

## ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Милош Радосављевић, маг. инж. технологије

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију <b>09.12.2016.</b> године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• др <b>Марина Шћибан</b>, редовни професор, Биотехнологија, 13.02.2014. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, председник.</li> <li>• др <b>Јелена Пејин</b>, ванредни професор, Биотехнологија, 25.02.2015. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, ментор.</li> <li>• др <b>Гордана Димић</b>, редовни професор, Прехрамбено инжењерство, 02.06.2015. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, члан.</li> <li>• др <b>Љиљана Мојовић</b>, редовни професор, Биохемијско инжењерство и биотехнологија, 15.07.2009. године, Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду, члан.</li> <li>• др <b>Александра Ђукић-Вуковић</b>, научни сарадник, Биотехнологија, 12.07.2014. године, Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду, члан.</li> </ul>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Милош, Срето, Радосављевић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 15.06.1987. Осијек, Република Хрватска.</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технолошки факултет Нови Сад, Биотехнологија, мастер инжењер технологије</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2011., Биотехнологија, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -</p>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<b>Пивски троп – сировина у млечно-киселој ферментацији</b>

#### **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл.

Докторска дисертација мастер инж. **Милоша Радосављевића** је прегледно и јасно изложена у седам поглавља:

Увод (стр. 1 - 5),

Теоријски увод (стр. 6 - 47),

Експериментални део (стр. 48 - 66),

Резултати и дискусија (стр. 67 - 120),

Закључак (стр. 121 - 122),

Литература (стр. 123 - 138).

Дисертација је написана на 138 страна А4 формата. Садржи 38 слика и 40 табела. Цитирана су 284 литературна навода, а на почетку дисертације су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском језику.

#### **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

##### **Увод**

У уводу ове дисертације описане су технолошке фазе производње пива. Дефинисани су појединачно све технолошке фазе у производњи пива и јасно је приказан поступак добијања пивског тропа. Указано је да троп чини око 85% споредних производа насталих током производње пива. Истакнуто је да пивски троп настаје у великим количинама током читаве године и да је доступан по веома ниским ценама. Указано је на чуњеницу да се троп највише користи као сточна храна али да због свог хемијског састава има велику перспективу за примену у биотехнологији и производњи високо вредних производа. Истакнута је могућност примене пивског тропа као веома еколошки и економски исплативе алтернативе у производњи млечне киселине. Указано је на чинјеницу да је због све шире и веће примене млечне киселине у различитим индустријама, нарочито у производњи биоразградивих лактидних полимера, уочен интензиван раст потражње у последњих неколико деценија. Поред тога, у овом делу јасно и прецизно су дефинисани циљеви дисертације који не одступају од формулација датих у Пријави докторске дисертације.

##### **Преглед литературе**

Поглавље Теоријски увод састоји се из шест делова у којима аутор, служећи се обимном литературом, пише о свим битним сегментима који су у оквиру ове тезе обрађени. У првом делу се детаљно говори о добијању пивског тропа. Описана је фаза комљења у којој настаје пивски троп. Описане су промене које настају током разградње слада, полазне сировине од које се добија сладовина (која се користи за производњу пива) и пивски троп. Такође су описани поступци одвајања пивског тропа од сладовине по завршетку комљења у фази цеђења. У другом делу детаљно је описан пивски троп и хемијски састав. Наведене су могућности примене пивског тропа у биотехнологији, прехранбеној и хемијској индустрији, енергетици, производњи папира, грађевинског материјала и као адсорбенса. Трећи део посвећен је техникама чувања пивског тропа који је због високог садржаја влаге и ферментабилних шећера веома нестабилан и погодан за умножавање микоорганизама. Четврти део је посвећен прегледу литературе у вези могућности примене пивског тропа у биотехнологији. Дат је преглед истраживања везаних за примену пивског тропа као сировине за производњу млечне киселине, биоетанола, ксилитола, пулулана, фенолних киселина и биогаса. Описана је и примена пивског тропа као додатка или носача за имобилизацију квасца у ферментацији, као и подлоге за култивацију микоорганизама, гљива и за производњу ензима. Због специфичног хемијског састава пивског тропа пети део дисертације је везан за начине припреме пивског тропа за употребу у биотехнологији. Последњи део се односи на млечну киселину. Прво су описане физичке и хемијске особине млечне киселине, примена у различитим индустријама, начини производње (хемијски и млечно-кисела ферментација), светска потражња и највећи произвођачи. Затим је пажња усмерена на млечно-киселу ферментацију, сировине за производњу млечне киселине и производне микроорганизме. Детаљно је описана млечно-кисела ферментација, као и нове технике за производњу млечне киселине и поступци за издвајање настале млечне киселине. На основу проучене и систематизоване савремене литературе, докторант је био у могућности да правилно анализира и објасни добијене резултате и да их упореди са резултатима

других истраживача који су радили на сличној проблематици.

### **Експериментални део**

У овом поглављу је наведено порекло сировина (пивског тропа, пивског квасца, цибре, бистре цибре и сладовине), микроорганизама (*Lactobacillus fermentum* PL-1 и *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469) и хемикалија коришћених у експериментима. Детаљно су описане методе које су коришћене у циљу оптимизације термичко-ензимске хидролизе пивског тропа и производње млечне киселине. Дат је детаљан опис аналитичких поступака примењених у експерименталном раду. Дате хемијске и физичке методе су коришћене за карактеризацију пивског тропа, хидролизата пивског тропа, цибре, бистре цибре и сладовине, као и за праћење тока млечно-киселе ферментације (за одређивање рН вредности, концентрације редукујућих шећера, концентрације, приноса и запреминске продуктивности млечне киселине и вијабилности (укупног броја живих ћелија) ћелија производног микроорганизама). Посебан део у склопу овог поглавља посвећен је детаљном опису оптимизације термичко-ензимске хидролизе пивског тропа за млечно-киселу ферментацију. Описани су и поступци млечно-киселе ферментације и њихово вођење као и припреме производног микроорганизама и одређивање вијабилности датог производног микроорганизама. Наводени су програм и софтверски алати који су коришћени у статистичкој обради експерименталних резултата.

### **Резултати и дискусија**

Приказани резултати прате јасан ток научног истраживања, од анализе хемијског састава пивског тропа, преко оптимизације услова термичко-ензимске хидролизе пивског тропа, хемијске анализе састава хидролизата пивског тропа, цибре, бисте цибре и сладовине, оптимизације састава хидролизата за млечно-киселу ферментацију, до праћења тока млечно-киселе ферментације и одређивања концентрације настале млечне киселине и вијабилности производног микроорганизама. Анализом хемијског састава стекао се увид о потенцијалу употребе пивског тропа као сировине за производњу млечне киселине. Поступком оптимизације термичко-ензимске хидролизе пивског тропа омогућен је избор одговарајућих ензимских комплекса као и оптималних вредности процесних параметара хидролизе (температура, вредност рН и количина ензима). Хидролизат пивског тропа добијен при оптималним условима хидролизе је коришћен у млечно-киселој ферментацији. Прво је испитан утицај корекције рН вредности током ферментације (са додатком калцијум-карбоната) и додатка различитих концентрација екстракта квасца (0,5-5,0%) у хидролизат пивског тропа, на ефикасност млечно-киселе ферментације. За млечно-киселу ферментацију су коришћена два производна микроорганизама (*Lactobacillus fermentum* PL-1 и *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469). На основу остварених параметара млечно-киселе ферментације (концентрације, приноса и запреминске продуктивности млечне-киселине), утврђено је да су контрола рН и додатка азота неопходни за успешну млечно-киселу ферментацију. Утврђено је да *L. rhamnosus* производи скоро у потпуности L-(+)-млечну киселину. Такође је утврђено да се далеко виши принос укупне и L-(+)-млечне киселине од 98% и 96% и запреминска продуктивност млечне киселине од 0,52 g/l·h<sup>-1</sup> добијају помоћу *L. rhamnosus* ATCC 7469 због чега је дати производни микроорганизам коришћен у даљим испитивањима.

У циљу даљег повећања ефикасности млечно-киселе ферментације испитана је употреба натријум-хидроксида као средства за контролу рН уместо калцијум-карбоната, при чему је утврђено повећање запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (за 200%) и скраћење трајања ферментације (за 48 сати), због чега је у даљим испитивањима коришћен натријум-хидроксид као средство за контролу рН. Затим је у циљу оптимизације састава хидролизата пивског тропа за млечно-киселу ферментацију испитан утицај различитих концентрација редукујућих шећера (2,7; 5,4 и 8,1%) и екстракта квасца (0,5-5,0%), при чему је утврђено да се највиши принос (91,29%) и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине (1,69 g/l·h<sup>-1</sup>) добијају са почетном концентрацијом редукујућих шећера од 5,4% и екстракта квасца од 5,0%.

Имајући у виду комерцијалну страну производње млечне киселине испитана је могућност употребе алтернатива екстракту квасца. Испитана је употреба пивског квасца, цибре и бистре цибре у хидролизат пивског тропа пре ферментације као и додатка бистре цибре у доливној ферментацији. У млечно-киселој ферментацији са додатком пивског квасца највећи принос L-(+)-млечне киселине (89,01%) и запреминска продуктивност (0,89 g/l·h<sup>-1</sup>) L-(+)-млечне киселине су остварени у ферментацији са додатком 5,0% пивског квасца и корекцијом почетне концентрације редукујућих шећера на 5,0%. Додатак 2,0–5,0% пивског квасца је повећао принос L-(+)-млечне киселине до

6,75% (5,0% пивског квасца) у поређењу са приносом оствареним у ферментацији без додатка пивског квасца. Запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине се у ферментацијама са додатком пивског квасца повећала до 26,06% (5,0% пивског квасца). Пивски квасац и корекција почетне концентрације редукујућих шећера на 5,0% су повећали принос L-(+)-млечне киселине до 8,42% (5% пивског квасца), у поређењу са приносом оствареним у ферментацији са 5,0% редукујућих шећера и без додатка пивског квасца. Запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине се такође повећала са додатком пивског квасца до 48,54% (5,0% пивског квасца), у поређењу са запреминском продуктивношћу оствареном у ферментацији без додатка пивског квасца и са 5,0% редукујућих шећера.

У млечно-киселим ферментацијама са додатком цибре и бистре цибре највећи принос и концентрација L-(+)-млечне киселине као и запреминска продуктивност од 86,15%, 31,03g/l и 0,93g/l·h<sup>-1</sup>, остварени су у ферментацији са додатком 50% бистре цибре. Додатак цибре је повећао концентрацију L-(+)-млечне киселине до 45,82% (20% цибре), док је додатак бистре цибре повећао концентрацију L-(+)-млечне киселине до 49,98% (50% бистре цибре) у поређењу са ферментацијом без додатка цибре, односно бистре цибре. Са додатком цибре запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине се повећала до 22,81% (20% цибре). Додатак бистре цибре је такође повећао запреминску продуктивност L-(+)-млечне киселине до 39,22% (50% бистре цибре). Највећи принос, концентрација и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине остварени у ферментацији са додатком глукозе и бистре цибре у доливној ферментацији и износили су 87,82%, 48,02 g/l и 0,96 g/l·h<sup>-1</sup>. На основу резултата је утврђено да је могућа делимична или потпуна замена екстракта квасца пивским квасцем и бистром цибром, уз значајно смањење трошкова цене подлоге за млечно-киселу ферментацију и задржавање високих приноса млечне киселине.

У циљу даљег повећања ефикасности млечно-киселе ферментације испитана је доливна ферментација за производњу млечне киселине уз додатак глукозе, глукозе и екстракта квасца и сладовине током млечно-киселе ферментације) и поступак са имобилисаним ћелијама (ћелије имобилисане у калцијум-алгинату) *L. rhamnosus*. Највећа концентрација, принос и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине од 116,08 g/l, 93,32% и 2,04 g/l·h<sup>-1</sup> су остварени у ферментацији са додатком глукозе и екстракта квасца. На основу резултата доливне ферментације утврђено је да је са додатком глукозе, глукозе и екстракта квасца, сладовине постигнуто повећање концентрације L-(+)-млечне киселине (до 92,41% (глукоза и екстракт квасца)), док је са додатком глукозе, екстракта квасца и сладовине постигнуто и повећање приноса (до 6,85% (глукоза и екстракт квасца)), запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (до 32,41% (глукоза и екстракт квасца)) и вијабилности ћелија (до 2,56% (глукоза и екстракт квасца)) и у поређењу са шаржним поступком млечно-киселе ферментације хидролизата пивског тропа са почетном концентрацијом редукујућих шећера од 5,4% и екстракта квасца од 5,0%. Иmobилисане ћелије *L. rhamnosus* су успешно коришћене у три узастопне млечно-киселе ферментације. Принос L-(+)-млечне киселине и запреминска продуктивност су у све три ферментације били изузетно високи, при чему су највећи принос и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине од 95,20% и 1,76g/l·h<sup>-1</sup>, остварен у II ферментацији. У постуку са имобилисаним ћелијама утврђено је повећање приноса (за 4,28% (II ферментација) и 1,99 (III ферментација)) и запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (за 4,09% (II ферментација) и скраћење времена ферментације (за 12 сати) у поређењу са шаржним поступком. Резултати су приказани на прегледан и методолошки разумљив начин, а њихово тумачење и дискусија су јасни и доследни. У обављеној анализи добијених резултата кандидат је испољио теоријско знање, вешто је користио бројне податке из цитиране литературе, поредивши их са резултатима сопствених истраживања, а уочене појаве успешно је објашњавао у духу поимања науке. Кроз добијене резултате и њихову дискусију дат је одговор на постављене циљеве докторске дисертације.

#### **Закључак**

У овом поглављу закључци су јасно и концизно изведени из резултата и њихове дискусије, те се могу сматрати поузданим и одговарајућим постављеним циљевима дисертације.

#### **Литература**

У писању ове дисертације аутор је користио 284 литературна навода, који су цитирани на јасан и правилан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је проучавана.

**VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

Категорија М21 - Рад штампан у врхунском међународном часопису:

1. Pejin, J., **Radosavljević, M.**, Mojović, L., Kocić-Tanackov, S., Djukić-Vuković A. (2015) The influence of calcium-carbonate and yeast extract addition on lactic acid fermentation of brewer's spent grain hydrolysate, *Food Research International*, 73, pp. 31-37.

Категорија М22 - Рад штампан у истакнутом међународном часопису:

1. Pejin, J., **Radosavljević, M.**, Kocić-Tanackov, S., Djukić-Vuković, A., Mojović, L. (2017) Lactic acid fermentation of brewer's spent grain hydrolysate by *Lactobacillus rhamnosus* with yeast extract addition and pH control, *Journal of the Institute of Brewing*, DOI:10.1002/jib.403.

Категорија М23 - Рад штампан у међународном часопису:

1. Pejin, J., **Radosavljević, M.**, Grujić, O., Mojović, L., Kocić-Tanackov, S., Nikolić, S., Đukić-Vuković, A. (2013) Mogućnosti primene pivskog tropa u biotehnologiji, *Hemijska industrija*, 67, str. 277-291.

## VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу приказаних резултата испитивања хидролизе пивског тропа, карактеризације састава пивског тропа, хидролизата пивског тропа, цибре, бистре цибре и сладовине и оптимизације млечно-киселе ферментације хидролизата пивског тропа, докторант Милош Радосављевић, маг. инж., извео је следеће закључке:

- Додатак калцијум-карбоната је имао позитиван утицај на производњу млечне киселине са *L. fermentum* и *L. rhamnosus*. Са додатком калцијум-карбоната повећали су се утрошак редукујућих шећера, принос и концентрација млечне киселине и вијабилност *L. fermentum* и *L. rhamnosus*. Концентрација укупне млечне киселине, утрошак редукујућих шећера, вијабилност ћелија *L. fermentum* и принос укупне млечне киселине су се повећали са додатком калцијум-карбоната за 11; 3,72; 3 и 13%. Концентрација укупне млечне киселине и утрошак редукујућих шећера су се повећали 13 и 10 пута, са додатком калцијум-карбоната, док су се вијабилност ћелија *L. rhamnosus* и принос укупне млечне киселине повећали за 105% и 17%. Додатак калцијум-карбоната је повећао запреминску продуктивност млечне киселине за 600% у млечно-киселој ферментацији са *L. rhamnosus*.
- Екстракт квасца и калцијум-карбоната су имали значајан утицај на производњу млечне киселине са *L. fermentum* и *L. rhamnosus*. У ферментацијама са *L. fermentum* највећи принос укупне млечне киселине (44%) је постигнут са додатком 5,0% екстракта квасца и 2,0% калцијум-карбоната. У ферментацијама са *L. rhamnosus* највећи принос укупне млечне киселине (98%) и L-(+)-млечне киселине (96%) је остварен у ферментацији са додатком 2,0% екстракта квасца и 2,0% калцијум-карбоната.
- Хидролизат пивског тропа са додатком екстракта квасца се показао као добра подлога за млечно-киселу ферментацију са *L. rhamnosus*. На основу резултата одлучено је да се у даљим испитивањима млечно-киселе ферментације хидролизата пивског тропа као производни микоорганизам користи *L. rhamnosus*.
- У циљу замене калцијум-карбоната и повећања ефикасности млечно-киселе ферментације испитана је употреба натријум-хидроксида као средства за неутрализацију млечне киселине током ферментације и корекцију рН. Корекција рН помоћу натријум-хидроксида је скратила ферментацију за 48 сати, а остварено је и значајно повећање запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (за 200%, повећање са 0,21 на 0,63 g/l·h<sup>-1</sup>). Из овог разлога, корекција рН у даљим истраживањима је вршена са додатком натријум-хидроксида.
- У млечно-киселим ферментацијама са различитим почетним концентрацијама редукујућих шећера (2,7; 5,4 и 8,1%) и са додатком различитих концентрација екстракта квасца (0,5-5,0%), највећа концентрација L-(+)-млечне киселине од 60,33g/l је остварена у ферментацији са почетном концентрацијом редукујућих шећера од 8,1% и додатком 5,0% екстракта квасца. Највећи принос L-(+)-млечне киселине и запреминска продуктивност од 91,29% и 1,69 g/l·h<sup>-1</sup>, као и вијабилност ћелија *L. rhamnosus* од 9,7·10<sup>9</sup> CFU/ml остварени су у ферментацији са почетним садржајем редукујућих шећера од 5,4% у хидролизату пивског тропа и додатком 5,0% екстракта квасца.
- На основу остварених резултата у истраживањима са додатком цибре и додацима током ферментације као и у ферментацијама са имобилисаним ћелијама је коришћен хидролизат пивског тропа са почетном концентрацијом редукујућих шећера од 5,4%.
- Пивски квасац је додат у циљу замене екстракта квасца у хидролизату пивског тропа за млечно-киселу ферментацију. Највећи принос L-(+)-млечне киселине (89,01%) и запреминска продуктивност (0,89 g/l·h<sup>-1</sup>) L-(+)-млечне киселине су остварени у ферментацији са додатком 5,0% пивског квасца и корекцијом почетне концентрације редукујућих шећера на 5,0%. Додатак 2,0–5,0% пивског квасца је повећао принос L-(+)-млечне киселине за 2,78% (2,0% пивског квасца)–6,75% (5,0% пивског квасца) у поређењу са приносом оствареним у ферментацији без додатка пивског квасца. Запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине се у ферментацијама повећала са додатком пивског квасца за 3,84% (0,5% пивског квасца)–26,06% (5,0% пивског квасца)). Пивски квасац и корекција почетне концентрације редукујућих шећера на 5,0% су повећали принос L-(+)-млечне киселине за 3,19% (0,5% пивског квасца)–8,42% (5,0% пивског квасца), у поређењу са приносом оствареним у ферментацији без додатка пивског квасца и са 5,0% редукујућих шећера. Запреминска

продуктивност L-(+)-млечне киселине се такође повећала са додатком пивског квасца за 11,51% (0,5% пивског квасца)–48,54% (5,0% пивског квасца), у поређењу са приносом оствареним у ферментацији без додатка пивског квасца и са 5,0% редукујућих шећера. На основу резултата утврђено је да се може извршити делимична или потпуна замена екстракта квасца пивским квасцем уз значајно смањење цене подлоге за млечно-киселу ферментацију.

- Највиша концентрације, принос и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине од 31,03g/l , 86,15% и 0,93g/l·h<sup>-1</sup> остварени су у ферментацији са додатком 50% бистре цибре. Додатак 20–50% бистре цибре је повећао принос L-(+)-млечне киселине за 3,17 (20% бистре цибре)–4,75% (50% бистре цибре) у поређењу са ферментацијом без додатка цибре. Цибра је повећала концентрацију L-(+)-млечне киселине за 31,61% (5,0% цибре)–45,82% (20% цибре), док је бистра цибра повећала концентрацију L-(+)-млечне киселине за 10,97% (5,0% цибре)–49,98% (50% бистре цибре) у поређењу са ферментацијом без додатка цибре, односно бистре цибре. Са додатком цибре запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине се повећала за 3,76 (5,0% цибре)–22,81% (20% цибре). Додатак бистре цибре је такође повећао запреминску продуктивност L-(+)-млечне киселине за 6,77 (5,0% бистре цибре)–39,22% (50% бистре цибре). Додатком бистре цибре је скраћено време ферментације за 12 сати.
- Највиша концентрација, принос и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине су остварени у доливној ферментацији са додатком глукозе и бистре цибре током млечно-киселе ферментације и износили су 48,02 g/l, 87,82% и 0,96 g/l·h<sup>-1</sup>. У поређењу са резултатима оствареним шаржним поступком ферментације (хидролизат пивског тропа са 5,4% редукујућих шећера и са 50% бистре цибре), у доливном постуку са додатком глукозе и бистре цибре током ферментације остварено је повећање концентрације (за 54,75%), приноса (за 1,93%) и запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (за 4,05%). Током доливног постука се укупан утрошак редукујућих шећера повећао за 47,73% у поређењу са утрошком оствареним у шаржном постуку. Додатак глукозе и бистре цибре током ферментације је повећао и вијабилност ћелија *L. rhamnosus* за 0,9%.
- У доливним ферментацијама са додатком глукозе, глукозе и екстракта квасца иили сладовине највећа концентрација, принос и запреминска продуктивност L-(+)-млечне киселине од 116,08 g/l, 93,32% и 2,04 g/l·h<sup>-1</sup> су остварени у ферментацији са додатком глукозе и екстракта квасца. У поређењу са резултатима оствареним у шаржном поступку (са истом почетном концентрацијом редукујућих шећера (5,4%) и екстракта квасца (5,0%)), у доливним поступку са додатком сладовине и глукозе остварено је повећање приноса (за 0,34% и 1,62%) и запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине (од 2,86 до 7,51%). Додатак глукозе и екстракта квасца је још више повећао принос и запреминску продуктивност L-(+)-млечне киселине (за 2,21% и 20,66%).
- Извршена је имобилизација ћелија *L. rhamnosus* у калцијум-алгинату уз изузетно високу вијабилност (10<sup>10</sup> CFU/ml). Имобилицане ћелије *L. rhamnosus* су успешно коришћене у три узастопне млечно-киселе ферментације. Принос L-(+)-млечне киселине и запреминска продуктивност су у све три ферментације били изузетно високи, при чему су највећи принос L-(+)-млечне киселине и запреминска продуктивност од 95,20% и 1,76 g/l·h<sup>-1</sup>, остварени у другој ферментацији. Употребом имобилисаних ћелија *L. rhamnosus* постигнуто је осим повећања приноса и запреминске продуктивности L-(+)-млечне киселине и скраћење ферментације за 12 сати у поређењу са шаржним ферментацијама.

### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидат маг. инж. Милош Радосављевић је успешно и у целости обавио истраживања која су била предвиђена планом датим у пријави ове дисертације. Добијени резултати су проистекли из обимних, оригинално постављених истраживања, усмерених ка испитивању погодности примене пивског тропа у производњи млечне киселине и унапређењу целокупног процеса. Резултати испитивања су систематично, јасно и прегледно приказани, статистички правилно обрађени и интерпретирани. Детаљна дискусија добијених резултата заснована је на добром познавању истраживане научне литературе, као и целокупног технолошког процеса производње млечне киселине. Стога се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Дисертација је у потпуности написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све елементе неопходне за разумевање обрађене тематике и добијених резултата. Написан је обиман, монографски преглед литературе, изведени су сви планирани експерименти уз примену релевантних аналитичких метода. Резултати испитивања су продискутовани и дати су закључци урађене докторске дисертације. Комисија је утврдила да су у потпуности остварени постављени циљеви истраживања.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Подаци о значајним количинама пивског тропа које се годишње произведу код нас и у свету, и стално растућа потреба за млечном киселином као и све израженији тренд производње млечне киселине из обновљивих сировина као и недостатак доступне литературе везане за поступак ензимске хидролизе пивског тропа и употребе добијеног хидролизата у млечно-киселој ферментацији захтевали су опсежно научно истраживање у циљу оптимизације хидролизе пивског тропа за примену у млечно-киселој ферментацији. Такође је извршена и детаљна оптимизација млечно-киселе ферментације хидролизата пивског тропа. Ова дисертација представља оригиналан допринос науци јер је утврђена могућност ефикасне производње млечне киселине из хидролизата пивског тропа са *L. rhamnosus* ATCC 7469. Додатан допринос науци даје и детаљна карактеризација пивског тропа и хидролизата пивског тропа. С обзиром на веома мали број објављених научних радова који се баве оптимизацијом састава хидролизата пивског тропа и применом различитих поступака ферментације за производњу млечне-киселине, значајан део ове дисертације обухвата опсежна истраживања у циљу утврђивања најпогоднијег састава хидролизата пивског тропа и поступка ферментације за што ефикаснију млечно-киселу ферментацију. Урађено је и детаљно истраживање ензимске хидролизе пивског тропа и његове употреба у производњи млечне киселине. Добијени резултати и изведени закључци могу се применити у производњи млечне киселине из пивског тропа.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Недостаци дисертације нису уочени.



<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана
Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације под називом „Пивски троп – сировина у млечно-киселој ферментацији“, маг. инж. Милоша Радосављевића, Комисија са задовољством предлаже да се прихвати ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ, а кандидату одобри одбрана дисертације.

Датум: 21.02.2017. године

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ  
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

\_\_\_\_\_  
др **Марина Шћибан**, редовни професор, председник

\_\_\_\_\_  
др **Јелена Пејин**, ванредни професор, ментор

\_\_\_\_\_  
др **Гордана Димић**, редовни професор, члан

\_\_\_\_\_  
др **Љиљана Мојовић**, редовни професор, члан

\_\_\_\_\_  
др **Александра Ђукић-Вуковић**, научни сарадник, члан