	18
V.1.4 Recirculatie cultuurvloeistof.	19

V.2. Experimenten met de continue installatie	19
Hoofdstuk VI Conclusies en suggesties.	
VI.1. Conclusies.	22
VI.2. Suggesties.	22
Literatuurreferenties.	
Appendix, figuren.	

## SAMENVATTING.

Het doel van het onderzoek was het ontwerpen, bouwen en bedrijven van een continue installatie ter bestudering van de fermentatie van gisten op paraffinen in olie.

De fermentatie wordt uitgevoerd in een continu geroerde tankreactor met een inhoud van ca 50 l. In deze reactor groeit de gist (*Candida Lipolytica*) ten koste van de in bepaalde oliefracties voorkomende paraffinen. Voor de groei benodigde anorganische zouten en groeistoffen worden als waterige oplossing, het z.g. cultuurmedium, toegevoegd. Beluchting van het systeem heeft in de reactor zelf plaats m.b.v. een geperforeerde ringleiding.

Met behulp van een speciale niveauregelaar wordt het debiet van het afgevoerde olie-gist-water mengsel naar de settler geregeld.

Deze settler is zodanig ontworpen dat ondanks de pasta-achtige eigenschappen van het olie-gist mengsel een goede scheiding verkregen wordt in een olie-gist en een waterfase. De waterfase wordt gedeeltelijk gerecirculeerd.

Ter verkrijging van noodzakelijke informatie voor de continue installatie, zijn een aantal ladingsgewijze experimenten uitgevoerd in een 1 liter fermentatievat. Deze experimenten hadden tot doel de keuze van een geschikte oliesoort, het bepalen van het verband tusse loogverbruik en gistproductie, het bepalen van de recirculatie verhouding van het cultuurmedium en de zuurstofconsumptie per gram geproduceerde, droge gist.

Tot slot zijn een aantal metingen verricht met de continue installatie bij verschillende verblijftijden, varërend van 6 tot 16 uur.

I Doel van het onderzoek.

Sedert enige jaren heeft er op de sectie Fysische Technologie een onderzoek plaats naar de fermentatie van gisten op n-alkanen.

Het onderzoek, verricht door B.Erdtsieck en F.H. Fransen geschiedde in batchcultures, waarbij de groei bestudeerd werd van de gist *Candida Lipolytica* en *Candida Intermedia* op paraffinen voorkomend in bepaalde aardoliefracties.

Mijn afstudeeropdracht had ten doel het ontwerpen en bedrijven van een continu werkende installatie op semi-technische schaal voor de bestudering van deze fermentatie en de isolering van de gevormde gisten.

## II. Inleiding.

### II.1 Technische ontparaffineringsprocessen.

Ruwe aardolie bestaat uit een groot aantal organische verbindingen. De belangrijkste groepen zijn de alkanen, olefinen, naftenen en aromaten.

Fractionering van de ruwe aardolie levert o.a. verschillende gasolie- en smeeroliefracties, die tevens de paraffinen bevatten. De paraffinen vormen de groep der n-alkanen vanaf  $C_{18}H_{38}$  en zijn derhalve bij kamertemperatuur vast.

Zij worden gewoonlijk in twee groepen onderscheiden: de paraffine wax ( smelttraject  $27^{\circ} - 69^{\circ}C$  , macrokristallijne structuur ) en de petrolatum ( smelttraject  $71^{\circ} - 105^{\circ}C$  , microkristallijne structuur).

Technisch worden de paraffinen op een van de navolgende wijzen verwijderd.

- a) Koeling en vervolgens afscheiding van de gekristalliseerde paraffinen met behulp van filterpersen of centrifuges. Deze oudste methode heeft tot nadeel dat vrij veel olie door de paraffinekristallen wordt ingesloten.
- b) Bij een nieuwere methode wordt de olie uit het olie-paraffine mengsel selectief opgelost in een oplosmiddel alvorens afkoeling en afscheiding van de paraffinen plaats heeft.
- c) Dewaxing met behulp van ureum. Dit vrij moderne proces berust op een mengkristalvorming van de paraffine met de ureum.
- d) Dewaxing met behulp van micro-organismen. Op deze zeer recentelijke methode zal in de navolgende paragraaf nader worden ingegaan.

#### II . 2 . 1. De microbiologische ontparaffinering

Bepaalde micro-organismen zijn in staat n-alkanen te gebruiken

als koolstof- en energiebron. Koolwaterstoffen als isoparaffinen, naftenen en aromaten worden door de toegepaste micro-organismen nauwelijks of niet aangetast.

Bij het ontparaffineren van aardoliefracties kan gebruik gemaakt worden van gisten en van bacteriën [1, 2] .

Soms verdient het aanbeveling de te behandelen aardoliefractie te scheiden in een paraffinerijk en een paraffine-arm deel. Alleen het paraffinerijke deel wordt behandeld met micro-organismen, waarna beide delen weer worden samengevoegd.

*nu* De microbiologische ontparaffinering geschiedt in een ~~drie~~ fasen systeem : olie, water, lucht *en gist (of bact.)*  
In de waterfase bevinden zich voor de groei van het micro-organisme noodzakelijke groeistoffen en anorganische zouten. De samenstelling van dit z.g. cultuurmedium en de behoefte aan groeistoffen zijn afhankelijk van het toegepaste micro-organisme.

In de zuurstofbehoefte van de micro-organismen kan worden voorzien door vortex-beluchting of door lucht in te leiden via een zeefplaat.

Bij het proces, dat ladingsgewijs of continu kan worden uitgevoerd, dienen de omstandigheden, temperatuur en pH, binen enge grenzen constant te worden gehouden.

De optimale temperatuur en pH zijn afhankelijk van het gebruikte micro-organisme en liggen in de range van resp.

25 - 35°C en pH 4 - 5. (*6,7 gist, niet voor bacteriën, dan andere*)

In principe ontstaan bij de groei van micro-organismen, b.v. gisten, op koolwaterstoffen naast celmateriaal, CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O, nog andere stoffen - hoewel in veel geringere hoeveelheden - die opgenomen worden in de oliefase.

Het verkregen mengsel gist/olie/waterige fase wordt gescheiden in een drietal fracties : gist, olie en de waterige vloeistof. De scheiding vindt plaats door afwisselende behandeling met oppervlakte-actieve stof en cgeren. De verkregen gistpasta wordt afwisselend gev gecentrifugeerd, teneinde de oppervlak<sup>ke</sup> actieve stc



verwijderen.

Voor de verwijdering van de in de olie opgeloste stofwisselingsproducten ( die een troebeling van de olie veroorzaken ) ondergaat de olie een nabehandeling. Deze bestaat uit een wassing met loog of een hydrogenering.

### II.2.2. De productie van eiwit door groei van micro-organismen op paraffinen.

Eiwitten die een belangrijk bestanddeel van de menselijke voeding vormen, kunnen zowel van plantaardige als van dierlijke aard zijn. Het basisvoedsel voor de wereldbevolking bestaat uit granen, die weliswaar vrij veel proteïnen bevatten, echter bepaalde voor het menselijk lichaam essentiële aminozuren, in een te lage concentratie.

Een van de redenen waarom een groot deel van de wereldbevolking aan ondervoeding leidt, is terug te voeren tot deze, te eenzijdige, plantaardige voeding (appendix I).

Bepaalde door het menselijk lichaam dus niet te synthetiseerbare aminozuren komen wel in voldoende mate voor in dierlijk eiwit en eiwit van microbiologische oorsprong.

Een veelbelovend voorstel voor de aanvulling van dit tekort aan hoogwaardig eiwit is nu de productie van eiwit uit aardoliefracties met behulp van micro-organismen. Gesteld kan worden dat de jaarlijkse ruwe olie productie veel meer paraffinen bevat dan nodig is om het tekort te dekken.

### III. Micro-organismen, Cultuurmedium, Meetmethoden.

#### III.1 Micro-organismen.

Voor het verkrijgen van koolwaterstof aantastende micro-organismen kan men uitgaan van grondmonsters verkregen uit de nabijheid van oliebronnen of van aarde, die met petroleum is voorbereid.

De verkregen ophopingsculturen bevatten steeds dezelfde soorten van de geslachten *Mycobacterium*, *Nocardia* en *Pseudomonas* [ 3 ] .

Van de groep bacteriën zijn vooral de families *Bacillaceae* en *Pseudomonaceae* van belang [4] .

Een voordeel is bij bacteriën dat toevoeging van groeistoffen veelal niet noodzakelijk is, echter de afscheiding van bacteriën uit een olie-bacterie mengsel is moeilijk. Tevens is het een nadeel dat voor de goede groei van bacteriën op koolwaterstoffen de pH in het algemeen 6 à 8 dient te zijn. Dit pH traject is gunstig voor veel bacteriesoorten, zodat de kans op het optreden van infectie groot is.

Van de gisten vertonen de groepen *Torulopsis* en *Candida* een duidelijke groei op koolwaterstoffen [ 4 ] .

De tot de groep *Candida* behorende gisten, welke de voorkeur [6] genieten zijn :

*Candida Tropicalis* CBS 94.

*Candida Intermedia* CBS 572.

*Candida Lipolytica* CBS 599.

Voor de gisten is in het algemeen toevoeging van groeistoffen noodzakelijk [ 5 ] .

Optimale condities voor groei op koolwaterstoffen zijn pH 4 - 5 en de temperatuur 25 - 35°C.

De kans op infectie kan worden verkleind door de omstandigheden ( temperatuur en pH ) zodanig te kiezen, dat deze ongunstig zijn voor de ontwikkeling van de ongewenste soort. Het is dus vereist dat onder deze omstandigheden, temperatuur en pH, slechts weinig soorten zich kunnen ontwikkelen. Bij voorkeur zal daarom een soort gekozen worden die zich onder deze omstandigheden optimaal ontwikkelt. Voor de toepassing bij het onderzoek wordt in navolging van Erdtsieck [6] de *Candida Lipolytica* gekozen.

### III.2. Groeistoftoevoeging en condities.

Voor de groei zijn naast anorganische zouten en een koolstofbron nog andere, z.g. groeistoffen, nodig. Tegenwoordig kent men een groot aantal van deze stoffen.

Voor de gistgroei zijn belangrijk : biotine, pantotheenzuur, thiamine, riboflavine, nicotinezuur en para-amminobenzoëzuur. Deze groeistoffen dienen afzonderlijk aan de waterige oplossing van anorganische zouten, het z.g. cultuurmedium, te worden toegevoegd.

Als groeistoftoevoeging wordt gistextract gebruikt, dat in een concentratie van 0,2 g per liter cultuur medium wordt toegevoegd.

In de literatuur worden een groot aantal cultuurmedia genoemd, die geschikt zijn voor de groei van gisten op paraffinen [2, 8, 9, 10, 11, 12 lit.] .

Van deze in de literatuur genoemde media is, eveneens in navolging van de proeven van Erdtsieck, het Millermedium gekozen, omdat voor dit medium de hoeveelheid spore-elementen nauwkeurig is aangegeven. Voor de samenstelling van dit medium zij verwezen naar appendix I.

De gekozen condities voor het onderzoek zijn pH 4 en temperatuur 30°C. Voor een motivering van deze keuze zij verwezen

naar [6] .

### III.3. Meetmethoden.

De concentratie van micro-organismen in een cultuurvloeistof kan op verschillende wijzen bepaald worden. De verschillende methoden kunnen worden onderscheiden in methoden ter bepaling van het aantal levende micro-organismen ( kiemgetal ) en methoden ter bepaling van de opbrengst aan celmateriaal (troebeling, sediment volume etc. [6] ). Bij deze laatste methode wordt het totaal aan levende en dode cellen bepaald. Er zijn echter methoden bekend om het percentage dode cellen in een cultuurvloeistof te bepalen [13, 14, 15].

Als fundamentele grootheid voor de gistconcentratie is bij dit onderzoek de hoeveelheid drogestof gekozen. De bepaling van het drogestof gehalte geschiedt als volgt :

Een monster van 10 ml wordt uit het ferment genomen en geschud met een zelfde hoeveelheid van een 2 % teepol oplossing . Na centrifugeren wordt het sediment tweemaal gewassen met laatstgenoemde oplossing en tweemaal met gedestilleerd water. Vervolgens wordt het sediment gedroogd bij 60°C onder vacuüm.

Zoals uit onderzoek van Erdsieck gebleken is, is er een eenvoudige en continu werkende wijze mogelijk om de verandering van de gistconcentratie als functie van de tijd te meten.

Hierbij wordt uitgegaan van het feit dat door assimilatie van het in het medium aanwezige ammonium-ion een corresponderende hoeveelheid waterstofionen wordt vrijgemaakt. Dit heeft een verandering van de pH tot gevolg die door toevoeging van ammoniumhydroxyde op een constante waarde gehouden wordt. De hoeveelheid toegevoegde loog blijkt een zeer goede maat te zijn voor de toename van de gistconcentratie in het ferment.

Uiteraard is deze methode specifiek voor de gebruikte gistsoort, koolstofbron en cultuurmedium alsmede van de ingestelde condities. Indien echter genoemde factoren constant blijven, kan met behulp van een ladingsgewijze proef het verband eenvoudig gemeten worden en weergegeven worden in een ijkgrafiek.

#### IV. Apparatuur.

##### IV.1. De batchinstallatie.

###### IV.1.1. Het fermentatievat.

Ter verkrijging van noodzakelijke informatie met betrekking tot het ontwerpen van een continu werkende installatie, zijn een aantal experimenten uitgevoerd in een ladingsgewijs werkend fermentatievat, waarvan in figuur 1 een schets is weergegeven.

Dit vat bestaat uit een glazen cylinder met een diameter van 8,6 cm en een hoogte van 20 cm ( inhoud  $1200 \text{ cm}^3$  ).

De bodem en deksel zijn vervaardigd van roestvrij staal, daar andere materialen, zoals bv. koper veelal toxische eigenschappen voor de gist bezitten, waardoor de groei ernstig belemmert kan worden.

In het vat zijn op een roeras twee roestvrij stalen turbine-roerders aangebracht. Elke turbineroerder (diameter 4,3 cm) is voorzien van 3 bladen (lengte per blad 1,1 cm, hoogte 0,85 cm).

###### IV.1.2. PH regeling.

Voor de pH regeling wordt gebruik gemaakt van een automatische titrator van het merk Radiometer, type TTT-1. Als electrode dient een gecombineerde glas-KCL electrode van Radiometer type GK 2021 C.

De loog (  $2N \text{ NH}_4\text{OH}$  ) wordt toegevoegd via een magneetklep, die door de titrator gestuurd wordt.

Registratie van het loogverbruik geschiedt op gezette tijden met behulp van een automatische fotocamera.

###### IV.1.3. Temperatuurregeling.

De temperatuur van de vloeistof in het fermentatievat wordt op de gewenste, constante waarde gehouden met behulp van een koel (cq. verwarmings) spiraal. Deze spiraal is verbonden met een thermostaatbad, waarvan de temperatuur geregeld wordt door een in het fermentatievat geplaatste contactthermometer.

## IV.2. De continue installatie.

### IV.2.1. Flowschema.

Het flowschema van de continue werkende installatie is weergegeven in figuur 2.

Vanuit een voorraadvat D (inhoud 200 l) wordt met behulp van een regelbare plunjerpomp (DCL micropomp type S) de olie aan reactor A toegevoerd. Teneinde stolling van de paraffinen te voorkomen, wordt voorraadvat D via een door een thermostaatbad gevoede verwarmingsspiraal op een temperatuur van ca. 45°C gehouden.

De cultuurvloeistof wordt vanuit voorraadvat E (60 l) met een eveneens regelbaar debiet naar de reactor gepompt (DCL micropomp type S).

De geconcentreerde en gesteriliseerde gistextractoplossing wordt afzonderlijk onder steriele condities verpompt (DCL type S) Gistextract, opgelost in de cultuurvloeistof, blijkt n.l. tot bederf van deze oplossing te leiden.

Via een rotameter (FP $\frac{1}{2}$ -21-G-10/80,  $\frac{1}{2}$ -GSVT-45) wordt lucht d.m.v. een geperforeerde ringleiding in de reactor gepispergeerd.

Een door een niveauregelaar gestuurde slangenpomp (Multifix type C800) voert het ferment uit de reactor naar de settler B. Hier vindt separatie plaats in een olie-gist en een waterfase. Het olie-gist mengsel, dat maximaal nog ca 30 % water bevat, wordt vervolgens naar een opslagvat G (40 l) verpompt (Sigma-motor model T8). Vanuit dit vat geschiedt de verdere verwerking van het olie-gist mengsel verder batchgewijs.

De waterfase, die als onderlaag uit de settler wordt afgevoerd en nog ca 6 % van de totale hoeveelheid gevormde gist bevat, wordt via een buffervat C gedeeltelijk naar de reactor gerecirculeerd. Het surplus van deze fase wordt geloosd.

Teneinde de zuurstofconsumptie te kunnen meten, wordt een gedeelte van het afgas m.b.v. een membraampomp 7 (Wisa) naar een Servomex Oxygen Analyser gevoerd.

### IV.2.2. Reactor.

De reactor die in figuur 3 schematisch is weergegeven

bestaat uit een glazen quickfit vat van 50 l met een hoogte van 84 cm en een diameter van 29 cm.

Drie op de roeras geplaatste turbineroeders zorgen voor een goede menging. Iedere roerder (diameter 10 cm) bestaat uit drie bladen met een lengte van 5 cm en een hoogte van 1,5 cm. De bovenste roerder doet dienst als mechanische schuimbreker. Om slingeren van de lange roeras tegen te gaan, is in het midden van de as een ondersteuning met nylonlager aangebracht.

Voorts is de reactor voorzien van vier keerschotten met een lengte van 55 cm en breedte van 4 cm.

Beluchting van de vloeistoffase heeft plaats d.m.v. een geperforeerde ringleiding.

Afvoer van het ferment heeft plaats door een standpijp op ca. 35 cm van de onderzijde van de reactor.

Het deksel (voor een detailtekening zie fig. 3a), evenals alle metalen onderdelen die met de gistsuspensie in aanraking kunnen komen, is vervaardigd van roestvrij staal.

In het deksel zijn gaten geboord voor de toevoerleidingen voor olie, cultuurvloeistof, koelwater, loog en de afvoerleidingen voor lucht en koelwater en voor de pH electrode (Radiometer GK 2021 C) en contactthermometer.

Om stolling van opgespatte oliedruppels te voorkomen, wordt het deksel uitwendig verwarmd d.m.v. een koperen verwarmings-spiraal, die door een thermostaatbad gevoed wordt (temperatuur deksel ca 35°C).

#### PH regeling

Voor de pH regeling wordt gebruik gemaakt van een automatische titrator zoals bij de batchinstallatie. Voor de wijze waarop het loogverbruik als functie van de tijd gemeten wordt, zij verwezen naar IV.2.3.

#### Temperatuur regeling

De temperatuur regeling geschiedt op dezelfde wijze als bij de batchinstallatie.



#### IV.2.3. Registratie van het loogverbruik.

Bij een continue fermentatie is het vooral wenselijk direct te kunnen bepalen of de fermentatie stationair verloopt.

Figuur 4 geeft een schets van de wijze waarop het loogverbruik continu gemeten wordt.

Het geheel bestaat uit een buret A, een automatische titrator B (Radiometer TTT-1) een magneetklep C, een recorder D en niveau-indicator N.

Buret A bestaat uit een Quickfit buis (lengte 1 m, binnendiameter 10 cm), die zowel aan de bovenkant als aan de onderkant voorzien is van een verloopstuk. Van het buret loopt een leiding via een magneetklep naar de reactor.

Op de loog in het buret drijft een vlotter, die scharnierend is opgehangen aan een gewicht J (detailtekening). Het op de polystyrene vlotter aangebrachte Pt plaatje en de aan het gewicht J bevestigde Pt draad I vormen tesamen een aan-uit schakelaar. Het plaatje en de draad zijn aangesloten op een constantspanningsapparaat (Philips, PE 4819).

Maken zij contact dan wordt relais 5 bekrachtigt. Daalt het niveau in A, dan wordt het contact verbroken, het relais springt terug in de ruststand en schakelt een electromotor 4 in.

De electromotor laat via een vertraging en een ketting G het gewicht J zakken, tot weer contact gemaakt wordt. Tegelijkertijd wordt synchroon de stand van een tienslagen-potentiometer veranderd.

Op deze potentiometer staat een spanning van 10 mV, geleverd door een apparaat waarvan in fig. 6 het schema gegeven is.

Een verandering van het niveau resulteert uiteindelijk in een verandering van de spanning, af gegeven door de potmeter. Deze spanning (minimaal 0 mV, maximaal 10 mV) wordt geregistreerd door de recorder.

Het systeem wordt geijkt door aftappen van 250 ml loog en meting van de dearmede corresponderende uitslag van de recorder.

De afwijking in het geïndiceerde vloeistofniveau bedraagt

maximaal 0,5 mm, hetgeen overeenkomt met een absolute afwijking afwijking van 20 ml loog.

#### IV.2.4. Regeling van het vloeistofniveau in de reactor.

Voor het stationair bedrijven van de installatie dient uiteraard het volumedebiet van het afgevoerde ferment uit de reactor gelijk te zijn aan het toevoerdebiet. Om een constant afvoerdebiet te realiseren, komen een aantal mogelijkheden in aanmerking.

De meest eenvoudige methode bestaat uit een afvoer d.m.v. een overloop. Deze wijze van continue aftap is echter om een tweetal redenen niet goed realiseerbaar.

Door de aanwezigheid van een schuimlaag zal tengevolge van flotatie de gist en olie concentratie in deze laag hoger zijn dan de gemiddelde concentratie in het ferment. Afvoer door een overloop zou derhalve tot gevolg hebben dat te veel gist verwijderd zou worden, waardoor de concentratie in het ferment lager zou zijn dan de stationaire waarde die zou behoren bij de ingestelde condities.

Bovendien is door de beluchting en hevige menging de vloeistofniveauhoogte onderhevig aan plaatselijke fluctuaties.

Afvoer met behulp van een constant debiet pomp is eveneens onmogelijk, tengevolge van de aanwezigheid van luchtbellens in de vloeistof.

Om aan deze bezwaren tegemoet te komen, werd een methode ontworpen waarbij het ferment intermitterend uit de reactor gepompt wordt, zodanig dat de hoogte van het vloeistofniveau fluctueert tussen een instelbare maximale en minimale waarde. Het principe van deze niveauregeling, waarvan in fig. 7 een schets is weergegeven, berust op dat van twee communicerende vaten. Een stijgbuis E staat via leiding D, restrictie B, olie-gist vanger C en leiding A in verbinding met de reactor.

In de buis E (hoogte 42 cm, diameter 5 cm) bevindt zich een drijver F, waarop een Pt plaat-electrode G is bevestigd. Afhankelijk van de vloeistofhoogte in de stijgbuis kan deze electrode contact maken met twee gefixeerde Pt draadelectrodes I, waarvan

de verticale afstand ca 3 mm bedraagt.

Indien G contact maakt met de bovenste draadelectrode, wordt via een relais afvoerpomp 4 ingeschakeld. Het niveau in de reactor daalt tot G contact maakt met de onderste draadelectrode; door de bekrachtiging van een tweede relais wordt de afvoerpomp uitgeschakeld.

In fig. 8 is een schema weergegeven van de elektrische schakeling van deze niveau regelaar. In de figuur zijn alle relais in hun ruststand getekend.

Maken Gen Ia contact, dan wordt relais 1 bekrachtigd. Hierop volgt meteen zelfbekrachtiging van 1 en bekrachtiging van relais 3, tengevolge waarvan afvoerpomp 4 in werking treedt.

Maakt G contact met electrode Ib, dan wordt relais 2 bekrachtigd, waardoor de voeding voor relais 1 uitvalt en deze terugspringt in de ruststand. Gevolg is, dat ook relais 3 niet meer bekrachtigd wordt en de afvoerpomp uitgeschakeld wordt.

#### IV.2.4. De settler.

Na enig proefdraaien bleek, dat het gist-olie mengsel eigenschappen bezit welke gelijken op die van een pasta. Deze eigenschappen bleken spoedig aanleiding te geven tot het verstoppem van een normale, rechthoekige settler.

Om een goede afscheiding tussen de olie-gist en de waterfase te bewerkstelligen is een settler nodig, waarin geen dode hoeken voorkomen.

In fig. 9 is de schets van een settler gegeven, die experimenteel goed blijkt te functioneren. Deze settler bestaat uit een conische, glazen buis (kleinste diameter 3 cm, grootste diameter 13,5 cm, hoogte 50 cm) die aan de onderzijde is afgesloten door een plastic plaat.

Het uit de reactor afgevoerde ferment wordt door een centraal geplaatste toevoerpijp ca 9 cm van de onderzijde van de settler ingevoerd.

De afgescheiden olie-gist fractie wordt door een slangenpomp via buis B afgevoerd. Tengevolge van de kleverige eigenschappen van deze fractie is in de settler een roerder

geplaatst. Het toerental van deze roerder is uiteraard laag en bedraagt ca 30 per min.

De afgescheiden waterfractie wordt naar een recirculetienvat gevoerd, waarin zich een overloop D en afvoerbuis E bevinden. Een gedeelte van de cultuurvloeistof wordt met een constant-debiet pomp via buis E naar de reactor gerecirculeerd; het surplus wordt via de overloop D geloosd.

De hoogte van de overloop bepaalt tevens de dikte van de gist-olie laag in de settler. Experimenteel blijkt een niveauverschil van ca 3cm tussen D en onderzijde van B te resulteren in een ca 10cm dikke gist-olie laag.

## V. Uitvoering en meetresultaten.

### V.1. Batchproeven.

Ter verkrijging van noodzakelijke informatie met betrekking tot het ontwerpen van een continu werkende installatie, werden aantal ladingsgewijze experimenten uitgevoerd in een 1 liter fermentatievat.

Deze experimenten hadden achtereenvolgens tot doel :

- a) De keuze van een geschikte oliesoort.
- b) Voor deze oliesoort het verband tussen de gistproductie en het loogverbruik te bepalen.
- c) Het bepalen van de zuurstofconsumptie per gram geproduceerde gist.
- d) Het bepalen van de recirculatieverhouding van het cultuurmedium.

Voor alle ladingsgewijze experimenten golden de volgende condities :

cultuurmedium	: 500 ml Millermedium, gesteriliseerd.
hoeveelheid olie	: 60 ml
luchtdebiet	: 600 ml/min.
antifoam-C	: 150 ppm, Dow Corning
gistsoort	: Candida Lipolytica.
temperatuur	: 30°C.
pH	: 4.0

Voor het enten was een reeds aan het milieu aangepaste reiculture nodig. Deze reiculture werd gekweekt in een 250 ml erlenmeyer, voorzien van een keerschot en afgesloten door vier lagen gaas. De inhoud van de erlenmeyer bestond uit 40 ml Millermedium en 2 ml n-hexadecaan.

Elk etmaal werd een kleine hoeveelheid vanuit de oude culture overgeënt in de nieuwe voedingsbodem en in de schudmachine geplaatst.

De toevoeging van de olie en het gebruik van gistextract gaf aanleiding tot schuimvorming. Dit werd voldoende onderdrukt door antifoam-C van Dow Corning.

In de navolgende paragrafen zullen de uitgevoerde experimenten, genoemd onder a t/m d successievelijk besproken worden.

Voor de overzichtelijkheid zullen daarbij tevens uitgevoerde berekeningen en uit experimenten getrokken conclusies besproken worden.

#### V.1.1. Keuze oliesoort.

Fransen [16] gebruikte voor zijn experimenten een zware Kuwait gasolie. In een beluchte tankreactor met een halve liter inhoud vond hij voor *Candida Intermedia* een verdubbelingstijd van  $6\frac{1}{2}$  uur. De generatietijd in een tankreactor met aparte beluchting in een beluchtungskolom bedroeg  $4\frac{1}{2}$  uur. Miller[7] noteerde voor de generatietijd van een mengculture van *Candida Intermedia* en *Candida Lipolytica* op gasolie een verdubbelingstijd van 4 - 5 uur.

De eerste experimenten werden verricht met dezelfde Kuwait zware gasolie, die Fransen voor zijn onderzoeken heeft gebruikt. De gemeten groeicurve is weergegeven in fig. 10 (curve no. I). Bij deze experimenten bleek *Candida Lipolytica* (curve I) een geringe en *Candida Intermedia* geheel geen groei te vertonen op de gasolie. De berekende generatietijd bedroeg voor *Candida Lipolytica* ca 9 uur. waarschijnlijk werd de geringe groei veroorzaakt door de aanwezigheid van toxische stoffen in de gasolie, die in de loop van de tijd in de gasolie waren ontstaan (Fransen sloot zijn onderzoek in begin 1966 af). Dit werd nagegaan door aan de gasolie n-hexadecaan (35 ml) toe te voegen. Verhoging van het gehalte aan n-alkanen gaf vrijwel geen verbetering in de groei te zien (fig. 10 curve II), terwijl toch de concentratie aan n-alkanen verviervoudigd was en tevens de groei op n-hexadecaan van *Candida Lipolytica* een veel sneller verloop te zien gaf (fig 10 curve III). Een veel betere fermentatie werd gevonden op HVI-90 olie, waarvan de gemeten groeicurve in fig. 11 is weergegeven. De groei op HVI-90 olie en met n-hexadecaan verrijkte HVI-90 olie is vrijwel gelijk aan die op n-hexadecaan alleen (fig.11, curve III).

De uit de groeicurve berekende verdubbelingstijd van *Candida Lipolytica* op HVI-90 bedraagt  $4\frac{1}{2}$  uur.

### V.1.2. Verband tussen het loogverbruik en de hoeveelheid geproduceerde gist.

Zoals in IV.3. reeds is vermeld, is het loogverbruik een maat voor de groei van de gist. Om het verband te bepalen tussen de verbruikte hoeveelheid loog en de gevormde hoeveelheid gist (droge stof) werden een tweetal experimenten uitgevoerd met HVI-90 olie.

Bij deze experimenten werd het droge stof gehalte in het ferment en het loogverbruik als functie van de tijd bepaald. In fig. 12 is het verband weergegeven tussen de toegevoerde hoeveelheid loog en de totaal gevormde hoeveelheid droge stof. Fig. 13 geeft de hoeveelheid gevormde droge stof als functie van de tijd.

### V.1.3. Zuurstofconsumptie per gram gevormde droge stof.

Fransen [16] kwam tot de conclusie dat gescheiden beluchting van het ferment met een aparte beluchtingskolom een kortere generatietijd en een betere schuim onderdrukking bereikt werd dan in een beluchte tankreactor.

Voor de eventuele toepassing van een beluchtingskolom is het uiteraard noodzakelijk te weten hoe groot de zuurstofconsumptie is voor de vorming van 1 gram droge stof.

De in de literatuur genoemde waarden lopen nogal uiteen. Johnson [17] en Miller [7] vonden dat voor de vorming van 1 gr droge stof resp. 2,1 en 3,4 gr  $O_2$  verbruikt werd.

Ter verificatie van deze gegevens werd naast de gistconcentratie de zuurstofconsumptie gemeten als functie van de tijd. Daartoe werd de zuurstofconcentratie in het afgas gemeten, waarvan de meetresultaten in fig. 14 zijn weergegeven. De bijbehorende groeikromme is weergegeven in fig. 15.

Meting van de zuurstofconcentratie in het ferment bleek niet mogelijk door de vervuiling van het electrodeoppervlak van de zuurstof-analyser. Een eenvoudige berekening toont echter aan, dat de zuurstofconcentratie verandering per tijdseenheid in de

vloeistof verwaarloosbaar klein is t.o.v. de zuurstofconsumptie snelheid van de gist.

Dat de in fig. 14 weergegeven zuurstofconcentratie in het afgas constant is met de tijd, wordt verklaard door de lineaire groeisnelheid (fig 15) van de gist in het gemeten tijdsbestek, waarbij bedacht moet worden dat de zuurstofconsumptie t.g.v. auto-oxidatie relatief gering is t.o.v. het zuurstofverbruik door oxidatie van het substraat.

Uit deze grafieken wordt tezamen met de ijkcurve (fig 12) een zuurstofconsumptie van 3,2 g zuurstof per gram gevormde droge gist berekend.

#### V.1.4. Recirculatie cultuurvloeistof.

Bij fermentatie in de continue installatie zou een groot debiet cultuurvloeistof benodigd zijn, indien geen recirculatie van deze vloeistof toegepast wordt. Om de recirculatie verhouding van het cultuurmedium te bepalen, werden eveneens een serie ladingsgewijze experimenten uitgevoerd.

Een batchproef van 550 ml Millermedium en 70 ml HVI-90 olie werd na ca 25 uur afgebroken voordat de fermentatie voltooid was (fig 16-I). De olie-gist fase werd van de waterfase gescheiden. Aan de afgescheiden waterfase werd 70 ml verse olie toegevoegd en de fermentatie werd opnieuw gestart (fig 16, curve II) Tijdens de derde proef stopte de fermentatie bij een loogverbruik van 20 ml, terwijl voor een volledige omzetting een loogverbruik van 42 ml 2N loog te verwachten was. Toevoeging van vers Millermedium veroorzaakte wel weer een opleving maar geen herstel van de groei, vermoedelijk veroorzaakt door ophoping van toxische stofwisselingsproducten in het cultuurmedium.

Uit de meetresultaten van fig 16 volgt dat de toegepaste oliebelasting minder dan ca 0,25 l olieper l waterfase moet bedragen, opdat het cultuurmedium zeker nog geen groeilimiteringen veroorzaakt.



V.2. Experimenten met de continue installatie.

De uitvoering van de continue runs geschiedde als volgt. De reactor inhoud werd geënt met het voor ca 60 % uitvergistete ferment uit het 1 liter fermentatievat. Vervolgens werd de reactor ladingsgewijs bedreven, waarbij de gist-groei gevolgd werd aan de hand van de toegevoegde hoeveelheid loog. Nadat de fermentatie gevorderd was tot ongeveer de helft van de maximale waarde, werd overgeschakeld op de continue werkwijze (zie fig 17 en 18).

In tabel I zijn de waarden vermeld van de toegepaste verblijftijden en debieten.

Run no	verblijftijd uren	debiet verse cult. vlst. l/uur	recirc. debiet waterfase l/uur	debiet olie l/uur	debiet lucht l/min.
I	7u.10	1,22	3,6	0,75	60
II	9u.05	0,92	2,78	0,71	60
III	12u.00	0,90	2,10	0,33	60
IV	16u.50	2,00	0	0,37	60

In de figuren 19, 20, 21 en 22 is de toegevoegde hoeveelheid loog per liter olie en de geconsumeerde hoeveelheid zuurstof per liter olie voor de verschillende verblijftijden uitgezet als functie van de tijd. Bij deze grafieken is te bedenken dat het tijdstip t 0 overeenkomt met het tijdstip waarbij overgeschakeld werd op de continue werkwijze. De in de grafieken aangegeven meetpunten zijn verkregen door het loogverbruik (ml loog/uur) resp. zuurstofverbruik (g O<sub>2</sub>/uur) te delen door het betreffende oliedebiet (l olie/uur).

Aan gezien het maximale loogverbruik per liter olie bekend is (fig 17 : ca 400 ml loog/l olie), kan uit de stationaire eindwaarden van de loogverbruikcurven in de grafieken 19 t/m 22 de conversiegraad in de stationaire toestand berekend worden voor de verschillende verblijftijden.

Deze waarden zijn vermeld in tabel II.

tabel II

run	verblijftijd uren	berekende conversie %	gemeten O <sub>2</sub> consumptie g O <sub>2</sub> /l olie	berekende O <sub>2</sub> consumptie g O <sub>2</sub> /l olie
I	7u.10	11	32	36
II	9u.05	15	46	51
III	12u.00	30	111	109
IV	16u.50	40	mislukt	138

In deze tabel zijn verder de gemeten <sup>en</sup> berekende waarden van de zuurstofconsumptie (in g O<sub>2</sub>/l olie) voor de stationaire toestand vermeld voor de verschillende verblijftijden. De berekende waarden van de zuurstofconsumptie zijn verkregen door de stationaire waarde van het loogverbruik per liter olie om te rekenen op de droge stofproductie per l olie; waaruit met de experimenteel bepaalde waarde van de zuurstofconsumptie per g droge gist (zie V.1.3.) de zuurstofconsumptie op eenvoudige wijze volgt. De gemeten en berekende waarden komen, zoals uit de tabel blijkt, op redelijke wijze met elkaar overeen.

## VI. Conclusies en suggesties.

### VI.1. Conclusies.

- 1) De ontwikkelde continue installatie functioneert naar behoren. Bij variabele verblijftijden blijkt de stationaire toestand goed instelbaar en houdbaar.
- 2) Van de verschillende onderzochte oliefracties blijkt HVI-55 goed geschikt voor de fermentatie.
- 3) De gemeten generatietijd van *Candida Lipolytica* op HVI-55 olie bedraagt  $4\frac{1}{2}$  uur.
- 4) De zuurstofconsumptie per gram gevormde droge stof gemeten in de continue installatie en het batch fermentatievat stemmen goed overeen. De gemeten waarde bedraagt 3,2 g zuurstof per gram droge gist.
- 5) Een gescheiden beluchtingskolom voor de continue installatie is niet goed toepasbaar vanwege de toe te passen hoge vloeistofbelastingen in een dergelijke kolom.
- 6) De gemeten, maximaal toelaatbare oliebelasting bedraagt 0,25 l olie per liter cultuurmedium. Boven deze waarde treedt limitering tengevolge van groeistof deficit op.

*Conclusie  
opgeleid  
af het proces*

### VI.2. Suggesties.

- 1) Hoewel de ontworpen settler voor de continue installatie goed blijkt te functioneren, is de toepasbare oppervlakte belasting laag in vergelijking met de inhoud van dit apparaat.  
Onderzoek naar en ontwikkeling van een settler met een grotere efficiëntie voor een eventuele industriële toepassing verdient aanbeveling.

- 2) Ontwikkeling van een continue methode voor de meting van de zuurstofconcentratie in het ferment.
- 3) Bepaling van de totale droge stof concentratie in het ferment en het percentage dode cellen in deze vloeistof.
- 4) Ontwikkeling van een meetmethode ter bepaling van het alkaan gehalte in de olie. Inleidende proeven hebben aangetoond, dat dit waarschijnlijk langs gaschromatische weg kan geschieden.

Literatuurreferenties.

- 1) Champagnat, A. Procédé de déparaffinage des fractions du pétrole par voie micro-biologique.  
Fr. 1.316.506 - 26-12-1962.
- 2) Champagnat, A. Procédé de déparaffinage des fractions du pétrole à l'aide de bactéries.  
Fr. 1.334.466 - 1-7-1963.
- 3) Stone, R.W. Current problems in the oxidation of hydrocarbons by microorganisms.  
Develop. Ind. Microbiol. 4, 5-8(1963).
- 4) Vernet, C. Process for the removal, wholly or in part, of straight chain hydrocarbons from hydrocarbon mixtures.  
Z.Afrikaans Patent nr 635430 28 nov. 1963.
- 5) Burkholder, P.R., Mc Veigh, I., Moyer, D. The growth factors of yeasts. J. Bacteriol. 48, 385-91 (1944).
- 6) Erdtsieck, B. Een technologische studie van de gistproductie met n-alkanen als koolstof- en energiebron.  
Proefschrift T.H. Eindhoven.
- 7) Miller, T.L. Utilization of gasoil by a yeast culture.  
Biotechn. and Bioeng. 4, 299-307(1964).
- 8) Bushnell, L.D., Haas, H.F. The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms.  
J. Bacteriol. 41, 653-73(1941).
- 9) Miller, T.L. Growth of a yeast of normal alkanes.  
Biotechn. and Bioeng. 8, 567-580(1966).
- 10) Gatellier, C. Production by natural adaptation of various types of microorganisms capable of assimilation and converting petroleum fractions: application to dewaxing and synthesis of protein.  
Petr. Chem U.S.S.R. 3(4), 322-4(1964)  
Neftekhimiya 3 (5), 811-2(1963).

- 11) Raymond, R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons.  
Develop. Ind. Microbiol. 2, 23 - 32 (1961).
- 12) Taussen, W.O. Über die Oxidation der Wachse durch Mikroorganismen.  
Biochem. Z. 193, 85 - 93 (1928).
- 13) Borzani, W., Vairo, M.L.R. Quantitative adsorption of methylene blue by dead yeast cells.  
J. Bacteriol. 76, 251 - 5 (1958).
- 14) E.B.C. Yeast group. Estimation of yeast viability.  
J. Inst. Brewing 68, 14 - 20 (1962).
- 15) Kleyn, J., Mildner, R., Riggs, W. Yeast viability as determined by methylene blue staining.  
Brewers Dig. 37, (6), 42-6 (1962).
- 16) Franssen, F.H. Deparaffinering van smeerolie, een microbiologische methode.  
Afstudeerverslag T.H.Eindhoven (1966).
- 17) Johnson, M.J. Utilization of Hydrocarbons by microorganisms.  
Chem. Ind. (London) 36, 1532-7 (1964).
- 18) Champagnet, A. Biosynthesis of protein vitamin concentrates from petroleum.  
Nature, 197, 13 (1963).

Appendix I

De samenstelling van proteïnen van verschillende grondstoffen 18

droge stof	percentage	tarwemeel	vlees	melk	Torula gist	B.P.gist
essentieel						
amminozuur		mg/kg				
Leucine	7,0	8,0	11,0	7,6	7,0	
Isoleucine	4,2	6,0	7,8	5,5	5,0	
Valine	4,1	5,5	7,0	6,0	8,4	
Threonine	2,7	5,0	4,7	5,4	9,1	
Methionine	1,5	3,2	3,2	0,8	1,2	
Lysine	1,9	10,0	8,7	6,8	11,6	
Arginine	4,2	7,7	4,2	4,1	8,0	
Histidine	2,2	3,3	2,6	1,7	8,1	
Phenyl-alanine	5,5	5,0	5,5	3,9	7,9	
Thriptophaan	0,8	1,4	1,5	1,6	1,2	

samenstelling van het Millermedium aangevuld met groeistoffen :

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	5,0 g	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	80 $\mu\text{g}$
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,5 g	KJ	200 $\mu\text{g}$
$\text{CaCl}_2$	0,4 g	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	400 $\mu\text{g}$
$\text{NH}_4\text{Cl}$	7,0 g	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	800 $\mu\text{g}$
Giistextract(Difco)	0,2 g	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	400 $\mu\text{g}$
		$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	800 $\mu\text{g}$

Gedestilleerd water tot 1 liter.

## Appendix II

### Beluchtingskolom.

Zoals vermeld in V.1.3. heeft aeratie van het ferment voor een continue installatie in een gescheiden beluchtungskolom bepaalde voordelen t.o.v. beluchting in de reactor zelf. Uit een eenvoudige berekening zal echter blijken, dat de toe te passen vloeistofbelastingen dermate hoog zijn, dat een gescheiden beluchtungskolom zich voor dit doel niet goed leent.

Bij de toegepaste temperatuur bedraagt de oplosbaarheid van zuurstof in water en olie resp. ca 8 en 40 mg/l. Aannemende dat beide fasen volledig onverzadigd aan de beluchtungskolom worden toegevoerd en volledig verzadigd afgevoerd, dan kan maximaal aan een ferment bestaande uit 10 vol % olie en 90 vol % water worden overgedragen  $11,2 \cdot 10^{-3}$  g zuurstof per liter ferment.

Uit tabel I en II van V.2. blijkt, dat bij een verblijftijd van bv 7 uur (waarbij de bereikte conversiegraad slechts ca 11 % bedraagt) de overgedragen hoeveelheid zuurstof 24 g  $O_2$  per uur bedraagt.

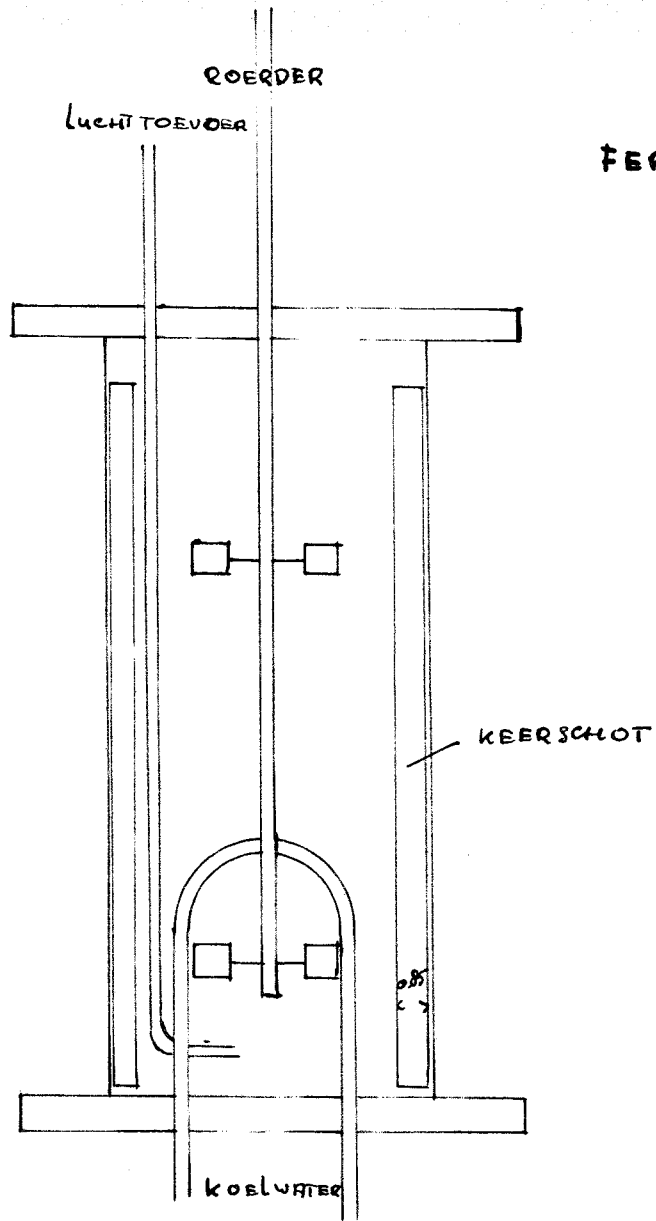
Hieruit zou een circulatie debiet aan ferment door de beluchtungskolom volgen van ca 2000 liter per uur.

In werkelijkheid zal de overdracht nog veel ongunstiger zijn dan voor deze berekening werd aangenomen, waardoor de toe te passen circulatie debieten nog een factor hoger zal zijn dan bovenstaande, berekende waarde.



Fig. 1

FERMENTATIE VAT



TURBINE ROERDER.

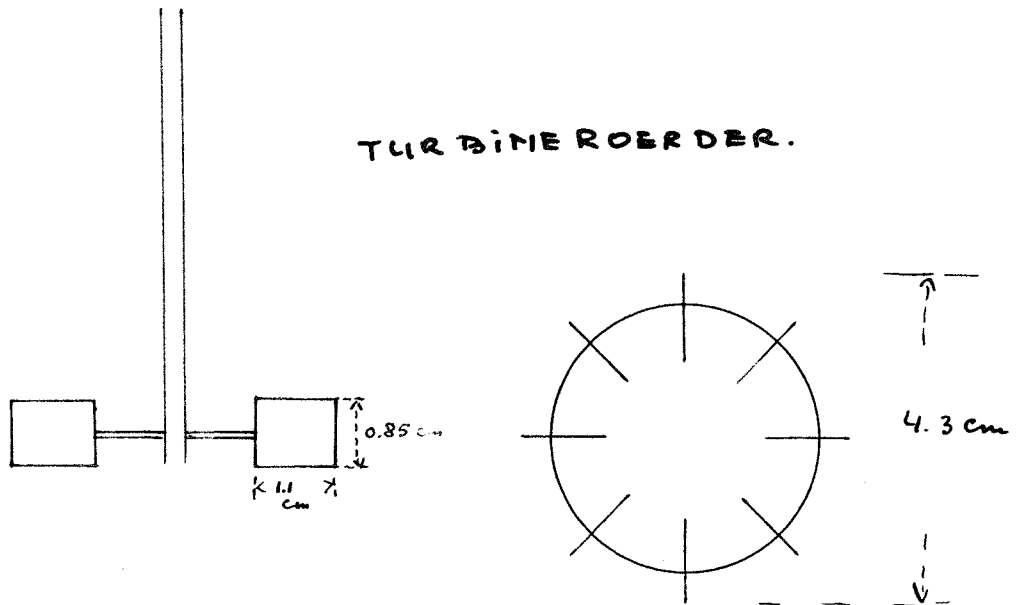
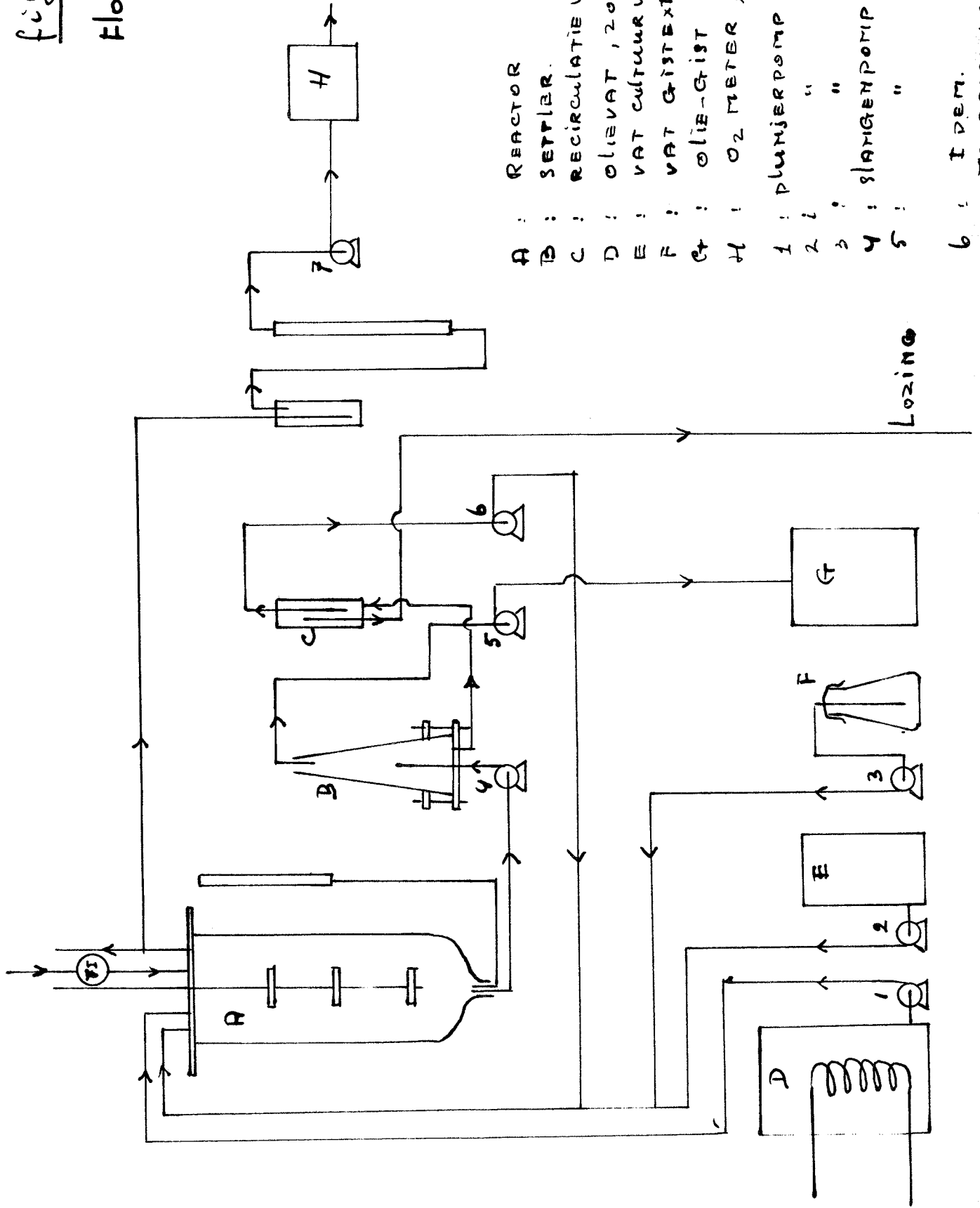


fig. 2

Flow SCHEMA

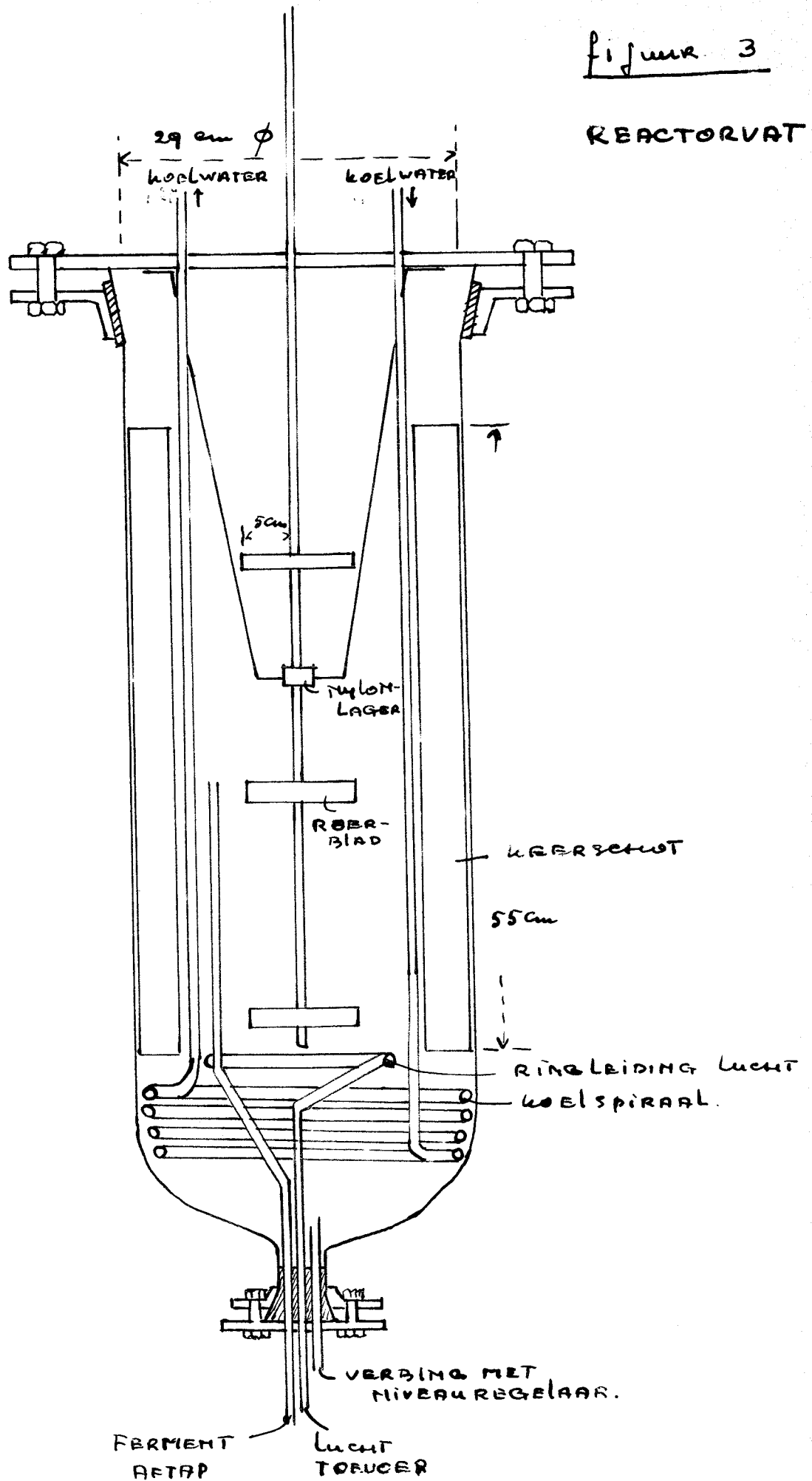


- A : REACTOR
- B : SETFLER.
- C : RECIRCULATIE VAT
- D : OLIEVAT, 200L.
- E : VAT CULTUURVLOEISTOF, 600L
- F : VAT GISTEXTRACT OPL. 3L
- G : OLIE-GIST VAT 40L.
- H : O<sub>2</sub> METER, SERVOMEX.
- 1 : PLUNJERPOMP, DCL TYPE S
- 2 : " " " "
- 3 : " " " "
- 4 : SLANGENPOMP Multipix C800
- 5 : " " WESTINGHOUSE
- 6 : IDEM.
- 7 : MEMBRAANPOMP, WISA
- 8 : TYPE T

Lozing

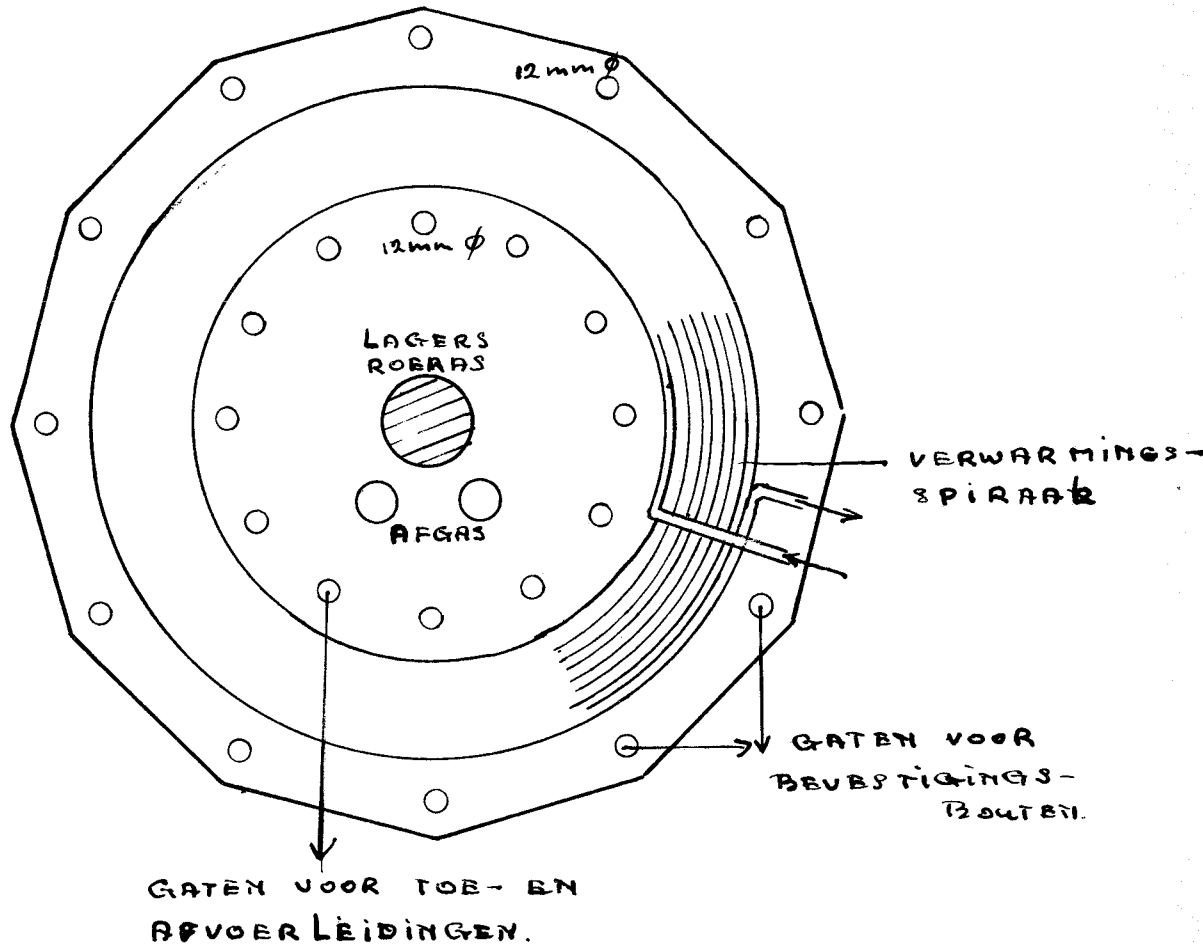
figuur 3

REACTORVAT



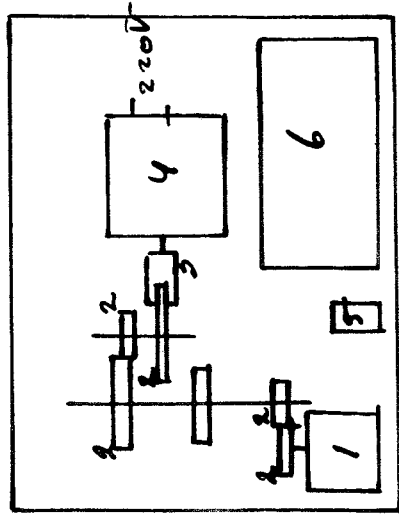
FIGUUR 3<sup>A</sup>

REACTOR DEKSEL



Figuur 4

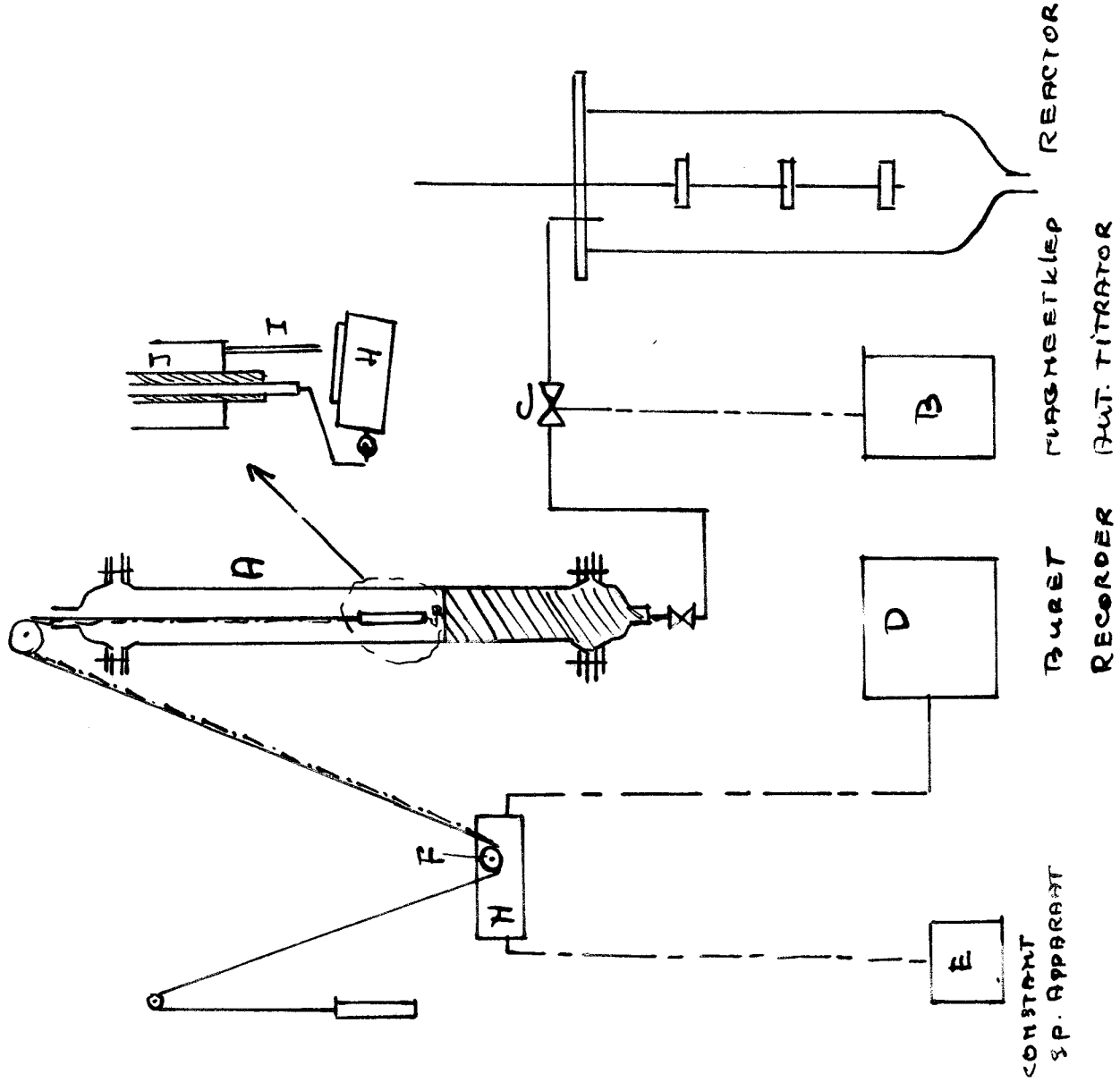
SCHEMA LOGREGISTRATIE



NIVEAU INDICATOR (N)  
 ZIE OOK FIG. 5 en 6

--- ELECTRISCHE  
 VERBINDINGEN

- 1. POTENTIO MIETER.
- 2. TANDRAD.
- 3. WORMWIEL.
- 4. ELECTROMOTOR
- 5. RELAIS.
- 6. APPARAAT DAT 12 V  
 OMZET IN SPANNING  
 VAN 10 mV (fig. 6)



CONSTANT  
 S.P. APPARAAT

BURET

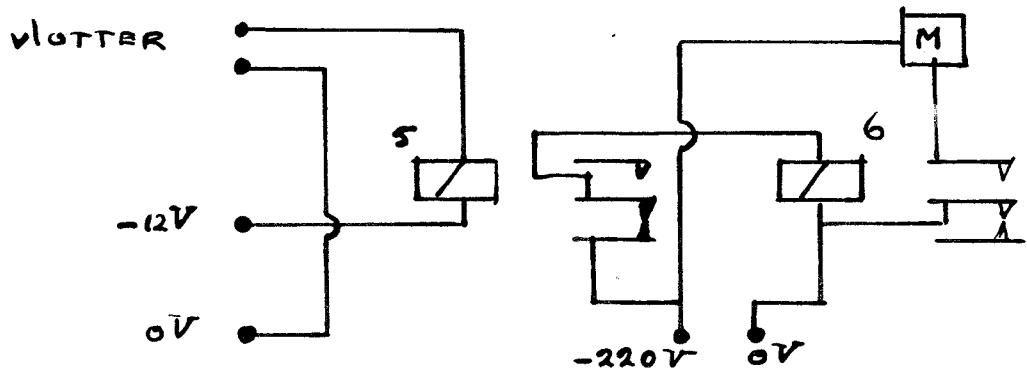
VERMEETKLEP

REACTOR

RECORDER

AUT. TITRATOR

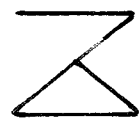
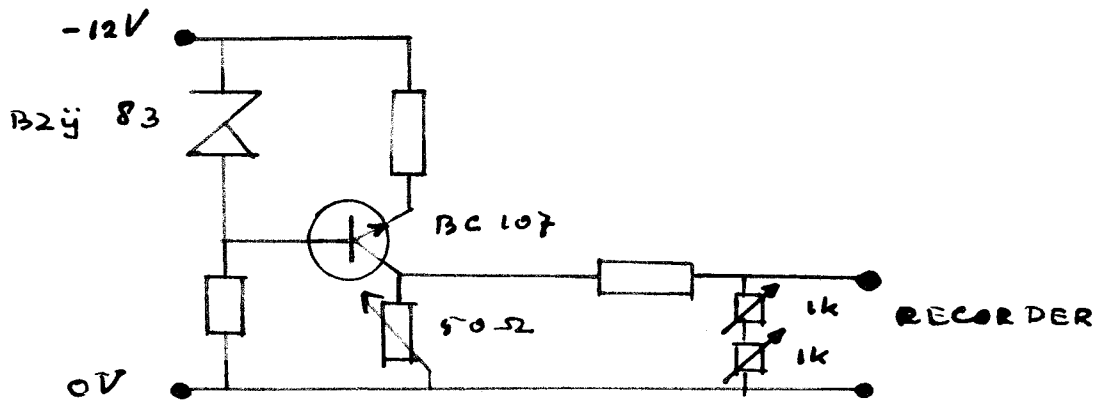
figure 5



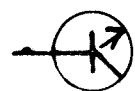
SCHAKELINGA NIVEAU INDICATOR.

- 5 : 12V RELAIS.
- 6 : 220V RELAIS
- M : POM P

figure 6



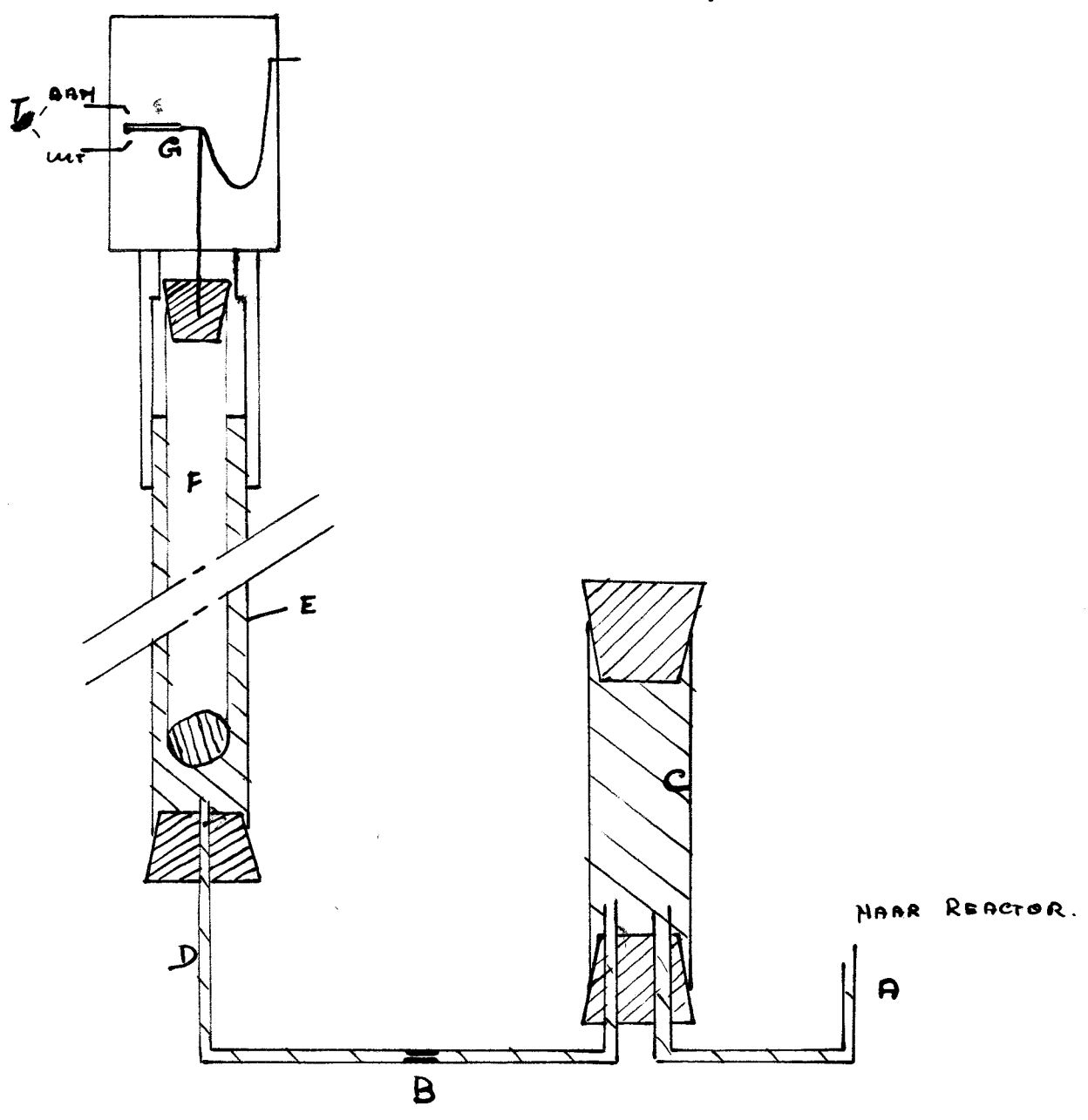
TRANSISTOR  
B24 83



TRANSISTOR  
BC 107

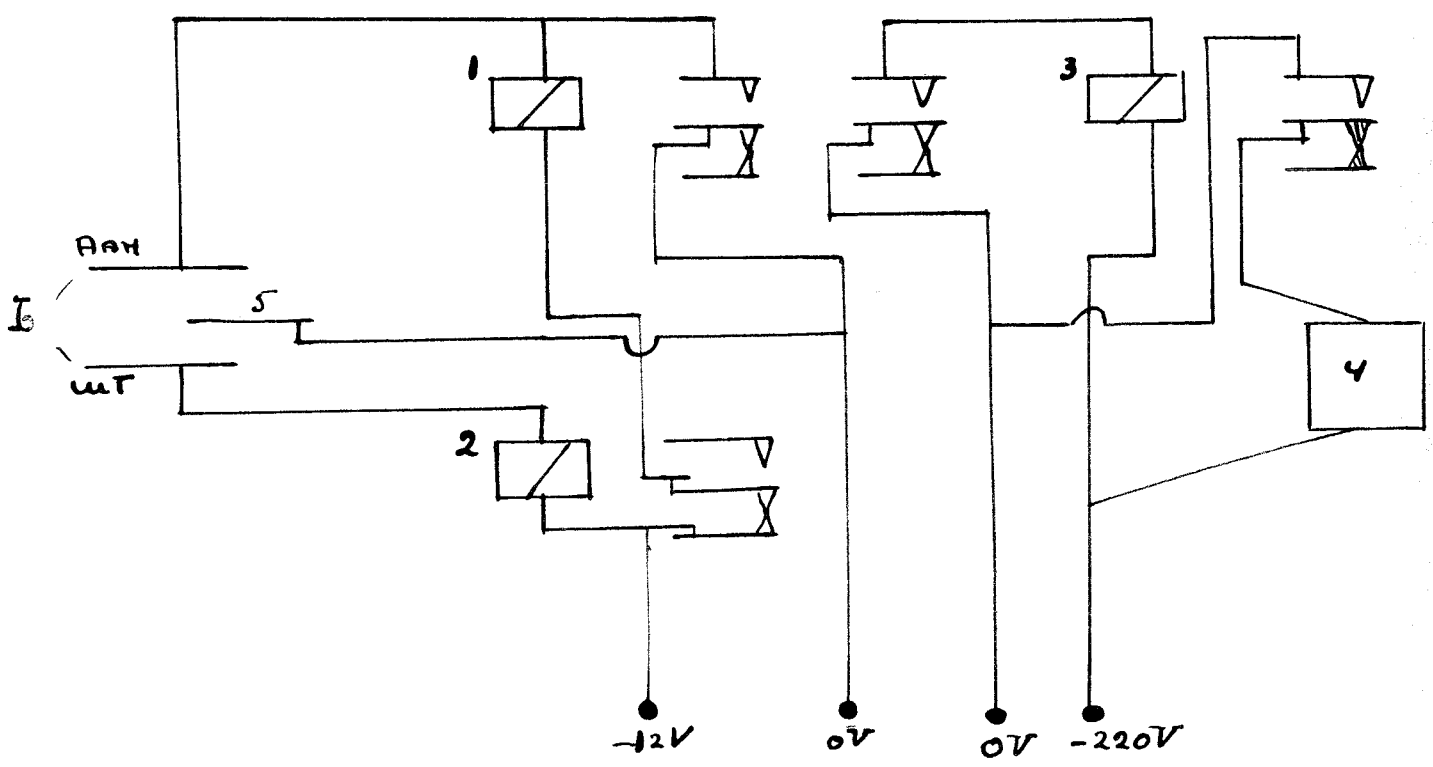
figuur 7

NIVEAU REGELAAR



figuur 8

SCHAKELSCHEMA  
NIVEAUREGELAAR.

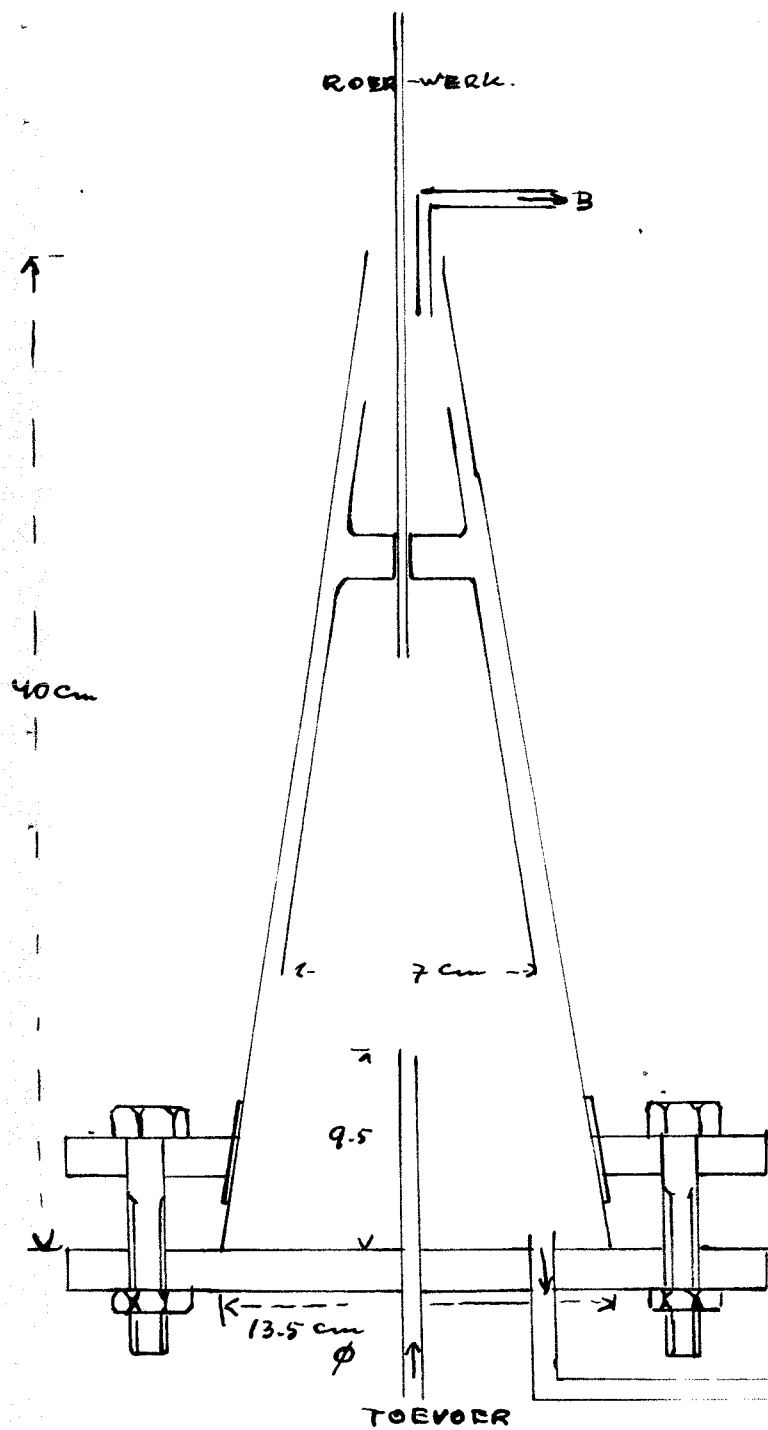


- 1 : RELAIS , 12V
- 2 : " , 12V
- 3 : " , 220V
- 4 : SLANGENPOMP.
- 5 : ELECTRODE OP DRIVER
- 6 : AAN- EN UIT-SCHAKELCONTACT

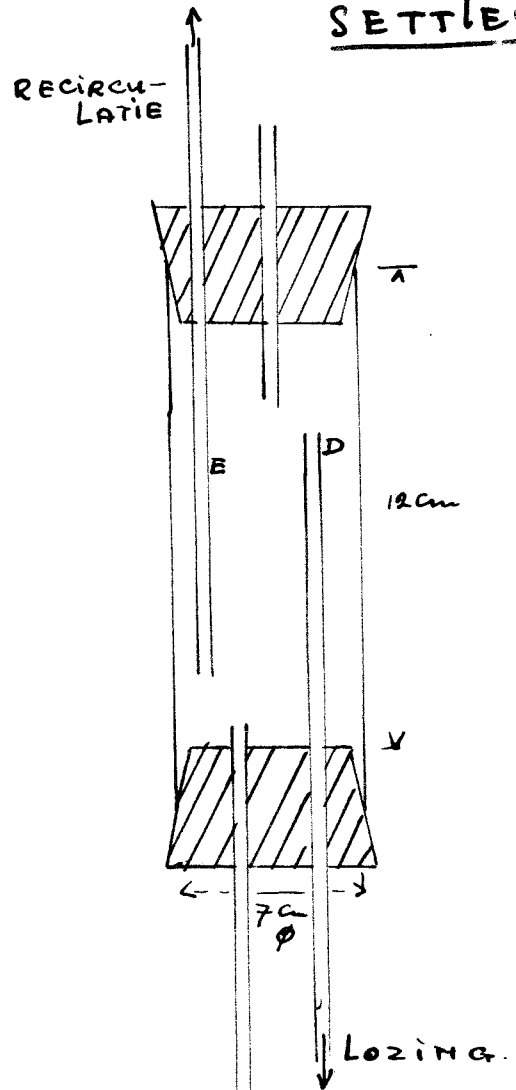


Figuur 9

SETTLER



SETTLER



RECIRCULATIE VAT

FIG. 10

CANDIDIA LIPOLYTICA  
500 ml. MILLER MEDIUM  
I : 65 ml. G. ASOLIE  
II : 65 ml. G. ASOLIE  
+ N-HEXADECAN  
III : 65 ml. n-HEXAD.

TEMP. 30°C  
PH 4.0

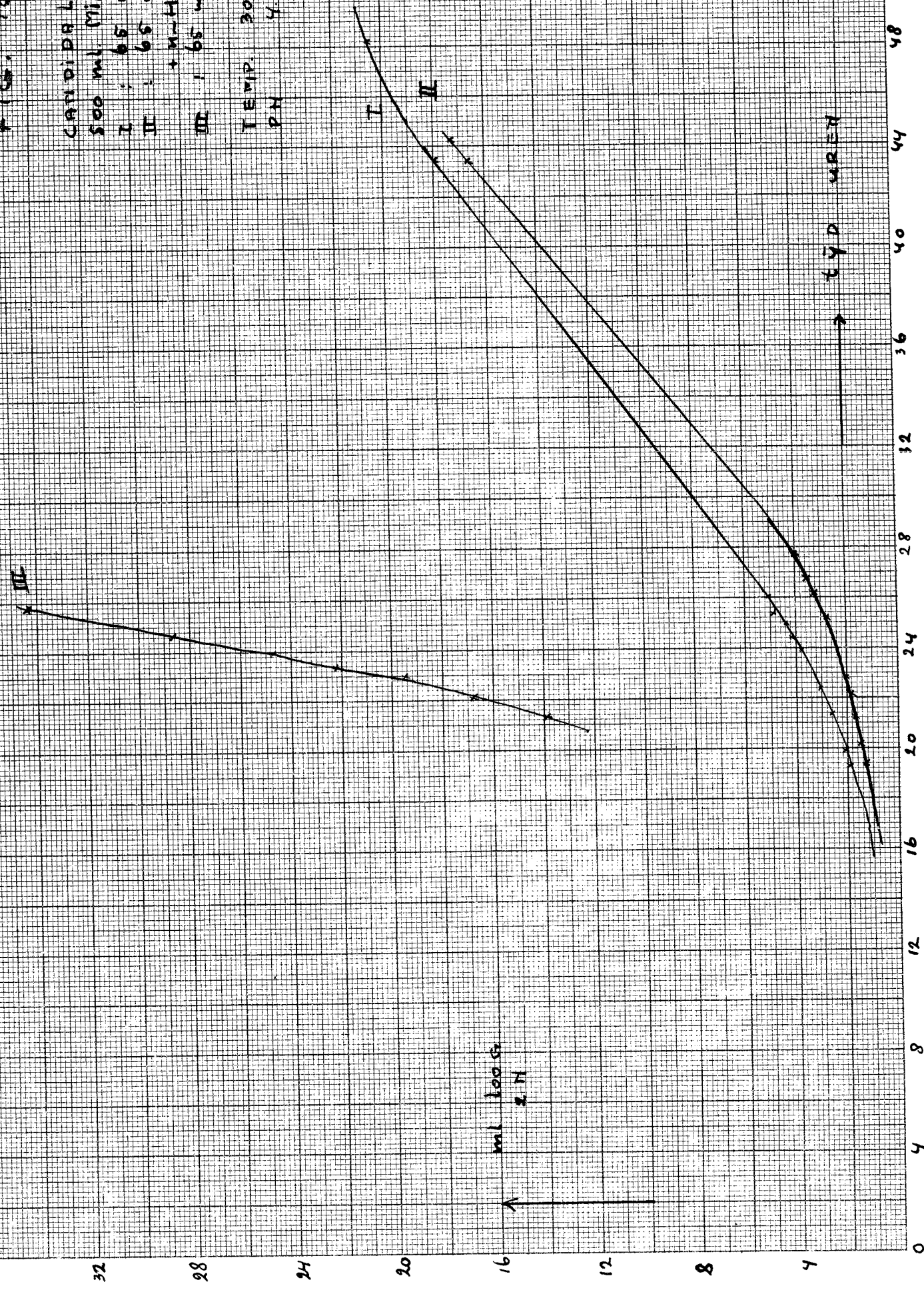


FIG. 11

CANDIDA Lipolytica.  
500 ul. MILEARMEDIUM.  
I 65 ul tWT-90  
II 65 ul n-HEXAD.  
III 65 ul tWT-90  
+ n-HEXADECAN  
TEMP. 30°C  
PH 4.0

48  
44  
40  
36  
32  
28  
24  
20  
16  
12  
8  
4  
0

ml LOGG  
2N  
↑

→ EYD CUR

2 6 10 14 18 22 26

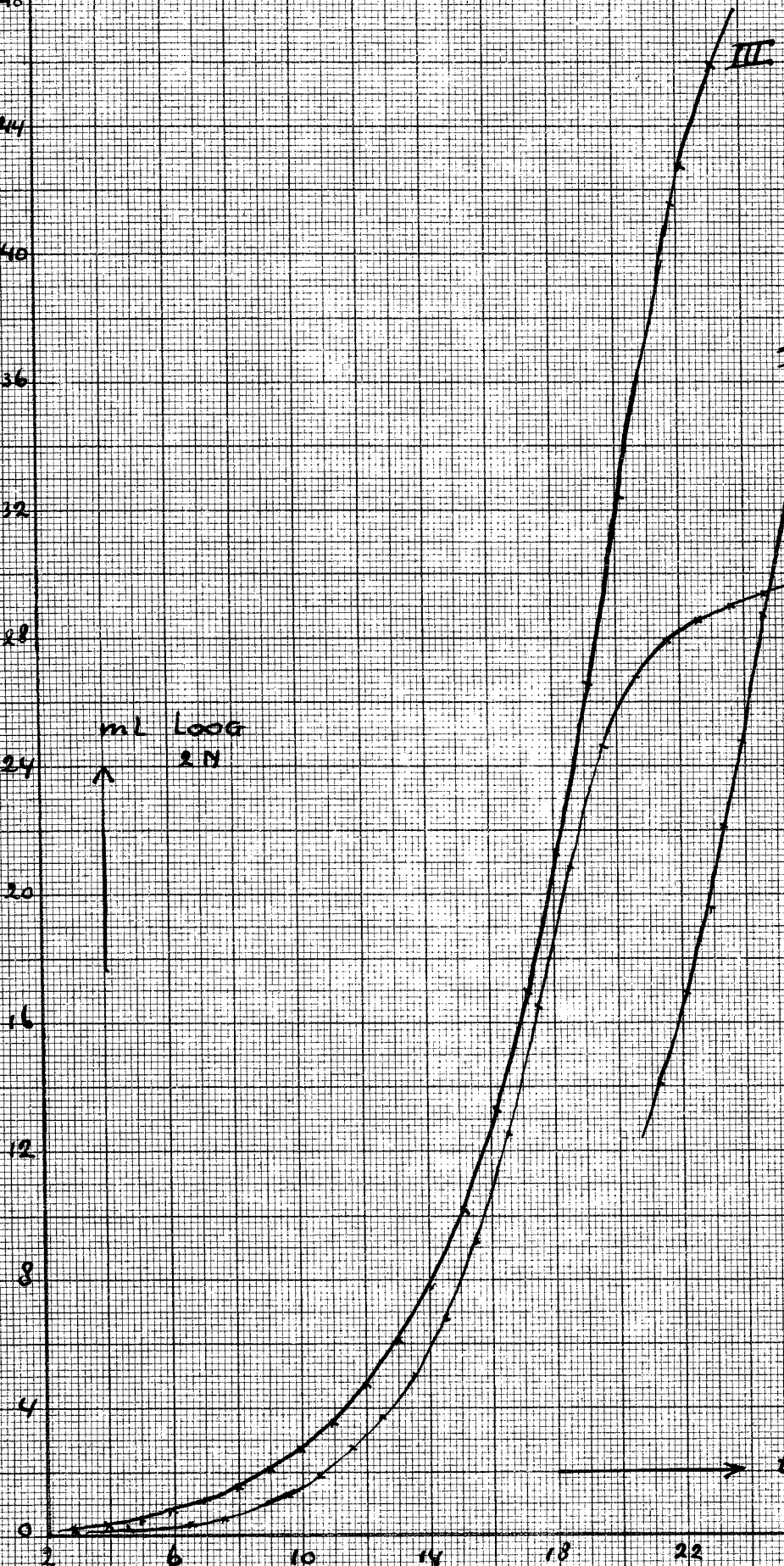


FIG. 12.

DROGE STOP - 6006

CANDIDA Lipolytica  
80 ml LWT-90  
600 ml MILLER MEDIUM  
TEMP. 30°C  
PH 4.0

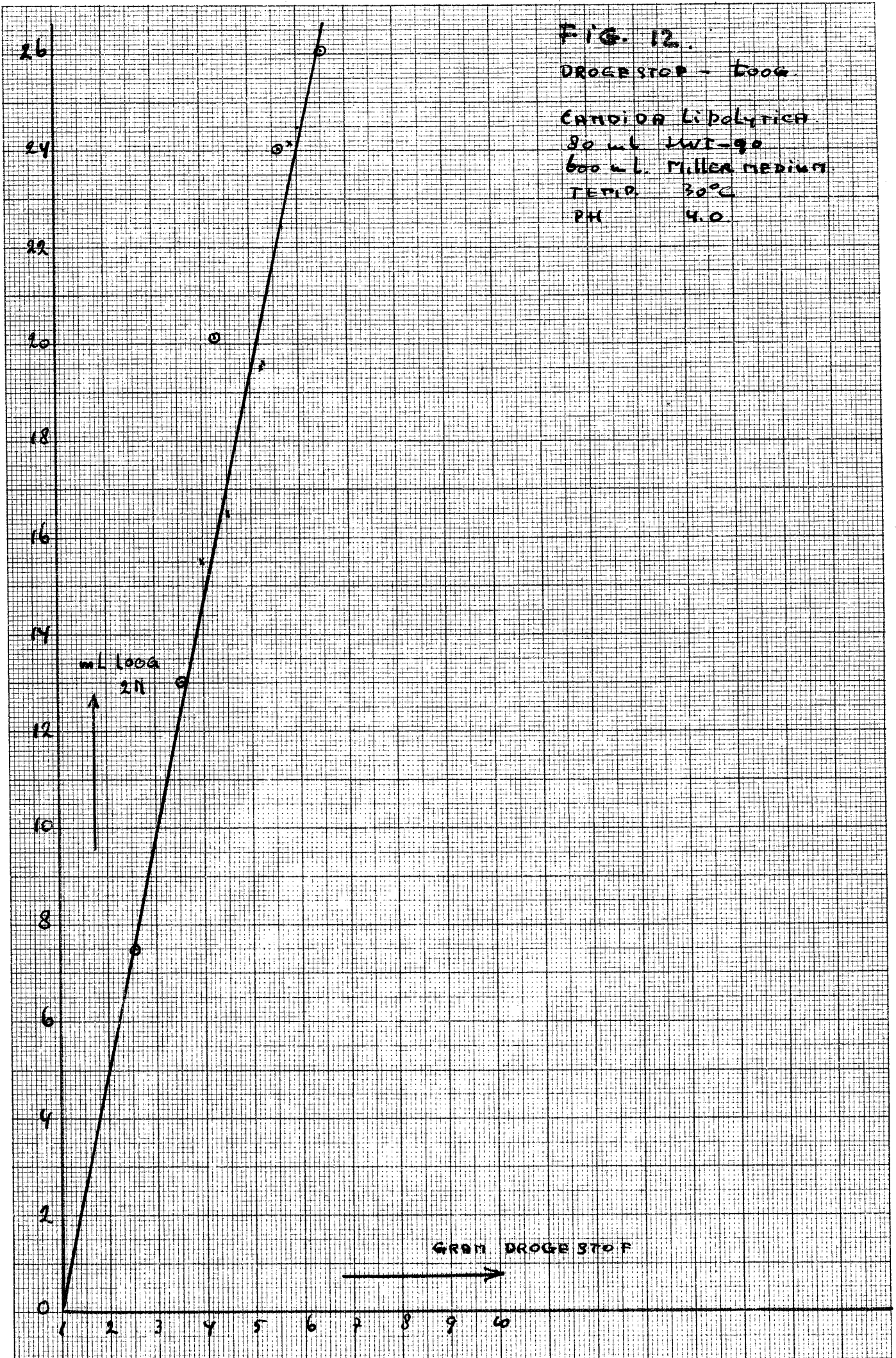


FIG. 13

PROGE STOP - ETD.  
CAND. LIPOLYTICA  
600 ml. MILLER MEDIUM  
80 ml. HVK-55.  
TEMP 30°C.  
PH 4.0

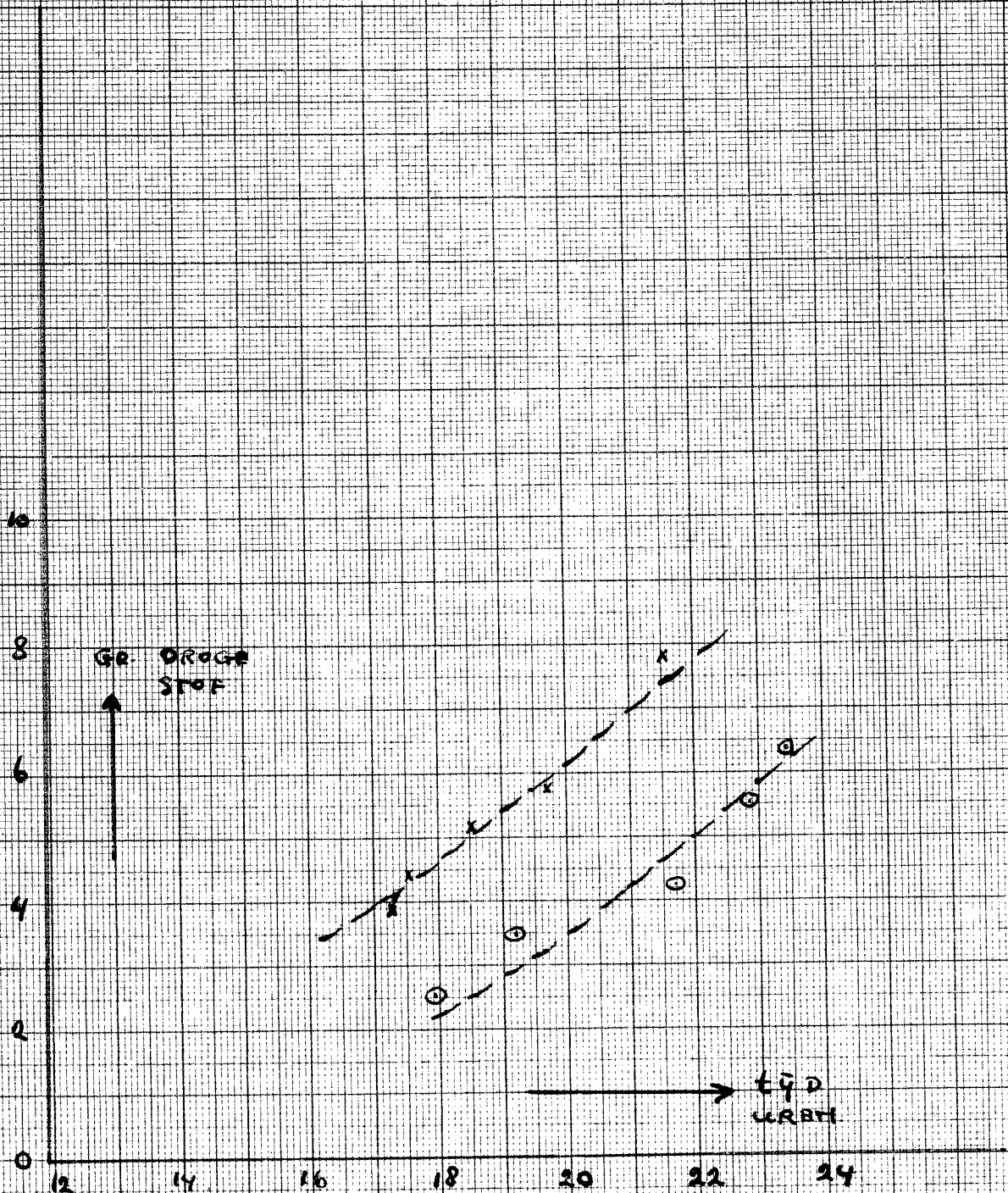


fig. 14

O<sub>2</sub> consumption

665 ml MILLER

DO ml HWI-90

0,47 l/min lucht

ph 4,0

T. 30°C.

CAND. Lipolytica.

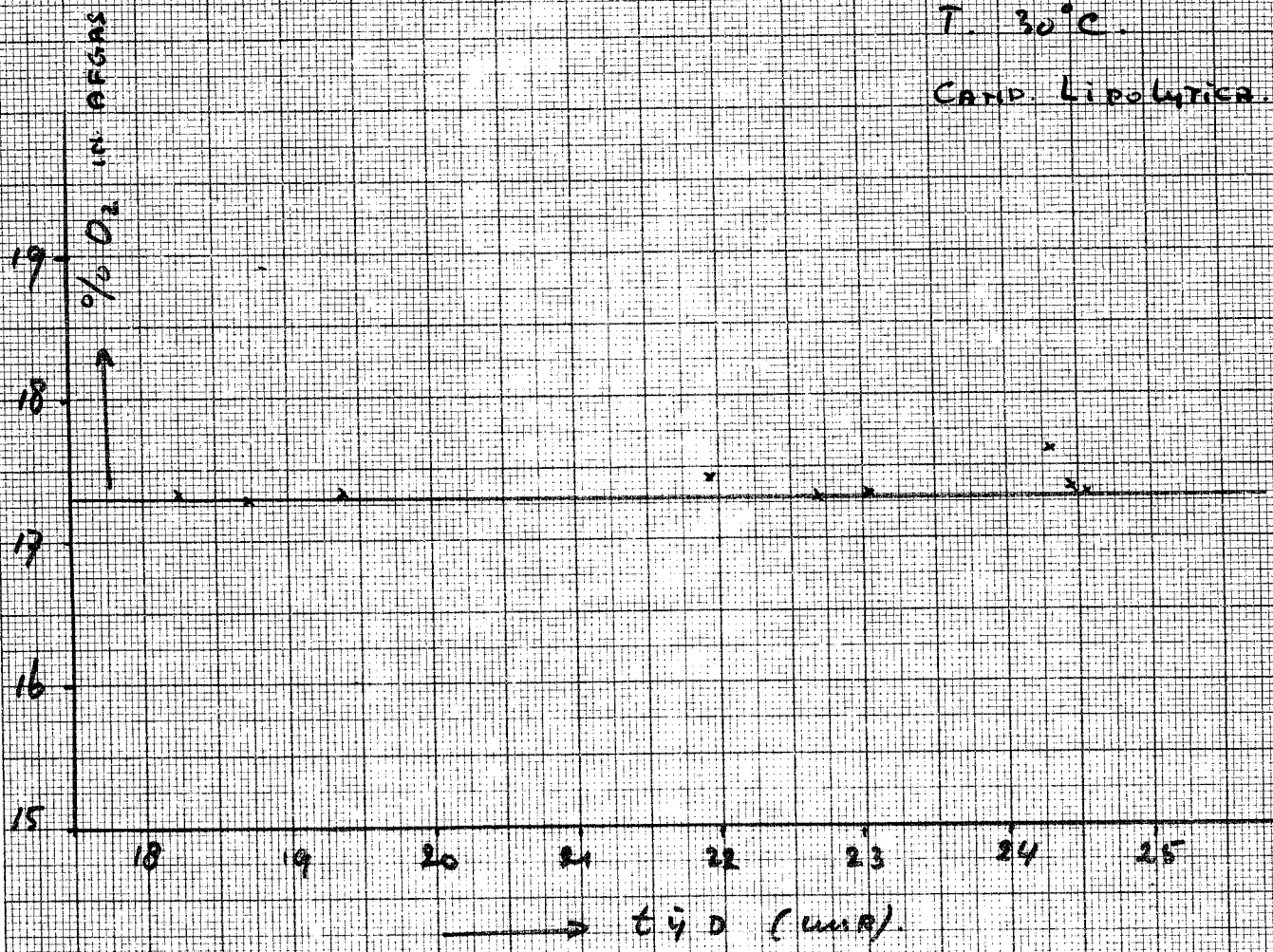


FIG. 15

LOG-tyD CURVE (O<sub>2</sub> CONS.)  
CAND. Lipolytica  
665 ml MILLER  
80 ml H<sub>2</sub>O-55  
0.47 l/min LUCENT  
TEMP. 30°C  
PH 4.0

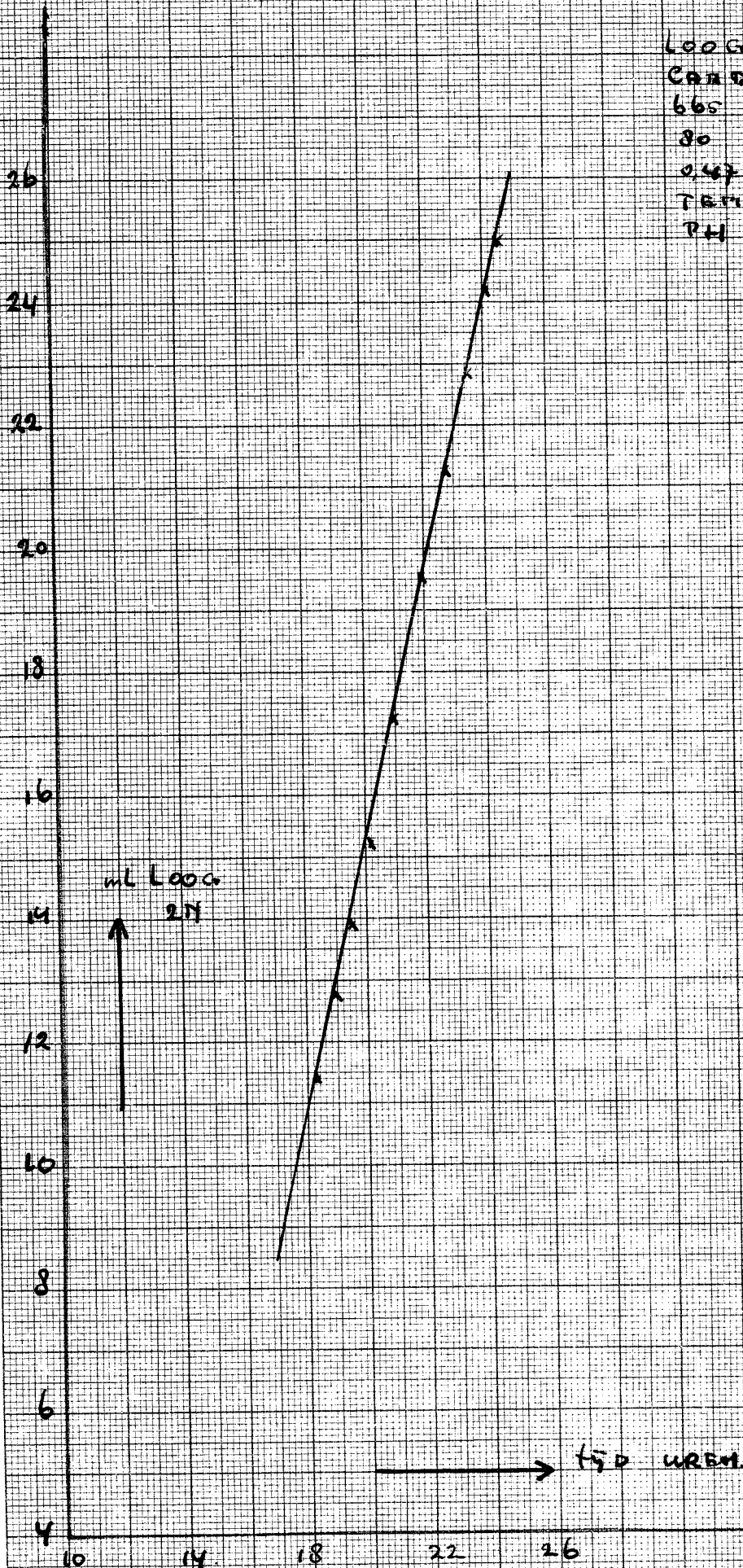


FIG. 16

24

22

20

18

16

14

12

10

8

6

4

2

0

mL LOG<sub>2</sub>  
2N



III

II

RBCIRCULATIO EXP.

CANA Lipolytica  
550 mL MITSUBISHI

I 70 ml ole

II 70 ml ole

III 90 ml ole

TEMP. 30°C

PH 4.0

I

t<sub>90</sub> (min)

0

4

8

12

16

20

24

28

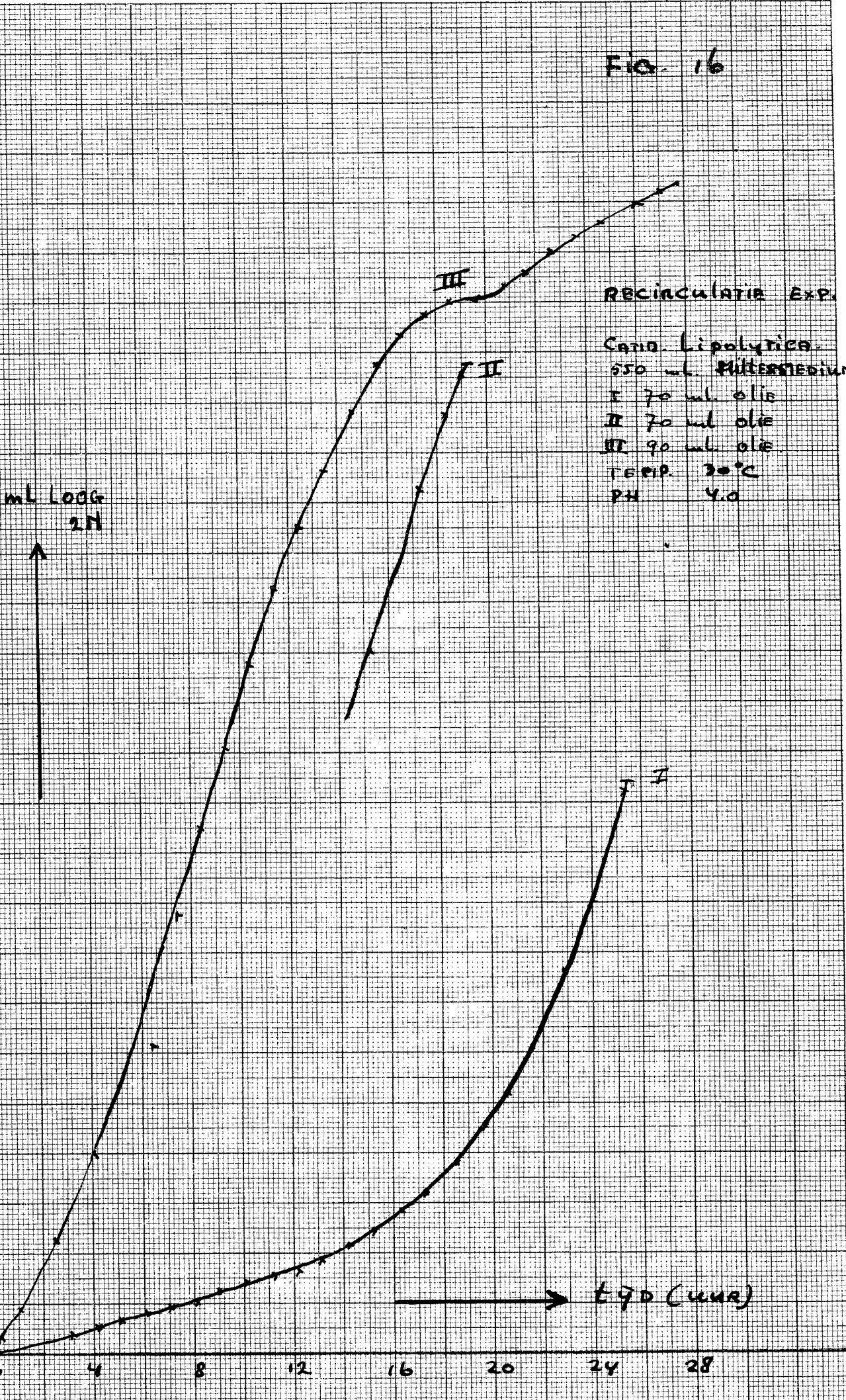




FIG 17

CAND. LIPOLYTICA.  
34 L. MILLER MEDIUM.  
4 L. LIVE-55  
60 l. lucht/min  
TEMP. 30°C  
PH 4.0

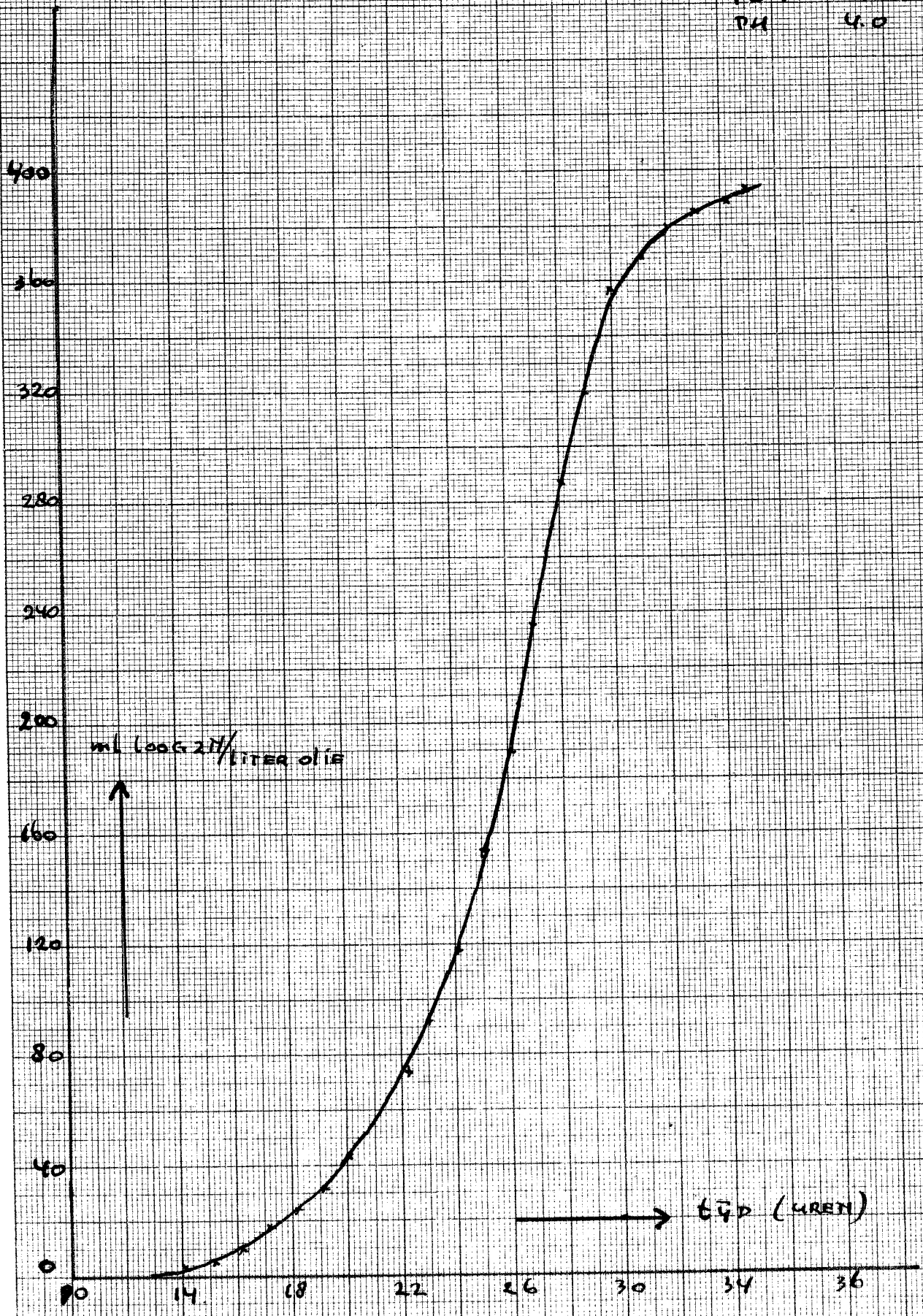


FIG. 18

CARDIOLIPOLYTICA  
 37 L MILLER MEDIUM  
 3 L HVE-SS  
 60 l/min LUCIF.  
 TEMP. 30°C  
 PH 4.0  
 I: LOG-TID CURVE  
 II: O<sub>2</sub> VERBRANK

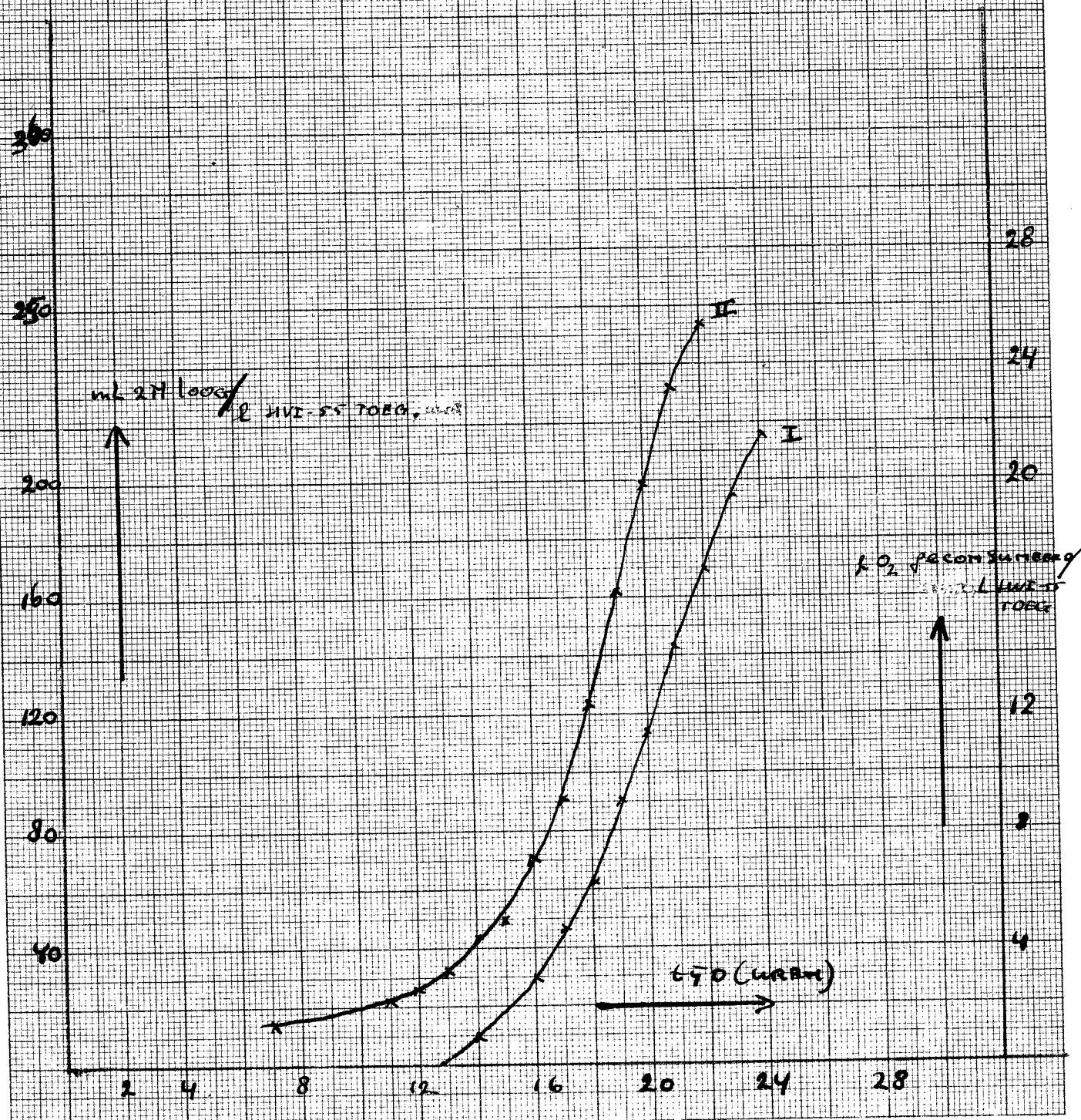


FIG 19

VERBLYFTYD : 7.10 uur.  
 COND. lipolytica  
 24,6 ml MILLER MEDIUM  
 5 ml WIS-SS  
 T : 30°C  
 PH : 4.0  
 60 l/min LUCHT  
 I : LOGG VERBRUK  
 II : O<sub>2</sub> VERBRUK

1 ml 2H LOGG/  
 Lolie, 1000  
 (toec)

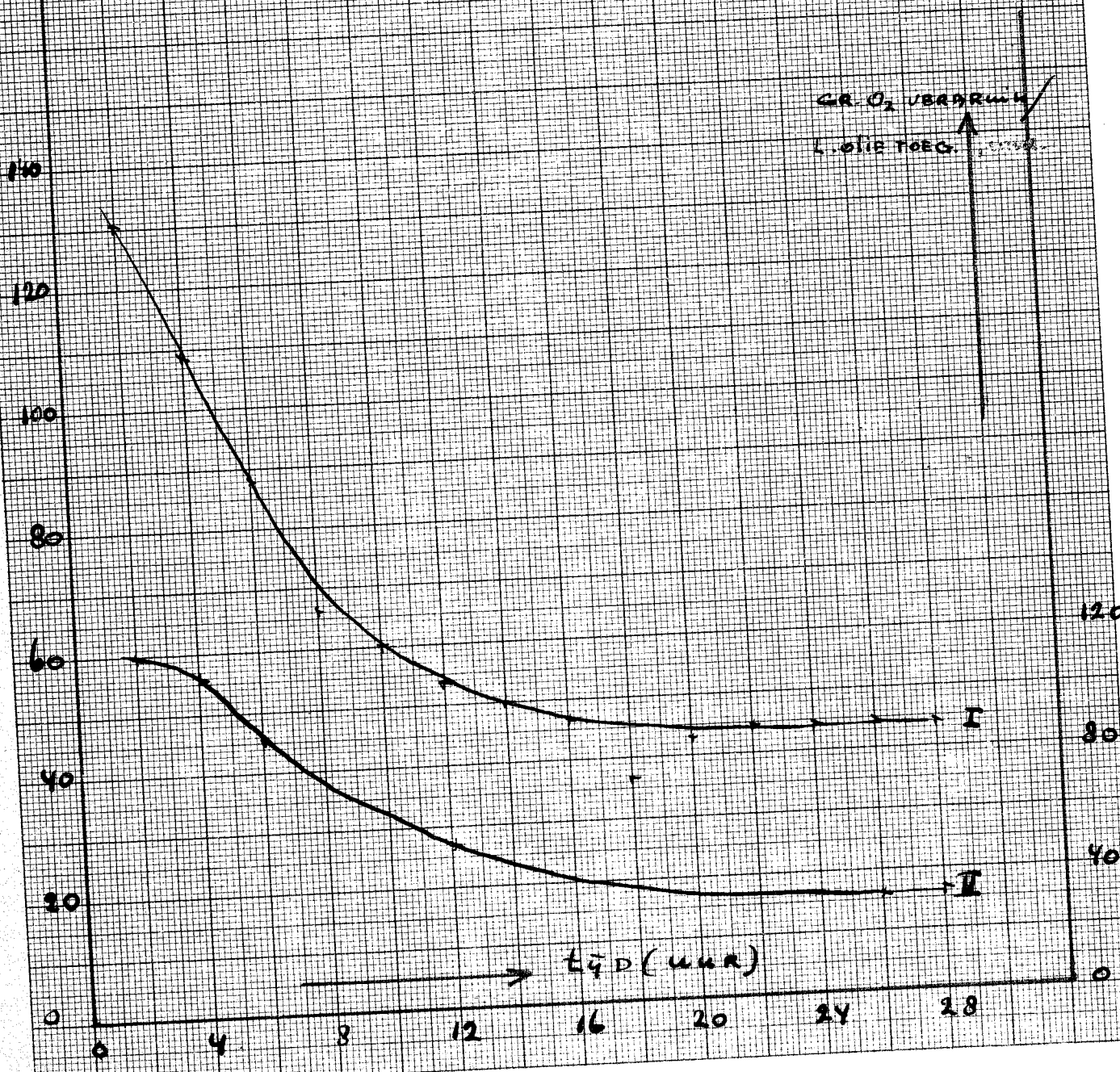


FIG. 20

VERLYFTED 9.25 uur.  
CAND. LIPOLYTICA.  
33.6 l MILLAR MEDIUM.  
6.4 l LVI-SS.  
TEMP. 30°C  
PH 4.0  
50 l/m Lucert.  
I: CO<sub>2</sub> VERBRUIK.  
II: O<sub>2</sub> VERBRUIK.

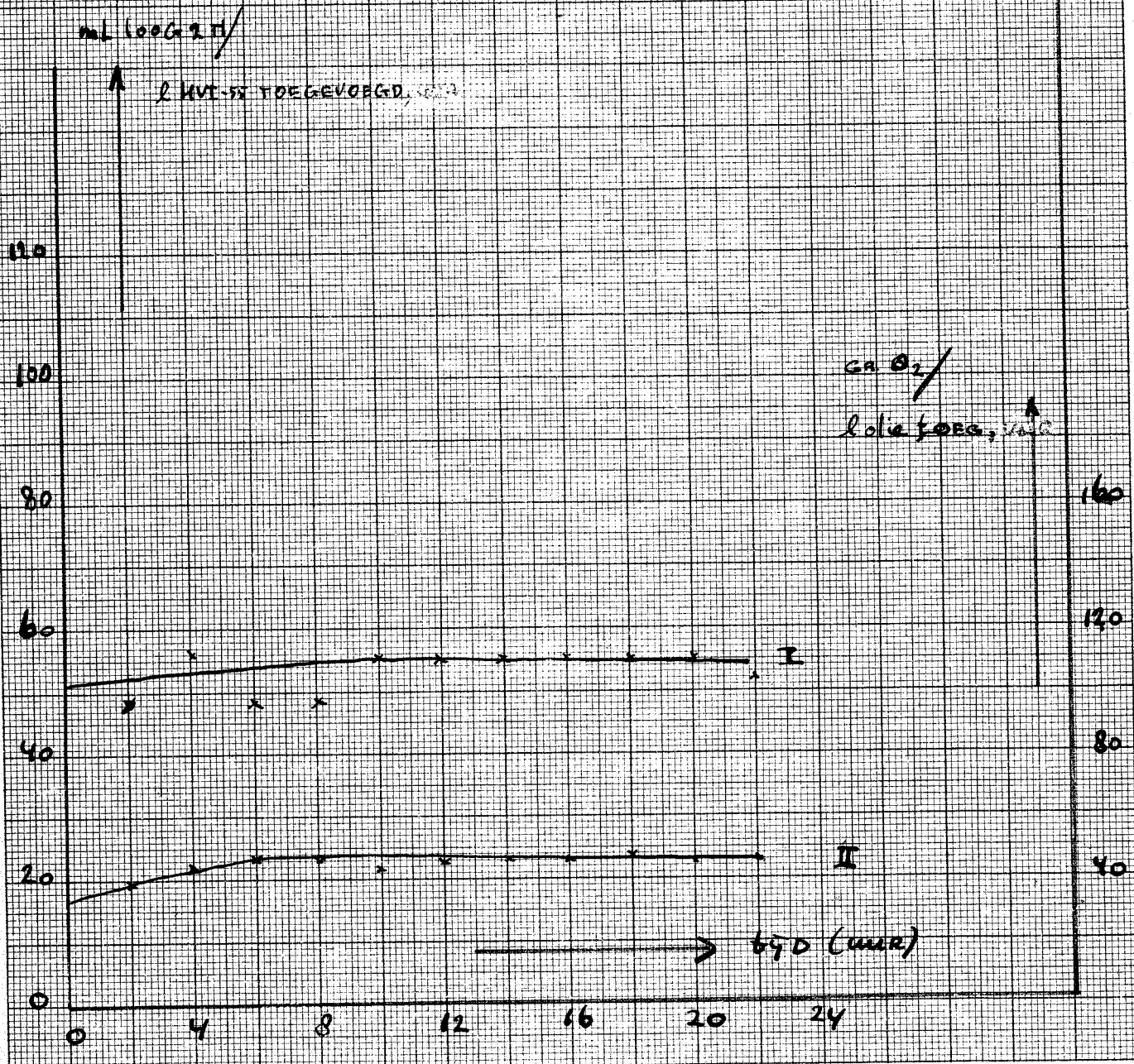


FIG. 21

VERGEGENSTAND: *Nocardia*  
 COND. LIPOLYTICA.  
 36 l MILLER MEDIUM  
 4 l H<sub>2</sub>O-PT.  
 T: 30°C  
 PH: 4.0  
 50 l/ml LUCENT.  
 I: CO<sub>2</sub> VERBRANUK.  
 II: O<sub>2</sub> VERBRANUK.

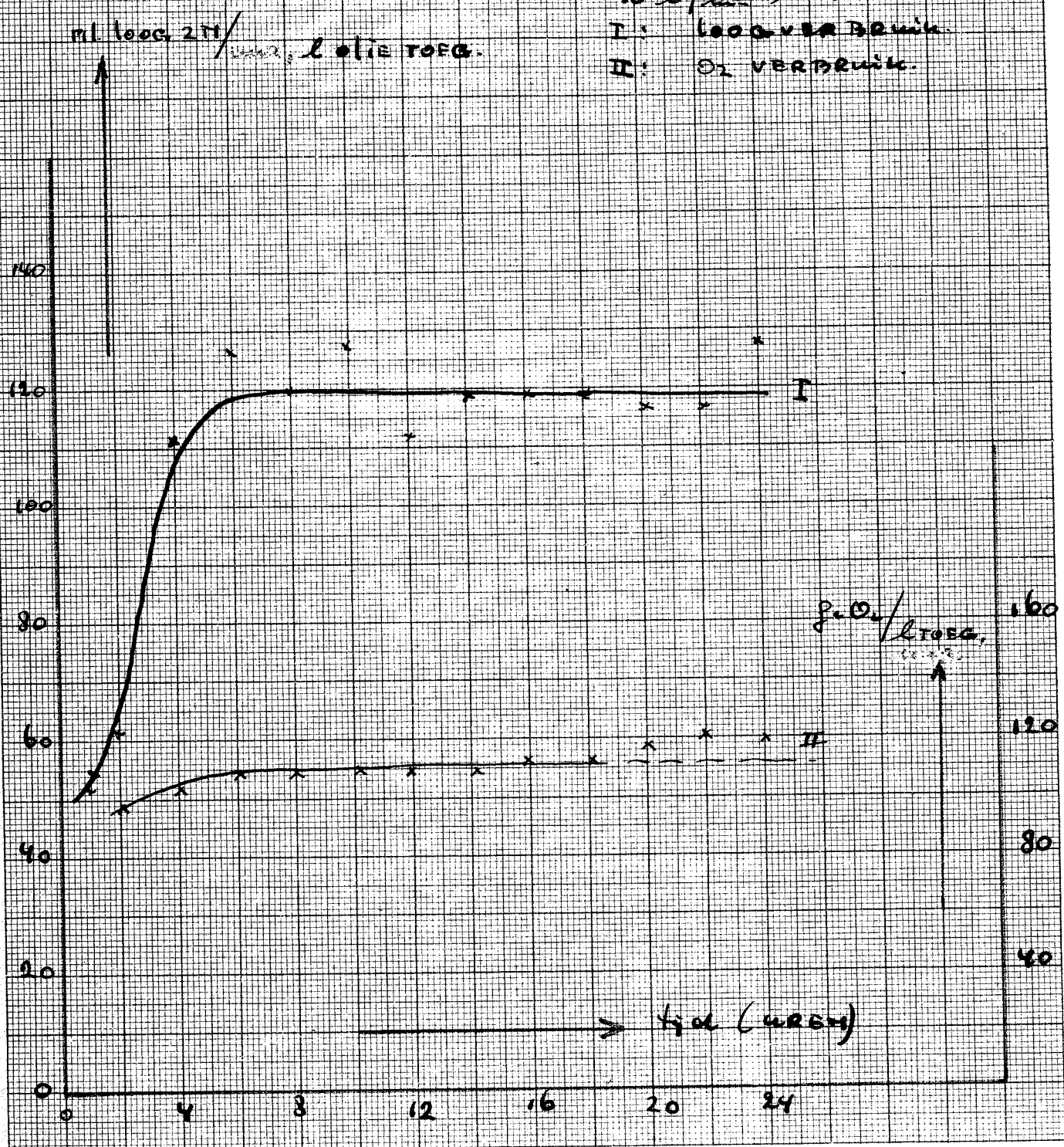


FIG 22

VEROLIFTYD : 16.500  
CAND. LIPOLYTICA  
33,8 l MILLERMEDIUM  
6,2 l HWI-55 olie  
T 30°C  
PH 4.0  
50 l/min LUCHT

