

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. ст. 5. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета" број 131/06),
дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата

Мр КАТАРИНЕ (Радослав) МИХАЈЛОВСКИ, дипл. инж.
(име, име једног од родитеља и презиме)

КАНДИДАТ: **Мр КАТАРИНА (Радослав) МИХАЈЛОВСКИ, дипл. инж.,**
пријавила је докторску дисертацију под називом:

**„Пољопривредни и индустријски отпад као супстрат за производњу целулаза и
амилаза помоћу новог бактеријског соја *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1“**

Из научне области: **ХЕМИЈА И ХЕМИЈСКА ТЕХНОЛОГИЈА**

Универзитет је дана 23.11.2015. године, својим актом **02 број: 61206-5063/2-15** дао сагласност
на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

**„Пољопривредни и индустријски отпад као супстрат за производњу целулаза и
амилаза помоћу новог бактеријског соја *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1“**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Мр КАТАРИНЕ (Радослав) МИХАЈЛОВСКИ, дипл. инж.
(име, име једног од родитеља и презиме)

образована је на седници одржаној **28.01.2016.** године Одлуком Факултета под бр. **35/26,** у
саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област
1. Др Сузана Димитријевић Бранковић	Ванредни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија
2. Др Славица Шилер Маринковић	Редовни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија
3. Др Дејан Безбрадица	Ванредни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија
4. Др Мирјана Рајилић Стојановић	Научни сарадник	Биотехнологија
5. Др Анита Клаус	Доцент	Технолошка микробиологија

Наставно-научно веће Факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске
дисертације на седници одржаној дана **03.03.2016.** године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

На основу чл. 128. Закона о високом образовању и чл. 129. Статута ТМФ-а, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 03.03.2016. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата о оцени докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије у саставу: др Сузана Димитријевић-Бранковић, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Славица Шилер-Маринковић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Дејан Безбрадица, ванредни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Мирјана Рајилић-Стојановић, научни сарадник Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Анита Клаус, доцент Универзитета у Београду, Пољопривредни факултет, о прегледу и оцени урађене докторске дисертације под називом: **„Пољопривредни и индустријски отпад као супстрат за производњу целулаза и амилаза помоћу новог бактеријског соја *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1“** коју је поднела мр **КАТАРИНА Р. МИХАЈЛОВСКИ**, дипл. инж. 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 мр Катарине Михајловски под називом **„Пољопривредни и индустријски отпад као супстрат за производњу целулаза и амилаза помоћу новог бактеријског соја *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1“** Одлуком 02 број: 61206-5063/2-15 од 23.11.2015. године.

Верификација научних доприноса:

Kategorija M21:

1. **Mihajlovski K. R.**, Radovanović N. R., Miljković M. G., Šiler-Marinković S. S., Rajilić-Stojanović M. D., Dimitrijević-Branković S. D.: β -amylase production from packaging-industry wastewater using a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *RSC Advances*, vol. 5, pp 90895-90903, 2015 (IF (2014) = 3.840) (ISSN 2046-2069)

2. **Mihajlovski K. R.**, Radovanović N. R., Veljović Đ. N., Šiler-Marinković S. S., Dimitrijević-Branković S. D.: Improved β -amylase production on molasses and sugar beet pulp by a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *Industrial Crops and Products*, vol. 80, pp 115-122, 2016 (IF (2014) = 2.837) (ISSN 0926-6690)

Kategorija M22:

1. **Mihajlovski K.**, Carević M., Dević M., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Lignocellulosic waste material as substrate for Avicelase production by a new strain of *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 104, pp. 426-434, 2015 (IF (2014) = 2.131) (ISSN 0964-8305)

Kategorija M23:

1. **Mihajlovski K.**, Davidović S., Carević M., Radovanović N., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Carboxymethyl cellulase production from a *Paenibacillus* sp., Hemijska Industrija, OnLine-First (00): 38-38, DOI: 10.2298/HEMIND150222038M (IF (2014) = 0.364) (ISSN 0367-598X)

Докторска дисертација и Реферат о оцени докторске дисертације достављају се на увид јавности, а по истеку рока од 30 дана, на сагласност Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду.

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

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET
NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

Predmet: referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata mr Katarine Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije. Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta br. 35/26 od 28. 01. 2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata mr Katarine R. Mihajlovski pod naslovom „Poljoprivredni i industrijski otpad kao supstrat za proizvodnju celulaza i amilaza pomoću novog bakterijskog soja *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1” Posle pregleda dostavljene disertacije i drugih pratećih materijala i razgovora sa kandidatom Komisija je sačinila sledeći

REFERAT

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- 14.02.2007. Kandidat mr Katarina Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije je odbranila magistarsku tezu pod naslovom „Proučavanja i izbor prirodnih jedinjenja za proizvodnju tekstilnih materijala sa antimikrobnim svojstvima” pod rukovodstvom mentora dr Suzana Dimitrijević-Branković, vanrednog profesora.
- 17. 09. 2015. Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta je donelo odluku o imenovanju Komisije za ocenu podobnosti teme.
- 22. 10. 2015 Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta je donelo odluku o prihvatanju Referata Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije pod nazivom „Poljoprivredni i industrijski otpad kao supstrat za proizvodnju celulaza i amilaza pomoću novog bakterijskog soja *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1”. Za mentora doktorske disertacije imenovana je dr Suzana Dimitrijević-Branković, vanredni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta.
- 23. 11. 2015. Veće naučnih oblasti tehničkih nauka je dalo saglasnost na predlog teme doktorske disertacije Katarine Mihajlovski pod nazivom „Poljoprivredni i industrijski otpad kao supstrat za proizvodnju celulaza i amilaza pomoću novog bakterijskog soja *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1”.
- 28.01.2016. Nastavno-naučno veće Tehnološko-metalurškog fakulteta je donelo odluku o imenovanju komisije za ocenu i odbranu doktorske teze kandidata mr Katarine Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije.

1.2. Mesto disertacije u odgovarajućoj naučnoj oblasti

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna oblast Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Na osnovu objavljenih radova u navedenoj naučnoj oblasti i dosadašnjeg iskustva u naučno-istraživačkom radu, konstatujemo da su imenovani članovi Komisije, kompetentni za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Katarina R. Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije, rođena je 05.12.1978. godine u Beogradu, Republika Srbija, gde je završila osnovnu školu i XI beogradsku gimnaziju. Godine 1997. upisala je studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu. Diplomirala je 17.02.2003. godine na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju sa prosečnom ocenom 8.97 odbranivši diplomski rad na temu „Ispitivanje uticaja ekstrakta omana (*Inula Helenium*) na rast izolata *Bifidobacterium* sp.“ sa ocenom 10. Po završetku redovnih studija, upisala je magistarske studije na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju. Bila je stipendista Ministarstva nauke u periodu od 01.04.2003.-31.12.2006, a nakon toga zasniva radni odnos na TMF-u na Katedri biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija. Pohađala je i stekla diplomu kursa: International Summer School and Training Course on „Cell and Tissue Engineering“, TMF, Beograd, 1-8 jul 2006. Magistarsku tezu na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu pod nazivom „Proučavanje i izbor prirodnih jedinjenja za proizvodnju tekstilnih materijala sa antimikrobnim svojstvima“ odbranila je 14. februara 2007. godine.

Bila je angažovana na sledećim projektima: "Biofermentisani sokovi na bazi biljnih sirovina" (BTH.7.1.4.0721.B, Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije, 2003-2005), "Razvoj biomedicinskih tekstilnih materijala i proizvoda programiranih svojstava" (Tehnološki razvoj, TR6713, Ministarstvo nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije, 2006-2007) i "Razvoj novih prehrambenih i dijetetskih proizvoda sa medicinskim gljivama i lekovitim biljem" (Tehnološki razvoj, TR20049, Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, 2008-2010). Sada učestvuje na istraživanju u okviru projekta "Primena biotehnoloških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije" (Tehnološki razvoj, TR 31035, Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije) i "Biološki mehanizmi, nutritivni unos i status polinezasićenih masnih kiselina i folata: Unapređenje ishrane u Srbiji" (III 41030).

Od školske 2004/2005. godine, učestvuje u izvođenju vežbi iz sledećih predmeta: "Ekološka mikrobiologija" (zimski semestar školske 2004/2005, 2005/2006, 2006/2007, 2007/2008 i 2008/2009), "Tehnologija mikrobnih metabolita" (letnji i zimski semestar 2004/2005 i 2008/2009) na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju.

U dosadašnjem naučno-istraživačkom radu bavi se ispitivanjem sporednih odnosno nus proizvoda prehrambene i poljoprivredne industrije i mogućnošću njihovog iskorišćenja kao supstrata za proizvodnju mikrobnih enzima.

Katarina R. Mihajlovski je prvi autor ili koautor 6 radova u vrhunskim međunarodnim časopisima M21, tri rada u istaknutom međunarodnom časopisu M22, pet radova u međunarodnom časopisu M23, tri saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u celini M33, dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u izvodu M34, jednog rada u vodećem časopisu nacionalnog značaja M51 i jednog saopštenja sa skupa nacionalnog značaja štampanog u celini M63.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija mr Katarine R. Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije pod nazivom „Poljoprivredni i industrijski otpad kao supstrat za proizvodnju celulaza i amilaza pomoću novog

bakterijskog soja *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1” napisana je na 210 strana, u okviru kojih se nalazi 6 poglavlja, 48 slika (+10 slika u prilogu), 23 tabela (+1 tabela u prilogu), 312 literaturna navoda. Doktorska disertacija sadrži poglavlja: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura, kao i Apstrakt (na srpskom i engleskom jeziku), Prilozi i Biografija. Po svojoj formi i sadržaju, podneti rad zadovoljava sve standarde za doktorsku disertaciju.

2.2. Kratak prikaz pojedinih poglavlja

U Uvodu disertacije prikazan je osnovni značaj iskorišćenja otpadnih sirovina, poljoprivrednog i industrijskog porekla, za dobijanje biotehnoški vrednih proizvoda. Ukazano je na značaj iskorišćenja različitih otpadnih sirovina kako sa ekonomskog tako sa i ekološkog aspekta. Većinu agroindustrijskog otpada čine lignocelulozni materijali i otpadne sirovine bogate skrobom i ostalim ugljenim hidratima koji su pogodni za mikrobiološku proizvodnju enzima celulaza i amilaza. Naveden je plan istraživanja i osnovni ciljevi ove doktorske disertacije.

Teorijski deo disertacije je prikazan u tri potpoglavlja. U prvom potpoglavlju dat je prikaz osnovnih komponenti agro-industrijskog otpada: celuloze i skroba. Navedeni su osnovni tipovi agro-industrijskog otpada - lignocelulozna biomasa (repin rezanac, otpadno bilje i ječmene mekinje) i industrijski otpad u koji spadaju otpadne vode iz različitih industrijskih postrojenja i melasa. U drugom potpoglavlju prikazani su hidrolitički enzimi iz grupa celulaza i amilaza, koji se mogu proizvoditi na agro-industrijskom otpadu kao i mikroorganizmi koji ih mogu proizvoditi. Akcenat je dat na prikaz novih bakterija producenata celulaza i amilaza koje pripadaju rodu *Paenibacillus*. U trećem potpoglavlju prikazani su mikrobiološki postupci proizvodnje celulaza i amilaza i najvažniji faktori koji utiču na njihovu proizvodnju kao što su sastav podloge, temperatura, pH i slično. Izložene su i oblasti industrijske primene navedenih enzima.

U Eksperimentalnom delu prikazani su dva potpoglavlja: Materijal i oprema i Metode. Prikaz u delu Materijal i oprema je obuhvatio sve korišćene materijale, mikrobiološke podloge, hemikalije i opremu. Zatim su navedene metode koje su korišćene u eksperimentalnom radu. Prvo su opisane metode za izolaciju i karakterizaciju mikroorganizama, a zatim primenjene metode za identifikaciji radnog mikroorganizma koji proizvodi željene enzime. Opisani su postupci kvalitativnog određivanja celulotičke i amilolotičke aktivnosti. Prikazan je postupak za dobijanje enzima iz fermentacione podloge kao i metode za kvantitativno određivanje aktivnosti celulaza i amilaza. U okviru proizvodnje celulaza i amilaza primenjene su tehnike submerznog gajenja mikroorganizama u komercijalnim i podlogama obogaćenim otpadnim sirovinama. Pored toga, za proizvodnju celulaza primenjene su i tehnike gajenja na čvrstom otpadnom supstratu. Posebna pažnja posvećena je opisu metoda za optimizaciju procesa proizvodnje navedenih enzima na otpadnim supstratima primenom statističke obrade eksperimentalnih podataka. Dalje su navedene metode pomoću kojih je izvršena karakterizacija enzima kao i metoda tačne hromatografije (HPLC metoda) za određivanje krajnjih proizvoda hidrolize celuloze i skroba. Primenljivost proizvedenih enzima za saharifikaciju celuloznih i skrobnih otpadnih materijala ispitana je procesima hidrolize pamučnog materijala i ječmenih mekinja.

Poglavlje Rezultati i diskusija obuhvata prikaz rezultata dobijenih u eksperimentalnom delu u ovoj disertaciji, njihovu analizu i diskusiju koja uključuje poređenje sa literaturnim podacima. Na samom početku prikazani su rezultati izolacije, identifikacije i karakterizacije radnog mikroorganizma. Selekcija radnog mikroorganizma je izvršena na osnovu skrininga pomoću selektivnih agarnih podloga u kome je određen potencijal produkcije navedenih enzima

kod različitih sojeva mikroorganizama izolovanih iz zemljišta. Identifikacija odabranog radnog soja je izvršena sekvencioniranjem gena kojim je kodirana sinteza 16S rRNK na osnovu čega je utvrđeno da izolat pripada *Paenibacillus chitinolyticus* vrsti i nazvan je *P. chitinolyticus* CKS1. Zatim je prikazana proizvodnja celulaza koja je obuhvatila proizvodnju celulaza u tečnim podlogama submerznim postupkom gajenja (komercijalne tečne podloge i podloge obogaćene otpadnim sirovinama) i proizvodnju celulaza na čvrstom supstratu (otpadni supstrat - repin rezanac). Pokazano je da soj CKS1 poseduje mogućnost proizvodnje celulaza sa različitim spektrom hidrolitičke aktivnosti (endoglukanaze, egzoglukanaze i β -glukozidaze) tokom svog rasta na podlogama obogaćenim otpadnim supstratima - otpadnom lekovitom bilju i piljevini. Proizvodnja amilaza (α -amilaza i β -amilaza) je prikazana gajenjem radnog mikroorganizma u komercijalnim podlogama i na otpadnim tečnim sirovinama (otpadnoj vodi iz industrije prerade kartonske ambalaže i melasi i repinom rezancu). Soj CKS1 je pokazao sposobnost proizvodnje amilaza koja je netipična za vrstu kojoj pripada. Naime, pokazano je da soj CKS1 pored α -amilaza proizvodi i β -amilaze koje nisu svojstvene ovoj grupi mikroorganizama. Optimizacija procesa proizvodnje enzima na otpadnim supstratima je vršena primenom statističke metode odzivnih površina, primenom *Design Expert* softvera. Optimizovana je proizvodnja celulaza (endoglukanaza i egzoglukanaza) korišćenjem tečne podloge obogaćene ječmenim mekinjama. Za optimizaciju proizvodnje β -amilaza korišćena je otpadna voda iz industrije prerade kartonske ambalaže kao i kombinacija melase i repinih rezanaca. Proizvedene celulaze i amilaze su okarakterisane kako bi se utvrdila mogućnost njihove potencijalne primene. Mogućnost primene celulaza i amilaza u procesima saharifikacije prikazana je na primeru otpadnog pamučnog materijala i ječmenih mekinja, pojedinačno.

U poglavlju Zaključci, sumirani su najznačajniji rezultati i saznanja proistekla iz ove doktorske disertacije, sa akcentom na moguću industrijsku primenu.

U poglavlju Literatura navedene su sve reference citirane u doktorskoj disertaciji.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost, originalnost i značaj

Tema disertacije je proistekla iz činjenice da postoji veliki interes za iskorišćenje različitih vrsta agroindustrijskih sporednih proizvoda i otpada primenom biotehnoloških postupaka. Pored stvaranja ekoloških problema i zagađenja životne sredine, odlaganje ovih materijala u vidu otpada predstavlja ekonomske gubitke za industriju jer veliki deo i dalje poseduje određenu finansijsku vrednost. Biokonverzija agroindustrijskih otpadnih materijala pomoću mikroorganizama i dobijanje biotehnoloških proizvoda predstavljaju atraktivne, ekonomski isplative i ekološki pogodne postupke njihove revalorizacije. Veći deo agroindustrijskog otpada čini lignocelulozni materijal, odnosno, lignocelulozna biomasa. Biokonverzija lignocelulozne biomase do bioetanola (biogoriva) zahteva primenu biokatalizatora, odnosno, enzima iz grupe celulaza koji mogu efikasno raditi na visokim temperaturama i niskim pH vrednostima. Otpadne sirovine koje u sebi sadrže skrob i druge oblike ugljenih hidrata mogu poslužiti za proizvodnju amilaza. S obzirom da je proizvodnja enzima na komercijalnim podlogama skupa, upotreba jeftinih i obnovljivih sirovina daje mogućnost povećanja ekonomičnosti u ovoj biotehnološkoj grani. U cilju povećanja produktivnosti biotehnoloških procesa, ispituju se potencijali različitih novih izolata mikroorganizama i/ili se pristupa optimizaciji uslova njihovog gajenja. Zbog toga je i predmet ove doktorske disertacije bio da se ispita mogućnost proizvodnje enzima iz grupe celulaza i

amilaza na različitim otpadnim sirovinama pomoću novog bakterijskog izolata *P.chitinolyticus* CKS1. Novi soj poseduje sposobnost proizvodnje različitih grupa celulaza i amilaza, koje nisu svojstvene ovoj vrsti mikroorganizma. Na osnovu opsežnog pregleda literature, može se zaključiti da se istraživanja u okviru ove doktorske disertacije uklapaju u svetske trendove i ukazuju na značaj i aktuelnost proučavane problematike.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U okviru doktorske disertacije citirano je 312 literaturnih navoda koji su omogućili da se prikaže stanje u ispitivanoj oblasti, kao i aktuelnost problematike. Oko 30 % referenci citiranih u ovoj doktorskoj disertaciji predstavljaju naučne radove publikovane u poslednjih pet godina, što ukazuje na aktuelnost teme ove doktorske disertacije. Najveći broj citiranih radova čine radovi iz međunarodnih časopisa sa tematikom značajnom za izradu doktorske disertacije.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

Svi rezultati u okviru ove disertacije su dokazani odgovarajućim eksperimentima, kao i savremenim analitičkim instrumentalnim merenjima prema originalnim ili modifikovanim metodama iz literature.

Aktivnost celulaza (endoglukanaza i egzoglukanaza) je određivana spektrofotometrijskom metodom, preko određivanja sadržaja redukujućih šećera (DNS metoda - 3,5-dinitrosalicilna kiselina), korišćenjem različitih formi celuloze (CMC - karboksimetil celuloze, Avicel - mikrokristalne celuloze ili FP - filter papir) kao supstrat. Aktivnost amilaza je određivana na isti način kao i aktivnost celulaza samo što je u ovom slučaju korišćen škrob kao supstrat.

U ovoj disertaciji, izolovano je iz zemljišta preko 30 različitih mikroorganizama potencijalnih producenata hidrolitičkih enzima. Nakon primarnog skrininga, na selektivnim agarnim pločama koje sadrže celulozu i škrob, pojedinačno, izvršena je selekcija radnog mikroorganizma, a zatim i njegova pouzdana identifikacija sekvencionisanjem 16S rRNA kodirajućeg gena. Karakterizacija radnog mikroorganizma vršena je primenom standardnih mikrobioloških metoda. Radni mikroorganizam je ispitan sa aspekta proizvodnje celulaza u tečnim podlogama (komercijalnim i podlogama obogaćenim otpadnim sirovinama) i na čvrstom supstratu dok je proizvodnja amilaza ispitana u komercijalnim podlogama i na otpadnim sirovinama (otpadnoj vodi iz industrije prerade kartonske ambalaže i melasi i repinom rezancu) pod različitim uslovima. Ispitani su različiti parametri biosinteze enzima preko određivanja aktivnosti celulaza i amilaza. Optimizacija procesa proizvodnje enzima na otpadnim sirovinama ispitana je korišćenjem metode statistički planiranih eksperimenata. Primenom softverskog paketa *Design Expert* izvršena je precizna optimizacija procesa proizvodnje celulaza i amilaza na različitim otpadnim sirovinama, praćenjem uticaja pojedinačnih faktora kao i njihovih međusobnih odnosa uz znatno smanjenje broja izvođenja eksperimenata. U sklopu karakterizacije proizvedenih enzima, vršeno je određivanje veličine i broja traka celulaza primenom metode GEL-elektroforeze. Proizvodi hidrolize celuloze i škroba pomoću proizvedenih celulaza i amilaza su kvantifikovani tečnom hromatografijom visokih performansi (HPLC).

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Rezultati istraživanja proistekli iz ove doktorske disertacije imaju izuzetan doprinos iskorišćenja otpadnih sirovina za proizvodnju enzima, koji mogu imati potencijalnu industrijsku primenu, i dobijanju biotehnološki vrednih proizvoda iz istih. Uzimajući u obzir da je današnja proizvodnja enzima veoma skupa, uglavnom zbog skupih supstrata za mikrobne procese,

korišćenje jeftinih i otpadnih sirovina se svakako preporučuje. Prikazani postupci optimizacije proizvodnje celulaza i β -amilaza su ekonomski veoma opravdani i kao takvi mogu imati potencijalnu industrijsku primenu. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji su od velikog značaja kod primene celulaza i amilaza u industrijske svrhe, posebno kod saharifikacije pamučnog materijala i ječmenih mekinja za dobijanje glukoze i maltoze, pojedinačno, kao vrednih biotehnoloških proizvoda.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

U svom dosadašnjem istraživačkom radu, kandidat mr Katarina Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije, pokazala je samostalnost i stručnost u pretraživanju literature, pripremi i realizaciji eksperimenata, korišćenju različitih tehnika karakterizacije i analizi i obradi rezultata. Na osnovu dosadašnjeg zalaganja i postignutih rezultata Komisija je mišljenja da kandidat poseduje sve kvalitete neophodne za samostalan naučno-istraživački rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Prilikom prikazivanja ostvarenih naučnih doprinosa važno je istaći da vrsta *P. chitinolyticus* nije do sada primenljivana u procesima proizvodnje celulaza i amilaza tako da rezultati ove doktorske disertacije predstavljaju originalna naučna saznanja. Poseban naučni doprinos rezultata ove doktorske disertacije ogleda se u:

- izolaciji novog bakterijskog soja *P. chitinolyticus* CKS1 pogodnog za proizvodnju enzima iz grupe celulaza i amilaza;
- proizvodnji celulaza sa različitim hidrolitičkim potencijalom tokom rasta soja CKS1 u komercijalnim i. u podlogama obogaćenim otpadnim supstratima;
- proizvodnji amilaza (α -amilaza i β -amilaza), kako na komercijalnoj podlozi tako i na otpadnim sirovinama, iako je u literaturi *P. chitinolyticus* vrsta opisana kao neamilolitička;
- optimizaciji procesa proizvodnje navedenih enzima metodom statistički planiranog eksperimenta;
- iznalaženju ekonomski opravdanih postupaka za revalorizaciju navedenog poljoprivrednog i industrijskog otpada
- iznalaženju potencijalne primene dobijenih enzima u saharifikaciji celuloznog i skrobnog materijala.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Istraživanja koja su izvedena u ovoj doktorskoj disertaciji koncipirana su na osnovu prethodno definisanih ciljeva i detaljne analize literature iz oblasti proizvodnje mirobnih enzima na otpadnim sirovinama. Radni mikroorganizam je selektovan na osnovu sposobnosti razgradnje celuloze i skroba, pojedinačno, kao jedinog izvora ugljenika u podlozi. Izolovani bakterijski soj je pokazao svojstvo produkcije različitih tipova celulaza (endoglukanaza i egzoglukanaza) i prvi put je u okviru vrste *P. chitinolyticus* zabeležena predominantna aktivnost egzoglukanaza (na mikrokristalnoj celulozi, Avicel-u, kao supstratu). Pored toga, u okviru iste vrste, prvi put je zabeležena proizvodnja amilaza (α -amilaza i β -amilaza) koja nije svojstvena ovoj vrsti. Prvi put je primenjena i uspešno optimizovana proizvodnja celulaza (endoglukanaza i egzoglukanaza) i β -amilaza metodom statističke obrade podataka u okviru roda *Paenibacillus*. Hidrolizom, odnosno, saharifikacijom pamučnog materijala i ječmenih mekinja proizvedenim enzimima nastaju

biotehnološki vredni proizvodi, glukoza i maltoza, pa rezultati ove doktorske disertacije ukazuju na naučnu i potencijalnu industrijsku primenu.

Na osnovu rezultata disertacije otpadne sirovine poljoprivrednog i industrijskog porekla se uspešno koriste za proizvodnju enzima iz grupe celulaza i amilaza pomoću novoizolovanog bakterijskog soja *P. chitinolyticus* CKS1.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Katarina Mihajlovski je svoje rezultate potvrdila objavljivanjem radova u časopisima međunarodnog i nacionalnog značaja kao i saopštavanjem radova na međunarodnim skupovima. U okviru izrade ove doktorske disertacije kandidat je prvi autor dva objavljena rada u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21), jednog rada u istaknutom međunarodnom časopisu (M22), jednog rada u časopisu međunarodnog značaja (M23) i dva rada saopštena na skupu međunarodnog značaja (M33 i M34).

Spisak objavljenih radova direktno proisteklih iz teze je:

Kategorija M21-rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. **Mihajlovski K. R.**, Radovanović N. R., Miljković M. G., Šiler-Marinković S. S., Rajilić-Stojanović M. D., Dimitrijević-Branković S. D.: β -amylase production from packaging-industry wastewater using a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *RSC Advances*, vol. 5, pp 90895-90903, 2015 (IF (2014) = 3.840) (ISSN 2046-2069)

2. **Mihajlovski K. R.**, Radovanović N. R., Veljović Đ. N., Šiler-Marinković S. S., Dimitrijević-Branković S. D.: Improved β -amylase production on molasses and sugar beet pulp by a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *Industrial Crops and Products*, vol. 80, pp 115-122, 2016 (IF (2014) = 2.837) (ISSN 0926-6690)

Kategorija M22-rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. **Mihajlovski K.**, Carević M., Dević M., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Lignocellulosic waste material as substrate for Avicelase production by a new strain of *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 104, pp. 426-434, 2015 (IF (2014) = 2.131) (ISSN 0964-8305)

Kategorija M23-rad u međunarodnom časopisu

1. **Mihajlovski K.**, Davidović S., Carević M., Radovanović N., Šiler-Marinković S., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Carboxymethyl cellulase production from a *Paenibacillus* sp., *Hemijska Industrija*, OnLine-First (00): 38-38, DOI: 10.2298/HEMIND150222038M (IF (2014) = 0.364) (ISSN 0367-598X)

Kategorija M33-saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini

1. **Mihajlovski K.**, Miljković M., Mladenović D., Dimitrijević-Branković S., Šiler-Marinković S.: Sugar beet pulp and molasses as a solid state fermentation media for cellulase production by *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *Zbornik radova sa međunarodne konferencije XXIII Ekološka istina*, Kopaonik 2015, str. 403-408, ISBN 978-86-6305-032-7

Kategorija M34-saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

1. **Mihajlovski K.**, Davidović S., Miljković M., Rajilić-Stojanović M., Dimitrijević-Branković S.: Cellulolytic potencial of a strain *Paenibacillus* sp. isolated from soil, International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries - ICOSECS 8, Belgrade 2013, p. 244, ISBN 978-86-7132-053-5.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega napred izloženog, Komisija smatra da doktorska disertacija mr Katarine Mihajlovski dipl. inž. tehnologije, pod nazivom „Poljoprivredni i industrijski otpad kao supstrat za proizvodnju celulaza i amilaza pomoću novog bakterijskog soja *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1” predstavlja značajan, originalni naučni doprinos u oblasti hemije i hemijske tehnologije, što je potvrđeno i objavljivanjem većeg broja radova u relevantnim časopisima međunarodnog značaja, kao i prezentovanjem rezultata istraživanja na konferencijama. Kandidatkinja je samostalno i sistematično uradila istraživanja i analizu dobijenih rezultata.

Imajući u vidu kvalitet, obim i naučni doprinos ove doktorske disertacije Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću TMF-a da prihvati ovaj izveštaj i da ga, zajedno sa podnetom disertacijom mr Katarine Mihajlovski, dipl. inž. tehnologije, prihvati, izloži na uvid javnosti i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 23.02.2016.

ČLANOVI KOMISIJE

Prof. dr Suzana Dimitrijević-Branković, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Prof. dr Slavica Šiler-Marinković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Prof. dr Dejan Bezbradica, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

dr Mirjana Rajilić-Stojanović, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Prof. dr Anita Kaus, docent
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet