

Факултет Технолошко-металуршки

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/216
(Број захтева)
29. 8. 2025.
(Датум)

Веће научних области техничких наука
(Назив већа научне области коме се захтев упућује)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуке о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и о именовању комисије за одбрану

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације::

КАНДИДАТ Милица (Бобан) Вељковић
(име, име једног од родитеља и презиме)

студент докторских студија на студијском програму: **Биохемијско инжењерство и биотехнологија**

пријавио је докторску дисертацију под називом:

Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида

из научне области: Технолошко инжењерство
Универзитет је дана 19. 1. 2022. својим актом под бр. 61206-173/2-22 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида

Име и презиме ментора: др Дејан Безбрадица, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.
Име и презиме ментора 2: др Милица Симовић, виши научни сарадник Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

Комисија за оцену докторске дисертације именована је на седници одржаној 24. 4. 2025. одлуком факултета под бр. 35/100, у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	Др Мирјана Рајилић-Стојановић	ванредни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија	ТМФ
2.	Др Сузана Димитријевић-Бранковић	редовни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија	ТМФ
3.	Др Милан Миливојевић	ванредни професор	Хемијско инжењерство	ТМФ
4.	Др Дарко Јаћимовски	научни сарадник	Хемијско инжењерство	ИХТМ

Датум стављања извештаја Комисије и докторске дисертације на увид јавности 2. 6. 2025.

Наставно-научно веће факултета усвојило је извештај Комисије за оцену докторске дисертације на седници одржаној дана 28. 8. 2025.

Комисија за одбрану докторске дисертације именована је на седници одржаној 28. 8. 2025.

одлуком факултета под бр. 35/216, у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	Др Мирјана Рајилић-Стојановић	ванредни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија	ТМФ
2.	Др Сузана Димитријевић-Бранковић	редовни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија	ТМФ
3.	Др Милан Миливојевић	ванредни професор	Хемијско инжењерство	ТМФ
4.	Др Дарко Јаћимовски	научни сарадник	Хемијско инжењерство	ИХТМ

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Студент је уписан на докторске студије школске 2018/2019. године.

Решењем декана бр. 20/230 од 29. 10. 2024. одобрено је продужење рока за завршетак студија до истека троструког броја школских година потребних за реализацију уписаног студијског програма, односно до 30. 9. 2027. године

ДЕКАНКА ФАКУЛТЕТА

др Мирјана Кијевчанин, редовни професор

-
- Прилози:**
1. Одлука Наставно-научног већа о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и одлука о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације
 2. Извештај Комисије о оцени докторске дисертације
 3. Примедбе на извештај Комисије о оцени докторске дисертације (уколико их је било) и мишљење Комисије о примедбама

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиву Универзитета



Република Србија
Универзитет у Београду
Технолошко-металуршки факултет

РЕПУБЛИКА СРБИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ТЕХНОЛОШКО МЕТАЛУРШКИ ФАКУЛТЕТ

Бр.

20/ 230

29 OCT 2024

год.

БЕОГРАД

На основу члана 101. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета у Београду бр. 201/2018") и члана 76. Статута Технолошко-металуршког факултета у Београду, као и захтева студента за продужење рока за завршетак студија Декан доноси

РЕШЕЊЕ

о продужењу рока за завршетак студија

Студенту **Милица Вељковић**, број индекса 2018/4003, уписана у прву годину докторских академских студија школске 2018/2019 године продужава се рок за завршетак студија до истека троструког броја школских година потребних за реализацију уписаног студијског програма, односно до 30.09.2027 године.

Деканка

Prof. dr. Mirjana Kijevc

Проф. др Мирјана Кијевчанин



На основу чл. 40. став 3. Закона о високом образовању, чл. 112. став 3. Статута Универзитета у Београду, чл. 88. став 3. Статута ТМФ-а и чл. 41. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 28. 8. 2025. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Извештаја о оцени докторске дисертације

Прихвата се Извештај Комисије у саставу: др Мирјана Рајилић-Стојановић, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Сузана Димитријевић-Бранковић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Милан Миливојевић, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Дарко Јаћимовски, научни сарадник Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију, о прегледу и оцени урађене докторске дисертације под називом: **„Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида“** коју је поднела **Милица Вељковић**, мастер инжењер технологије и упућује се на сагласност Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду. Веће научних области техничких наука Универзитета у Београду дало је сагласност на предлог теме докторске дисертације Милице Вељковић, под називом **„Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида“** Одлуком број: 61206-173/2-22 од 19. 1. 2022. године.

Верификација научних доприноса:

Категорија M21a:

1. Veljković, M., Banjanac, K., Milivojević, A., Ćorović, M., Simović, M., Bezbradica, D.: Production of prebiotic enriched maple syrup through enzymatic conversion of sucrose into fructo-oligosaccharides, - *Food Chemistry*, vol. 449, 2024, 139180, **IF (2024) = 8.5**, ISSN 0308-8146; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139180>

Категорија M21:

1. Veljković, M., Stepanović, R., Banjanac, K., Ćorović, M., Milivojević, A., Simović, M., Milivojević, M., Bezbradica, D.: Continuous production of fructo-oligosaccharides using selectively immobilized fructosyltransferase from *Aspergillus aculeatus* onto Purolite® A109, - *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 117, 2023, pp 149-156. **IF (2022) = 6.1**, ISSN 1226-086X; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.09.051>

2. Veljković, M., Simović, M., Banjanac, K., Ćorović, M., Milivojević, A., Milivojević, M., Bezbradica, D.: Heterofunctional epoxy support development for immobilization of fructosyltransferase from Pectinex® Ultra SP-L: batch and continuous production of fructo-oligosaccharides, - *Reaction Chemistry and Engineering*, vol. 7, no. 12, 2022, pp 2518-2526. **IF (2022) = 3.9**; DOI: <https://doi.org/10.1039/D2RE00182A>

Одлуку доставити: Већу научних области техничких наука Универзитета, менторима, Служби за наставно-студентске послове и Архиви факултета.

Д Е К А Н К А

Проф. др Мирјана Кијевчанин

ДУ

На основу чл. 40. став 3. Закона о високом образовању, чл. 112. став 3. Статута Универзитета у Београду, чл. 88. став 3. Статута ТМФ-а и чл. 41. и 42. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 28. 8. 2025. године, донета је

О Д Л У К А

о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације

Именује се Комисија за одбрану докторске дисертације **Милице Вељковић**, мастер инжењера технологије, са темом под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**“, у саставу:

1. Др Мирјана Рајилић-Стојановић, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет,
2. Др Сузана Димитријевић Бранковић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет,
3. Др Милан Миливојевић, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет,
4. Др Дарко Јаћимовски, научни сарадник Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију.

Одлуку доставити: Одлуку доставити: члановима Комисије, Универзитету у Београду, Служби за наставно-студентске послове и Архиви Факултета.

Д Е К А Н К А

Проф. др Мирјана Кијевчанин

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Реферат о урађеној докторској дисертацији кандидаткиње Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије

Одлуком Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду, одлука бр. 2025-35/100 од 24.04.2025. године, именовани смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидаткиње Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије, под насловом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**”.

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

РЕФЕРАТ

1. УВОД

1.1. Хронологија одобравања и израде дисертације

- **Школске 2018/2019. године**, кандидаткиња Милица Б. Вељковић, мастер инжењер технологије, уписала је докторске академске студије на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија, Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду под менторством др Дејана Безбрадице, редовног професора.
- **18.11.2021. (одлука бр. 35/296)**, Кандидаткиња Милица Б. Вељковић, мастер инжењер технологије, предложила је тему докторске дисертације под називом: „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**”, а Наставно-научно веће Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду усвојило је Комисију за оцену подобности теме и кандидаткиње за израду докторске дисертације.
- **23.12.2021. (одлука бр. 35/369)**, На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета донета је одлука о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидаткиње за израду докторске дисертације, а за ментора је именован др Дејан Безбрадица, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду.
- **19.1.2022. (одлука бр. 61206-173/2-22)**, На седници Већа научних области техничких наука Универзитета у Београду дата је сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидаткиње Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије, под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**”.
- На захтев Милице Б. Вељковић, студента докторских студија, а уз сагласност ментора проф. др Дејана Безбрадице, Деканка Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду је донела решење о продужењу рока за завршетак студија 29.10.2024. **Решење бр. 20/230** којим је одобрен продужетак рока за завршетак студија до истека троструког броја

школских година потребних за реализацију уписаног студијског програма, односно до 30.09.2027. године.

- **06.02.2025.** На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета донета је **одлука бр. 35/25** о прихватању именовања другог ментора др Милице Симовић, вишег научног сарадника Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду поред претходно именованог ментора др Дејана Безбрадице, редовног професора Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду.
- **25.03.2025. (одлука бр. 61206/2-25),** На седници Већа научних области техничких наука Универзитета у Београду дата је сагласност на предлог именовања другог ментора др Милице Симовић, вишег научног сарадника Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду.
- **24.04.2025. (одлука бр. 2025-35/100),** на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета донета је одлука о именовању чланова Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације кандидаткиње Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије, под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**”.

1.2. Научна област дисертације

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је Технолошко-металуршки факултет, Универзитета у Београду матична установа. Ментори ове докторске дисертације су др Дејан Безбрадица, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду и др Милица Симовић, виши научни сарадник Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду који су, на основу досадашњих објављених научних радова и искуства компетентни да руководе израдом ове докторске дисертације.

1.3. Биографски подаци о кандидаткињи

Милица Б. Вељковић, мастер инжењер технологије, рођена је 13. новембра 1994. године у Пироту где је завршила основну школу „8. септембар“ и Пиротску гимназију. Основне академске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду уписала је школске 2013/2014. године, на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Дипломирала је у септембру 2017. године, са просечном оценом 9,40 и оценом 10 на завршном раду под називом „Одређивање физиолошких својстава нових сојева бактерија из родова *Bacillus* и *Virgibacillus*”. По завршетку основних студија, школске 2017/2018. године уписала је мастер академске студије на истоименом студијском програму. Завршни мастер рад под називом „*In vitro* анализа трансдермалне дифузије естара витамина Це” одбранила је у септембру 2018. године са оценом 10, док је мастер студије завршила са просечном оценом 9,75. У току студирања остварила је укупну просечну оцену 9,47. Током основних и мастер академских студија била је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја. Докторске академске студије уписала је школске 2018/2019. године на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду, на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Положила је све испите предвиђене планом и програмом докторских студија Технолошко-металуршког факултета са просечном оценом 9,92, укључујући и завршни испит. Завршни испит под називом „Ензимска синтеза потврђених и потенцијалних пребиотика” одбранила је у септембру 2020. године оценом 10.

У периоду од 2019 до 2022. године, била је запослена као истраживач приправник у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета и ангажована је на пројекту „Развој нових инкапсулационих и ензимских технологија за производњу биокатализатора и биолошки активних компонената хране у циљу повећања њене конкурентности, квалитета и безбедности” (ИИИ 46010) који је финансиран од стране Министарства просвете, науке и

технолошког развоја Републике Србије. Од марта 2022. године изабрана је у звање истраживач сарадник. Била је ангажована у настави на извођењу експерименталних вежби из предмета Општа хемија 2 (летњи семестар школске 2018/2019. године) и Биотехнолошки практикум 1 (зимски семестар школске 2019/2020, 2020/2021, 2021/2022. године). Учествовала је у експерименталном раду и обради резултата више завршних и мастер радова студената на Катедри за биохемијско инжењерство и биотехнологију.

Од 2022. године ангажована је на националном пројекту „Prebiotics for functional food and bioactive cosmetics produced in intensified enzymatic processes” (No. 7750109, PrIntPrEnzy), The Program IDEAS финансираног од стране Фонда за науку Републике Србије и европском пројекту „Twinning for intensified enzymatic processes for production of prebiotic containing functional food and bioactive cosmetics” (ID 101060130, TwinPrebioEnz) финансираног од стране Horizon Europe 2021-2027. Учествовала је у реализацији радионице „Workshop on enzymatic production of prebiotics for food and cosmetics” и летње школе „Summer school on enzymatic production of prebiotics and analysis of prebiotic activity” организоване у оквиру пројекта TwinPrebioEnz, а као члан организационог одбора и на конференцији за младе научнике под називом „International Conference on Biochemical Engineering and Biotechnology for Young Scientists” организоване у оквиру истоименог пројекта. Учествовала је и у промоцији Технолошко-металуршког факултета приликом организације Дана отворених врата у априлу 2023. године, али и пројекта TwinPrebioEnz на Међународном сајму заштите животне средине и природних ресурса под називом „EcoFair 2024” одржаног у октобру 2024. године.

У току свог досадашњег истраживачког рада, коаутор је 2 рада у међународном часопису изузетних вредности (M21a), 8 радова у врхунским међународним часописима (M21), 1 рада у истакнутом међународном часопису (M22), 1 рада у националном часопису од међународног значаја (M24) и 14 саопштења на конференцијама.

2. ОПИС ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Садржај дисертације

Докторска дисертација, кандидаткиње Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије, под називом: „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**” је написана на 180 нумерисаних страна, са укупно 6 поглавља. Укључује 91 слику, 23 табеле и 345 литературна навода. Дисертација садржи следећа поглавља: Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература. На почетку дисертације налази се Резиме на српском и енглеском језику, Захвалница и Садржај. На крају дисертације налази се Биографија кандидата, Доказ о плаћеној накнади за коришћење услуге BioRender као и Изјаве о ауторству, истоветности електронске и штампане верзије докторске дисертације и о коришћењу, а на самом крају и Оцена извештаја о провери оригиналности урађене докторске дисертације По својој форми и садржају, поднети рад задовољава све стандарде докторске дисертације.

2.2. Кратак приказ појединачних поглавља

У **Уводу** дисертације указано је на значај функционалне хране и њених биоактивних састојака – пребиотица. Истакнут је њихов потенцијал примене са посебним освртом на физиолошки активна једињења тј. фрукто-олигосахариде. Посебна пажња посвећена је њиховим физичко-хемијским предностима и тренутним пољима употребе. Такође, указано је и на њихов значајан потенцијал за индустријску производњу. На крају поглавља истакнути су циљеви истраживања.

Теоријски део дисертације је подељен на десет поглавља. У оквиру **првог поглавља** анализиран је састав цревне микробиоте и услови средине различитих анатомских делова

гастроинтестиналног тракта. Наведени су потенцијални разлози који могу довести до промене у саставу микробиоте, али и потенцијалне стратегије регулације неравнотеже са посебним освртом на употреби пребиотика. У оквиру **другог поглавља**, детаљније су описани пребиотици. Приказан је развој дефиниције пребиотика, основни критеријуми за припадност групи пребиотика и класификација, као и њихово физиолошко дејство у људском организму. У **трећем поглављу** детаљно су разматрани фрукто-олигосахариди, њихове хемијске структуре, природни извори и физичко-хемијска својства. Такође, наведени су различити поступци њиховог добијања, са посебним освртом на ензимске поступке производње фрукто-олигосахарида. У **четвртном поглављу** детаљно су описани *in vitro* модели који oponaшају гастроинтестинални тракт. Такође, дат је и литературни преглед примене *in vitro* модела у анализи сварљивости и пребиотске активности фрукто-олигосахарида. У оквиру **петог поглавља** детаљно је описана ензимска синтеза фрукто-олигосахарида полазећи од сахарозе као супстрата са посебним освртом на ензиме одговорне за њихову продукцију – фруктозилтрансферазе. Такође, анализиран је и утицај кључних реакционих фактора на принос и састав производа, а наведени су и најбитнији резултати досадашњих истраживања која су се бавила овом тематиком. У **шестом поглављу** детаљно су описане методе имобилизације ензима и врсте носача који се могу применити у ову сврху. У оквиру овог поглавља дат је и детаљан преглед литературе која описује тренутно стање у области развоја нових имобилисаних фруктозилтрансфераза примењених у синтези фрукто-олигосахарида. У **седмом поглављу** дат је приказ примене различитих реакторских конфигурација за производњу фрукто-олигосахарида са посебним освртом на пнеуматски реактор. У **осмом поглављу** наведени су различити поступци пречишћавања смеше фрукто-олигосахарида ради добијања производа веће чистоће са посебним освртом на примену мембранских сепарационих техника. У вези са тим, дате су детаљне карактеристике мембрана за нанофилтрацију, описан је начин извођења нанофилтрације и анализиран утицај кључних оперативних параметара на процес пречишћавања. У оквиру овог поглавља дат је и преглед литературе у којој је разматран утицај оперативних параметара на пречишћавање фрукто-олигосахарида. У **деветом поглављу** описана је потенцијална примена мембранског реактора за извођење истовремених реакција синтезе и пречишћавања у циљу побољшања и развоја ефикаснијих процеса. У **десетом поглављу** наведени су циљеви истраживања у оквиру докторске дисертације.

Експериментални део дисертације састоји се од два поглавља: **Материјали** и **Методe**. У првом поглављу дат је опис материјала и опреме који су коришћени током израде ове дисертације, док су у другом поглављу детаљно описане коришћене методе. Прво су описане спектрофотометријске методе коришћене за квантитативно утврђивање ензимске активности и концентрације протеина у добијеним ензимским препаратима, а потом и хроматографска метода за раздвајање и квантификацију угљених хидрата применом течне хроматографије високих перформанси. Потом је описана процедура оптимизације оперативних параметара реакције трансфруктозилације у циљу производње фрукто-олигосахарида. Даље су описане методе које су примењиване за имобилизацију ензима на различите носаче као и различите методе модификације и карактеризације носача. У оквиру тога, детаљно су описане процедуре оптимизације параметара имобилизације фруктозилтрансферазе на различите носаче. Потом је описано извођење синтезе фрукто-олигосахарида у шаржном и пнеуматском реактору применом имобилисаног ензима. Такође, описан је начин извођења континуалних поступака производње фрукто-олигосахарида у пнеуматском реактору. Представљени су примењени услови рада и конфигурација реакторског система. У оквиру овог поглавља представљен је и начин извођења мембранског пречишћавања добијене смеше фрукто-олигосахарида као и детаљан опис коришћене апаратуре. Такође, дат је опис и примењених мембрана за нанофилтрацију као и протокол оптимизације процесних параметара са циљем добијања смеше веће чистоће фрукто-олигосахарида. Поред тога, описан је и начин извођења експеримената у мембранском реактору који укључују истовремено реализовање синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида. Имајући у виду процену пребиотског потенцијала пречишћене смеше фрукто-

олигосахарида, описани су услови гајења тестираних микроорганизама и метода испитивања пребиотске активности. Дат је детаљан приказ извођења експеримената у TIM-2 *in vitro* моделу људског дебелог црева, методе анализе састава микробиоте и биоинформатичке обраде података. На крају, представљени су поступци добијања јаворовог сирупа обogaћеног пребиотицима применом слободне и имобилисане фруктозилтрансферазе, а описане су и методе детаљне карактеризације немодификованог и модификованог сирупа.

Део **Резултати и дискусија** обухвата приказ резултата добијених у експерименталном раду при изради ове докторске дисертације, њихову анализу и дискусију која укључује поређење са резултатима добијених у радовима из литературе у сличним испитаним системима. Део резултати и дискусија се састоји из седам поглавља. У **првом поглављу** приказани су резултати избора најпогоднијег комерцијалног ензимског препарата као извора фруктозилтрансферазе за добијање фрукто-олигосахарида. Тестирани су препарати са трансфруктозилационом активношћу (Pectinex[®] Ultra SP-L, Viscozyme[®] L и Viscoflow[®]) од којих се ензимски препарат у којем доминирају пектинолитички ензими Pectinex[®] Ultra SP-L, показао најпогоднијим за даљи рад. У **другом поглављу** приказани су резултати детаљне оптимизације ензимске синтезе фрукто-олигосахарида полазећи од сахарозе као супстрата и ензимског препарата Pectinex[®] Ultra SP-L као извора фруктозилтрансферазе. Оптимизовани су појединачни кључни реакциони параметри (температура, рН, концентрација ензима и концентрација сахарозе реакције) из аспекта постизања максималног приноса и продуктивности добијања фрукто-олигосахарида у циљу развоја ефикасног процеса. Производи реакције раздвојени су и квантификовани применом течне хроматографије високих перформанси. **Треће поглавље** се односи на развијање ефикасних имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе ради даље примене у реакцији синтезе фрукто-олигосахарида. Испитано је неколико различитих типова модификованих и немодификованих носача одређивањем фруктозилтрансферазне активности. Селектовани носачи су потом примењени за детаљну оптимизацију имобилизације фруктозилтрансферазе варирањем основних параметара имобилизације (рН, концентрације ензима и дужине трајања имобилизације). Истовременим одређивањем и активности пектиназа (доминантних ензима из примењеног ензимског препарата) при сваком кораку оптимизације и пажљивим избором оптималних параметара, изведено је и селективно везивање фруктозилтрансферазе. У оквиру овог поглавља представљена је и примена најпогоднијих имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе у реакцији синтезе фрукто-олигосахарида у различитим реакторским системима (шаржном и пнеуматском). Упореджени су приноси производа и оперативна стабилност биокатализатора у оба реакторска система. Оптимизовани су оперативни услови у пнеуматском биореактору у погледу примењене концентрације имобилисаног препарата и дужине трајања процеса. Такође, под одабраним радним условима доказана је и могућност извођења континуалног процеса производње фрукто-олигосахарида. У оквиру **четвртог поглавља** представљени су резултати мембранског пречишћавања добијене смеше фрукто-олигосахарида извођењем нанофилтрације у дијафилтрационом режиму рада. Прво су испитане мембране са различитом величином пора чија је ефикасност процењена на основу одређених коефицијената одбијања, а потом је изведена и детаљна оптимизација параметара процеса пречишћавања испитивањем утицаја температуре, протока и концентрације напојне смеше на процес пречишћавања. Одабир параметара извршен је на основу добијених коефицијената одбијања и постигнуте чистоће крајњег производа. Пребиотски потенцијал пречишћене смеше фрукто-олигосахарида процењен је праћењем раста појединачних представника цревних микроорганизама. У **петом поглављу** приказани су резултати тестирања пречишћене смеше фрукто-олигосахарида у компјутерски контролисаном *in vitro* TIM-2 моделу који симулира рад дебелог црева ради поузданије процене пребиотског потенцијала. Упореджене су и промене у саставу и активности бактерија у овом реактору који је инокулисан узорцима столице здравих особа, а након додатка тестираних супстрата (контролни узорак и пречишћена смеша фрукто-олигосахарида). У **шестом поглављу** приказани су резултати примене мембранског реактора у циљу интензификације

конвенционалног поступка пречишћавања, јер овај систем омогућава извођење истовремених процеса синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида. Оптимизовано је, на основу оствареног приноса и чистоће добијеног производа, време преласка са режима реакције у мембранском модулу на истовремено одигравање реакције и сепарације. У **седмом поглављу** представљени су резултати *in situ* примене фруктозилтрансферазе ради добијања јаворовог сирупа обogaћеног фрукто-олигосахаридима. Приказана је детаљна оптимизација биоконверзије сахарозе у физиолошки активне олигосахариде применом слободног ензима варирањем реакционих параметара (температуре и концентрације ензима). Приказана је и примена имобилизованих препарата фруктозилтрансферазе који су показали високу каталитичку моћ на примеру раствора сахарозе, за модификацију јаворовог сирупа, као и њихова оперативна стабилност. Упоредјене су и физичко-хемијске карактеристике немодификованог и модификованог јаворовог сирупа, као и резултати тестирања пребиотског потенцијала модификованог сирупа праћењем раста појединачних представника цревних микроба. Такође, приказани су и резултати сензорне евалуације немодификованог и модификованог сирупа, добијени на основу оцене испитаника.

У делу **Закључак**, приказани су најважнији закључци изведени на основу експерименталних резултата изложених у претходним поглављима који су у сагласности са постављеним циљевима рада.

У делу **Литература** наведене су све референце цитиране у докторској дисертацији.

3. ОЦЕНА ДИСЕРТАЦИЈЕ

3.1. Савременост и оригиналност

У последњим деценијама приметан је пораст интересовања научне заједнице и индустрије за развојем и производњом, као и потрошача за конзумацијом, хране која, поред основне нутритивне вредности, пружа и додатне здравствене користи, што је довело до интензивног развоја функционалних прехранбених производа. Посебна пажња усмерена је ка пребиотицима - биоактивним једињењима која су саставни део ових производа јер обезбеђују бројне физиолошке предности за људски организам, а научно је потврђено и да остварују позитиван утицај на физичка својства самих производа у којима се инкорпорирају. Иако су до сада пријављени различити пребиотици, нарочиту пажњу последњих година привлаче фрукто-олигосахариди. Ове несварљиве компоненте угљенохидратне природе састоје се од једне терминалне глукозне или фруктозне и преосталих фруктозних јединица и могу се знатно разликовати у степену полимеризације, а сходно томе и особинама. Поред бројних здравствених предности, фрукто-олигосахариди се одликују ниском енергетском вредношћу, некариогеношћу и нижим степеном сласти у односу на сахарозу, што их чини погодним заменама за шећер, нарочито у формулацијама намењеним особама са дијабетесом.

Природно су присутни у воћу и поврћу у ниским концентрацијама, па се тренутно добијају у индустријским условима ензимским путем будући да примена ензима омогућавају високу специфичност, биокомпатибилност, нетоксичност, одсуство генерисања високих количина отпадног материјала и др. Сходно томе, снажно интересовање за овим пребиотицима намеће потребу и за развојем ефикасних, одрживих и трошковно исплативих процеса производње, што представља и основни циљ ове докторске дисертације.

Прегледом актуелне научне литературе установљено је да се, под одређеним реакционим условима, полазећи од сахарозе као супстрата и применом ензима – фруктозилтрансферазе, може синтетисати смеша различитих фрукто-олигосахарида. Међутим, оптимизацијом реакционих услова (температура, рН, концентрација ензима, концентрација супстрата, време трајања реакције) омогућен је развој исплативог поступка синтезе фрукто-олигосахарида са потенцијалом за индустријску примену, као и за прилагођавање различитим супстратима богатим сахарозом, у циљу добијања нових функционалних производа. Имајући у виду бројне предности методе имобилизације ензима које укључују повећану стабилност и отпорност на

промене у окружењу, могућност вишеструке употребе као и применљивост у континуалним поступцима производње који су од посебног значаја за индустрију, потпуно је оправдано што је велики број савремених истраживања усмерен и на развој нових имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе. У том контексту, истраживања спроведена у оквиру ове докторске дисертације усмерена су и на добијање супериорнијих имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе са високим потенцијалом за примену у реакторским системима ради развоја ефикасних поступака синтезе фрукто-олигосахарида који су преносиви у индустријско окружење. Посебна пажња при развоју нових имобилисаних препарата усмерена је ка селективном везивању циљаног ензима из коришћеног ензимског препарата, и добијањем имобилисаних препарата са високим потенцијалом примене у различитим комплексним супстратима на бази сахарозе, уз очување иницијалних карактеристика. Познато је да поступком ензимске синтезе фрукто-олигосахарида, настаје финални производ који поред фрукто-олигосахарида садржи глукозу, фруктозу и непрореаговалу сахарозу које немају пребиотски карактер. Уклањањем поменутих компоненти могуће је побољшати функционалну вредност производа, а самим тим и тржишну вредности која је у значајној мери условљена степеном чистоће финалног производа. Прегледом литературе долази се до сазнања да постоји велики научноистраживачки потенцијал за примену различитих сепарационих техника у циљу добијања производа веће чистоће фрукто-олигосахарида. Применом савремених мембранских техника и оптимизацијом кључних процесних параметара пречишћавања, истраживања су усмерена и ка развијању технолошки ефикасног поступка који омогућава добијање смеше фрукто-олигосахарида високог степена чистоће. Такође, имајући у виду да се према доступним подацима из научне литературе мембрански реактор показао као ефикасан систем за добијање високопречишћене смеше олигосахарида, у оквиру ове докторске дисертације, истраживања су усмерена ка развију интегрисаног поступка синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида применом мембране на бази полиамидног активног слоја у мембранском реактору. Овакав приступ, који има за циљ добијање високопречишћене смеше фрукто-олигосахарида и укључује симултано одвијање реакције и сепарације у једном кораку, доприноси развоју интензификованог процеса, што је у складу са најновијим трендовима у биотехнолошкој пракси.

Иако се фрукто-олигосахариди сврставају у пребиотице, њихов утицај на састав и активност цревне микробиоте је недовољно истражен. Имајући ово у виду, у оквиру докторске дисертације, пречишћена смеша фрукто-олигосахарида је тестирана у динамичком *in vitro* моделу (ТІМ-2) који симулира окружење дебелог црева и укључује примену људске цревне микробиоте ради процене пребиотског потенцијала смеше на састав и активност коменсалних цревних микроба.

Поред указаног значаја за развојем функционалних прехранбених производа, иновативност ове докторске дисертације огледа се и у примени стечених знања и развијених имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе на комерцијално доступном јаворовом сирупу као извору сахарозе. Овај приступ има за циљ развој иновативних поступака са потенцијалом индустријске имплементације, као и добијање новог производа са побољшаним функционалним својствима тј. јаворовог сирупа обогаћеног пребиотцима.

На основу опсежног прегледа литературе, може се закључити да се истраживања у оквиру ове докторске дисертације уклапају у светске трендове и указују на значај и актуелност проучавање проблематике.

3.2. Осврт на референтну и коришћену литературу

У оквиру ове докторске дисертације цитирана су 345 литературна навода који указују на актуелна истраживања у испитиваној области, а већина референци представља научне радове објављене у врхунским међународним часописима у последњој деценији. Истраживања приказана у наведеним референцама су коришћена за планирање експерименталног рада, анализу и тумачење резултата добијених током израде докторске дисертације. Такође, међу литературним наводима се налазе уџбеници и прегледни радови, који представљају базична

сазнања из области од интереса и полазну основу за тумачење добијених експерименталних резултата. Преглед литературе која је употребљавана у току истраживања, образложење предложене теме дисертације и објављени радови кандидаткиње наведени у пријави, указују на адекватно познавање области истраживања и актуелног стања истраживања у овој конкретној области.

3.3. Опис и адекватност примењених научних метода

Сви резултати приказани у овој докторској дисертацији су доказани применом одговарајућих експерименталних техника и савремених аналитичких инструменталних метода према оригиналним или модификованим методама из литературе, као и адекватном анализом и обрадом података.

Одређивање трансфруктозилационе активности примењених ензимских препарата изведено је праћењем почетне кинетике синтезе фрукто-олигосахарида и анализом производа реакције применом хроматографске методе. Производи су раздвојени и квантификовани течноом хроматографијом високих перформанси (HPLC) опремљеном аналитичком колоном за раздвајање шећера Agilent Hi-Plex Ca²⁺ (300 mm x 7,7 mm, 8 µm) на температури од 80 °C. Као мобилна фаза коришћена је вода са константним протоком 0,6 mL/min. Детекција производа вршена је помоћу рефрактометријског детектора, а за прикупљање и обраду података коришћен је програм Chromeleon 7.2 Data System. Одређивање пектинолитичке активности изведено је праћењем почетне кинетике хидролизе пектина и мерењем концентрације редукујућих шећера применом стандардне спектрофотометријске ДНС методе. За одређивање концентрације протеина коришћене су метода по Бредфорду (Bradford) и модификована метода по Лорију (Lowry). Синтеза фрукто-олигосахарида из сахарозе применом фруктозилтрансферазе из ензимског препарата Pectinex® Ultra SP-L и оптимизација реакционих параметара, изведена је праћењем количине формираних производа применом претходно наведене хроматографске методе. Модификација и карактеризација модификованих носача у погледу концентрације уведених аминок и епоксидних група, као и имобилизација фруктозилтрансферазе на различите носаче, изведена је применом различитих метода описаних у литератури. Карактеризација носача пре и након модификације и имобилизације ензима, у циљу праћења структурних промена и потврде везивања изведена је применом инфрацрвене спектроскопије (FTIR). Најпогоднији имобилисани препарати за потенцијалну индустријску примену употребљени су у различитим реакторским системима (шаржни и пнеуматски реактор). Комбиновањем мембранских техника (нанофилтрације и дијафилтрације) и оптимизовањем процесних параметара изведено је пречишћавање синтетисане смеше фрукто-олигосахарида и обезбеђен ефикасан и потенцијално индустријски применљив поступак. Примена мембранског реактора, заснована на литературом потврђеним приступима, подразумева симултано извођење синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида. Процена пребиотског потенцијала пречишћене смеше фрукто-олигосахарида изведена је применом микробиолошких тестова описаних у литератури који укључују праћење раста испитаних цревних микроорганизама и одређивање броја колонија техником микробног засејавања на агар плоче, у присуству различитих концентрација тестиране смеше и раствора глукозе идентичних концентрација. Поузданија и детаљнија процена пребиотског потенцијала пречишћене смеше изведена је у Центру за здраву исхрану и иновације у храни, у Холандији, према стандардним протоколима на *in vitro* TIM-2 моделу који симулира окружење људског дебелог црева у контролисаним лабораторијским условима и укључује примену цревне микробиоте здравих донора. Ради анализе састава цревне микробиоте најпре је изведена изолација ДНК молекула према стандардном протоколу, а потом и секвенцирање применом Illumina MiSeq система. Добијене секвенце су потом обрађене уз примену релевантних биоинформатичких анализа. Ради процене активности цревних микроба, анализиран је састав карбоксилних киселина применом гасне хроматографије (GC). Јаворов сируп обогаћен пребиотицима добијен је директном ензимском трансформацијом сахарозе у пребиотички активне фрукто-олигосахариде применом фруктозилтрансферазе (у слободној или

имобилисаној форми). Одабрани биокаталитички поступак омогућава добијање високог приноса циљаних олигосахарида без нарушавања иницијалних карактеристика производа што га чини адекватним за добијање функционалних прехранбених производа. Физичко-хемијске карактеристике модификованог јаворовог сирупа испитане су применом различитих аналитичких метода: вискозност је одређена ротационим вискозиметром, густина помоћу пикнометра, садржај суве материје ручним рефрактометром, док су концентрације укупних антиоксиданата и полифенола одређене стандардним спектрофотометријским процедурама. За одређивање присутних полифенолних једињења коришћена је течна хроматографија високих перформанси (HPLC) и реверзно фазна Eclipse Plus C-18 колона.

3.4. Применљивост остварених резултата

На основу прегледа литературних података и експерименталних резултата приказаних у оквиру ове дисертације, остварен је значајан допринос у развоју ефикасних и економичних поступака синтезе пребиотски активних фрукто-олигосахарида применом слободне и имобилисане фруктозилтрансферазе. Оптимизацијом најважнијих процесних параметара синтезе уз примену слободне фруктозилтрансферазе из комерцијалног ензимског препарата Pectinex® Ultra SP-L остварено је значајно повећање приноса производа и унапређена могућност примене поступка у индустријском окружењу. Предложени приступ показује потенцијалну преносивост и на друге супstrate богате сахарозом, што значајно проширује његов индустријски потенцијал и омогућава развој различитих прехранбених формулација богатих пребиотицима. Значајан помак ка повећању економичности процеса остварен је развојем метода селективне имобилизације којима су добијени препарати повећаног афинитета ка реакцији трансфруктозилације и примењени у различитим реакторским системима. Посебан допринос селективне имобилизације фруктозилтрансферазе односи се на могућност извођења делимичног пречишћавања овог ензима од других присутних хидролитичких ензима из примењеног ензимског препарата што је од изузетног значаја за будућу потенцијалну примену добијених имобилисаних препарата у комплексним супстратима на бази сахарозе. Поред тога, овим приступом добијени су имобилисани препарати веће термичке и изузетне оперативне стабилности који су успешно примењени за производњу фрукто-олигосахарида у реакторским системима у шаржном и континуалном режиму рада. Развијени шаржни и континуални процеси у оквиру ове докторске дисертације уз употребу имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе, показују велики потенцијал за ефикасну и економичну применљивост у индустријским условима. Применом мембранских сепарационих техника коришћењем мембранских модула који су погодни за индустријску примену, изведено је пречишћавање добијене смеше фрукто-олигосахарида. Оптимизовањем процесних параметара развијен је поступак који омогућава добијање производа веће чистоће, чиме се отвара могућност преноса процеса на индустријски ниво. Резултати тестирања високопречишћене смеше фрукто-олигосахарида на припаднике цревне микробиоте у *in vitro* TIM-2 моделу указују на пребиотски потенцијал, што је од посебног значаја за тржишну примену пречишћене смеше фрукто-олигосахарида као адекватне шећерне замене или као додатак прехранбеним производима. У оквиру ове докторске дисертације развијен је и симултани поступак синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида применом мембранског реактора, чиме је додатно остварен значајан допринос ка развоју ефикаснијих и економичнијих поступака добијања производа високе чистоће фрукто-олигосахарида, са потенцијалом за примену у већим индустријским размерама. Резултати ове докторске дисертације указали су и на значајан допринос у развоју и других функционалних производа. Наиме, коришћењем јаворовог сирупа и извођењем *in situ* биоконверзије сахарозе у фрукто-олигосахариде применом фруктозилтрансферазе, добијен је производ обогаћен пребиотицима. Развијањем поступака који укључују и примену имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе, који су се у конвекционалном поступку синтезе из сахарозе показали као погодни, додатно је побољшана ефикасност процеса. Према резултатима сензорне анализе

и оцене испитаника, закључено је да је јаворов сируп обогаћен пребиотицима органолептички прихватљив и да поседује велики потенцијал за будућу примену.

3.5. Оцена достигнутих способности кандидата за самостални научни рад

У свом досадашњем истраживачком раду, кандидаткиња Милица Б. Вељковић, мастер инжењер технологије, показала је самосталност, систематичност и стручност у претраживању литературе, припреми и реализацији експеримената коришћењем различитих техника и метода, као и у анализи и обради резултата. Кандидаткиња има изузетну склоност ка експерименталном раду и инжењерски приступ у развоју и реализацији експерименталних техника. На основу досадашњих залагања и постигнутих резултата Комисија је мишљења да кандидаткиња поседује све квалитете неопходне за самостални научноистраживачки рад.

4. ОСТВАРЕНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС

4.1. Приказ остварених научних доприноса

Резултати истраживања у оквиру ове докторске дисертације у области биохемијског инжењерства имају вишеструко значајан научни и практични допринос, при чему се може издвојити следеће:

- Испитани су различити индустријски ензимски препарати као извори фруктозилтрансферазе у реакцији синтезе фрукто-олигосахарида полазећи од сахарозе као супстрата, након чега је као најпогоднији за даљи рад изабран Pectinex[®] Ultra SP-L.
- Извршена је оптимизација кинетички контролисане реакције трансфруктозилације са циљем постизања максималног удела фрукто-олигосахарида у финалној смеши. Потврђено је да су температура, концентрација ензима и концентрација супстрата кључни фактори од којих зависи ефикасност синтезе фрукто-олигосахарида. Утврђено је и да при изабраним оптималним условима настаје смеша у којој су доминантне компоненте фрукто-олигосахарида са уделом од 60,2 % у облику три-, тетра- и пентасахарида, док се као споредни производи издвајају непрореаговала сахароза, глукоза и фруктоза.
- Имобилизацијом фруктозилтрансферазе на више носача различитих карактеристика посредством различитих механизма везивања (адсорпцијом или ковалентном имобилизацијом), утврђено је да :
 - модификоване наночестице силике са уведеним аминокиселинским и хлоридним функционалним групама представљају погодне носаче за имобилизацију фруктозилтрансферазе, док се немодификоване наночестице силике са присутним хидроксилним функционалним групама због остварене ниске каталитичке активности имобилисаног препарата, нису показале као адекватне за даљу примену.
 - метакрилатни комерцијални носачи са примарним аминокиселинским (ECR8409F) и бутил/епоксидним (ECR8285F) функционалним групама из Purolite LifetechTM ECR серије представљају погодне, док се хидрофобни носач са октадецил функционалним групама (ECR8806M) није показао као погодан за даљу примену.
 - макропорозни комерцијални носач са примарним аминокиселинским групама Purolite[®] A109, као и његови функционализовани деривати добијени третманима са глутаралдехидом и епихлорхидрином, представљају погодне носаче за имобилизацију фруктозилтрансферазе.
- Најпогоднији носач за примену у биореакторима због димензија и густине изабран је Purolite[®] A109.
- Успешно је изведена оптимизација параметара имобилизације фруктозилтрансферазе адсорпцијом на немодификовани Purolite[®] A109. Овом стратегијом омогућено је и

селективно везивање фруктозилтрансферазе у односу на пектиназе из примењеног комерцијалног ензимског препарата и омогућено делимично пречишћавање овог ензима од других хидролитичких ензима што је од изузетног значаја за будућу потенцијалну примену имобилисаних препарата у комплексним супстратима.

- Значајно унапређење процеса имобилизације фруктозилтрансферазе постигнуто је хемијском активацијом функционалних група носача Purolite® A109, јер је омогућено формирање ковалентних веза између носача и ензима, као и значајно повећање термичке и оперативне стабилности.
- Установљено је да је епокси-модификовани носач Purolite® A109 погоднији за примену у реакцији синтезе фрукто-олигосахарида у односу на друге модификоване Purolite® A109 носаче.
- Оптимизовањем параметара имобилизације фруктозилтрансферазе на епокси-модификовани носач Purolite® A109 омогућена је висока селективност имобилизације фруктозилтрансферазе.
- Имобилисани препарати фруктозилтрансферазе добијени применом немодификованог и епокси-модификованог носача Purolite® A109 успешно су искоришћени у циљу развијања поступака синтезе фрукто-олигосахарида у шаржном и пнеуматском реакторском систему.
- Резултати тестирања оперативне стабилности имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе добијени применом немодификованог и епокси-модификованог носача Purolite® A109 у шаржном и пнеуматском реактору јасно упућују на бољу оперативну стабилност епокси-модификованог носача Purolite® A109. Тестирањем оперативне стабилности потврђене су и боље карактеристике пнеуматског реактора у поређењу са конвенционалним шаржним реактором.
- Успешно је развијен и континуални поступак производње фрукто-олигосахарида у пнеуматском реактору, у трајању од 7 дана применом фруктозилтрансферазе имобилисане на епокси-модификовани носач Purolite® A109.
- Успешно је изведено пречишћавање добијене смеше фрукто-олигосахарида применом мембранског модула за нанофилтрацију од танкослојне композитне полиамидне мембране NFW (MWCO 300-500 Da) у дијафилтрационом режиму рада. Детаљном оптимизацијом процеса нанофилтрације потврђено је да промена процесних параметра попут температуре и протока пермеата утиче на ефикасност раздвајања, док почетна концентрација укупних угљених хидрата није остварила значајан утицај.
- Развијен је поступак за истовремено одвијање ензимске синтезе и пречишћавања фрукто-олигосахарида применом мембранског реактора чиме је успешно спроведена интензификација конвенционалног поступка пречишћавања. Овим приступом добијена је смеша чистоће фрукто-олигосахарида од 91,8 %.
- Тестирањем пребиотског ефекта пречишћене смеше фрукто-олигосахарида у динамичком компјутерски контролисаном TIM-2 моделу утврђено је да суплементација пречишћеном смешом фрукто-олигосахарида статистички значајно стимулише раст корисних бактерија из рода *Blautia*, *Butyricoccus*, *Catenibacterium*, *Prevotellaceae* UCG-003, *Alloprevotella* и поједине припаднике рода *Eubacterium*, као и да резултира већом производњом укупних карбоксилних киселина у односу на тестирани контролни узорак.
- Успешно је развијен поступак извођења *in situ* биоконверзије сахарозе из јаворовог сирупа у фрукто-олигосахариде применом фруктозилтрансферазе (у слободном и имобилисаном облику) и добијен је производ обогаћен пребиотицима ниже калоријске, а веће функционалне вредности.

- Модификација јаворовог сирупа резултирала је смањењем калоријске вредности немодификованог сирупа за 1,6 пута, а потврђено је и да је иницијални садржај полифенола и антиоксиданата задржан.
- Спровођењем сензорне анализе потврђено је да је модификовани јаворов сируп органолептички прихватљив.

4.2. Критичка анализа резултата истраживања

Прегледом доступне научне литературе и разматрањем резултата проистеклих из истраживања у оквиру ове докторске дисертације може се закључити да је остварено значајно унапређење постојећих научних сазнања у области ензимске синтезе фрукто-олигосахарида, пречишћавања и развоју функционалних производа. Применом комерцијалног ензимског препарата као извора фруктозилтрансферазе и оптимизацијом реакционих услова синтезе фрукто-олигосахарида, развијен је ефикасан и економичан поступак са потенцијалом за индустријску примену, што представља значајан корак у правцу трансфера технологије. Први пут су испитани носачи који до сада нису коришћени за имобилизацију фруктозилтрансферазе из ензимског препарата Pectinex® Ultra SP-L. Посебан научни и практични допринос огледа се и у развијању поступака селективне имобилизације циљаног ензима из комерцијалног ензимског препарата, чиме је омогућено добијање активних и стабилних имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе, погодних за примену и у комплексним супстратима на бази сахарозе. Развијени су и поступци примене имобилисаних препарата фруктозилтрансферазе у различитим реакторским конфигурацијама – шаржни и пнеуматски реактор, чиме је омогућено њихово искоришћење за добијање смеше фрукто-олигосахарида у условима који боље симулирају индустријску производњу. Од нарочитог је доприноса и развијени поступак континуалне производње фрукто-олигосахарида у пнеуматском реактору који поседује висок потенцијал примене у индустријским условима зарад масовне продукције ових пребиотика. Поред тога што постоје различити приступи повећања чистоће фрукто-олигосахарида, у оквиру ове докторске дисертације развијен је ефикасан поступак њиховог пречишћавања, заснован на детаљно оптимизованим процесним параметрима, применом нанофилтрације и танкослојне композитне полиамидне мембране у дијафилтрационом режиму рада. Иако је концепт интегрисаних поступака познат у литератури, кроз оптимизацију интегрисаног поступка који омогућава истовремено одвијање ензимске синтезе и пречишћавање фрукто-олигосахарида у мембранском реактору, развијен је још ефикаснији и економичнији процес добијања производа високе чистоће. Овим приступом успешно је спроведена интензификација конвенционалног поступка пречишћавања. Поред тога што фрукто-олигосахариди представљају потврђене пребиотике, и даље недостају опсежне информације о њиховом утицају и механизмима деловања на различите групе цревних микроба. С тим у вези, пречишћена смеша у којој доминирају фрукто-олигосахариди различитог степена полимеризације, уз присуство сахарозе која не испољава пребиотски ефекат, тестирана је у TIM-2 моделу који симулира окружење дебелог црева, са циљем добијања детаљних информација о утицају те смеше на активност и састав цревне микробиоте. Ова анализа омогућила је процену пребиотског потенцијала финалне смеше фрукто-олигосахарида, што је од значаја за њену даљу потенцијалну примену као замене за шећер или функционалног састојка у прехранбеним производима. У оквиру ове докторске дисертације развијени су и поступци директне биотрансформације сахарозе из комерцијално доступног јаворовог сирупа у фрукто-олигосахариде, применом слободне и имобилисане фруктозилтрансферазе. Овим иновативним приступом добијен је функционалан производ - јаворов сируп обогаћен пребиотицима са потенцијалом примене у прехранбеној индустрији.

4.3. Верификација научних доприноса

Кандидаткиња Милица Б. Вељковић је резултате истраживања добијене у оквиру израде своје докторске дисертације потврдила објављивањем радова у часописима међународног значаја као и саопштењима са међународних научних скупова. У оквиру израде докторске дисертације

кандидаткиња је први аутор једног рада објављеног у међународном часопису изузетних вредности (M21a), два рада у врхунском међународном часопису (M21) и једног рада у националном часопису од међународног значаја (M24).

Категорија M21a:

1. **Veljković, M.**, Banjanac, K., Milivojević, A., Ćorović, M., Simović, M., Bezbradica, D.: Production of prebiotic enriched maple syrup through enzymatic conversion of sucrose into fructo-oligosaccharides, - *Food Chemistry*, vol. 449, 2024, 139180, **IF (2024) = 8.5**, ISSN 0308-8146; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139180>

Категорија M21:

1. **Veljković, M.**, Stepanović, R., Banjanac, K., Ćorović, M., Milivojević, A., Simović, M., Milivojević, M., Bezbradica, D.: Continuous production of fructo-oligosaccharides using selectively immobilized fructosyltransferase from *Aspergillus aculeatus* onto Purolite® A109, - *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 117, 2023, pp 149-156. **IF (2022) = 6.1**, ISSN 1226-086X; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.09.051>
2. **Veljković, M.**, Simović, M., Banjanac, K., Ćorović, M., Milivojević, A., Milivojević, M., Bezbradica, D.: Heterofunctional epoxy support development for immobilization of fructosyltransferase from Pectinex® Ultra SP-L: batch and continuous production of fructo-oligosaccharides, - *Reaction Chemistry and Engineering*, vol. 7, no. 12, 2022, pp 2518-2526. **IF (2022) = 3.9**; DOI: <https://doi.org/10.1039/D2RE00182A>

Категорија M24:

1. **Veljković, M.**, Modi, A., Petrov, A., Ćorović, M., Milivojević, A., Banjanac, K., Simović, M., Bezbradica, D.: Enzymatic synthesis of fructo-oligosaccharides using Pectinex® Ultra SP-L: a study of experimental conditions, - *Food and Feed Research*, vol. 48, no. 2, 2021, pp 201-211. ISSN 2217-5369; DOI: <https://doi.org/10.5937/ffr0-34517>

5. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду, бр. 204 од 22. јуна 2018. године) коришћењем програма iThenticate (25. априла 2025. године) извршена је провера оригиналности докторске дисертације кандидата **Милице Б. Вељковић, мастер инж. технологије** под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**” и утврђено је да подударање текста износи 7%. Овај степен подударности претежно је последица употребљених личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, детаљног описа методологије, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из њене дисертације што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изложеног Комисија сматра да је докторска дисертација кандидата Милице Б. Вељковић оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

6. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу претходно изнетих разматрања резултата докторске дисертације Милице Б. Вељковић, мастер инжењера технологије под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**” сматрамо да су испуњени сви циљеви и задаци рада на овој тези и да она својим садржајем и квалитетом значајно доприноси области Технолошко инжењерство, што је и потврђено објављивањем радова у међународним часописима, као и публиковањем резултата на међународним конференцијама. Такође, комисија је мишљења да је кандидаткиња испољила изузетну научноистраживачку способност у свим фазама израде ове докторске дисертације. Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета да се докторска дисертација под називом „**Ензимска синтеза и мембранско пречишћавање фрукто-олигосахарида**” кандидаткиње Милице Б. Вељковић прихвати, изложи на увид јавности и упути на коначно усвајање Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду. Такође, да се након завршетка ове процедуре, кандидаткиња позове на усмену одбрану докторске дисертације пред Комисијом у истом саставу.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

.....
Др Мирјана Рајилић-Стојановић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Сузана Димитријевић-Бранковић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Милан Миливојевић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Дарко Јаћимовски, научни сарадник
Универзитет у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију