

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Јоване Граховац, дипл. инж-*master*

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

1. Датум и орган који је именовео комисију
28.01.2011. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Универзитета у Новом Саду
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:
 1. Др Јелена Додић, доцент, Биотехнологија, 2007.
Технолошки факултет Универзитета у Новом Саду, Нови Сад, ментор
 2. Др Влада Вељковић, редовни професор, Хемијско и биохемијско инжењерство, 1995.
Технолошки факултет Универзитета у Нишу, Лесковац, председник
 3. Др Стеван Попов, редовни професор, Биотехнологија, 2007.
Технолошки факултет Универзитета у Новом Саду, Нови Сад, члан

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

1. Име, име једног родитеља, презиме:
Јована, Андрија, Граховац (рођ. Ранковић)
2. Датум рођења, општина, држава:
17.01.1982. године, Нови Сад, Србија
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив
Технолошки факултет, Биохемијско инжењерство, дипломирани инжењер технологије-*master*
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија
2007. година, Хемијско и биохемијско инжењерство
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:
-
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:
-

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

**ОПТИМИЗАЦИЈА ДОБИЈАЊА ЕТАНОЛА ФЕРМЕНТАЦИЈОМ
МЕЃУПРОИЗВОДА ТЕХНОЛОГИЈЕ ПРЕРАДЕ ШЕЋЕРНЕ РЕПЕ**

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна поглавља, слика, шема, графика и сл.

Докторска дисертација садржи 112 страна, 64 слике, 28 табела, 19 једначина и 92 литературна навода. Дисертација садржи уобичајена поглавља и то:

1. **Увод** написан на 1 страни;
2. **Циљеви истраживања** написани на 1 страни;
3. **Преглед литературе** написан на 30 страна;
4. **Материјал и методе** написани на 5 страна;
5. **Резултати и дискусија** приказани су на 53 стране;
6. **Закључак** написан на 3 стране;
7. **Литература** написана на 4 стране;
8. **Прилози** су дати на 8 страна.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод и циљеви истраживања дају кратак преглед потенцијала нашег поднебља за производњу биоенергената, нарочито из шећерне репе као сировине, могућности примене међупроизвода технологије њене прераде за добијање етанола и неопходности оптимизације овог процеса. У том смислу, јасно су дефинисани циљеви истраживања.

Преглед литературе обухвата детаљна разматрања хемијског састава шећерне репе, односно међу- и нуспроизвода технологије прераде ове културе са аспекта њихове примене као сировина у поступку добијања етанола. У наставку је дат преглед досадашњих сазнања из области технологије етанола са посебним освртом на производне микроорганизме, метаболичке путеве ферментације квасцем *Saccharomyces cerevisiae*, факторе који утичу на овај процес и кинетику ферментације. Посебан осврт на методу одзивне површине функције и преглед њене примене за оптимизацију различитих фактора ферментације указује на актуелност проблема и поред одређеног броја до сада публикованих истраживања. Такође је дат преглед могућности копроизводње шећера и етанола. На овај начин јасно су презентована објављена сазнања у испитиваној области коришћена приликом тумачења добијених резултата.

У поглављу **Материјал и методе** дат је детаљан опис примењених стартер култура квасца, начина припреме инокулума и хранљивих подлога, као и услова ферментације истих. Затим су описане примењене методе анализе сировина и ферментационих течности, као и начини статистичке обраде података и прорачуна кинетичких параметара

Резултати и дискусија. Редослед приказаних резултата прати ток самог научног истраживања и прегледно и јасно тумачи добијене резултате.

- Најпре су приказани резултати испитивања састава сировина са посебним освртом на особености екстракционог, ретког и густог сока који су међупроизводи и меласе која је нуспроизвод технологије прераде шећерне репе у домаћим шећеранама.
- У наставку истраживања испитан је ток ферментације подлога на бази екстракционог, ретког и густог сока, као и меласе, помоћу пет различитих стартер култура квасца *Saccharomyces cerevisiae* које су намењене другим гранама ферментативне индустрије и доступне су на домаћем тржишту. Извршена је статистичка обрада ових резултата на основу које је извршен одабир производног микроорганизма.
- Експериментално је потврђена изводљивост добијања етанола дисконтинуалном ферментацијом екстракционог, ретког и густог сока као и меласе из домаћих фабрика шећера квасцем *Saccharomyces cerevisiae* у биореактору радне запремине 1,5 l. На основу вредности показатеља тока ферментације подлога на бази међу- и нуспроизвода технологије прераде шећерне репе дефинисани су фактори који имају највећи утицај на

састав ферментисане течности и дефинисани су одзиви за моделовање.

- Применом методе жељене функције у комбинацији са полиномским зависностима посматраних одзива дефинисане су оптималне вредности почетног садржаја шећера и трајања ферментације екстракционог, ретког и густог сока као међупроизвода и меласе као нуспроизвода технологије прераде шећерне репе у биореактору радне запремине 1,5 l.
- Испитано је слагање експерименталних вредности добијених током ферментације подлога на бази екстракционог, ретког, густог сока и меласе у биореактору радне запремина 10 l, при оптималним условима дефинисаним за ферментацију у биореактору радне запремине 1,5 l. Слагање експерименталних резултата са вредностима које су предвиђене моделом за све примењене подлоге указује на валидност резултата оптимизације, односно на њихову примењивост у увећаним размерама.
- Извршен је прорачун кинетичких параметара ферментације екстракционог, ретког, густог сока и меласе у биореактору радне запремина 10 l.

Закључак је изведен јасно и концизно и одговара постављеном циљу докторске дисертације.

Литература даје јасан и прецизан приказ коришћених литературних навода.

VI Списак научних и стручних радова који су објављени или прихваћени за објављивање на основу резултата истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији уз напомену:

1. Siniša Dodić, Stevan Popov, Jelena Dodić, **Jovana Ranković**, Zoltan Zavargo:
Potential contribution of biethanol fuel to the transport sector of Vojvodina, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 13 (8), 2009, 2197-2200.
(**SCI 2008, Energy & Fuels: 2/64; M-21**)
2. Siniša Dodić, Stevan Popov, Jelena Dodić, **Jovana Ranković**, Zoltan Zavargo, Rada Jevtić Mučibabić: Bioethanol production from thick juice as intermediate of sugar beet processing, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 33, 2009, 822-827.
(**SCI 2008, Energy & Fuels: 14/64; M-21**)
3. Dodić, S., Popov, S., Dodić, J., **Ranković, J.**, Zavargo, Z.:
Potential development of bioethanol production in Vojvodina, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2009, Vol. 13 (9):2722-2727.
(**SCI 2008, Energy & Fuels: 2/64; M-21**)
4. Dodić S., Vučurović D., Popov S., Dodić J., **Ranković J.**:
Cleaner bioprocesses for promoting zero-emission biofuels production in Vojvodina, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010, Vol. 14: 3242-3246.
(**SCI 2008, Energy & Fuels: 2/64; M-21**)
5. Stevan Popov, **Jovana Ranković**, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Aleksandar Jokić:
Bioethanol production from raw juice as intermediate of sugar beet processing: A response surface methodology approach, *Food Technology and Biotechnology*, 2010, 48(3), 376-383.
(**SCI 2008, Food Science and Technology:44/107; M-22**)
6. **Jovana Ranković**, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Stevan Popov:
Bioethanol Production from Inter-mediate Products of Sugar Beet Processing with Different Types of *Saccharomyces cerevisiae*, *CI&CEQ*, 15 (1), 2009, 13-16. (**M-24**)
7. **Jovana Ranković**, Siniša Dodić, Stevan Popov, Jelena Dodić:
Međuproizvodi prerađivanja šećerne repe kao podloga za biosintezu etanola, *Acta Agriculturae Serbica*, 2008, Vol. XIII, 47-54. (**M-52**)
8. **Jovana Ranković**, Jelena Dodić, Siniša Dodić, Stevan Popov:
Thin juice from sugar beet processing as medium for bioethanol production, *Zbornik Tehnološkog fakulteta u Leskovcu*, 2009, 19: 44-51. (**M-53**)

VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Истраживања која су обухваћена овом дисертацијом извршена су у потпуности уз коришћење сировинске базе доступне на нашем тржишту. Добијени резултати могу се резимирати у оквиру следећих закључака:

- Резултати анализе састава сировина указују да екстракциони, ретки и густо сок као међупроизводи и меласа као нуспроизвод технологије прераде шећерне репе имају уобичајен састав за процес прераде у домаћим шећеранама. Наведени супстрати, на основу садржаја сахарозе, укупног азота и пепела, представљају погодну сировину за припрему хранљиве подлоге за производњу етанола.
- Ток ферментације испитан је на основу следећих показатеља: број ћелија квасца, укупан садржај шећера, садржај укупног азота, укупан садржај растворених соли, вредност рН и садржај етанола. Вредности испитиваних показатеља тока ферментације подлога на бази екстракционог, ретког и густог сока, као и меласе, помоћу пет различитих стартер култура квасца доступних на домаћем тржишту по истеку 48 h процеса, статистички су обрађене анализом варијансе. Аритметичке средине су упоређене *Scheffe*-овим тестом при нивоу значајности $p=0,05$. Добијени резултати указују да нема статистички значајне разлике у погледу састава ферментисаних поглого добијених метаболичком активношћу квасца за производњу јаких алкохолних пића, два квасца за производњу вина и два пекарска квасца под примењеним експерименталним условима.
- Експериментално је потврђена изводљивост добијања етанола дисконтинуалном ферментацијом екстракционог, ретког и густог сока као и меласе из домаћих фабрика шећера квасцем *Saccharomyces cerevisiae* у биореактору радне запремине 1,5 l. Припрема за ферментацију коју захтевају све испитане сировине је корекција вредности рН и стерилизација. Код густог сока и меласе претходно је потребно извршити разблажење. Недостатак екстракционог сока са аспекта вођења процеса ферментације је садржај сапонина, који изазивају пењење током ферментације што изискује дозирање антипенушавца.
- На добијање етанола ферментацијом утиче велики број фактора. Анализа тока ферментације у биореактору радне запремине 1,5 l извршена је са циљем дефинисања фактора који имају највећи утицај. На основу приказаних резултата испитивања тока ферментације подлога на бази међу- и нуспроизвода технологије прераде шећерне репе утврђено је да након 48 h ферментације подлога које су припремљене разблаживањем екстракционог, ретког и густог сока као и меласе до почетног садржаја шећера у опсегу 5-25% m/v преостаје извесна количина неискоришћеног азота и растворених соли. Резултати показују да све примењене подлоге садрже довољну количину ових нутријената за метаболичку активност квасца током алкохолне ферментације. Утврђено је да се вредност рН током трајања ферментације свих примењених хранљивих подлога мења у опсегу 3,5-6,0 у којем квасци могу ефикасно да производе етанол. Садржај азота, укупан садржај растворених соли и вредност рН не представљају лимитирајуће факторе за одвијање кинетике процеса при примењеним експерименталним условима. Као одзиви за моделовање дефинисани су следећи показатељи тока ферментације: број ћелија квасца, укупан садржај шећера и садржај етанола у ферментационој течности.
- Моделовање има за циљ дефинисање оптималних вредности почетног садржаја шећера и трајања ферментације екстракционог, ретког и густог сока као међупроизвода и меласе као нуспроизвода технологије прераде шећерне репе у примењеним експерименталним условима применом методе жељене функције у

комбинацији са полиномским зависностима посматраних одзива. У циљу постизања максималног приноса етанола током ферментације међу- и нуспроизвода технологије прераде шећерне репе, број ћелија квасца и садржај етанола треба да буду максимални, док укупан садржај шећера треба да буде минималан. Њихове индивидуалне жељене функције треба да имају што већу вредност, идеално 1.

- За опис одзивних функција броја ћелија квасца, садржаја етанола и укупног садржаја шећера током ферментације подлоге на бази екстракционог сока испитан је утицај почетног садржаја шећера у опсегу 5-13% m/v и трајања ферментације у опсегу 0-48 h. Високе вредности коефицијената детерминације у опсегу 0,904-0,954 указују на адекватно фитовање експерименталних резултата полиномом другог реда. Модели полинома другог реда свих посматраних одзива су значајни при нивоу значајности 95% (*p*-вредност 0,05). За екстракциони сок оптималне вредности варираних параметара, при којим жељена функција има највећу вредност су почетни садржај шећера 12,71% m/v и трајање ферментације 38 h. За наведене вредности варираних параметара вредности оптимизованих одзива су следеће: број ћелија квасца $2,31 \times 10^8$ cfu/ml, садржај етанола 7,99% v/v и укупан садржај шећера приближно једнак нули.
- За опис одзивних функција броја ћелија квасца, садржаја етанола и укупног садржаја шећера, испитан је утицај почетног садржаја шећера у подлози на бази ретког сока у опсегу 5-13% m/v и трајања ферментације у опсегу 0-48 h. Коефицијенти детерминације моделованих одзива за ток ферментације ретког сока се налазе у опсегу 0,875-0,975. Анализа варијансе за посматране одзиве указује да су сви модели статистички значајни при нивоу значајности 95% (*p*-вредност 0,05). За ретки сок оптималне вредности варираних параметара, при којим жељена функција износи 1, су почетни садржај шећера 12,75% m/v и трајање ферментације 42 h. За наведене вредности варираних параметара вредности оптимизованих одзива су следеће: број ћелија квасца $2,27 \times 10^8$ cfu/ml, садржај етанола 8,01% v/v и укупан садржај шећера 0,03 % m/v.
- За опис одзивних функција броја ћелија квасца, садржаја етанола и укупног садржаја шећера током ферментације подлоге на бази густог сока, испитан је утицај почетног садржаја шећера у опсегу 5-25% m/v и трајања ферментације у опсегу 0-48 h. Релативно високе вредности коефицијената детерминације у опсегу 0,866-0,960 указују на адекватно фитовање експерименталних резултата полиномом другог реда. Модели полинома другог реда свих посматраних одзива су значајни при нивоу значајности 95%. Дефинисане оптималне вредности варираних параметара за густо сок су почетни садржај шећера 21,12% m/v и трајање ферментације 47 h, за које су вредности оптимизованих одзива следеће: број ћелија квасца $2,37 \times 10^8$ cfu/ml, садржај етанола 11,38% v/v и укупан садржај шећера 3,02 % m/v.
- За опис одзивних функција броја ћелија квасца, садржаја етанола и укупног садржаја шећера током ферментације подлога на бази меласе је испитан утицај почетног садржаја шећера у опсегу 5-25% m/v и трајања ферментације у опсегу 0-48 h. Коефицијенти детерминације моделованих одзива за ток ферментације подлоге на бази меласе се налазе у опсегу 0,615-0,954. Анализа варијансе за посматране одзиве указује да су сви модели статистички значајни при нивоу значајности 95% (*p*-вредност 0,05). За меласу су дефинисане следеће оптималне вредности варираних параметара: почетни садржај шећера 11,59% m/v и трајање ферментације 34 h. За наведене вредности варираних параметара вредности оптимизованих одзива су следеће: број ћелија квасца $1,84 \times 10^8$ cfu/ml, садржај етанола 4,54% v/v и укупан садржај шећера је приближно једнак нули.
- Резултати тока ферментације подлоге на бази екстракционог сока у биореактору радне

запремина 10 l, при оптималним условима дефинисаним за ферментацију у биореактору радне запремине 1,5 l, су садржај етанола 7,65% v/v, број ћелија квасца $2,25 \times 10^8$ cfu/ml и укупан садржај шећера 0,09% m/v. Ови резултати су у доброј корелацији са горенаведеним вредностима оптимизованих одзива које су предвиђене моделом. По истеку ферментације подлоге на бази ретког сока биореактору радне запремина 10 l, при оптималним условима дефинисаним за ферментацију у биореактору радне запремине 1,5 l, вредности посматраних одзива су садржај етанола 7,78% v/v, број ћелија квасца $2,33 \times 10^8$ cfu/ml и укупан садржај шећера 0,26% m/v. Слагање ових експерименталних резултата са горенаведеним вредностима које су предвиђене моделом је задовољавајуће. Вредности посматраних одзива добијене током ферментације густог сока у биореактору радне запремина 10 l, при оптималним условима дефинисаним за ферментацију у биореактору радне запремине 1,5 l, су за садржај етанола 11,09% v/v, за број ћелија квасца $2,35 \times 10^8$ cfu/ml и за укупан садржај шећера 3,08% m/v. Добијене вредности се слажу са вредностима које су предвиђене моделом. Експериментално добијене вредности испитиваних одзива по истеку ферментације подлоге на бази меласе у биореактору радне запремина 10 l, при оптималним условима дефинисаним за ферментацију у биореактору радне запремине 1,5 l, износе 4,92% v/v, $2,08 \times 10^8$ cfu/ml и 0,08% m/v за садржај етанола, број ћелија квасца и укупан садржај шећера, респективно. И ове вредности су у адекватној корелацији са вредностима које су предвиђене моделом што за све примењене подлоге указује на валидност резултата оптимизације, односно на њихову примењивост у увећаним размерама.

- Током ферментације подлоге на бази екстракционог сока у биореактору радне запремина 10 l максимална вредност коефицијента приноса етанола је постигнута у 34 h ферментације када износи 41,88%, док су максималне вредности коефицијента приноса биомасе квасца у износу од 0,032 g/g и степена конверзије шећера у износу од 99,24% постигнуте у 36 h и 38 h ферментације, респективно. Ферментацијом подлоге на бази ретког сока, максималне вредности коефицијента приноса етанола и степена конверзије шећера постигнуте су у 42 h ферментације и износе 49,86% и 96,65%, респективно, док коефицијент приноса биомасе квасца осцилује око максималне вредности од 0,040 g/g у периоду између 18-30 h ферментације. Коефицијент приноса биомасе квасца током ферментације подлоге на бази густог сока расте до 44 h ферментације, када достиже максималну вредност од 0,027 g/g док се максималне вредности коефицијента приноса етанола и степена конверзије шећера постижу у 47 h процеса и износе 50,34% и 87,29%, респективно. Ферментације подлоге на бази меласе у биореактору радне запремина 10 l коефицијент приноса биомасе квасца између 24-34 h ферментације осцилује око максималне вредности од 0,032 g/g, док се максималне вредности коефицијента приноса етанола и степена конверзије шећера постижу у 34 h процеса и износе 34,05% и 98,97%, респективно.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА НАПОМЕНА:

Резултати су, графички и табеларно, јасно и прегледно приказани. Приказ резултата је подељен у стручно конципиране, делове који, сваки за себе, представља целину из које произилазе одговарајући закључци. Резултати су дискутовани са технолошког и статистичког аспекта. Тумачење резултата је студиозно и детаљно уз поређења са сазнањима објављеним у области добијање етанола ферментацијом под сличним условима.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

НАПОМЕНА: 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

Докторска дисертација је у потпуности урађена и написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе научног рада укључујући детаљан приказ владајућих ставова у области која је предмет изучавања у дисертацији, у оквиру теоријског дела, затим оригиналног приступа у изведеном експерименталном делу рада и коректно изведене закључке.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Оригиналан допринос ове докторске дисертације се огледа у оптимизацији добијања етанола ферментацијом међупроизвода технологије прераде шећерне репе из домаћих фабрика шећера применом методе одзивне површине функције.

Због тренутне ситуацију на тржишту, већина постојећих фабрика шећера у Европи је отпочела симултану производњу етанола или се потпуно преорјентисала на ову технологију. Будући да састав наведених међупроизвода прераде шећерне репе зависи од локалитета и врсте земљишта на којем се ова култура гаји, као и примењеног технолошког поступка јавила се реална потреба за оптимизацијом добијања етанола ферментацијом екстракционог, ретког и густог сока који се добијају у домаћим фабрикама шећера.

Доказана је могућност примене методе одзивне површине функције за добијање математичких модела који описују раст броја ћелија производног микроорганизма, потрошњу ферментабилних шећера и настанак етанола током ферментације екстракционог, ретког и густог сока и меласе.

Примењена је метода жељене функције за дефинисање оптималних вредности почетног садржаја шећера и дужине трајања ферментације хранљивих подлога на бази сваке од наведених сировина, а затим је експериментално потврђена валидност добијених резултата.

Дефинисани су кинетички параметри ферментације подлога на бази међу- и нуспроизвода технологије прераде шећерне репе у домаћим фабрикама што представља добру основу за оптимизацију са техно-економског аспекта као и за увећање размера процеса до индустријских.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Недостаци дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија са задовољством констатује да је докторска дисертација Јоване Граховац, дипл. инж-*master* у потпуности остварила постављене циљеве истраживања, као свеобухватан истраживачки рад у домену производње етанола из међу- и нуспроизвода технологије прераде шећерне репе. Аналитички приступ проблему, изузетно познавање како теоријских поставки тако и експерименталних техника, примена савремених инструменталних метода и детаљан увид у друга сазнања објављена у литератури само су неке карактеристике овог изузетног рада. Дисертација је значајан допринос упознавању корелација између улазних и излазних варијабли тока ферментације. Резултати ових истраживања отварају пут широкој употреби међу- и нуспроизвода прераде шећерне репе из домаћих фабрика у свакодневној производњи етанола намењеног прехранбеној, фармацеутској и хемијској индустрији или примени као биогориво. Ова истраживања полазна су основа за развој копроизводње шећера и етанола у домаћим шећеранама.

Да се докторска дисертација Јоване Граховац, дипл. инж-*master* под називом "Оптимизација добијања етанола ферментацијом међупроизвода технологије прераде шећерне репе" прихвати, а кандидату одобри одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

~~ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ~~

1, председник

члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.