

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

UNIVERZITET U BEOGRADU

35/132
(Broj zahteva)
17.05.2013.
(datum)

VEĆE NAUČNIH OBLASTI TEHNIČKIH NAUKA

(naziv veća naučne oblasti kome se zahtev upućuje)

Beograd, Studentski trg br. 1

ZAHTEV

za davanje saglasnosti na referat o urađenoj doktorskoj disertaciji

Molimo da, shodno članu 46. st.5 Statuta Univerziteta u Beogradu ("Glasnik Univerziteta" broj 131/06), date saglasnost na referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata

ALEKSANDRE (Pavle) ĐUKIĆ-VUKOVIĆ, dipl. farmaceuta
(ime, ime jednog od roditelja i prezime)

KANDIDAT **ALEKSANDRA (Pavle) ĐUKIĆ-VUKOVIĆ, dipl. farmaceut,** prijavila je doktorsku disertaciju pod nazivom:
(ime, ime jednog od roditelja i prezime)

„PROIZVODNJA MLEČNE KISELINE I PROBIOTSKE BIOMASE NA DESTILERIJSKOJ DŽIBRI“

Iz naučne oblasti: **TEHNOLOŠKO INŽENJERSTVO**

Univerzitet je dana **07.05.2012. godine,** svojim aktom **02 broj 06-18424/20-12,** dao saglasnost na predlog teme doktorske disertacije koja je glasila:

„PROIZVODNJA MLEČNE KISELINE I PROBIOTSKE BIOMASE NA DESTILERIJSKOJ DŽIBRI“

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata:

ALEKSANDRE (Pavle) ĐUKIĆ-VUKOVIĆ, dipl. farmaceuta,
(ime, ime jednog od roditelja i prezime)

obrazovana je na sednici održanoj **28.03.2013.** odlukom fakulteta pod br. **35/100,** u sastavu:

Ime i prezime člana komisije	Zvanje	Naučna oblast
1. Dr Ljiljana Mojović	Redovni profesor	Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija
2. Dr Maja Vukašinović-Sekulić	Docent	Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija
3. Dr Marica Rakin	Vanredni profesor	Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija
4. Dr Jelena Pejin	Docent	Biotehnologija

Nastavno-naučno veće fakulteta prihvatilo je izveštaj Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije na sednici održanoj dana **25.04.2013. godine.**

DEKAN FAKULTETA

Prof. dr Đorđe Janačković

Prilog:

1. Doktorska disertacija
2. Izveštaj Komisije sa predlogom
3. Akt Nastavno-naučnog veća Fakulteta o usvajanju izveštaja

Na osnovu čl. 30. stav 3. Zakona o visokom obrazovanju, čl. 38. Statuta TMF-a i čl. 39. Pravilnika o doktorskim studijama TMF, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta od 25.04.2013. godine, doneta je

O D L U K A

o prihvatanju Referata o oceni doktorske disertacije

Prihvata se Referat Komisije u sastavu: dr Ljiljana Mojović, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, dr Maja Vukašinović-Sekulić, docent Tehnološko-metalurškog fakulteta, dr Marica Rakin, vanredni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, Jelena Pejin, docent Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, o pregledu i oceni urađene doktorske disertacije pod nazivom: „**PROIZVODNJA MLEČNE KISELINE I PROBIOTSKE BIOMASE NA DESTILERIJSKOJ DŽIBRI**“ koju je podnela **ALEKSANDRA ĐUKIĆ-VUKOVIĆ**, dipl. farmaceut i upućuje se na saglasnost Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu.

Veće naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu dalo je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije **ALEKSANDRE ĐUKIĆ-VUKOVIĆ, dipl. farmaceuta**, pod nazivom „**PROIZVODNJA MLEČNE KISELINE I PROBIOTSKE BIOMASE NA DESTILERIJSKOJ DŽIBRI**“ Odlukom 02 broj: 06-18424/20-12 od 07.05.2012. godine.

Radovi u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

1. **Đukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J., Bulatović, M.: Effect of different fermentation parameters on L- lactic acid production from liquid distillery stillage, - *Food Chemistry*, vol. 134, no. 2, pp. 1038-1043, 2012 (**IF (2011) = 3,655**) (ISSN 0308-8146)
2. **Djukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Nikolić, S., Pejin, J.: Integrated production of lactic acid and biomass on distillery stillage, -*Bioprocess and biosystems engineering*, DOI: 10.1007/s00449-012-0842-x (2012) (**IF (2011) = 1,809**) (ISSN 1615-7591)
3. **Djukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Jokić, B., Nikolić, S., Pejin, J.: Lactic acid production on liquid distillery stillage by *Lactobacillus rhamnosus* immobilized onto zeolite, -*Bioresource technology*, DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.066 (2012) (**IF (2011) = 4,980**) (ISSN 0960-8524)
4. Mojović, L., Pejin, D., Rakin, M., Pejin, J., Nikolić, S., **Djukić-Vuković, A.**: How to improve the economy of bioethanol production in Serbia, -*Renewable and sustainable energy reviews*, vol. 16, no. 8, pp. 6040-6047, 2012 (**IF (2011) = 6,018**) (ISSN 1364-0321)

Odluku dostaviti: Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta, mentoru, Službi za nastavno-studentske poslove, Biblioteci i Arhivi fakulteta.

D E K A N

Prof. dr Đorđe Janačković

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Предмет: Реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута

Одлуком 35/100 бр. од 02.04.2013. године, именовани смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута под насловом

Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри

После прегледа достављене Дисертације и других пратећих материјала и разговора са Кандидатом, Комисија је сачинила следећи

**РЕФЕРАТ
о урађеној докторској дисертацији**

1. УВОД

1.1. Хронологија одобравања и израде дисертације

19.03.2012. године - Александра Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеут је пријавила тему докторске дисертације са називом “Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри“. Александра Ђукић-Вуковић је докторске студије уписала школске 2008/2009. године.

29.03.2012. године - на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета формирана је комисија за оцену теме докторске дисертације кандидата Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута.

19.04.2012. године - на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета поднет је извештај о оцени теме докторске дисертације Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута под називом: “Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри“, а за ментора ове докторске дисертације именована је др Љиљана Мојовић, редовни професор ТМФ-а.

7.05.2012. године – је донета одлука Већа научних области на Универзитету о прихватању теме докторске дисертације Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута под називом: “Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри“.

02.04.2013. године - на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета донета је Одлука о именовању чланова Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фармацеута под називом: "Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри".

1.2. Научна област дисертације

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство – биотехнологија за коју је матична установа Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду. За ментора је изабрана др Љиљана Мојовић, редовни професор ТМФ-а из научне области Биотехнологија и биохемијско инжењерство која је на основу објављених публикација и искуства компетентна да руководи израдом ове дисертације.

1.3. Биографски подаци о кандидату

Александра Ђукић-Вуковић је рођена 30.07.1984. године у Смедереву. Гимназију „Бранко Радичевић“ у Ковину је завршила са одличним успехом 2002. године. Дипломирала је на Фармацеутском факултету у Београду 05. маја 2008. године са оценом 10 и просечном оценом у току студија 8,84. Завршила је приправнички стаж за фармацеуте у јуну 2009. године и стекла лиценцу за обављање фармацеутске здравствене делатности. Говори, чита и пише енглески језик, а служи се немачким језиком. Докторске студије на Технолошко-металуршком факултету је уписала школске 2008/2009. године, на смеру Биохемијско инжењерство и биотехнологија са просеком 10 и свим положеним испитима.

Од јуна 2009. године до јануара 2011. године била је стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије. У звање истраживач приправник је изабрана 23.09.2010., а у звање истраживач сарадник 12.07.2011. године. Од 2009. године је ангажована на пројекту ТР20064 *Развој технолошких поступака за производњу адитива и нових формулација за прехранбену индустрију* Министарства за науку и технолошки развој. Од јануара 2010. године, ангажована је на пројекту ТР18002 Министарства за науку и технолошки развој *Повећање ефикасности производње биоетанола на обновљивим сировинама потпуним искоришћењем споредних производа*. Од 01.02.2011. године запослена је на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду, Катедра за биохемијско инжењерство и биотехнологију, при пројекту Министарства за науку и технолошки развој ТР31017 *Производња млечне киселине и пробиотика на отпадним производима прехранбене и агро-индустрије*. У периоду 2011-2012. године учествовала је у међународном пројекту у оквиру билатералне сарадње између Републике Србије и Народне републике Кине под називом *Унапређење производње хемикалија на обновљивој биомаси*.

Ангажована је на извођењу вежби из предмета Фармацеутска биотехнологија (школска 2010/2011; 2011/2012; 2012/2013) на основним студијама и Фармацеутска биотехнологија (школска 2011/2012; 2012/2013) и Аналитика животних намирница на мастер студијама (школска 2011/2012).

2. ОПИС ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Садржај дисертације

Докторска дисертација Александре Ђукић-Вуковић написана је на 207 страна, са укупно 6 поглавља, 42 слика, 30 табела и 244 литературних навода. Докторска дисертација

садржи следећа поглавља: **Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултате и дискусију, Закључак и Литературу**, уз изводе на српском и енглеском језику и прилог коришћених скраћеница.

2.2. Кратак приказ појединачних поглавља

У **Уводу** дисертације су дата основна разматрања значаја млечне киселине и предности производње млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри у односу на досада успостављене процесе производње. На крају поглавља су представљени циљеви рада са планом истраживања.

У **Теоријском делу** су детаљно описана својства и значај млечне киселине за прехранбену, фармацеутску, хемијску и др. индустрије. Описане су бактерије млечне киселине које се користе у млечно-киселинској ферментацији, као и њихове особине релевантне за оптимизацију процеса и одабир одговарајућег технолошког поступка. Разморени су различити извори угљеника и азота као сировине за ферментациону производњу млечне киселине, уз посебан осврт на карактеристике цибре из производње биоетанола (порекло и варијабилност састава цибре у зависности од сировине коришћене за производњу биоетанола). Карактеристике бактерија млечне киселине, њихова класификација, метаболизам и практична примена у различитим технолошким поступцима су изложени, са детаљнијим освртом на употребу у млечно-киселинским ферментацијама на отпадним сировинама (сурутка, отпадни папир, скробни споредни производи...). Дат је преглед и анализа карактеристика и значајних параметара у ферментационим поступцима добијања млечне киселине на различитим супстратима. Изложени су до сада описани технолошки поступци за ефикасну ферментациону производњу млечне киселине, уз детаљнији опис техника имобилизације и могућности коришћења зеолита као носача за имобилизацију бактерија млечне киселине. Значај пробиотика и област примене у исхрани људи и животиња су такође представљени као и законодавни оквир њихове примене у сточној храни и *in vitro* методе испитивања пробиотских својстава. Представљене су важне особине сточне хране, уопштено, и ферментисане сточне хране из угла нових трендова уз анализу потенцијала примене цибре након млечно-киселинске ферментације у исхрани животиња.

У поглављу **Експериментални део** приказани су материјали, микроорганизми, хемикалије, методе и услови који су коришћени у експерименталном раду, према редоследу експерименталног истраживачког рада. Прво су описани услови и методе коришћене за карактеризацију хемијског састава испитиване цибре и проферментисаног медијума. Методе за одређивање садржаја шећера, млечне киселине, протеина, масти, пепела, суве материје и анализу садржаја метала су редом представљене. Затим је приказан начин селекције микроорганизма. Описане су процедуре коришћене за испитивање утицаја температуре, рН контроле, присуства кисеоника, мешања, концентрације инокулума и почетне концентрације шећера на производњу млечне киселине и раст микроорганизма. Даље су представљени услови и карактеризација различитих технолошких поступака ферментације (шаржно, доливно). Описане су методе и услови имобилизације микроорганизма и поступак извођења ферментација са рецикулацијом имобилисаног биокатализатора. Описана је скенирајућа електронска микроскопија (СЕМ) коришћена за визуелизацију имобилизације производног микроорганизма. За анализу погодности остатка цибре након ферментације за примену у исхрани животиња описане су методе и дате формуле коришћене за одређивање садржаја влакана, безазотног екстракта, сварљивости, сварљиве и метаболичке енергије. Описане су и процедуре коришћене за испитивање утицаја жучних соли, рН вредности, антимикубног деловања и осетљивости на антибиотике у оквиру *in vitro* испитивања пробиотских својстава биомасе.

Поглавље **Резултати и дискусија** обухвата приказ резултата добијених у експерименталном раду у овој дисертацији, њихову анализу, дискусију која често укључује и анализу могућности примене ових резултата као и поређење са објављеним резултатима или сличним испитаним системима. На самом почетку овог поглавља приказани су резултати хемијске карактеризације цибре од отпадног хлеба и извршена је анализа њене подобности за млечно-киселу ферментацију упоређивањем хемијског састава са нутритивним захтевима млечно-киселинских бактерија. Потом су представљени резултати селекције микроорганизама у оквиру којих је сој *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 одабран због најбоље постигнуте ефикасности производње млечне киселине и биомасе на цибри. Даље су приказани и дискутовани резултати оптимизације услова за повећање продуктивности млечно-киселинске ферментације у шаржном систему. Након оптимизације одабрана је температура (41°C), контрола рН (додатком 30% NaOH у четворосатним интервалима), концентрација инокулума (5% (v/v)), почетна концентрација шећера (55 g L⁻¹), мешање (90 обрт/мин, микроаерофилно) и приказана је кинетика производње млечне киселине и биомасе у оптимизованом шаржном систему.

Након шаржног процеса, испитана је и могућност примене доливног поступка, како би се повећала концентрација млечне киселине у медијуму и евентуално повећала продуктивност процеса са целом цибром. Применом доливног поступка остварено је значајно унапређење млечно-киселинске ферментације, па је коначна концентрација млечне киселине у медијуму повећана за 47,6%, а запреминска продуктивност за 21% у односу на шаржни поступак. Максимална постигнута продуктивност млечне киселине је износила 1,80 g L⁻¹ h⁻¹, принос млечне киселине од 0,87 g g⁻¹ и концентрација од 97,1 g L⁻¹. Број вијабилних ћелија на крају ферментације је износио 10⁹ CFU ml⁻¹. Значајно је нагласити да су на отпадној цибри у доливном систему остварени врло високи приноси и продуктивности млечне киселине, као и изузетно добар раст биомасе. Вредности наведених параметара су биле веће од многих литературних података објављених за млечно-киселиску ферментацију на различитим отпадним материјалима као што су сурутка, алгална биомаса, отпадна вода од прераде ананаса и сл. Ово уједно указује и на подобност цибре као суптрата за ферментацију, тим пре што није вршена никаква суплементација минералима или екстерним изворима азота.

Такође, под дефинисаним оптималним условима је испитан и процес са имобилизацијом *L. rhamnosus* ATCC 7469 и рециркулацијом имобилисаног биокатализатора. Показано је да је адсорпција имобилисаног *L. rhamnosus* ATCC 7469 изузетно снажна и на нативном и на Mg-модификованом зеолиту и да је могуће извести четири рециркулациона циклуса са продуктивношћу вишом од 1,0 g L⁻¹ h⁻¹ у току којих долази до даље колонизације површине зеолита бактеријама. У ферментацији са имобилисаним биокатализатором на Mg-модификованом зеолиту је просечно остварена 8% виша продуктивност у односу на систем Na-зеолита, уз највише остварене вредности продуктивности (1,80 g L⁻¹ h⁻¹), приноса (0,86 g g⁻¹) и коефицијента приноса (0,99 g g⁻¹) у току првог циклуса. Даље у току ферментације у поновљеним циклусима се ове разлике смањују, највероватније услед поновне измене јона Mg²⁺ са јоном Na⁺ присутним у медијуму.

Даље су приказани резултати испитивања квалитета заосталог медијума након млечно-киселинске ферментације за примену у исхрани животиња. Показано је да је сварљивост остатака након ферментације била 96,63 % CM, са више од 38,65% CM протеина, уз веома високе вредности метаболичке и сварљиве енергије од преко 4000 kcal kg⁻¹, што указује да ферментисана цибра може бити коришћена као врло квалитетна сточна храна која се нарочито препоручује у исхрани моногастричних животиња.

In vitro испитивањем пробиотских карактеристика биомасе заостале у ферментационом медијуму показано је да више од 85 % бактеријских ћелија преживљава четворосатну изложеност при рН=2,5 и у присуству 0,3% говеђе жучи. Такође, показано је да *L. rhamnosus* ATCC 7469 делује антимикуробно на раст *Shigella sonnei* и *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923 и да је испитани сој резистентан на аминокликозидне антибиотике, што је природна карактеристика ове врсте, док је осетљив на пеницилин, тетрациклин и еритромицин. Утврђене карактеристике су од изузетног значаја за коришћење произведене биомасе заједно са цибором након млечно-киселе ферментације за исхрану домаћих животиња.

У **Закључку** су наглашени најзначајнији остварени резултата истраживања, посебно они који представљају нова сазнања и таксативно су приказани најважнији закључци, изведени на основу испитивања изложених у претходним поглављима. Преглед значајних достигнућа и предности овог интегрисаног процеса су доведени у везу са потенцијалном могућношћу примене.

У одељку **Литература** наведене су референце цитиране у дисертацији, укључујући и научне публикације проистекле из експерименталног рада у оквиру предложене теме.

3. ОЦЕНА ДИСЕРТАЦИЈЕ

3.1. Савременост и оригиналност

Млечна киселина је значајна хемикалија која је данас врло тражена у фармацеутској, хемијској, прехранбеној, текстилној и кожној индустрији, било као чиста супстанца или сировина. Последњих година интензивно расте потреба за млечном киселином, посебно као сировином за добијање полилактида, полимера за облагање различитих фармацеутских облика са контролисаним ослобађањем активне лековите супстанце. Процењено је да потражња за млечном киселином на светском тржишту годишње расте по просечној стопи од 7 %. У Србији се млечна киселина увози, па би се развојем поступка на јефтиним супстратима могла уштедети значајна средства.

Сматра се да је годишња производња млечне киселине око 120 000 т, од чега се око 90% добија ферментативним путем у процесима помоћу млечно-киселинских бактерија, док се преосталих 10% добија синтетски хидролизом из лактонитрила. Овако висок удео ферментативне производње млечне киселине у укупној светској производњи одсликава растући тренд и указује на потребу усавршавања еколошки повољних технологија за млечно-киселинске ферментације. У том смислу се интензивно истражују могућности коришћења отпадних и споредних производа агро-индустрије као супстрата за млечно-киселинске ферментације. Зато је у овој докторској дисертацији изабрана дестилеријска цибра из производње биоетанола као отпадна и јефтина сировина за ферментацију. Глобална производња биогорива се данас такође изузетно развија и расте, а након производње заостају огромне количине цибре са великим уделом органског материјала коју је потребно што пре искористити или адекватно обрадити. Конципирањем производње млечне киселине на цибри имало би утицаја и на повећање профитабилности производње биоетанола.

У докторској дисертацији је коришћен савремен "*биорафинерисјки приступ*", а чија се оригиналност огледа пре свега у избору сировине за производњу млечне киселине, као и интегрисаном приступу истовремене или паралелне производње млечне киселине и високо вредне хране за животиње обogaћене пробиотском биомасом. Квалитет овако добијене сточне хране је документован у овом раду, а дестилеријска цибра се показала као добар супстрат за овакву интегрисану производњу.

3.2. Осврт на референтну и коришћену литературу

У току израде кандидаткиња је користила литературу која је референтна за испитивану област производње млечне киселине, пробиотске биомасе и сточне хране. Поред

класичних стручно-учбеничких књига коришћене су и најновији научни радови из водећих научних часописа испитиване области у највећем броју публиковани од 2010. године, укључујући и 2013. годину. Увид и анализа најновијих сазнања из области истраживања допринела је актуелности и квалитетном позиционирању процеса испитиваних у дисертацији у савремене научне и стручне трендове.

3.3. Опис и адекватност примењених научних метода

За карактерисање хемијског састава цибре коришћене су метода атомске апсорпционе спектрометрије (ААС), као и спектрофотометријске и екстрактивне методе. У току оптимизације процеса праћен је садржај млечне киселине (ензимска метода), шећера (спектрофотометријска метода), промена рН као важног фактора за преживљавање производног микроорганизама, као и број живих микроорганизама (методом бројања на агарним плочама). Морфологија и структура површине имобилисаних бактеријских ћелија на зеолиту је испитивана скенирајућом електронском микроскопијом (СЕМ) и светлосном микроскопијом. За анализу квалитета остатка након млечно-киселинске ферментације за сточну храну, коришћен је Апарат за одређивање влакана, као и *in vitro* методе за испитивање стварљивости. За *in vitro* карактерисање пробиотске активности коришћен је симулирани гастрични сок уз праћење преживљавања, антимикробно дејство и резистенцију на антибиотике класичним микробиолошким техникама.

3.4. Применљивост остварених резултата

Резултати истраживања проистекли у овој дисертацији имају изузетан практичан значај и директну могућност примене у индустрији производње млечне киселине, биостанола као и у производњи хране за животиње. На основу постигнутих приноса утврђено је да је дестилеријска цибра представља добар супстрат за производњу млечне киселине (није чак потребно ни обогаћивање медијума изворима азота и микроелементима), а значајна продуктивност је постигнута у доливном поступку и поступку са имобилисаним бактеријама на зеолиту.

Резултати истраживања могу бити практично примењени и у дестилеријама за примену у овом раду испитаног поступка за ферментацију отпадне дестилеријске цибре.

Резултати до којих се дошло у овој дисертацији представљају допринос истраживању и развоју ферментационих процеса помоћу бактерија млечне киселине.

Имобилизација бактерије *L. rhamnosus* ATCC 7469 на зеолит је први пут изведена у овом раду и показала се као практичан и једноставан метод који се може даље применити и у сличним ферментацијама и са другим бактеријама млечне киселине.

3.5. Оцена достигнутих способности кандидата за самостални научни рад

Кандидаткиња Александра Ђукић-Вуковић, дипл. фарм. је током израде докторске дисертације показала изузетну стручност и самосталност у припреми и реализацији експеримената, коришћењу различитих биохемијских, хемијских и микробиолошких техника и анализи резултата. Кандидаткиња је савладала вештине свеобухватног и систематског приступа истраживању и стекла је све квалитете који су неопходни за самостални научни рад.

4. ОСТВАРЕНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС

4.1. Приказ остварених научних доприноса

Важно је нагласити да дестилеријска цибра није до сада коришћена за производњу млечне киселине (углавном је сушена и коришћена као сточна храна) па је ова проблематика готово неиспитана, тако да већина резултата проистеклих из ове дисертације представљају оригинална нова сазнања. Посебан научни допринос резултата докторске дисертације се огледа у следећем:

- дефинисању најподобнијег соја бактерија млечне киселине као и услова ферментације млечне киселине на дестилеријској цибри, избору оптималне технолошке шеме (доливна ферментација, као и ферментација са имобилисаним биокатализатором) као и развоју новог поступка коришћења цибре за производњу млечне киселине и микробиолошке биомасе са пробиотском активности;
- повећању економичности производње биоетанола на скробним сировинама развојем одрживог поступка са потпуном валоризацијом споредних производа и употребом заосталог ферментационог медијума са пробиотском биомасом за исхрану домаћих животиња;
- смањењу негативног еколошког утицаја коришћењем отпадних вода из производње биоетанола;
- такође, примена развијеног концепта производње млечне киселине би била од значаја и за домаћу прехранбену индустрију, будући да Србија увози млечну киселину.

4.2. Критичка анализа резултата истраживања

Дефинисање најподобнијег бактеријског соја је извршено на основу претходне анализе хемијског састава дестилеријске цибре посебно са аспекта нутритивних захтева бактерија млечне киселине и експерименталних испитивања млечно-киселинске ферментације са четири одабрана микроорганизама из рода *Lactobacillus* (*L. paracasei* ssp. *paracasei* NRRL B-4564, *L. casei* ssp. *casei* NRRL B-441, *L. pentosus* NRRL-227 i *L. rhamnosus* ATCC 7469), при чему су највећи приноси остварени са *L. rhamnosus* ATCC 7469.

Даља технолошка оптимизација процеса млечно-киселинске ферментације са одабраним микроорганизмом је извршена на основу опсежних експерименталних испитивања ферментације при различитим технолошким параметрима (температура, мешање, анаеробни или микроаерофилни услови, концентрација инокулума, концентрација шећера, рН и додатак средства за неутрализацију) и на основу корелационе статистичке анализе међусобног утицаја ових параметара. Након избора оптималних параметара у шаржном систему приступило се избору оптималне технолошке шеме. Значајно повећање приноса и продуктивности процеса остварено је применом доливне шеме ферментације, док је развој поступка имобилизације радног микроорганизама на зеолит отворио могућност примене технолошке шеме ферментације са рецикулацијом имобилисаног катализатора у коме су остварени добри приноси и продуктивности у току 4 узастопне рецикулације биокатализатора. Оваква технолошка шема је посебно погодна за интегрисану или паралелну производњу млечне киселине и високо вредне хране за животиње. Остварени приноси и продуктивности у овако оптимизованим поступцима су били већи од многих литературно објављених приноса и продуктивности на другим отпадним супстратима као нпр. сурутки, отпадној води од прераде ананаса, алгалној биомаси и сл. Ово представља верификацију резултата ове тезе, а уједно и указује на подобност коришћене дестилеријске цибре као сировине за млечно-киселинску ферментацију, јер није била потребно никакво обогаћивање скупим изворима азота или микроелементима.

Такође је значајно нагласити да се на основу опсежног прегледа до сада објављених резултата може констатовати да је, имобилизација бактерије *L. rhamnosus* ATCC 7469 на зеолит први пут развијена и примењена у овом раду и показала се као практичан и

једноставан метод који се може даље применити и у сличним ферментацијама и са другим бактеријама млечне киселине. У конкретном случају у оквиру ове дисертације примењени поступак имобилизације има двоструки позитивни ефекат који се огледа и на могућност рецикулације биокатализатора и на побољшање квалитета ферментисаног остатка са зеолитом за примену у исхрани домаћих животиња.

4.3. Верификација научних доприноса

Кандидат Александра Ђукић-Вуковић је резултате свог истраживања током израде ове дисертације потврдила објављивањем радова у часописима међународног и националног значаја и саопштавањем радова на међународним и националним скуповима. Први је аутор три објављена рада у оквиру докторске тезе у врхунском међународном часопису (M21), као и једног рада у међународном часопису (M23) и три рада објављена у националним часописима (M53).

Радови у врхунском међународном часопису (M21)

1. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J., Bulatović, M.: Effect of different fermentation parameters on L- lactic acid production from liquid distillery stillage, - *Food Chemistry*, vol. 134, no. 2, pp. 1038-1043, 2012 (**IF (2011) = 3,655**) (ISSN 0308-8146)
2. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Nikolić, S., Pejin, J.: Integrated production of lactic acid and biomass on distillery stillage, -*Bioprocess and biosystems engineering*, DOI: 10.1007/s00449-012-0842-x (2012) (**IF (2011) = 1,809**) (ISSN 1615-7591)
3. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Jokić, B., Nikolić, S., Pejin, J.: Lactic acid production on liquid distillery stillage by *Lactobacillus rhamnosus* immobilized onto zeolite, -*Bioresource technology*, DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.066 (2012) (**IF (2011) = 4,980**) (ISSN 0960-8524)
4. Mojović, L., Pejin, D., Rakin, M., Pejin, J., Nikolić, S., **Ђукић-Vuković, A.**: How to improve the economy of bioethanol production in Serbia, -*Renewable and sustainable energy reviews*, vol. 16, no. 8, pp. 6040-6047, 2012 (**IF (2011) = 6,018**) (ISSN 1364-0321)

Радови у међународним часописима (M23)

1. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Pejin, D., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J.: Novi pravci i izazovi u proizvodnji mlečne kiseline na obnovljivim sirovinama, -*Hemijska industrija*, vol. 65, no. 4, pp. 411–422, 2011 (**IF (2011) = 0,205**) (ISSN 0367-598X)

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

1. **Ђукић Vuković, A.**, Nikolić, S., Mojović, L., Pejin, D., Rakin, M., Pejin, J., Bulatović, M.: „The possibilities of utilization of stillage from the production of bioethanol on starch feedstocks“, *XIX International Symposium on Alcohol Fuels – ISAF/2nd Lignocellulosic Bioethanol Conference*, October 10-14, 2011, Verona, Paper No. 10987, TP1.A3
2. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Bulatović, M., Pejin, J.: “Stillage from bioethanol production as substrate for parallel production of lactic acid and biomass”, -*Proceedings of 6th Central European Congress on Food*, Novi Sad, Serbia, 2012., pp. 1093-1098 (ISBN 978-86-7994-0278)
3. **Ђукић-Vuković, A.**, Mojović, L., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J.: “Distillery stillage as a new substrate for lactic acid and biomass production“, *CD Proceedings of The 7th Conference on Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems – SDEWES Conference*, Ohrid, Macedonia, 2012., pp. 111-121. (ISSN 1847-7186)

4. Mojović, L., **Djukić-Vuković, A.**, Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Bulatović, M., Pejin, J.: "Distillery stillage as a new and renewable substrate for lactic acid production", *CD Proceedings of Global Conference on Global Warming 2012 (GCGW2012)*, Istanbul, Turkey, 2012., pp. 932-939. (ISBN 978-605-89885-1-5)

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. **Djukić-Vuković, A.**, Rakin, M., Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Nikolić, S.: "Possibilities to lactic acid production on different agricultural by-products", *Book of abstracts of 8th European Congress of Chemical engineering/ 1st European Congress of Applied Biotechnology (ECCE/ECAB)*, Berlin, Germany, 2011., p. 2823.
2. **Djukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Bulatović, M., Pejin, J.: "Impact of oxygen exposure and shaking on lactic acid fermentation by *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 on liquid stillage", *CD Proceedings of Microbiologia Balkanica 2011/MICROMED 2011, 7th Balkan Congress of microbiology/8th Congress of Serbian Microbiologists*, Belgrade, Serbia, 2011., p. 218. (ISBN 978-86-914897-0-01)

Радови у водећем часопису националног значаја (M51)

1. Mojović, L., Vukašinović Sekulić, M., **Đukić, A.**, Pejin, D., Rakin, M., Pejin, J., Nikolić, S.: Production of lactic acid on liquid distillery stillage, *-Journal on Processing and Energy in Agriculture (former PTEP)*, vol. 15, no. 1, pp. 1-5, 2011 (ISSN 1821-4487)

Радови у часопису националног значаја (M52)

1. **Đukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Pejin, D., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J.: Proizvodnja mlečne kiseline na tečnoj destilerijskoj džibri pomoću *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, *-Zbornik radova Tehnološkog fakulteta*, vol. 20, pp. 96-104, 2011 (ISSN 0352-6542)
2. **Đukić-Vuković, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Rakin, M., Nikolić, S., Pejin, J., Hao, J.: Utilization of the stillage from bioethanol production on waste bread for lactic acid and biomass production, *-Journal on Processing and Energy in Agriculture (former PTEP)*, vol. 16, no. 1, pp. 14-18, 2012. (ISSN 1821-4487)

Саопштење са скупа националног значаја штампано у целини (M63)

1. **Đukić, A.**, Mojović, L., Vukašinović-Sekulić, M., Pejin, D., Rakin, M., Pejin, J., Nikolić, S.: Uticaj temperature i prisustva kiseonika na mlečno-kiselinsku fermentaciju pomoću *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* NRRLB 4654 na tečnoj destilerijskoj džibri, *CD Knjiga celih radova Nacionalne konferencije sa međunarodnim učešćem „Biotehnologija za održivi razvoj“*, Beograd, Srbija, 2010., str. 25-28. (ISBN 978-86-7401-269-7)
2. Vukašinović-Sekulić, M., Mojović, L., Rakin, M., Nikolić, S., **Đukić, A.**, Marković, M., Markov, S.: Selection of strains from *Lactobacillus* sp. for lactic acid fermentation of thin stillage, *CD Knjiga celih radova Nacionalne konferencije sa međunarodnim učešćem „Biotehnologija za održivi razvoj“*, Beograd, Srbija, 2010., str. 41-44. (ISBN 978-86-7401-269-7)
3. Nikolić, S., Vukašinović-Sekulić, M., Pejin, D., Mojović, L., Rakin, M., Pejin, J., **Đukić, A.**: Proizvodnja mlečne kiseline iz kukuruzne tečne džibre pomoću *Lactobacillus rhamnosus* ATCC

5. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу претходно изнетих разматрања резултата докторске дисертације Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фарм. под насловом **“Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри”** сматрамо да су испуњени сви циљеви и задаци рада на овој тези и да она својим садржајем и квалитетом значајно доприноси области Технолошко инжењерство – биотехнологија, што је и потврђено објављивањем значајног броја радова у међународним часописима, као и публикавањем резултата на међународним и националним конференцијама.

Комисија предлаже Наставно-научном већу ТМФ-а да прихвати овај РЕФЕРАТ и да се докторска дисертација под називом **“Производња млечне киселине и пробиотске биомасе на дестилеријској цибри”** кандидата Александре Ђукић-Вуковић, дипл. фарм. прихвати, изложи на увид јавности у законски предвиђеном року и потом упуту на коначно усвајање Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду. Такође, да се након завршетка ове процедуре, кандидат позове на усмену одбрану дисертације пред Комисијом у истом саставу.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

.....
Проф. др Љиљана Мојовић,
Технолошко-металуршки факултет
Универзитета у Београду

.....
Доц. др Маја Вукашиновић-Секулић,
Технолошко-металуршки факултет
Универзитета у Београду

.....
Проф. др Марица Ракин,
Технолошко-металуршки факултет
Универзитета у Београду

.....
Доц. др Јелена Пејин,
Технолошки факултет
Универзитета у Новом Саду