

Analiza životnog ciklusa (LCA) procesa proizvodnje mliječne kiseline iz obnovljivih izvora

Grgić, Filip

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:773133>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki Fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija

Filip Grgić

7088/BT

Analiza životnog ciklusa (LCA) procesa proizvodnje mliječne kiseline iz obnovljivih izvora

ZAVRŠNI RAD

Znanstveno-istraživački projekt: *"Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina" (HRZZ-9158)*

Mentor: doc.dr.sc. Antonija Trontel

Zagreb, 2018.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva na Zavodu za biokemijsko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu u sklopu projekta „*Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina*“ (HRZZ-9158) pod vodstvom doc. dr. sc.. Antonije Trontel i uz pomoć Nenada Marđetka, mag. Ing. bioproc.

Zahvale:

Zahvaljujem se prof.dr.sc. Božidaru Šanteku , doc.dr.sc. Mariju Novaku i doc.dr.sc Antoniji Trontel

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo

Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

Analiza životnog ciklusa (LCA) procesa proizvodnje mliječne kiseline iz obnovljivih izvora

Filip Grgić, 0058207437

Sažetak: U ovom radu izrađena je analiza životnog ciklusa LCA različitih procesa proizvodnje mliječne kiseline iz obnovljivih sirovina (pšenična slama, kukuruzovina) s pomoću homofermentativne bakterije mliječne kiseline *L. amylovorus* DSM 20531^T. Za izradu analize korišteni su rezultati dobivenim tijekom istraživanja na projektu „Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina“ (HRZZ-9158), a za izračun korišten je računalni program SPIonExcell. Specifična parcijalna površina a_{tot} čija vrijednost predstavlja manji ili veći utjecaj na okoliš te ekonomsku i ekološku održivost korištena je za kvantitativni prikaz održivosti procesa. Izračunate parcijalna specifična površina za procese proizvodnje mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame i hidrolizata kukuruzovine iznose $a_{tot}=7411.04 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ i $5354.35 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ proizvedene mliječne kiseline. Kako niža vrijednost parcijalne specifične površine predstavlja veću održivost procesa s ekonomske i ekološke perspektive može se zaključiti da je kukuruzovina pogodnija sirovina za kiselinsku predobradu i za proizvodnju mliječne kiseline. Parcijalna specifična površina za proces simultane hidrolize predobrađene pšenične slame (dobivene alkalnom predobradom) i fermentacije do mliječne kiseline iznosi $a_{tot}=6487,56 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ proizvedene mliječne kiseline. Usporedbom procesa proizvodnje mliječne kiseline iz pšenične slame kiselinskom i alkalnom predobradom može se zaključiti da proces alkalne predobrade ima veću održivost od procesa kiselinske predobrade pšenične slame.

Ključne riječi: ekološka održivost, LCA analiza, lignocelulozne sirovine, mliječna kiselina, SPI indeks

Rad sadrži: 35 stranica, 12 slika, 2 tablice, 55 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor doc.dr.sc. Antonija Trontel

Pomoć pri izradi: Nenad Marđetko, mag. ing. bioproc.

Datum obrane: 19.9.2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Brewing
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Life cycle analysis (LCA) in production of lactic acid from renewable energy sources

Filip Grgić, 0058207437

Abstract: In this work, different lactic acid production processes from lignocellulosic raw material (wheat straw, corn stover) by homofermentative amyolytic lactic acid bacterium *Lactobacillus amylovorus* DSM 20531^T were analyzed and compared by means of process sustainability. The results of the research on "Sustainable production of bioethanol and biochemicals from waste agricultural lignocellulosic raw materials" (HRZZ-9158) were used for the analysis and the process sustainability was determined using SPIonExcell computer program. The specific partial area a_{tot} whose value represents smaller or greater environmental impact as well as economic and environmental sustainability was used for quantization of process sustainability. The calculated partial specific area for lactic acid production processes from wheat straw hydrolyzate and corn stover hydrolyzate are $a_{tot} = 7411.04 \text{ m}^2 / 1 \text{ kg}$ and $5354.35 \text{ m}^2 / 1 \text{ kg}$ of produced lactic acid. As the lower value of a partial specific surface represents a greater sustainability of the process from an economic and ecological perspective, it can be concluded that corn stover is more suitable for acid pretreatment and for the production of lactic acid. The partial specific surface for the simultaneous hydrolysis process of pretreated wheat straw (obtained by alkaline pretreatment) and fermentation to lactic acid is $a_{tot} = 6487.56 \text{ m}^2 / 1 \text{ kg}$ of produced lactic acid. By comparing the process of production of lactic acid from wheat straw by acidic and alkaline pre-treatment it can be concluded that the alkaline precipitation process has greater sustainability than the acid pre-processing of wheat straw.

Keywords: ecologic sustainability, LCA analysis, lignocellulose raw materials, lactic acid, SPI index

Thesis contains: 35 pages, 12 figures, 2 tables, 55 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Antonija Trontel

Technical support and assistance: Nenad Marđetko, mag. ing. bioproc.

Defence date: September 19th 2018

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Lignocelulozne sirovine.....	2
2.1.1. Predobrada lignocelulozних sirovina.....	3
2.2. BIOKEMIKALIJE.....	5
2.2.1. Mliječna kiselina.....	5
2.2.2. Proizvodnja mliječne kiseline na lignoceluloznim sirovinama.....	6
2.3. Analiza životnog ciklusa.....	8
2.3.1. Određivanje svrhe i opsega analize (eng. "Goal and scope definition").....	10
2.3.2. . Faza popisivanja i analize podataka (eng. "Life cycle inventory analysis", LCA). 10	
2.3.3. Određivanje utjecaja na okoliš (eng. "Life cycle impact assessment" – LCIA).....	11
2.3.4. Faza interpretacije (eng. "Life cycle interpretation").....	11
2.3.5. Alati za izradu LCA analize.....	11
3. MATERIJALI I METODE.....	14
3.1 Računalni program SPionExcel 2.0.....	14
3.2. Analiza životnog ciklusa (LCA).....	17
3.3. Izračun Indeksa održivosti razvoja (SPI) pomoću programa SPionExcel 2.0.....	18
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	20
4.1. Proizvodnja mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame dobivenog kiselinskom predobradom u visokotlačnom reaktoru.....	20
4.2. Proizvodnja mliječne kiseline iz hidrolizata kukuruzovine dobivenog kiselinskom predobradom u visokotlačnom reaktoru.....	23
4.3. Simultana hidroliza i fermentacija predobrađene pšenične slame dobivene alkalnom predobradom u visokotlačnom reaktoru do mliječne kiseline.....	25
4.4. Izračun i usporedba Indeksa održivosti procesa (SPI) za procese proizvodnje bio-etanola iz obnovljivih izvora sirovina.....	27
5. ZAKLJUČCI.....	30
6. POPIS LITERATURE:.....	31

1. UVOD

Proizvodnja biopolimera iz različitih sirovina kao što PHA, sukcininska kiselina, mliječna kiselina, škrob, celuloza ima uzlazni trend, a europsko tržište drži oko 20% svjetske proizvodnje biopolimera. Mliječna kiselina ima ogroman potencijal u proizvodnji biopolimera polilaktata (eng. Polylactic acid; PLA). Na industrijskoj razini mliječna kiselina se proizvodi fermentacijom glukoze i/ili saharoze s pomoću različitih vrsta bakterija šaržnim postupkom (Anonymus 1, 2012; González et al., 2007). Kako bi se povećala isplativost proizvodnje biopolimera iz mliječne kiseline potrebno je smanjiti troškove procesa proizvodnje mliječne kiseline. Postoji nekoliko dostupnih ekonomskih studija za različite bioprocese proizvodnje mliječne kiseline (Åkerberg, Zacchi, 2000; González i sur., 2007; Sikder i sur., 2012). Smatra se da sirovina sačinjava više od 90% troškova proizvodnje mliječne kiseline (Sikder i sur., 2012), te se stoga naglasak stavlja na smanjenje troškova sirovina i optimiranje fermentacijskog procesa. U Europskoj uniji se u značajnim količinama proizvode šećerna repa i žitarice (kukuruz, pšenica) (Berg, 2004; Šantek i sur., 2010). Nusproizvodi navedenih poljoprivrednih kultura su izluženi rezanci šećerne repe, te slama i kukuruzovina. Navedene nusproizvodi predstavljaju jeftinu sirovinu za proizvodnju mliječne kiseline. Procjena životnog ciklusa temelj je za procjenu industrijskih aktivnosti u smislu njihove održivosti (Koller i sur., 2013).

U ovom radu provedena je analiza životnog ciklusa procesa proizvodnje mliječne kiseline iz različitih sirovina. Rezultati korišteni za proračun su dobiveni tijekom istraživanja na projektu „Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina“ (HRZZ-9158). Iz dostupnih podataka izračunati su indeksi održivog razvoja (eng. Sustainable process index; SPI) i međusobno uspoređeni.

2. TEORIJSKI DIO

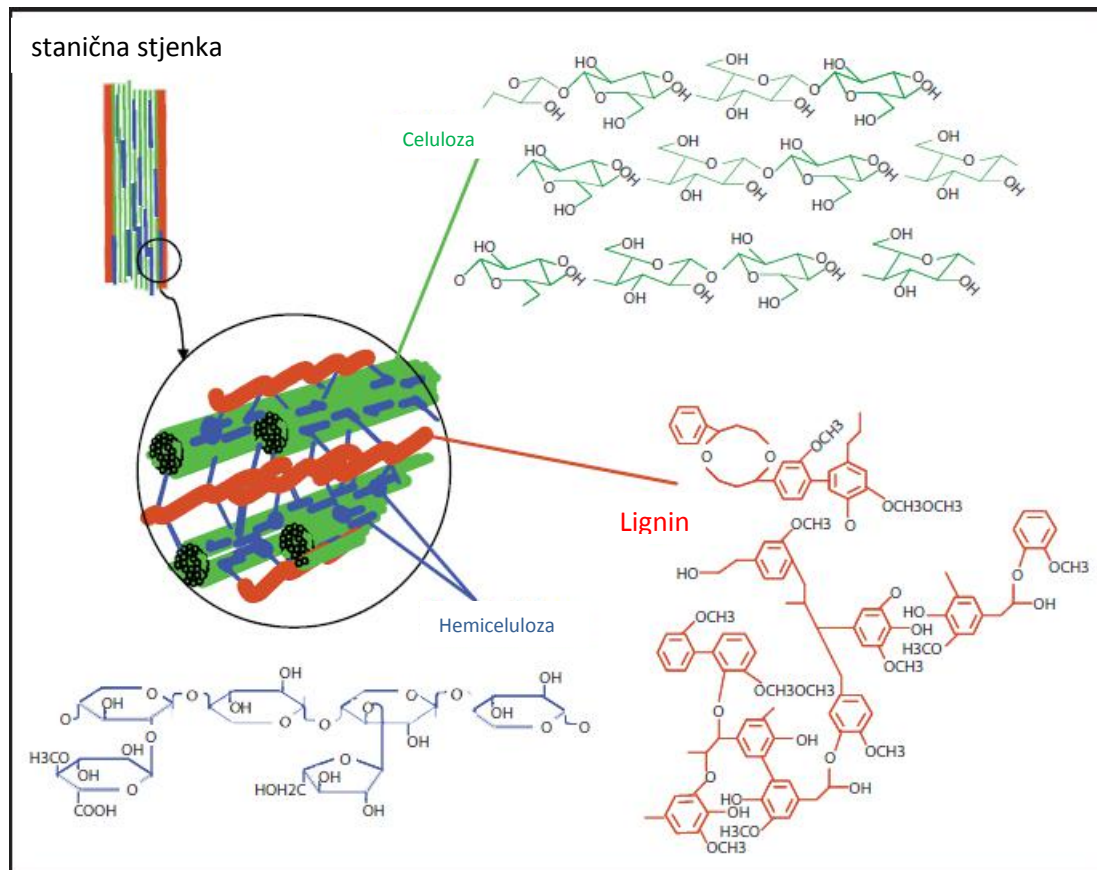
2.1. Lignocelulozne sirovine

Sirovine prve generacije (sirovine bogate šećerom i škrobom-šećerna trska, repa, kukuruz) uzrokuju porast cijene prehrambenih proizvoda i dodatno doprinose financijskim i društveno-političkim nestabilnostima nerazvijenih regija trećeg svijeta što dovodi do sve širih istraživanja alternativnih izvora šećera (Kullander, 2010; Valentine i sur., 2012). Lignocelulozne sirovine kao što su klip kukuruza, oklasci kukuruza, slama žitarica, biomasa šećerne trske-bagasa i dr. nusproizvodi poljoprivredne industrije pripadaju sirovinama druge generacije (Saini i sur., 2015).

Lignocelulozne sirovine su najrasprostranjeniji globalni izvor biomase (180 • 10⁹ tona godišnje; Mäki-Arvela i sur., 2011), a najobilniji lignocelulozni otpadni materijali u svijetu su rižina slama, pšenična slama, bagasa šećerne repe) i kukuruzovina (128,02 milijun t/godišnje; Saini i sur., 2014).

Sadržaj celuloze, hemiceluloze i lignina u sirovini ovisi o vrsti lignocelulozne sirovine (Abdel-Rahman i sur., 2011). Celuloza (Slika 1.) je linearni polimer anhidroglukoznih jedinica povezanih β -1,4-glikozidnim vezama. Ksilan je najzastupljeniji polimer u hemicelulozi (Demirbas, 2009; Pandey, 2011; Dutta i sur., 2012). On se sastoji od monomera ksiloza koje su povezane β -1,4-glikozidnim vezama.

Lignin je kompleksni polimer koji sadrži hidroksilirane i metoksilirane fenilpropanoide. Lignin poboljšava mehaničku otpornost, hidrofobnost stanične stijenke i time pridonosi boljoj obrani protiv patogena.



Slika 1. Struktura lignoceluloze (preuzeto sa <https://biofuel.webgarden.com/sections/blog>).

2.1.1. Predobrada lignoceluloznih sirovina

Predobrada sirovina je potrebna kako bi se promijenio sastav i struktura sirovina s ciljem: izdvajanje lignina, efikasne enzimske hidrolize (osigura se dostupnost celuloze celulaznim enzimima te lignoceluloze hemicelulazama), brze fermentacije bez inhibicije, smanjenje energetske troškova za miješanje i izdvajanje proizvoda, smanjenje troškova zbrinjavanja otpada. Metode predobrade dijele se na: fizikalne (mljevenje, zračenje; gama zrake, ekstruzija, ekspanzija, piroliza, tretman parom, SO₂), kemijske (kisljine; klorovodična, dušična, fosfatna, sumporna, lužine; amonijak, natrij hidroksid, organska otapala, ionske tekućine, ozonoliza), fizikalno-kemijske, biološke (saprofitne gljive, *Phanerochaeta chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathustercolerus*) i enzimske metode (Rezić, 2012) Prednosti i nedostaci pojedinih vrsta predobrada prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Prednosti i nedostaci pojedinih metoda predobrade lignoceluloznih sirovina (preuzeto iz Rezić, 2012).

Metoda predobrade	Prednosti	Nedostaci
Fizikalna metoda	Povećanje površine i pora lignocelulozne sirovine, smanjuje kristaliničnost celuloze, djelomično hidrolizira hemicelulozu	Visok utrošak energije, slabo izdvajanje lignina
Kemijska predobrada	Povećanje površine i pora lignocelulozne sirovine, djelomična delignifikacija, smanjuje stupanj polimerizacije, djelomično hidrolizira hemicelulozu, dobra efikasnost	Korištenje agresivnih kemikalija te potreba za njihovim zbrinjavanjem, potrebna procesna oprema otporna na djelovanje kemikalija, potrebno provesti neutralizaciju, visoki operativni i kapitalni troškovi
Fizikalno kemijska	Povećanje površine i pora lignocelulozne sirovine, djelomična delignifikacija, smanjuje stupanj polimerizacije, djelomično hidrolizira hemicelulozu, dobra efikasnost	Korištenje agresivnih kemikalija te potreba za njihovim zbrinjavanjem, potrebna procesna oprema otporna na djelovanje kemikalija, potrebno provesti neutralizaciju, visoki operativni i kapitalni troškovi, reakcija hidrolize celuloze ireverzibilna
Biološka predobrada	Potpuna delignifikacija, djelomična hidroliza celuloze, smanjenje stupnja polimerizacije, mali utrošak energije, efikasna hidroliza, nepotrebno korištenje agresivnih kemikalija	Problem kontaminacije

2.2. Biokemikalije

Biokemikalije su proizvodi dobiveni iz biomase odnosno biorazgradivog dijela proizvoda, otpada ili ostataka iz poljoprivrede, šumskog otpada i biorazgradivog dijela industrijskog i gradskog otpada. Ovisno o vrsti korištene biomase biokemikalije možemo podijeliti u tri generacije. Biokemikalije dobivene iz prve generacije biomase su proizvedene iz biomase bogate šećerom i škrobom. Druga generacija biomase koristi lignocelulozne sirovine a treća generacija koristi biomasu algi za proizvodnju biokemikalija.

Različitim tipovima bioprocasa možemo proizvesti raznovrsne biokemikalije: vitamine (riboflavin, askorbinska kiselina, cijanokobalamin), organska otapala (etanol, butanol, aceton), enzime (proteaze, lipaze, celulaze), hormone, aminokiseline (lizin, glutaminska kiselina, teonin, asparagin), organske kiseline (octena, mliječna, limunska kiselina) i antibiotike (Smith, 2009; Rehm i sur., 1993; Marić, 2000).

2.2.1. Mliječna kiselina

Mliječna kiselina ($\text{CH}_3\text{-CH}(\text{OH})\text{-COOH}$, 2-hidroksipropanska kiselina) vrlo je raširena kiselina u prirodi. Prvi ju je izolirao švedski kemičar C. W. Scheele 1780. godine, a 1881. godine je pokrenuta industrijska proizvodnja u SAD-u, a nešto kasnije i u Europi (Myers, 2003; Narayanan i sur., 2004). Blago je kiselog okusa i klasificirana je GRAS statusom (eng. Generally Recognized As Safe) što omogućava njezinu primjenu u prehrambenoj industriji. Koristi se kako bi se prehrambeni proizvodi aromatizirali, puferirali te zakiselili što dovodi do inhibicije rasta nepoželjnih mikroorganizama i na taj način se produljuje trajnost proizvoda. Osim toga, mliječna kiselina se koristi i u kozmetičkim i farmakološkim proizvodima te pronalazi svoju primjenu u medicini, farmaciji, tekstilnoj i kemijskoj industriji (Abdel-Rahman i sur., 2011). U kemijskoj industriji mliječna kiselina je važna ishodišna molekula zbog svoje karboksilne i hidroksilne skupine koje omogućavaju sintezu raznih kemijskih spojeva poput propanske kiseline, octene kiseline, acetaldehida, 2,3-pentandiona i mnogih drugih kemijskih spojeva(). Također, u novije vrijeme se koristi i za proizvodnju biopolimera polilaktata (PLA, eng. *P*oly*l*actic *a*cid) (). Mliječna kiselina postoji u dva stereoizomerna oblika, L-(+)-mliječna kiselina i D-(-)-mliječna kiselina (Gao i sur., 2011; Datta i Henry, 2006; Abdel-Rahman i sur., 2013; Lopes i sur., 2012).

2.2.2. Proizvodnja mliječne kiseline na lignoceluloznim sirovinama

Lignocelulozni materijali koji se mogu koristiti za proizvodnju mliječne kiseline su slama, kukuruzovina, kukuruzni oklasci, bagasa šećerne trske i šećerne repe, ostaci dobiveni tijekom proizvodnje papira i ostaci iz drvno-prerađivačke industrije, trava, lišće i dr. (Cano i sur., 2018)

Danas se gotova sva mliječna kiselina proizvodi mikrobnom fermentacijom iz obnovljivih sirovina. Na ovaj način se pomoću različitih sojeva bakterija mliječne kiseline može proizvesti smjesa stereoizomera, ali i stereospecifična, L-(+)-mliječna kiselina ili D-(-)-mliječna kiselina. Osim bakterija mliječne kiseline u biotehnološkoj proizvodnji koriste se i plijesni iz rodova *Mucor*, *Monilia* i *Rhizopus* od kojih je najpoznatiji *Rhizopus oryzae* (John i sur., 2007). Uz navedene mikroorganizme mogu se koristiti i genetički modificirani kvasci (npr. *Escherichia coli* ili *Corynebacterium glutamicum*) (). Najčešće se primjenjuju bakterije mliječne kiseline koje pripadaju rodovima *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* i *Leuconostoc* (Abdel-Rahman i sur., 2013; Juturu i Wu, 2015).

U industrijskom mjerilu mliječna kiselina uglavnom se proizvodi iz ugljikohidrata glukoze, saharoze, laktoze i škroba/maltoze koji se dobivaju iz šećerne repe, melase, sirutke te različitih škrobnih sirovina kao što su kukuruz, pšenica, ječam, krumpir ili manioka (Ghaffar i sur., 2014) . Navedene sirovine koriste se i u prehrani životinja i ljudi što može predstavljati potencijalni problem. Zbog toga je potrebno pronaći široko dostupne sirovine po relativno niskoj cijeni. Osim toga, poželjne karakteristike sirovina su niska koncentracija kontaminanata, dostupnost tijekom cijele godine te proizvodnja na sirovinama koje omogućuju visoku produktivnost i konverziju supstrata u proizvod te bez proizvodnje nusproizvoda.

Lignocelulozni materijali koji se dobivaju kao nusproizvod ili otpadni proizvod iz prehrambene industrije, poljoprivredne proizvodnje raznih usjeva i šumarske industrije predstavljaju jeftin i obnovljiv izvor sirovine za biotehnološku proizvodnju mliječne kiseline (Hu i sur., 2016).

Postoji mnogo različitih varijacija proizvodnje ovisno o primjenjenoj sirovini i radnom mikroorganizmu te načinu izolacije i željenoj čistoći proizvoda.

Bioreaktori za proizvodnju mliječne kiseline su najčešće od nehrđajućeg čelika visoke kakvoće. Potrebno je provoditi sterilizaciju hranjive podloge. Osim u slučaju prirodno zaštićenih procesa kao što je proizvodnja pomoću termofilne bakterije *Bacillus coagulans*

gdje je uslijed visoke temperature i niskog pH značajno smanjena mogućnost kontaminacije (Abdel-Rahman i sur., 2013).

Optimalan pH za proizvodnju mliječne kiseline ovisi o radnom mikroorganizmu. Za bakterije mliječne kiseline iznosi između 5 i 6. pH vrijednost se može postaviti na početku procesa i pustiti da se snižava tijekom fermentacije uslijed proizvodnje mliječne kiseline. Međutim, istraživanja su pokazala da je produktivnost procesa veća ako se tijekom samog procesa korigira pH vrijednost (Abdel-Rahman i sur., 2013). Korekcija pH vrijednosti se može provoditi ekstrakcijom mliječne kiseline, elektrodijalizom ili titracijom s CaCO_3 , vodenom otopinom amonijaka ili nekom lužinom kao što su $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ili NaOH (Evangelista, 1994). Tradicionalno se dodavao $\text{Ca}(\text{OH})_2$ s kojim se tijekom regeneracije mliječne kiseline dobivala velika količina CaSO_4 . Puno bolja opcija je amonijak pri čemu nastaje gnojivo $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Isto kao i kod pH, optimalna temperatura ovisi o radnom mikroorganizmu.

Za dobru proizvodnju mliječne kiseline, potrebno je uzgajati radni mikroorganizam u povoljnim uvjetima koji omogućavaju rast i vijabilnost stanica za što je potreban dodatak nutrijenata u hranjivu podlogu. Dušik se u hranjivu podlogu dodaje u obliku peptona, kvašćevog ekstrakta, uree ili amonijevog sulfata, dok se minerali najčešće dodaju u obliku soli (MgSO_4 , MnSO_4 , FeSO_4). Trošak samih nutrijenata čini velik udio cijene hranjive podloge pa se istražuje primjena jeftinijih izvora nutrijenata kao i primjena mikroorganizama koji ne trebaju skupe hranjive podloge kao što je plijesan *Rhizopus oryzae*.

Iako se najčešće proizvodnja mliječne kiseline provodi s čistom kulturom, mogu se koristiti i mješovite kulture. Dobre rezultate daje mješovita kultura laktobacila s kvascem *Kluyveromyces marxianus*. Također, kod uzgoja na lignoceluloznim i škrobnim sirovinama može se koristiti mješovita kultura dva mikroorganizama od kojih jedan mikroorganizam provodi hidrolizu polimera, a drugi fermentaciju.

Mliječna kiselina se najčešće proizvodi šaržnim postupkom, no, postoje i primjeri proizvodnje u šaržnim procesima s pritokom supstrata (Roukas i Kotzekidou, 1998) kao i u polukontinuiranim i kontinuiranim procesima (Borzani i sur., 1993; Ohashi i sur., 1999; Tehayadi i Cheryan, 1995; Zayed i Winter, 1995). Pozitivna strana kontinuiranih procesa je to što se reciklacijom radnog mikroorganizma u samom biorektoru može postići puno viša koncentracija stanica. U većini istraživanja kontinuirani procesi daju veću produktivnost i nižu konverziju supstrata u produkt. Kod proizvodnje mliječne kiseline na lignoceluloznim ili škrobnim sirovinama koje se moraju hidrolizirati prije fermentacije, ova dva koraka se mogu provoditi zasebno ili simultano što je već spomenuto. Simultana saharifikacija i fermentacija objedinjuju enzimsku hidrolizu i fermentaciju. Ovaj postupak je široko rasprostranjen u

proizvodnji etanola, a u novije vrijeme pronalazi svoju primjenu u proizvodnji mliječne kiseline. Posebna vrsta SSF je SSCF (eng. Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation) koji se koristi kod proizvodnje mliječne kiseline na lignoceluloznim sirovinama. U tom procesu dolazi do fermentacije i hidrolizata celuloze i hemiceluloze pa je potreban mikroorganizam koji ima sposobnost previranja i heksoza i pentoza.

Tablica 2. Proizvodnja mliječne kiseline na različitim sirovinama (preuzeto od Abdel-Rahman i sur.,2011)

Sirovina	Mikroorganizam	Vrsta procesa	γ (mliječna kiselina) [g/L]	$Y_{p/s}$ [g/g]	Produktivnost [g/L·h]
Melasa	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	šaržni	166,0	0,95	4,2
Sirutka	<i>Lactobacillus casei</i> NRRL B-441	šaržni	102,9	0,94	2,2
Ječmeno brašno	<i>Lactobacillus amylovorus</i> ATCC 33622	šaržni (SSF)	93	0,52	2,0
Hidrolizirano pšenično brašno	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC 9649	šaržni	106	0,82	1,6
Manioka	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIM 2025	šaržni	81,9	0,94	1,4
Kukuruzni klip	<i>Lactobacillus brevis</i>	šaržni	39,1	0,70	0,8
Kukuruzni klip	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ZU-S2	šaržni	48,7	0,95	1,0
Kukuruzni klip	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ZU-S2	kontinuirani	44,2	0,92	5,7
Pšenična slama	<i>Bacillus coagulans</i> DSM 2314	šaržni s pritokom S	40,7	0,263	/
Kukuruzni klip	<i>Rhizopus</i> sp. MK-96-1196	šaržni	24,0	0,24	0,3

2.3. Analiza životnog ciklusa

Analiza životnog ciklusa (eng. "Life Cycle Analysis"; LCA) je metodološki okvir za procjenjivanje utjecaja životnog ciklusa proizvoda dobivenog različitim tehnoloških procesima i operacijama na okolinu (G.Rebitzer et al, 2004). Ova metoda je primjenjiva i za optimizaciju utjecaja djelovanja tvrtke na okolinu. Ukupni LCA određenog proizvoda uključuje: dobivanje sirovina za proizvod, proizvodnja, distribucija i primjena proizvoda, odlaganje proizvoda nakon primjene (otpad) i transport proizvoda između pojedinih faza ciklusa (Šantek, 2015). LCA procedura je dio ISO 14000 standarda za prihvatljivo gospodarenje okolišom. Standardi koji se također osvrću na LC analizu:

ISO 14040: Principi i metoda

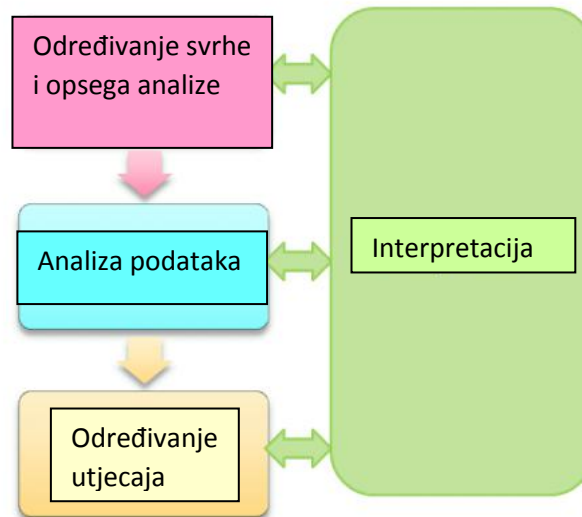
ISO 14041: Cilj, područje analize i analiza inventara

ISO 14042: Procjena utjecaja

ISO 14043: Interpretacija životnog ciklusa

ISO 14047-14049: Primjeri procjene utjecaja i opreme kao i pravila dokumentacije

LCA analiza se izrađuje u industrijskom sektoru kako bi se identificirala područja gdje su mogući napreci u smislu očuvanja okoliša. Alternativno, LCA može biti koristan za pružanje podataka javnosti ili vladi o utjecaju određenog područja, regije ili države na okoliš. Mnoge tvrtke izrađuju LCA i izlažu podatke dobivene LCA analizom kako bi dokazali ekološku prihvatljivost svojih proizvoda. LCA analiza se koristi i za formiranje novih procesa ili proizvoda, za edukaciju i za etiketiranje odnosno deklariranje proizvoda. LCA također predstavlja veliku ulogu u zbrinjavanju otpada i zagađenja okoliša (UNEP, 1996). Prema standardu ISO 14000, LCA sastoji se od četiri glavne faze: određivanje ciljeva i područja rada, detaljna analiza odabranog sustava, procjena utjecaja na okolinu i interpretacija rezultata.



Slika 2. Faze LCA ciklusa (preuzeto iz ISO,1997).

2.3.1. Određivanje svrhe i opsega analize (eng. "Goal and scope definition")

U ovoj fazi se odabire područje rada tj. proces i proizvod, vrstu LC analize koju ćemo koristiti i funkcionalnu jedinicu. Vrste LCA podijeljene na detaljnost praćenja sirovine i proizvoda: od kolijevke do groba (eng. from cradle to grave), od kolijevke do vrata (eng. from cradle to gate), od kolijevke do kolijevke (eng. from cradle to cradle), od vrata do vrata (eng. gate to gate) i od dobra do kotača (eng. from well to wheel) (Pinilla, 2011). Funkcionalna jedinica je kvantitativna mjera svrhe koje pružaju usluge ili proizvodi. Ona je vrlo važna osnova koja omogućava usporedbu i analizu raznih drugih sirovina i procesa. Obično je izražena preko mase i kvalitete određenog proizvoda (npr. 1kg mlijeka, mliječne kiseline, etanola). U ovoj fazi se također opisuju metode za procjenu potencijalnog utjecaja na okolinu te u koju kategoriju utjecaja pripadaju (Roy i sur., 2012)

2.3.2. . Faza popisivanja i analize podataka (eng. "Life cycle inventory analysis", LCA)

U ovoj fazi prikupljamo podatke i modeliraju se sustavi dobivanja određenog proizvoda, opisa sustava i procjenu podataka. Podaci uključuju sve informacije koje se odnose na sve kategorije utjecaja na okolinu (dobivanje ugljičnog dioksida, procesne podatke i količine za svaku pojedinu fazu procesa proizvodnje. Podaci se iz ove faze moraju odnositi na

funkcionalnu jedinicu proizvoda definiranu u ciljevima i svrsi LCA analize. S dobivenim podacima se konstruira dijagram toka kako bi se prikazali prijenosi mase i energije uključenih u proces. Ulazne i izlazne vrijednosti mase i energije se integriraju i kvantificiraju preko ukupnog životnog ciklusa sustava(Technical Committee ISOEC 207,1997).

2.3.3. Određivanje utjecaja na okoliš (eng. "Life cycle impact assessment" – LCIA)

Sastoji se od vrednovanja potencijalnih utjecaja sustava na okoliš i ljudsko zdravlje. Definira se metodologija utjecaja i kategorije utjecaja na okolinu(npr. globalno zatopljenje ,eutrofikacija, opasnost oboljenja od raka). Na osnovi LCI rezultata se izračunavaju potencijalni utjecaji. Zatim se provodi normalizacija i procjena(vaganje) pojedinog utjecaja prema ISO standardima. Normalizacija osigurava osnovu za usporedbu različitih kategorija utjecaja na okolinu. Procjena obuhvaća pridruživanje faktora mase za svaku kategoriju utjecaja na okolinu ovisno o njegovom relativnom značaju (Technical Committee ISORC 207,1997).

2.3.4. Faza interpretacije (eng. "Life cycle interpretation")

Zadnja faza analize životnog ciklusa u kojoj se koriste sistematske tehnike kako bi se identificirali, kvantificirali, provjerili i potvrdili rezultati dobiveni iz faze popisivanja i analize podataka(LCA) i/ili faze određivanja utjecaja na okoliš(LCIA). Svrha ove faze je utvrditi razinu pouzdanosti konačnih rezultata, raspraviti dosljednost pretpostavki u odnosu na svrhu i opseg analize ovog rada (Roy i sur.,2012; Pinilla 2011).

2.3.5. Alati za izradu LCA analize

Alati koji se koriste za izradu LCA analize su uglavnom računalni programi koji su povezani s bazama podataka u kojima se nalaze informacije o različitim proizvodima i proizvodnim procesima koji su sastavni dio svake LCA analize, a svrha im je što brža i

jednostavnija provedba analize. U bazama podataka se nalaze podaci o sirovinama, proizvodnji električne energije, transportni procesi i procesima obrade nusproizvoda, otpada i slično. Vodeći računalni programi kao što su SimaPro i GaBi uključuju velik broj baza podataka iz različitih izvora te procjenjuju utjecaj na okoliš unutar nekoliko kategorija. Računalni program SPionExcel koja se bazira na SPI metodi omogućuje laganu usporedbu različitih industrijskih procesa te se često koristi za identifikaciju koraka u procesima koji imaju veliki ekološki utjecaj na proces (Gwehenberger i Narodoslowsky, 2007).

2.3.5.1. Indeks održivosti procesa (eng. Sustainable Process Indeks, SPI)

Indeks održivosti procesa je jedan od načina za kvalitativno i kvantitativno izražavanje utjecaja na okoliš određenog proizvoda ili samog procesa proizvodnje. Indeksa održivosti procesa (SPI) ima fokus na samu održivost procesa s ekološkog i ekonomskog stajališta te na tehnološka rješenja u svrhu poboljšanja održivosti procesa (Sandholzer 2006; Gwehenberger i Narodoslowsky, 2007). Bilance energije koje se formiraju moraju biti održive s obzirom na količinu energija koja se utroši unutar neke granice sustava, te se utrošena energija mora i obnoviti nekim vanjskim izvorom. U izračunu SPI pretpostavlja se da je taj vanjski izvor energije solarna radijacija (sunčeva svijetlost). Dostupnost energije sunca ovisi o količini koja se može apsorbirati tj. o dostupnoj površini (m^2). Stoga sve djelatnosti ovise o iskorištavanju dostupne površine te o limitaciji dostupne energije potrebne za razmjenu masenih i energetskih tokova (Sandholzer 2006). Indeks održivosti procesa (SPI) predstavlja izračunatu prirodnu površinu potrebnu da se obnovi utrošena masa i energija potrebna za određeni proces, te da se stvori određena masa ili energija održivim procesima. Veća potrebna površina za neki proces ili produkt predstavlja veći utjecaj na okoliš tj., manju održivost procesa. Ukupna površina (A_{tot}) koja se izračunava je suma različitih utjecaja (izraženih preko parcijalnih ekvivalentnih površina) određenog proizvoda ili/i procesa:

$$A_{tot} = A_R + A_E + A_I + A_S + A_P \quad [m^2] \quad [2.1]$$

A_{to} – ukupna površina;

A_R - ekvivalentna površina koja predstavlja (dostupnost) sirovine za određeni proces;

A_E – ekvivalentna površina potrebna za dobavu energije za određeni proces;

A_I - ekvivalentna površina potrebna za instalaciju određenog procesa (npr. površina potrebna za izgradnju postrojenja za proizvodnju);

A_S – ekvivalentna površina koja predstavlja ljudske resurse i cijenu samog rada;

A_P – ekvivalentna površina za distribuciju, trošak prijevoza i emisije u zrak, vodu i zemlju.

Specifična površina a_{tot} predstavlja odnos ukupne površine (A_{tot}) i broja operacija ili procesa u određenom vremenskom razdoblju (primjerice u jednoj godini) za proizvodnju određenog produkta (N_P).

$$a_{tot} = \frac{A_{tot}}{N_P} \left[\frac{m^2}{N_P * vrijeme} \right] \quad [2.2]$$

Dok je SPI definiran kao:

$$SPI = \frac{a_{tot}}{a_{in}} \quad [2.3]$$

tj., kao odnos specifične površine te površine potrebne po stanovniku određene regije/zemlje (a_{in}). Što je niži izračunati SPI za određeni proces ili proizvod, to je manji utjecaj na okoliš. Unutar samog izračuna mogu se odrediti i parcijalne specifične površine i utjecaji za među proizvode i procese te na taj način odrediti koji dio procesa ili sirovine najviše utječe na ekološki otisak glavnog proizvoda unutar određenog procesa (Sandholzer, 2006).

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Računalni program SPIonExcel 2.0

Računalni program SPIonExcel 2.0, korišten je za izračun „SPT” odnosno Indexa održivosti razvoja za određeni proces. Program je izrađen kao aktivna i interaktivna tablica u Microsoft Excel programu (Sandholzer, 2006).

Program se sastoji od dva dijela:

- (1) interaktivne Excel radne mape za unos podataka, izračun bilanci, analizu podataka i prikaz rezultata.
- (2) Microsoft Access baze podataka gdje su spremljeni svi podaci potrebni za izračun energetske i masene bilanci.

Ineraktivne Microsoft Excel radne mape su podijeljene na:

- (i) „Impact sheet” – radne mape za unos svih vrsta podataka za uspostavu bilanci koje imaju utjecaj na proces (eng. impact);

ID	RR	Type	Impact	Unit	Comments	Data Source	Y ₁₉₉₅ [m³·a/unit]
9	1	area	Area I	m²a		Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
10	2	area	Area II-III	m²a		Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
11	3	area	Area III-IV	m²a		Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
12	4	area	Area II-IV	m²a		Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
13	5	area	Area IV-IV	m²a		Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
14	6	non renewable	Barite	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	40.000
15	7	non renewable	Bauxite	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	2.000
16	8	non renewable	Bentonite	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	4.000
17	9	non renewable	Lead	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	83.000
18	10	non renewable	Chrome	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	10.000
19	11	non renewable	Iron	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	3.000
20	12	non renewable	Limestone	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
21	13	non renewable	Gravel	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
22	14	non renewable	Cobalt	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	7.980.000
23	15	non renewable	Copper	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	256.000
24	16	non renewable	Manganese	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
25	17	non renewable	Molybdenum	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	922.000
26	18	non renewable	Nickel	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	1.000
27	19	non renewable	Palladium	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	1411516.000
28	20	non renewable	Platinum	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	1813068.000
29	21	non renewable	Rhenium	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	171875.000
30	22	non renewable	Rhodium	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	3017724.000
31	23	non renewable	Sand	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
32	24	non renewable	Silver	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	27630.000
33	25	non renewable	Rock salt	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
34	26	non renewable	Clay	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	0.000
35	27	renewable	Process Water	m³	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	2.778
36	29	non renewable	Zinc	kg	Yield calculated via retropagatoric method, process fo	Thesis Krotscheck C., 1996	158.000
37	30	non renewable	Tin	kg	Yield calculated via retropagatoric method	Thesis Krotscheck C., 1996	893.000
38	31	fossil C	Associated gas	Nm³		Thesis Krotscheck C., 1996	450.000
39	32	fossil C	Pt gas	kg		Thesis Krotscheck C., 1996	500.000
40	33	fossil C	Lignite	kg		Thesis Krotscheck C., 1996	500.000
41	34	fossil C	Hard coal	kg		Thesis Krotscheck C., 1996	500.000
42	35	fossil C	Raw natural gas	Nm³		Thesis Krotscheck C., 1996	450.000
43	36	fossil C	Crude oil	t		Thesis Krotscheck C., 1996	500000.000
44	37	renewable	Wood	t		Thesis Krotscheck C., 1996	1000.000
45	38	renewable	Storage water	m³a		Thesis Krotscheck C., 1996	0.000

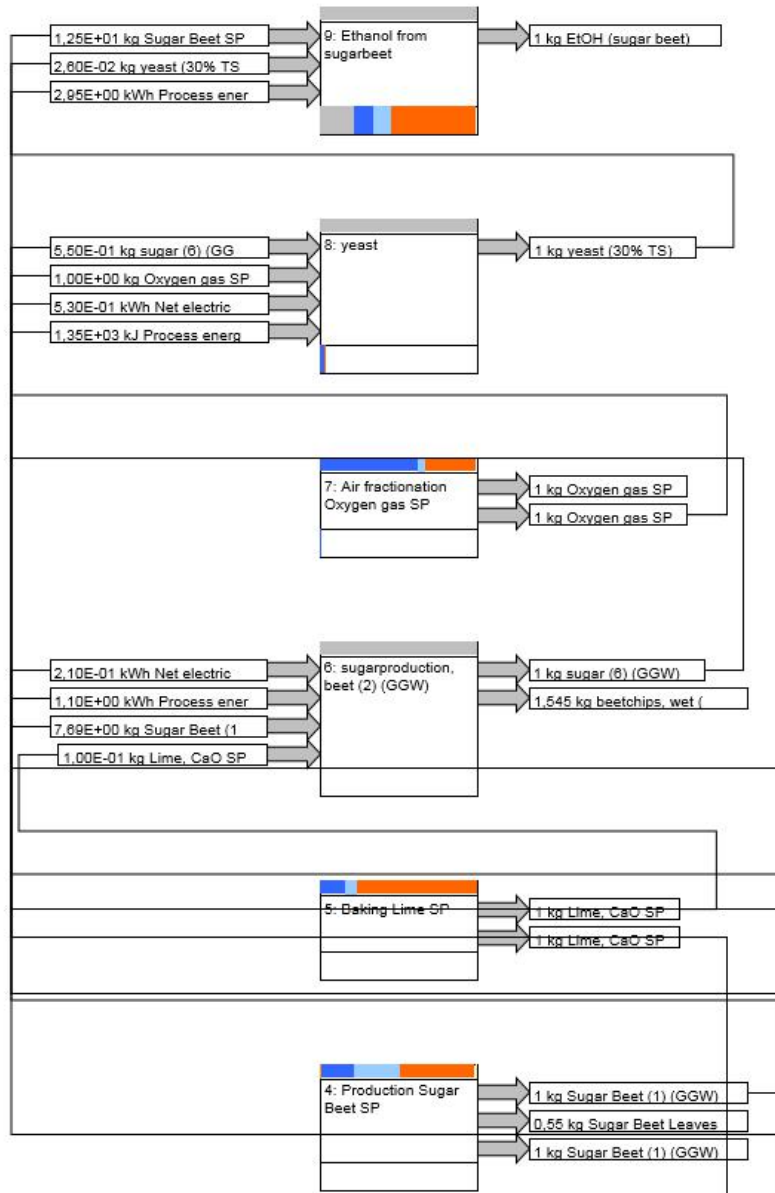
Slika 3. Impact sheet programa SPIonExcel 2.0 (Sandholzer, 2006)

(ii) „Data sheet“ - radne mape za unos svih podataka i informacija o procesu (ulazne sirovine, međuproizvodi, produkti, nusprodukti, količina otpada, potrošnja energije i dr.)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Workbook 12013		Updated	Chemicals and Base Substances									More >>
2	01		Current	Chemicals and Base Substances									
3													
4	output	Process Name:	Production Sodium hydroxide DP			Unit		$a_{tot} = \sum a$ [m ² .a/unit]	K []	$a_{part/oc}$ [m ² .a/unit]	Value [\$/unit]	defined a_{tot}	SPI a_{tot}/a_{sust}
5	20001	1 N 24		Sodium hydroxide DP	kg		87.653	0.48	87.653	0.30		2.61E-03	
6	20002	0.89 N 24		Chlorine DP	kg		55.514	0.27	49.352	0.19		1.47E-03	
18													
19	ID	Type	Intermediates / Impact			Unit	Inventory	y_{spec} [m ² .a/q]	a_{part} [m ² .a/unit]			a [m ² .a/unit]	
21													
22	20015	N 24		Sodium chloride DP	kg	1.454	44.717	65.030	35.67%			0.000	
23	354	renewable		Process Water	kg	7.000	0.003	0.019	0.01%			0.000	
24	10011	N 42		Net electricity EU25 SP	kWh	0.000	552.950	0.002	0.00%			0.019	
25	220	water		Hg	kg	0.000	2777778.000	3.264	1.79%			113.811	
26	75	air		Dichloro monofluoro methane	kg	0.000	10869565.000	113.811	62.43%			3.264	
27	10083	N 90		Waste in disposal SP	kg	0.023	7.128	0.166	0.09%			0.000	
28													
29													
30													65.198

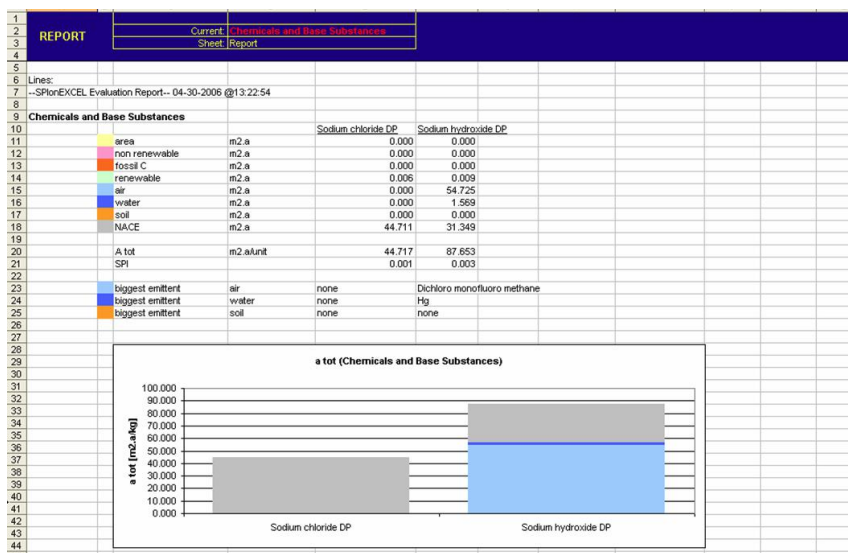
Slika 4. „Data sheet“ - radne mape programa SPionExcel 2.0 (Sandholzer, 2006)

(iii) „Process sheet“ – radna mapa za prikaz i analizu procesne sheme procesa



Slika 5. „Process sheet“ - radne mape programa SPionExcel 2.0 (Sandholzer, 2006)

(iv) „Result sheet“ – radna mapa za prikaz rezultata određivanja indeksa održivosti.



Slika 6. „Results sheet“ - radne mape programa SPionExcel 2.0 (Sandholzer, 2006)

3.2. Analiza životnog ciklusa (LCA)

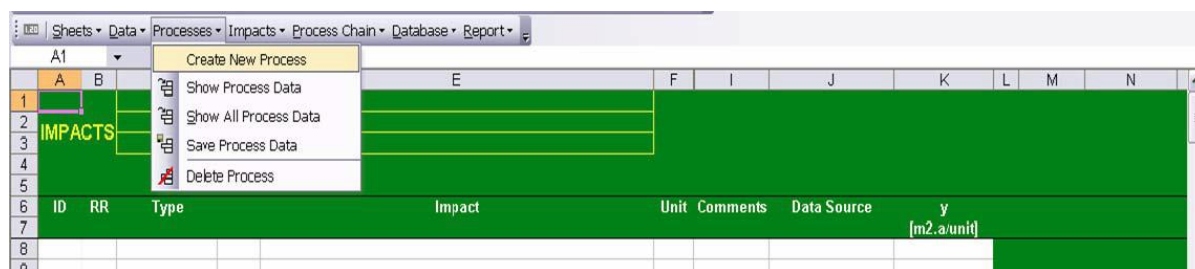
Analiza životnog ciklusa (eng. *“Life Cycle Analysis”* - LCA) sastoji se od:

- (i) Određivanja svrhe i opsega analize (definicija granice analize, dobava sirovina, ulazi i izlazi unutar proizvodnog procesa, distribucija i transport, proizvodnja i uporaba energenata, iskorištavanje i odlaganje otpada)
- (ii) Faza prikupljanja i analize podataka (elektronske baze podataka, različiti podaci iz literature, dostupni podaci iz istraživanja)
- (iii) Određivanje utjecaja na okoliš - Indeks održive proizvodnje (eng. *“Sustainable Process Index”* – SPI)
- (iv) Faza interpretacije rezultata i zaključci

3.3. Izračun Indeksa održivosti razvoja (SPI) pomoću programa SPIONExcel 2.0

Program SPIONExcel se pokreće kao sustav makro naredbi unutar programa Microsoft Excel. Sam izračun Indeksa održivosti procesa (SPI) te prikaz rezultata sastoji se od nekoliko koraka.

Kreiranje novog procesa pomoću naredbe – “Create new Process” i skočnog prozora



Slika 7. Kreiranje novog procesa.

U skočnom prozoru se definira ime procesa, ime primarnog produkta (etanol), jedinica proizvoda (kg, g, L, m³...) te kategorija proizvoda tzv NACE kategorija (Statistical classification of economic activities in the European Community – *Nomenclature statistique des activités économiques dans la Communauté européenne* - NACE). NACE predstavlja skup statističkih podataka i ekonomskih aktivnosti u Europskoj uniji, kategoriziranih u određene skupine (NACE Rev. 2; Statistical classification of economic activities in the European Community, Eurostat, European commission, <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/3859598/5902521/KS-RA-07-015-EN.PDF>).

Nakon što se definira ime procesa, produkta te kategorija, pojavljuje se novi prozor – „data sheet“ gdje se definiraju i unose svi ulazni i izlazni parametri procesa, uključujući i potrošnju energije, intermedijere procesa, nusproizvodi te stvoreni otpad. Glavni produkt (u našem slučaju – etanol) se mora definirati kao jedna jedinica npr- kilogram produkta, te se sve (materijalne i energetske bilance) potrebno za izračun indeksa održivosti preračunavaju na određenu jedinicu produkta, u našem slučaju 1 kg etanola.

output		Process Name:	Unit	$a_{tot} = \sum a$ [m ² .a/unit]	K []	$a_{partproc}$ [m ² .a/unit]	Value [\$/unit]	defined a_{tot}	SPI a_{tot}/a_{sust}
20479	1 N 01	Ethanol from sugarbeet	kg	483,668	1,00	4,837E+02			0,01
		EtOH (sugar beet)	kg			0,000E+00			0,00

ID	Type	Intermediates / Impact	Unit	Inventory	y_{spec} [m ² .a/q]	a_{part} [m ² .a/unit]	a [m ² .a/unit]
10227	N 01	Sugar Beet SP	kg	12,500	10,977	137,210	28,37%
20480	N 01	yeast (30% TS)	kg	0,026	693,324	18,026	3,73%
722	renewable	Water	kg	9,500	0,000	0,000	0,00%
10040	N 40	Process energy, natural gas, industrial heater >100	kWh	2,950	70,503	207,984	43,00%
2003	N 42	Net electricity EU25 SP	kWh	0,198	553,674	109,627	22,67%
238	water	Phosphate	g	10,000	0,000	0,000	0,00%
164	water	Ammonia as N	g	10,000	0,000	0,000	0,00%
20485	N 90	Wastewater Treatment	m3	10,000	0,456	4,559	0,94%
10049	N 60	Transport 16t Truck SP	tkm	0,050	125,226	6,261	1,29%

Slika 8. „Data sheet“ - radna mapa programa SPionExcel 2.0 sa primjerom unosa primarnog produkta (etanol – označeno elipsom) te ulaznih i izlaznih parametara procesa (označeno pravokutnikom)

Unos podataka potrebnih za izračun se izvodi jednostavnim upisivanjem željenog pojma te odabirom želejnog podatka pomoću skočnog prozora. Nakon odabira željenog podatka, unosi se potreban „input“ tj ulazni i izlazni materijalni i energetske tokovi potrebni za proizvodnju određene jedinice produkta (u našem slučaju za 1 kg Etanola).

The image shows two screenshots of the SPionExcel 2.0 software interface. The left screenshot displays a data sheet with columns for ID, Type, Intermediates / Impact, Unit, Inventory, y_{spec} , a_{part} , and a . The right screenshot shows a dialog box titled 'Impact/Process Selection' with a list of items and their associated values.

Slika 9. „Data sheet“ - radna mapa programa SPionExcel 2.0 sa primjerom unosa intermedijera (voda/water) potrebnih za izračun indeksa održivosti (Sandholzer, 2006)

Nakon što se unesu svi potrebni podaci za proces, proces se sprema (Save proces data), te se time omogućava programu da izračuna materijalne i energetske bilance vezane uz primarni produkt i prikaže rezultate izračuna.

Rezultati se mogu prikazati kao tzv. „process chain“ (procesna shema procesa sa svim ulazima i izlazima) ili kao „report“ procesa baziran na materijalnim i energetskim bilancama proizvodnje jedne jedinice produkta- u našem slučaju 1 kg etanola.

4. REZULTATI I RASPRAVA

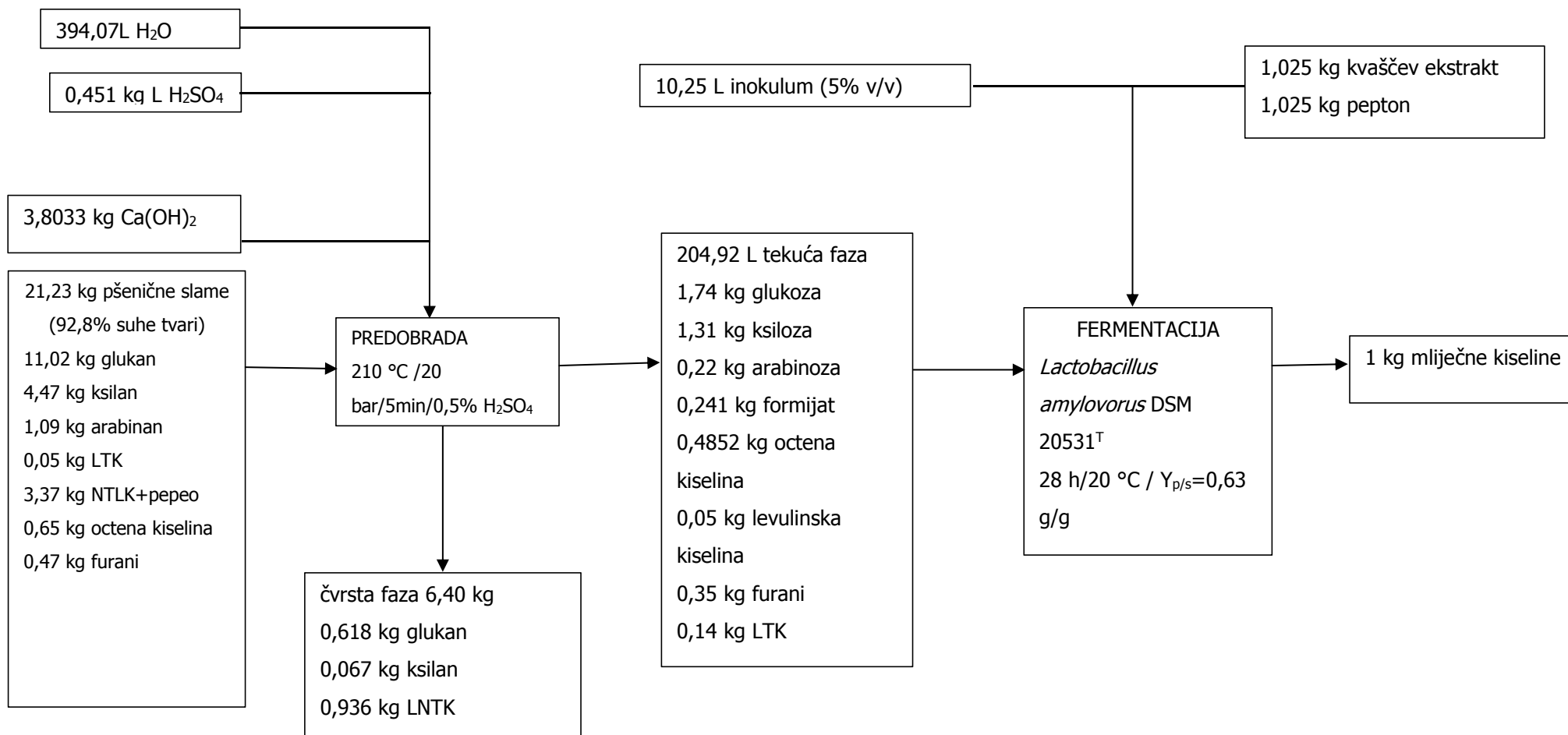
LCA je jedna od opće prihvaćenih metoda kojima se može procijeniti utjecaj različitih tehnoloških procesa u svim fazama proizvodnje određenog proizvoda i samog proizvoda na okoliš. Koncept održivosti biorafinerije može se utvrditi korištenjem LCA analize, te je tako provedena analiza proizvodnje bioetanola, bioenergije te različitih kemikalija iz obnovljive sirovine – divlje proso (Cherubini i Jungmeier, 2010). Postoje i drugi radovi koji koriste LCA za različite procese, kao npr. za provjeru održivosti proizvodnje bioetanola (Muñoz i sur., 2013), za metode predbrade lignoceluloze (Prasad i sur., 2016), te za analizu proizvodnje biodizela iz loja i biljnog ulja (Niederl i Narodslawsky, 2004).

Rezultati dobiveni u okviru istraživanja na projektu „*Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina*“ (HRZZ-9158) poslužili su kao temelj za izradu proračuna materijalnih bilanci potrebnih za provedbu LCA analize proizvodnje mliječne kiseline iz lignoceluloznih sirovina (pšenične slame, kukuruzovine). Količina potrebne sirovine i dobivenih nusproizvoda izračunata je na bazi eksperimentalno dobivenih podataka [poglavlje 4.1. i poglavlje 4.2. (Kostić, 2016), poglavlje 4.3. (Vidović, 2017)] s pretpostavkom da će se proizvesti 1 kg mliječne kiseline kao produkta (slike 10-12). te su dobiveni rezultati uspoređeni kako bi se utvrdilo koji proces ima najmanji utjecaj na okoliš. Materijalne bilance izračunate na temelju eksperimentalnih podataka iz navedenih radova, prikazani su na slikama 10-12.

4.1. Proizvodnja mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame dobivenog kiselimskom predobradom u visokotlačnom reaktoru

Iz eksperimentalnih podataka za proces proizvodnje mliječne kiseline u HRCB-u šaržnim postupkom izračunati su podaci potrebni za izradu analize održivosti (Kostić, 2016). Tako je za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline potrebno 21,23 kg pšenične slame (92,8 % suhe tvari, podrijetlom iz Hrvatskog Zagorja). Prije predobrade sirovina se usitnjava pomoću mlina čekićara s veličinom sita 5 mm. Zhu i Zhuang (2012) odredili su da za usitnjavanje zelene biomase mlinom čekićarom potrebno je utrošiti 0,05 kWh energije po kilogramu biomase. Ako se ovaj podatak primjeni na pšeničnu slamu, za 21,23 kg pšenične slame potrebno je utrošiti odnosno u ovom slučaju to je 1,06 kWh energije. Usitnjena sirovina (500

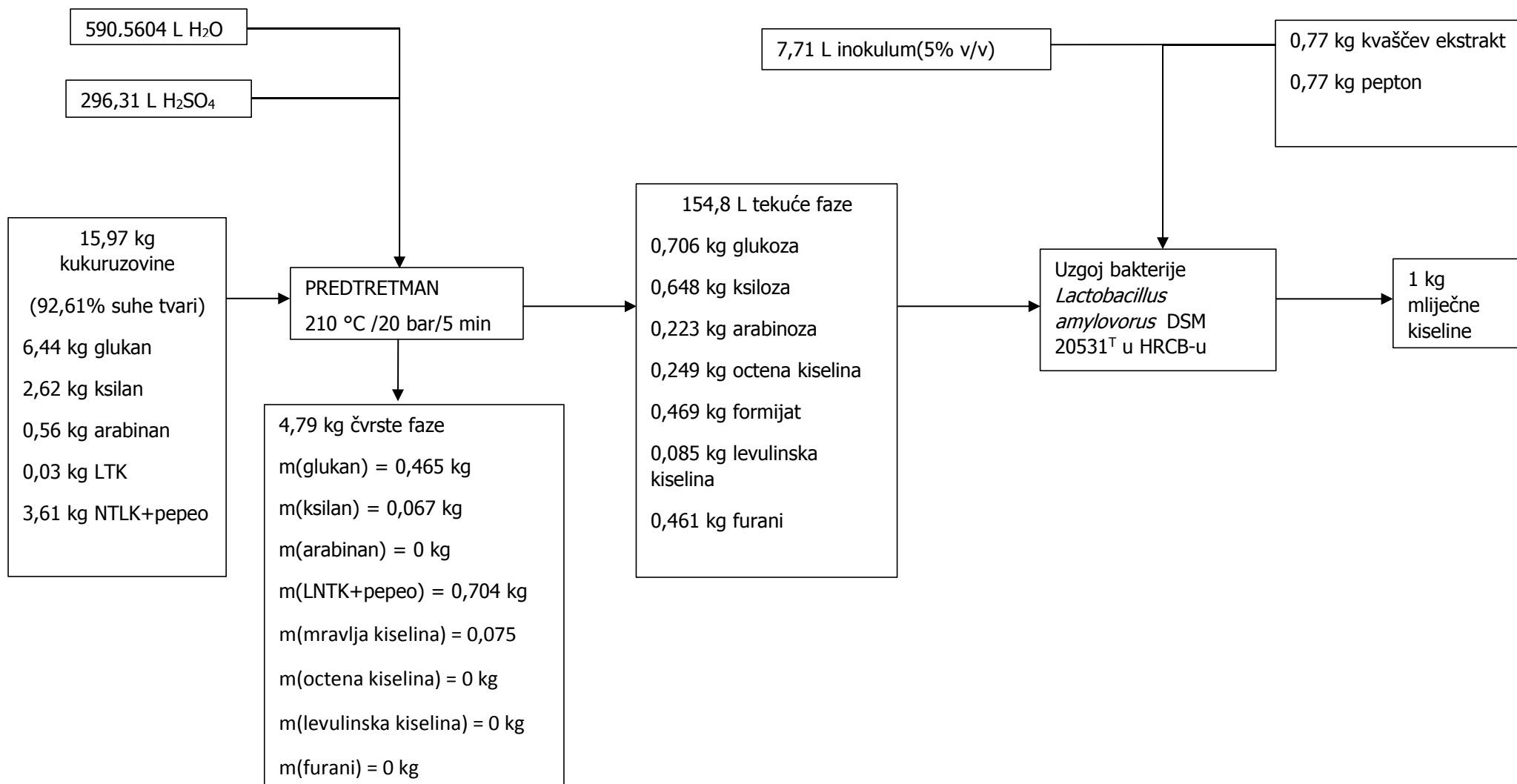
g s.t.) se koristi za kiselinsku predobradu u visokotlačnom reaktoru pri 210 °C s vremenom zadržavanja od 5 minuta uz dodatak 0,5 %-tne sumporne kiseline ($V = 10$ L). Početni omjer čvrste frakcije (pšenična slama) i tekuće frakcije (otopina sumporne kiseline) iznosi 1:20 (w/w), odnosno za tretman 21,23 kg pšenične slame potrebno je utrošiti 394,07 L vode i 0,451 kg sumporne kiseline ($w = 100$ %). Utrošak energije potrebne za predtretman, osim o temperaturi pri kojoj se provodi proces ovisi i o vremenu zadržavanja. Nakon predtretmana odvajaju se čvrsta i tekuća faza. Za neutralizaciju tekuće frakcije troši se 3,8 kg kalcijevog hidroksida, a dobiva 6,97 kg gipsa kao nusprodukta. Čvrsta frakcija s oko 13.6 % suhe tvari se sprema u zamrzivač. Sadrži 37,04 % glukana i 31,96 % lignina topivog u kiselini. Tekuća frakcija (Slika 10.) dobivena nakon predtretmana se koristi kao hranjiva podloga za anaerobni uzgoj radnog mikroorganizma i proizvodnju mliječne kiseline. Hranjivoj podlozi potrebno je dodati ukupno 1,025 kg kvašćevog ekstrakta i 1,025 kg peptona. Proizvodnja 1 kg mliječne kiseline pri stupnju konverzije od $0,63 \text{ gg}^{-1}$ zahtjeva 1,59 kg supstrata.



Slika 10. Materijalna bilanca kiselinske predobrade pšenične slame u visokotlačnom reaktor i proizvodnje mliječne kiseline iz dobivenog hidrolizata (Kostić, 2016).

4.2. Proizvodnja mliječne kiseline iz hidrolizata kukuruzovine dobivenog kiselinskom predobradom u visokotlačnom reaktoru

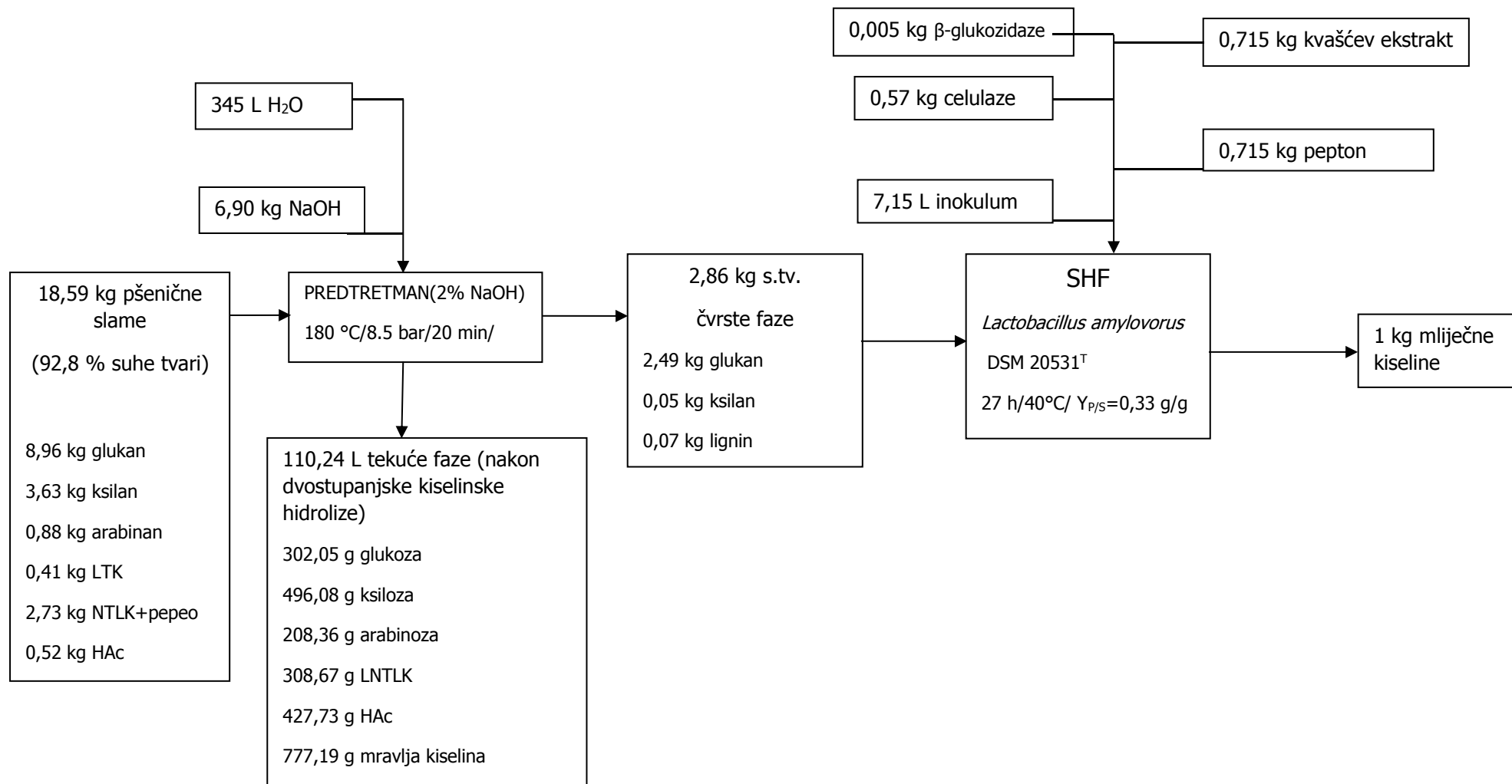
Prema Kostiću (2016) za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline potrebno je 15,97 kg kukuruzovine (92,61 % suhe tvari, podrijetlo iz područja Ludbrega). Sirovina koja se koristi u procesu kiselinske predobrade se usitnjava istim postupkom kao pšenična slama te se pretpostavlja da je utrošak energije po kg biomase isti (0,5 kWh/ kg biomase). U ovom slučaju to je 0,79 kWh za 15,97 kg kukuruzovine. Nakon usitnjavanja, sirovina se tretira u visokotlačnom reaktoru na 210 °C s vremenom zadržavanja od 5 minuta uz dodatak 0,5 %-tne sumporne kiseline. Početni omjer čvrste frakcije (kukuruzovina) i tekuće frakcije (otopina sumporne kiseline) iznosi 1 : 20 (w/w) odnosno za tretman 15,97 kg suhe tvari potrebno je utrošiti 296,31 L vode i 0,451 kg sumporne kiseline (w = 100%). Nakon predobrade odvajaju se čvrsta i tekuća faza. Za neutralizaciju tekuće frakcije troši se 1,74 kg kalcijevog hidroksida a dobiva se 3,19 kg gipsa kao nusprodukta. Čvrsta frakcija (Slika 11.) s oko 16,02 % suhe tvari se sprema u zamrzivač. Sadrži 9,7 % glukana , 1,4 % ksilana (0,2243 kg), 14,7 % lignina netopljivog u kiselini zajedno sa pepelom (2,3553 kg) i 1,6 % mravlje kiseline (0,2564 kg). Tekuća frakcija (volumen 154,08 L) dobivena nakon predtretmana koristi se kao hranjiva podloga za anaerobni uzgoj radnog mikroorganizma i proizvodnju 1 kg mliječne kiseline. Hranjivoj podlozi potrebno je dodati ukupno 0,77 kg kvašćevog ekstrakta i 0,77 kg peptona. Proizvodnja 1 kg mliječne kiseline pri stupnju konverzije od 0,99 gg⁻¹ zahtjeva 1,01 kg supstrata. Energija utrošena za proces fermentacije u HRCB-u je 3,96 kWh što je određeno preko snage elektromotora i vremena utrošenog za rad elektromotora tokom fermentacije.



Slika 11. Materijalna bilanca kiselinske predobrade kukuruzovine u visokotlačnom rekatoru i proizvodnje mliječne kiseline iz dobivenog hidrolizata (Kostić ,2016).

4.3. Simultana hidroliza i fermentacija predobrađene pšenične slame dobivene alkalnom predobradom u visokotlačnom reaktoru do mliječne kiseline

Za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline potrebno je 18,59 kg pšenične slame (92,8 % suhe tvari, podrijetlo iz Hrvatskog Zagorja) (Vidović 2017). Sirovina je usitnjena pomoću mlina čekićara s veličinom sita 5 mm, te je za ovu operaciju utrošeno 0,93 kWh energije. Nakon usitnjavanja provedena je alkalna predobrada u visokotlačnom reaktoru pri 180 °C s vremenom zadržavanja od 20 min uz dodatak 2% -tne otopine natrijevog hidroksida. Početni omjer čvrste frakcije (pšenična slama) i tekuće frakcije (otopina natrijeve lužine) iznosi 1 : 20 (w/w) odnosno za tretman 18,59 kg pšenične slame potrebno je utrošiti 345 L vode i 6,90 kg natrijeve lužine (čistoća 100%). Nakon predtretmana odvajaju se čvrsta i tekuća faza. Za neutralizaciju i ispranje čvrste faze troši se 370 L vode. Čvrsta se suši u sušioniku na 80 °C. Ovako pretretirana pšenična slama sadrži 87,63% glukana, 1,72% ksilana i 2,64% lignina. Tekuća faza sadrži 4,57% glukoze , 7,68% ksiloze, 3,16% arabinoze, 4,68% lignina netopljivog u kiselini, 6,48%, octene kiseline, i 11,77% mravlje kiseline. Čvrsta fazadobivena nakon predtretmana se koristi kao glavni izvor ugljika u podlozi za anaerobni uzgoj radnog mikroorganizma i proizvodnju 1 kg mliječne kiseline. Hranjivoj podlozi potrebno je dodati ukupno 0,715 kg kvašćevog ekstrakta i 0,715 kg peptona.



Slika 12. Materijalna bilanca alkalne predobrade pšenične slame u visokotlačnom reaktoru i simultane hidrolize i fermentacije predobrađene pšenične slame do mliječne kiseline (Vidović, 2017).

4.4. Izračun i usporedba Indeksa održivosti procesa (SPI) za procese proizvodnje bio-etanola iz obnovljivih izvora sirovina

Programskog paketa SPIonExcel korišten je za izračunavanje ekološkog otiska procesa proizvodnje 1 kg mliječne kiseline iz pšenične slame i kukuruzovine kao obnovljivih izvora. Ekološki otisak je izražen kao specifična površina za svaki proces (a_{tot}). Specifična površina a_{tot} predstavlja odnos ukupne površine (A_{tot}) i broja operacija ili procesa u određenom vremenskom razdoblju (primjerice u jednoj godini) za proizvodnju određenog produkta. Veća vrijednost specifične površine a_{tot} označava veći ekološki otisak pa time i manju održivost procesa. Podaci dobiveni analizom masenih tokova iz eksperimentalnih podataka određenih u sklopu projekta „Održiva proizvodnja bioetanola i biokemikalija iz otpadnih poljoprivrednih lignoceluloznih sirovina“ (HRZZ-9158) (Kostić, 2016, Vidović, 2017) korišteni su za izračunavanje a_{tot} te su dobivene vrijednosti međusobno uspoređene.

Izračun se provodio na način da je proizvodnja mliječne kiseline iz obnovljivih sirovina podijeljena na 3 glavna zasebna procesa koji se međusobno povezuju energetske i masenim bilancama.

Prvi glavni proces podrazumijeva analizu proizvodnje pšenične i pšenične slame kao obnovljivog izvora sirovina, tj. napravljena su ekološke bilanca materijala, opreme, energije i sirovina za proizvodnju pšenične slame i zrna pšenice. U ovaj zasebni proces proizvodnje slame ulazi ekološki otisak: (1) sjemenja za uzgoj, (2) trošak mehanizacije za uzgoj kulture i obradu, (3) korištenje gnojiva, (4) emisija plinova, (5) potrebna površina za uzgoj i (6) trošak same infrastrukture. Tako je prema dostupnim literaturnim podacima potrebno oko 3 g suhog sjemenja za uzgoj 1 kg slame, uz što se dobiva i oko 0.6 kg žita. Za uzgoj je potrebno oko 1 m² površine, oko 1.5 g gnojiva te je potrebno utrošiti oko 0.0015 radnih sati za taj prinos. Kad se svi podaci unesi u programski paket SPIonExcel, izračunom se dobije da je specifična parcijalna površina $a_{tot}=121,46$ m²/1 kg proizvedene slame za podatke dostupne u radu Kostić (2016); $a_{tot}=98,77$ m²/1 kg proizvedene kukuruzovine za Kostić(2016); te $a_{tot}=264$, proizvedene slame za Morikawa (2014); $a_{tot}=88,45$ m²/1 kg proizvedene slame za Vidović (2018). Niska vrijednost znači veliku održivost procesa te jako niski ekološki otisak. Navedene vrijednosti su razumljive jer su i slama i kukuruzovina obnovljivi izvori sirovina. Najveći utjecaj na vrijednost specifične parcijalne površine ima trošak kultivacije, tj., utrošak radnih sati na uzgoj, obradu i žetvu (preko 80 %). Različite vrijednosti specifičnih parcijalnih

površina a_{tot} rezultat su povezanosti procesa proizvodnje slame sa procesom predobrade slame (kiselinska predobrada, alkalna predobrada).

Zatim se u drugom procesu, koji je direktno vezan na prvi, analizira predobrada pšenične slame ili kukuruzovine u svrhu dobivanja fermentabilnih šećera kao supstrata za proizvodnju mliječne kiseline. Za pretretman se koristila sulfatna kiselina za predobradu pšenične slame (slika 10., poglavlje 4.1.) ili kukuruzovine (Slika 11, poglavlje 4.2.) u visokotlačnom reaktoru (Kostić, 2016;) ili natrijeva lužina za predobradu slame u visokotlačnom reaktoru (Vidović, 2017; Poglavlje 4.3. Slika 12). Za izračun specifične parcijalne površine a_{tot} korišteni su podaci izračunati iz bilance mase (poglavlja 4.1-4.3) i to na način da se sve vrijednosti svode na količine sirovina potrebne za proizvodnju 1 kg glukoze kao fermentabilnog šećera. Izračunom je dobiveno da je za proces kiselinske predobrade pšenične slame potrebno 21,23 kg slame; za proces kiselinske predobrade kukuruzovine 15,97 kg kukuruzovine dok je za proces alkalne predobrade potrebno 18,59 kg pšenične slame. Iz navedenih rezultata se može vidjeti da za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline alkalnom predobradom potrebno oko 13 % manja količina sirovine. Ako usporedimo kiselinske hidrolize kukuruzovine i pšenične slame, može se vidjeti da je kukuruzovina puno efikasnija sirovina za proizvodnju mliječne kiseline, tj. potrebno je čak 25% manje kukuruzovine za proizvodnju iste količine mliječne kiseline od potrebne količine pšenične slame.

Utrošak energije za proces predobrade kreće se u rasponu od 10 do 15 kWh i on predstavlja komponentu procesa koja najviše utječe na ekološku održivost samog procesa.

Utjecaj potrošene energije na proces kiselinske predobrade i pšenične slame i kukuruzovine iznosi oko 83% dok je za alkalnu predobradu ta vrijednost čak 92%.

Treći proces je proizvodnja mliječne kiseline iz fermentabilnih šećera dobivenih kiselinskom predobradom pšenične slame ili kukuruzovine, te alkalnom predobradom pšenične slame. Najzastupljeniji šećeri u hidrolizatima su glukoza i ksiloza, a kao radni mikroorganizam korištena je bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus amylovorus* DSM 20531^T. Za poboljšanje iskorištenja dostupnih šećera u hranjivu podlogu dodani su i kvašćev ekstrakt i pepton (poglavlje 4.1-4.3). Količine iskorištene šećera prikazane su na Slikama 10-12.

Na sam proces fermentacije u smislu održivosti procesa, najveći utjecaj imaju količine upotrijebljenih fermentabilnih šećera (glukoze i ksiloze), što je i logično jer je sam proces predobrade sirovina energetski vrlo zahtjevan. Kod izračuna specifične parcijalne površine za proizvodnju mliječne kiseline iz fermentabilnih šećera dobivenih predobradom uzeti su u

obzir svi procesi opisani u ovom poglavlju (proizvodnja slame, predobrada pšenične slame, alkoholna fermentacija) povezani masenim i energetskim bilancama. Izračunata parcijalna specifična površina za proces proizvodnje mliječne kiseline iz pšenične slame predobrađene kiselinom iznosi $a_{\text{tot}}=7411.03 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ proizvedene mliječne kiseline, dok je za proizvodnju mliječne kiseline iz kukuruzovine ova vrijednost oko 25% manja i iznosi $5354.35 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ proizvedene mliječne kiseline. Izračunata parcijalna specifična površina za proces simultane hidrolize i fermentacije predobrađene pšenične slame do mliječne kiseline iznosi $6487.56 \text{ m}^2/1 \text{ kg}$ proizvedene mliječne kiseline. Ako se ovaj proces usporedi sa proizvodnjom mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame i kukuruzovine, može se zaključiti da iako za ovaj proces se koriste enzimi za hidrolizu celuloze i hemiceluloze, taj dodatni korak nema značajan utjecaj na povećanje ekološkog otiska procesa.

Nadalje, kako bi svi opisani procesi bili održivi i s ekonomske i ekološke perspektive, potrebna je dodatna optimizacija procesa. Primjerice smanjiti količinu utrošene energije za proces predobrade pšenične slame i koristiti obnovljive izvore energije kao solarnu energiju ili energiju dobivenu iz bioplina, tj, procese uklopiti u koncept biorafinerija. Bioplin bi se primjerice mogao proizvesti iz organskog ostatka preostalog nakon pretretmana (zaostali kruti ili tekući dio), ili iz ostatka nakon fermentacije. Također je jedno od mogućih poboljšanja održivosti procesa proizvodnje mliječne kiseline iz lignoceluloznih sirovina, optimizacija samog procesa pretretmana čime bi se povećalo iskorištenje fermentabilnih šećera, upotrebom novih tehnologija kao uporaba ultrazvuka, mikrovalova, etuketičkih otapala ili N-metilmorfolina (Alonso i sur.,2017) ili povećati iskorištenje enzimske hidrolize predobrađene pšenične slame. Također značajne količine proizvedenog lignin tijekom procesa predstavlja visokovrijednu sirovinu za izolaciju raznih spojeva koji se kasnije mogu koristiti u procesima kemijske sinteze (Laurichesse S. i Avérous L., 2013) ili kao izvor sirovine za procese pirolize, gasifikacije i spaljivanja.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata analize održivost (LCA) proizvodnje mliječne kiseline iz lignoceluloznih sirovina može se zaključiti slijedeće:

1. Za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame ili hidrolizata kukuruzovine potrebno je 21,23 kg pšenične slame, odnosno 16,20 kg kukuruzovine. Masa od 18,59 kg pšenične slame potrebna je za proizvodnju 1 kg mliječne kiseline iz alkalno predobrađene pšenične slame. Utrošak energije za proces predobrade otprilike je isti za sve procese (od 12 do 15 kWh) i on predstavlja komponentu procesa koja najviše utječe na ekološku održivost samog procesa.
2. Vrijednosti specifične parcijalne površine a_{tot} izračunate za proces kiselinske predobrade pšenične slame u visokotlačnom reaktor pri 210°C i vremenu zadržavanja od 5 minuta iznosi 3964,98 m²/1 kg proizvedene glukoze iz slame, dok za proces u istim uvjetima za kukuruzovinu ta vrijednost je 48,53% manja i iznosi 2040,95 m²/1 kg.
3. Vrijednosti specifične parcijalne površine a_{tot} izračunate za proces alkalne predobrade pšenične slame u visokotlačnom reaktor pri 180°C i vremenu zadržavanja od 20 minuta i za enzimsku konverziju celuloze do glukoze iznosi 2646,10 m²/1 kg proizvedene glukoze iz slame.
4. Vrijednosti specifične parcijalne površine a_{tot} za proces proizvodnje mliječne kiseline iz hidrolizata pšenične slame ($a_{tot} = 7411,03$ m²/1 kg mliječne kiseline) je za 27,75 % veća od vrijednosti za proizvodnju mliječne kiseline iz hidrolizata kukuruzovine ($a_{tot} = 5354,35$ m²/1 kg mliječne kiseline) dobivenih nakon kiselinske predobrade.
5. Specifična parcijalna površina a_{tot} za proces simultane hidrolize i fermentacije predobrađene pšenične slame dobivene alkalnom predobradom u visokotlačnom reaktor iznosi 6487.56 m²/1 kg proizvedene mliječne kiseline.

6. POPIS LITERATURE:

1. Abdel-Rahman M. A., Tashiro Y., Sonomoto K. (2011) Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits. *Journal of Biotechnology* **156**: 286-301.
2. Abdel- Rahman M. A., Tashiro Y., Sonomoto K. (2013) Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances* **36**(61): 877-902.
3. Accenture (2008) Trends in manufacturing polymers : Achieving high performance in a multi-polar world <<http://www.accenture.com>> Pristupljeno 12.rujan 2018.
4. Alonso D. M., Hakim S.H., Zhou S., Won W., Hosseinaei O., Tao J., Garcia-Negron V., Motagamwala A.H., Mellmer M.A., Huang K., Houtman C.J., Labbe N., Harper D.P., Maravelias C., Runge T., Dumesic J.A. (2017) Increasing the revenue from lignocellulosic biomass: Maximizing feedstock utilization. *Science Advances* **3**: 1-7.
5. Borzani W., Sanchez-Podlech P.A., Luna M. F. Jerke P. R., Stein M.A.C.F. (1993) Kinetics of semicontinuous microbial transformation of whey by *Lactobacillus bulgaricus* varying the initial concentration of yeast autolysate. *Journal of Biotechnology* **31**: 61-66.
6. Cherubini F., Jungmeier G. (2010) LCA of a biorefinery concept producing bioethanol, bioenergy, and chemicals from switchgrass. *International Journal of Life Cycle Assessment* **15**: 53-66.
7. Cubas-Cano E., Gonzalez-Fernandez C., Ballesteros M., Tomas-Pejo E. (2018) Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **12**(2): 290-303.
8. Čatić I. (2012) Je li samo bioplastika dobra? : Bioplastika je samo plastika s posebnim karakteristikama. *Inovacije i Razvoj Tehnologije 3000* **18** (1): 70-71.

9. Datta R., Henry M. (2006) Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies – a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **81**: 1119-1129.
10. Datta R., Tsai S. P., Bonsignore P., Moon S. H., Frank J. R. (1995) Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. *The Federation of European Microbiological Societies(FEMS) Microbiology Reviews* **16**: 221–231.
11. Demirbas A. (2009) Biomass Feedstocks. U: Biofuels, 1.izd., Sila Science and Energy, Springer, str. 48-49.
12. Dutta S., De S., Saha B., Alam M. I. (2012) Advances in conversion of hemicellulosic biomass to furfural and upgrading to biofuels. *Catalysis Science and Technology* **2**: 2025-2036.
13. Evangelista R. L. (1994) Recovery and purification of lactic acid from fermentation broth by adsorption. *Retrospective Theses and Dissertations* 11252.
14. Fambri L., Pegoretti A., Fenner R., Incardona S. D., Migliaresi C. (1997) Biodegradable Fibers of Poly(L-lactic acid) Produced by Melt Spinning. *Polymer* **38**: 79–85.
15. Farah S., Anderson D. G., Langer R. (2016) Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications - A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews* **107**: 367-392.
16. Gao C., Ma C., Xu P. (2011) Biotechnological routes based on lactic acid production from biomass. *Biotechnology Advances* **29**: 930-939.
17. Gwehenberger G., Narodslawsky M. (2007) The Sustainable Process Index SPI as an engineer's tool for environmental impact assessment of processes: the sugar industry as a case study. U: Sustainable Development and Planning III, 1.izd., Kungolos A., Brebbia C. A., Beriatos E., ur., Institute of Resource Efficient and Sustainable Systems, WIT Press. Inc. str. 333-340.
18. Ghaffar T., Irshad M., Anwar Z., Aqil T., Zulifqar Z., Tariq A., Kamran M., Ehsan N., Mehmood S. (2014) Recent trends in lactic acid biotechnology: A brief review on production to purification. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* **7**(2): 222-229.

19. Hu J., Lin Y., Zhang Z., Xiang T., Mei Y., Zhao S., Liang Y., Peng N. (2016) High-titer lactic acid production by *Lactobacillus pentosus* FL0421 from corn stover using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresource Technology* **214**: 74-80.
20. John R. P., Nampoothiri K. M., Pandey A. (2007) Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* **74**: 524-534.
21. Juturu V., Wu J. C. (2015) Microbial production of lactic acid: the latest development. *Critical Reviews in Biotechnology* **36**: 967–977.
22. Kullander S. (2010) Food Security: Crops for People Not for Cars. *A Journal of the Human Environment* **39**: 249-256.
23. Laurichesse S., Averous L. (2013) Chemical modification of ligning: Towards biobased polymers. *Progress in Polymer Science* **39**: 1266-1290.
24. Limayem A., Ricke S. C. (2012) Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science* **38**: 449-467.
25. Lopes M. S., Jardini A. L., Filho R. M. (2012) Poly(lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering* **42**: 1402-1413.
26. Lunt J. (1998) Large scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. *Polymer Degradation and Stability* **59**: 145–52.
27. Lunt J., Shafer A. L. (2000) Polylactic Acid Polymers from Corn: Applications in the Textiles Industry. *Journal of Industrial Textiles* **29**: 191–205.
28. Mäki-Arvela P., Salmi T., Holmbom B., Willför S., Murzin D. Y. (2011) Synthesis of Sugars by Hydrolysis of Hemicelluloses—A Review. *Chemical Reviews* **111**(9): 5638-5666.
29. Munoz I., Karin F., Jungbluth N., Rigarlsford G., Llorenc M., Llorenc C., King H. (2013) Life cycle assessment of bio-based ethanol produced from different agricultural feedstocks. *The International Journal of Life Cycle Assessment* **19**: 109-119.

30. Myers R. (2003) *The Birth of Modern Chemistry. U: The Basics of Chemistry(Basics of Hard Sciences)*, 1. izd., Krebs R. E. ,ur., Southeast Kentucky Community and Technical College, Greenwood Press, inc. str. 25-26.
31. NACE(2007) *Statistical classification of economic activities in the European Community*, Eurostat, European commission. NACE-Nomenclature statistique des activités économiques dans la Communauté européenne, <<https://ec.europa.eu/eurostat/documents/3859598/5902521/KS-RA-07-015-EN.PDF>> Pristupljeno 13. rujna 2018.
32. Narayanan N., Roychoudhury P. K., Srivastava A. (2004) L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Journal of Biotechnology* **7**(2): 98-108.
33. Niederl A., Narodoslowsky M. (2004) Life Cycle Assessment- study of Biodiesel from Tallow and Used Vegetable Oil. *Institute for Resource Efficient and Sustainable Systems „Process Evaluation”*, Graz.
34. Ohashi R., Yamamoto T., Suzuki T. (1999) Continous Production of Lactic Acid from Molasses by Perfusion culture of *Lactococcus lactis* Using a Stirred Ceramic Membrane Reactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **85**: 647-654.
35. Soccol C. R., Faraco V., Karp S., Vandenberghe L. P. S., Thomaz-Soccol V., Woiciechowski A., Pandey A. (2011) Lignocellulosic Bioethanol: Current Status and Future Perspectives. U: *Biofuels Alternative Feedstocks and Conversion Processes*, 1. izd., Pandey A., Larroche C., Ricke S. C., Dussap C-G., Gnansounou E., ur., National Institute for Interdisciplinary Science and Technology, Elsevier, Inc. str. 107-108.
36. Pauly M., Keegstra K. (2008) Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. *The Plant Journal* **54**: 559-568.
37. Prasad A., Sotenko M., Blenkinsopp T., Coles S. R. (2016) Life cycle assessment of lignocellulosic biomass pretreatment methods in biofuel production. *The International Journal of Life Cycle Assessment* **21**: 44-50.
38. Rebitzer G., Ekvall T., Frischknecht R., Hunkeler D., Norris G., Rydberg T., Schmidt W.-P., Suh S., Weidema B.P., Pennington D.W. (2004) Life cycle assessment Part 1:

- Framework, goal and scope definition, inventory analysis, and applications. *Environment International* **30**: 701-720.
39. Rezić, T. (2012) *Biotehnološka proizvodnja biogoriva* [interna skripta]. Zagreb: Prehrambeno-biotehnološki fakultet
40. Roukas, Kotzekidou (1998) Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme and Microbial Technology* **22**: 199-204.
41. Roy P., Tokuyasu K., Orikasa T., Nakamura N. i Shiina T. (2012) A review of Life Cycle Assessment (LCA) of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass. *Japan Agricultural Research Quarterly* **46** (1): 41-57.
42. Sandholzer D. (2006) Ecological Evaluation of Processes from Renewable Resources, PhD Thesis. Institute for Resource Efficient and Sustainable Systems Graz University of Technology.
43. Saeidlou S., Huneault M. A., Li H., Park C. B. (2012) Poly(lactic acid) crystallization. *Progress in Polymer Science* **37**: 1657-1677
44. Saini J. K., Saini R., Tewari L. (2015) Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *3 Biotech* **5**: 337-353.
45. Schell D. J., Harwood C. (1994) Milling of lignocellulosic biomass - results of pilotscale testing. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **45** (6): 159-168.
46. SimaPro (2018) About SimaPro <<https://simapro.com/about/>> Pristupljeno 12. rujana 2018.
47. Smith J.E. (2009) Biomass: a biotechnology substrate? U: *Biotechnology*, 5. izdanje, Institute of Pharmacy and Biomedical Sciences, Cambridge University Press, str. 19-28
48. Šantek B. (2015) *Procjena životnog ciklusa* [Powerpoint prezentacija s predavanja Bijele biotehnologije održana u ak.god. 2017/2018 na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu]. Zagreb

49. Tejayadi S, Cheryan M. (1995) Lactic acid from cheese whey permeate. Productivity and economics of a continuous membrane bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* **43**: 242-248.
50. ISORC 207:1997, Environmental management - Life cycle assessment – Principles and framework.
51. UNEP (1996) Life cycle assessment: What it is and how to do it. UNEP - United Nations Environment Programme, <http://www.sciencenetwork.com/lca/unep_guide_to_lca.pdf> Pristupljeno 12.rujan 2018.
52. Valentine J., Clifton-Brown J., Hastings A., Robson P., Allison G., Smith P. (2012) Food vs fuel: the use of land for lignocellulosic 'next generation' energy crops that minimize competition with primary food production. *Global Change Biology Bioenergy* **4**: 1-19.
53. Wee Y.-J., Kim J.-N., Ryu H.-W. (2006) Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technology and Biotechnology* **44**(2): 163-172.
54. Yu L., Dean K., Li L. (2006) Polymer blends and composites from renewable re- sources. *Progress in Polymer Science* **31**: 576-602.
55. Zayed G., Winter J. (1995) Batch and continuous production of lactic acid from salt whey using free and immobilized cultures of lactobacilli. *Applied Microbiology and Biotechnology* **44**: 362-366.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Filip Ergić
ime i prezime studenta