

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/241
(Број захтева)

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ТЕХНИЧКИХ НАУКА
(Назив већа научне области и коме се захтев упућује)

17.08.2017.
(Датум)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“, број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Примена агро-индустријског отпада за добијање ензима декстрансахаразе и производња декстрана и олигосахарида помоћу имобилисаних система“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

МИОНА (Гвозден) МИЉКОВИЋ, дипломирани биохемичар

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао високо образовање: **Универзитет у Београду, Хемијски факултет.**

3. Година дипломирања: 2009.

4. Назив и седиште факултета на коме је стекао мастер образовање: /

5. Година одбране мастер рада: /

Обавештавамо Вас да је **Наставно-научно веће**, на седници одржаној **06.07.2017. године** размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације
3. Подаци о ментору.

На основу чл. 30. став 3. Закона о високом образовању, чл. 40. Статута ТМФ-а и чл. 32. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 06.07.2017. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата
за израду докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобрава израда докторске дисертације Мионе Миљковић, дипломирани биохемичар, под називом: **„Примена агро-индустријског отпада за добијање ензима декстрансахаразе и производња декстрана и олигосахарида помоћу имобилисаних система“.**

Одлуку о давању сагласности на предлог теме докторске дисертације доноси Универзитет у Београду.

За ментора се одређује: др Сузана Димитријевић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду на сагласност, кандидату, ментору, Служби за наставно студентске послове и архиви Факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата Миону Миљковић

Име и презиме ментора: Сузана Димитријевић-Бранковић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Nesić A., Gordić M., Onjia A., Davidović S., **Miljković M.**, Dimitrijević S. (2017), Chitosan-triclosan films for potential use as bio-antimicrobial bags in healthcare sector, *Materials Letters*, 186, 368-371. (IF 2.572, *Materials Science, Multidisciplinary*, 90/275, ISSN 0167-577X)
2. Bogdanović, U., Vodnik, V., Mitrić, M., **Dimitrijević, S.**, Škapin, S.D., Žunić, V., Budimir, M., Stoiljković, M. Nanomaterial with high antimicrobial efficacy copper/polyaniline nanocomposite *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7 (3), 2015, 1955-1966. (IF 7.145, *Nanoscience & Nanotechnology*, 14/83, ISSN 1944-8244)
3. Milutinović, M., Radovanović, N., Rajilić-Stojanović, M., Šiler-Marinković, S., Dimitrijević, S., **Dimitrijević-Branković, S.** Microwave-assisted extraction for the recovery of antioxidants from waste *Equisetum arvense*, *Industrial Crops and Products*, 61, 2014, 388-397. (IF 2.837, *Agricultural Engineering*, 3/12, ISSN 0926-6690,)
4. Mihajlovski, K.R., Radovanović, N.R., Veljović, T.N., Šiler-Marinković, S.S., **Dimitrijević-Branković, S.I.**, Improved β -amylase production on molasses and sugar beet pulp by a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, *Industrial Crops and Products*, 80, 2016, 115-122. (IF 3.449, *Agricultural Engineering*, 2/14, ISSN 0926-6690)
5. Davidović, S., Miljković, M., Lazić, V., Jović, D., Jokić, B., **Dimitrijević, S.**, Radetić, M. Impregnation of cotton fabric with silver nanoparticles synthesized by dextran isolated from bacterial species *Leuconostoc mesenteroides* T3 *Carbohydrate Polymers*, 131, (10011), 2015, 331-336. (IF 4.219, *Polymer Science*, 9/85, ISSN 0144-8617)

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В или Г):

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничкотехнолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

Б) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релевантне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа коју ће, на предлог универзитета, донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41 и M51.)

В) У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски назив магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односно дисертације.

Г) У случају да у ужој научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Датум: 19.06.2017.

М.П.

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

**UNIVERZITETA U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU**

Predmet: Podobnost teme i kandidata **Mione Miljković, diplomiranog biohemičara**, za izradu doktorske disertacije.

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta od 20.04.2017. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Mione (Gvozden) Miljković, diplomiranog biohemičara, za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom: „**Primena agro-industrijskog otpada za dobijanje enzima dekstransaharaze i proizvodnja dekstrana i oligosaharida pomoću imobilisanih sistema**”.

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

REFERAT

1. Podaci o kandidatu

1.1. Biografski podaci

Kandidat **Miona (Gvozden) Miljković**, diplomirani biohemičar, je rođena 21. juna 1983. godine u Kruševcu, Republika Srbija. Osnovnu školu „Vuk Karadžić” u Kruševcu je završila kao nosilac Vukove diplome, nakon čega je upisala gimnaziju, prirodno-matematički smer, "Bosa Cvetić" u Kruševcu u kojoj je maturirala 2002. godine.

Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2002/2003. godine, studijski program Biohemija. Diplomirala je 30. decembra 2009. godine na Katedri za biohemiju sa ocenom na diplomskom radu 10 i prosečnom ocenom u toku studija 8,33 čime je stekla zvanje diplomirani biohemičar.

Doktorske akademske studije je upisala školske 2011/2012. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju pod mentorstvom dr Suzane Dimitrijević-Branković.

1.2. Stečeno naučnoistraživačko iskustvo

Ispite na doktorskim studijama položila je sa prosečnom ocenom 9.58, a 10. oktobra 2013. godine odbranila je sa ocenom 10 i Završni ispit pod nazivom: „Imobilizacija dekstran i levansaharaze poreklom iz bakterija mlečne kiseline izolovanih iz kefirnih zrna“ pred komisijom u sastavu: Dr Suzana Dimitrijević-Branković, Dr Slavica Šiler-Marinković, Dr Dušan Antonović.

Spisak predmeta položenih na doktorskim studijama:

Naziv predmeta	ESPB	Ocena
Hemijska kinetika	5	9
Matematička obrada eksperimentalnih podataka	5	7
Biomasa kao izvor energije	4	10
Industrijska mikrobiologija	5	10
Biohemijska kinetika	5	10
Sanitarna mikrobiologija	4	10
Strukturna analiza organskih molekula	6	10
Bioaktivna jedinjenja u kozmetičkim proizvodima	4	10
Polimerni biomaterijali	4	10
Odabrana poglavlja biohemije – vitamin	5	10
Odabrana poglavlja biofizike	4	9
Engleski jezik	/	10
Završni ispit	30	10
Zbir ESPB 81		Prosečna ocena 9,58

Od 04.01.2012. godine zaposlena je na Tehnološko – metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, na realizaciji projekta Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije pod nazivom „Primena biotehnoloških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije“ (evidencioni broj projekta TR 31035) kojim rukovodi prof. dr Suzana Dimitrijević-Branković. U zvanje istraživač-pripravnik izabrana je 08.03.2012. godine. U zvanje istraživač saradnik izabrana je 11.05.2015. godine.

Spisak objavljenih naučnih radova i saopštenja

Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja – M₂₀

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu – M₂₁

1. R. Dojcilović, J. Pajović, D. Božanić, Una Bogdanović, V. Vodnik, S. Dimitrijević-Branković, **M. Miljković**, S. Kaščaková, M. Réfrégiers, V. Djoković (2017), Interaction of amino acid-functionalized silver nanoparticles and *Candida albicans* polymorphs: A deep-UV fluorescence imaging study, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 155, 341–348. IF (2015)=3.902 (ISSN 0927-7765).
2. B. Krezović, **M. Miljković**, S. Stojanović, S. Najman, J. Filipović, S. Tomić (2017), Structural, thermal, mechanical, swelling, drug release, antibacterial and cytotoxic properties of P(HEA/IA)/PVP semi-IPN hydrogels, Chemical Engineering Research and Design, 121, 368–380. IF (2015)=2.525 (ISSN 0263-8762).
3. A. Nesić, M. Gordić, A. Onjia, S. Davidović, **M. Miljković**, S. Dimitrijević (2017), Chitosan-triclosan films for potential use as bio-antimicrobial bags in healthcare sector, Materials Letters, 186, 368-371. IF (2015)=2.437 (ISSN 0167-577X).

4. S. Davidović, **M. Miljković**, V. Lazić, D. Jović, B. Jokić, S. Dimitrijević, M. Radetić (2015), Impregnation of cotton fabric with silver nanoparticles synthesized by dextran isolated from bacterial species *Leuconostoc mesenteroides* T3, Carbohydrate Polymers, 131, 331-336. IF (2015)=4.219 (ISSN 0144-8617).
5. J. Vuković, M. Babić, K. Antić, **M. Miljković**, A. Perić-Grujić, J. Filipović, S. Tomić (2015), A high efficacy antimicrobial acrylate based hydrogels with incorporated copper for wound healing application, Materials Chemistry and Physics, 164, 51-62. IF (2015)=2.101 (ISSN 0254-0584).

Rad u međunarodnim časopisu – M₂₂

1. K. Mihajlovski, N. Radovanović, **M. Miljković**, S. Šiler-Marinković, M. Rajilić-Stojanović, S. Dimitrijević-Branković (2015), β -Amylase production from packaging-industry wastewater using a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS 1, RSC Advances, 5, 90895-90903. IF (2015)=3.289 (ISSN 2046-2069).

Rad u međunarodnom časopisu – M₂₃

1. **M. Miljković**, S. Davidović, S. Kralj, S. Šiler-Marinković Slavica, M. Rajilić-Stojanović Mirjana, S. Dimitrijević-Branković (2017), Characterization of dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* T3, water kefir grains isolate, Hemijska industrija, DOI:10.2298/HEMIND160421046M, in press, IF (2015)= 0.437 (ISSN 0367-598X) (Engineering, Chemical: 121/135).
2. **M. Miljković**, S. Davidović, M. Carević, Đ. Veljović, D. Mladenović, M. Rajilić-Stojanović, S. Dimitrijević-Branković (2016), Sugar Beet Pulp as *Leuconostoc mesenteroides* T3 Support for Enhanced Dextransucrase Production on Molasses, Applied Biochemistry and Biotechnology, 180, 1016–1027. IF(2014)=1,735 (ISSN 0273-2289) (Biotechnology & Applied Microbiology: 97/163).
3. S. Davidović, **M. Miljković**, D. Antonović, M. Rajilić-Stojanović, S. Dimitrijević-Branković (2015), Water kefir grain as a source of potent dextran producing lactic acid bacteria. Hemijska Industrija, 69, 595–604. IF (2015)= 0.437 (ISSN 0367-598X) (Engineering, Chemical: 121/135).

Zbornici međunarodnih naučnih skupova – M₃₀

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini – M₃₃

1. K. Mihajlovski, N. Radovanović, **M. Miljković**, D. Mladenović, S. Dimitrijević-Branković, S. Šiler-Marinković, Sugar beet pulp and molasses as a solid state fermentation media for cellulase production by *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, Eds. Radoje V. Pantović, XXIII International Conference Ecological Truth, Kopaonik, Serbia, June 17 to 20, 2015, Proceedings, p. 403-408. (ISBN 978-86-6305-032-7).
2. S. Davidović, **M. Miljković**, V. Lazić, M. Mitrić, B. Jokić, S. Dimitrijević, M. Radetić, Loading of cotton fabric with silver nanoparticles synthesized by dextran isolated from *Leuconostoc mesenteroides* T3, 8th Central European Conference (CEC 2015), Zagreb, September 16-18, 2015. (ISBN 978-953-7105-63-1).

3. **M. Miljković**, S. Davidović, D. Mladenović, K. Mihajlovski, S. Dimitrijević-Branković, Šiler-Marinković, Molasses and sugar beet pulp as a fermentation media for dextranucrase production by *Leuconostoc mesenteroides* T3, X International symposium on recycling technologies and sustainable development, Bor, Srbija, 4-7. Novembar, 2015, Proceedings, p. 127-132. (ISBN 978-86-6305-037-2).
4. S. Davidović, **M. Miljković**, M. Rajilić-Stojanović, D. Antonović, S. Dimitrijević-Branković, Investigation of probiotic potential of *Leuconostoc* sp. and *Lactobacillus* sp. natural isolates from non-commercial milk and water kefir, In: Jovanka Lević editor, 6th Central European Congress on FoodCEFood, 2012, 23 – 26 maj, Novi Sad, Srbija, Institute of food technology, Novi Sad, 2012, p. 1064-1069. (ISBN: 978- 7994-028-5).
5. A. Buntić, M. Pavlović, S. Šiler-Marinković, **M. Miljković**, S. Davidović, K. Mihajlovski, S. Dimitrijević Branković, Screening for factors affecting cellulose adsorption from solutions by modified coffee residues. International conference on civil, biological and environmental engineering (CBEE), Istanbul, Turska, 27-28 maj, 2014, International Institute of Chemical, Biological and Environmental Engineering, Kuala Lumpur, Malezija, 2014, p. 54-59. (ISBN: 978-93-82242-94-9).

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu – M₃₄

1. N. Radovanović, **M. Miljković**, S. Davidović, M. Milutinović, K. Mihajlovski, S. Dimitrijević-Branković, (2016): Agroindustrial waste as a substrate for cellulase production by *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1, Knjiga sažetaka, Petnaesta međunarodna konferencija mladih istraživača, Beograd, Srbija, 7-9 decembar 2016, SANU Instituti, Knez Mihailova 36, Beograd, Srbija, 2016, str 16. (ISBN)
2. **M. Miljković**, S. Davidović, A. Nešić, K. Mihajlovski, S. Dimitrijević, USAGE OF BY-PRODUCTS FROM SUGAR INDUSTRY AS A CHEAP SUBSTRATE FOR DEXTRANSUCRASE PRODUCTION Different treatments of sugar beet pulp for enhanced dextranucrase production on molasses, XXI IUPAC CHEMRAWN CONFERENCE, 6. – 8. April, Rome, Italia, CNR Headquarters Piazzale Aldo Moro, 7, 2016, BOOK OF ABSTRACTS p. 77. (ISBN)
3. S. Davidović, **M. Miljković**, A. Nešić, K. Fateyeyeva, S. Dimitrijević, FROM WASTE TO NEW BIOBASED EDIBLE COATINGS An ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods, XXI IUPAC CHEMRAWN CONFERENCE, 6. – 8. April, Rome, Italia, CNR Headquarters Piazzale Aldo Moro, 7, 2016, BOOK OF ABSTRACTS p. 76. (ISBN)
4. S. Davidović, **M. Miljković**, S. Šiler-Marinković, S. Dimitrijević- Branković, Utvrđivanje uticajnih faktora proizvodnje egzopolisaharida pomoću prirodnog izolata *Leuconostoc* sp. primenom tehnika statističkog dizajna, 12. Kongres o ishrani sa međunarodnim učešćem, 2012, 31. oktobar – 3. novembar, Beograd, Srbija, Društvo za ishranu Srbije, 2012, p. 90-91. (ISBN: 978-86-909633-2-4).
5. **M. Miljković**, S. Davidović, M. Rajilić-Stojanović, S. Šiler-Marinković, S. Dimitrijević-Branković, Screening for factors affecting dextranucrase production from *Leuconostoc mesenteroides* isolated from water kefir grains using statistical approach, 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries - ICOSECS 8, Belgrade, Serbia, June 27-29, 2013, p. 264. (ISBN 978-86-7132- 053-5).
6. K. Mihajlovski, S. Davidović, **M. Miljković**, M. Rajilić-Stojanović, S. Dimitrijević-Branković Cellulolytic potencial of a strain *Paenibacillus* sp. isolated from soil, 8th

International Conference of the Chemical Societies of the South- East European Countries - ICOSECS 8, Belgrade, Serbia, June 27-29, 2013, p. 244. (ISBN 978-86-7132-053-5).

Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u celini (M63)

1. **M. Miljković**, S. Davidović, S. Šiler-Marinković, S. Dimitrijević-Branković, Determination of exopolysaccharides production by lactic acid bacteria of water kefir grains, 50. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, 2012, 14. i 15. juni, Beograd, Srbija, Serbian Chemical Society, 2012, p. 181-185. (ISBN 978-86-7132-049-8).

Tehnička i razvojna rešenja – M₈₀

Tehničko rešenje novi soj – M₈₂

1. S. Dimitrijević-Branković, S. Davidović, **M. Miljković**, M. Rajilić-Stojanović, D. Anotnović, Dj. Veljović, Fiziološka i proizvodna svojstva soja *Leuconostoc mesenteroides* izolovanog iz vodenog kefir za proizvodnju dekstrana (2013), prihvaćeno od strane Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, na sednici održanoj 30.05.2013 (odluka br. 35/171, od 07.06.2013).

1.3. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i pokazanih rezultata tokom doktorskih studija i u okviru naučno-istraživačkog rada na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Primena biotehnoloških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije (TR 31035), kandidat Miona Miljković je pokazala izrazitu sklonost i sposobnost za bavljenje naučno-istraživačkim radom. Takođe, iz same predložene teme disertacije do sada je objavila kao prvi autor, jedan rad u međunarodnom časopisu (M23) i jedan rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja, četiri saopštenja na međunarodnim i domaćim skupovima (1 saopštenje sa međunarodnih skupova štampanih u celini (M33), dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampano u izvodu (M34) i jedno saopštenje sa skupova nacionalnog značaja štampanog u celini (M63)), što ukazuje na njen veoma kvalitetan rad, pa tako ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

Iz oblasti doktorske disertacije bila je koautor jednog rada u istaknutom međunarodnom časopisu (M21) i rada u međunarodnom časopisu (M22), kao i 5 saopštenja na međunarodnim i domaćim skupovima.

2. Predmet i cilj istraživanja

Predmet istraživanja u okviru ove doktorske disertacije biće optimizacija proizvodnje dekstransaharaze (DS), dobijene iz prirodnog izolata *Leuconostoc mesenteroides* T3, na komercijalnoj podlozi kao i na otpadnom supstratu na bazi melase šećerne repe i repinom rezancu, sporednim proizvodima industrije šećera. Osnovni cilj je definisanje uslova u kojima će

odpadne sirovine jedne industrije postati supstrat za dobijanje vrednog biotehnološkog proizvoda druge industrije kao i dobijanje novih imobilisanih enzimskih preparata DS.

Godišnje količine otpada agro-industrije su značajne (mogu iznositi hiljade tona) što dovodi do problema njihovog privremenog skladištenja pre odlaganja. Zbog lake dostupnosti, tokom poslednjih decenija, sve više pažnje se poklanja biokonverziji otpadnih sirovina pomoću mikroorganizama i dobijanju biotehnoloških vrednih proizvoda iz istih. Osim toga, otpadni proizvodi su dobar izvor fermentabilnih šećera ali i mnogih drugih jedinjenja od velikog značaja za rast mikroorganizama, kao što su vitamini, mineralne materije i proteini, što ih sve ukupno čini dobrom potencijalnom sirovinom za proizvodnju mikrobnih enzima. Proizvodnja enzima na komercijalnim supstratima je prilično skupa i zbog toga se sve više teži ka korišćenju otpadnih industrijskih sirovina, što je sa ekonomskog stanovišta mnogo povoljnije.

Enzimi su biokatalizatori koji poseduju odlične osobine (visoku aktivnost, selektivnost i specifičnost) koje im omogućavaju izvođenje i najkompleksnijih hemijskih procesa pod najbenignijim eksperimentalnim i uslovima sredine. Iz tih razloga, inženjering enzima od bioloških entiteta do industrijskih reaktora predstavlja vrlo važan cilj. Za upotrebu enzima u industrijske svrhe (gde je traženo mnogo ciklusa sa visokim prinosom), rastvorne enzime je neophodno imobilisati iz najmanje dva razloga. Prvi razlog je mogućnost višestruke upotrebe ovakvog sistema, a drugi se odnosi na poboljšanje mnogih osobina samog enzima. Još jedna od suštinski važnih prednosti imobilisanih u odnosu na solubilne enzime je i lakše izdvajanje samog proizvoda iz reakcionih sistema. Postoji veliki broj različitih protokola za imobilizaciju enzima koji se trenutno primenjuju u industriji, a izbor odgovarajućeg najviše zavisi od osobina samog enzima, od grane industrije u kojoj se koristi kao i od samog proizvoda enzimske reakcije. Proces imobilizacije enzima je veoma složen i zavisi kako od koncentracije funkcionalnih grupa na površini nosača tako i od raspodele bočnih aminokiselinskih ostataka na površini enzima.

DS je glukoziltransferaza (E.C.2.4.1.5) koja katalizuje transfer glikoznih ostataka saharoze na rastući molekul dekstrana uz oslobađanje fruktoze. Ovaj ekstracelularni enzim proizvode nekoliko vrsta koje pripadaju rodovima *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Streptococcus*. DS je poznata po svojoj komercijalnoj upotrebi a ovaj enzim privukao je veliku pažnju pre svega zahvaljujući širokoj primeni svojih proizvoda, dekstrana i oligosaharida.

Zahvaljujući svojoj neutralnoj prirodi i dobroj stabilnosti u normalnim uslovima rada, dekstran ima široku industrijsku primenu. Komercijalna upotreba dekstrana najviše je zastupljena u medicini, farmaceutskoj, prehrambenoj, tekstilnoj i hemijskoj industriji. Čak i fruktoza koja nastaje kao sporedan proizvod sinteze dekstrana, kao niskokaloričan šećer ima veliku primenu u industriji hrane. Postoji veliki broj radova posvećenih mnogobrojnim upotrebama molekula dekstrana, delimično degradiranog dekstrana i njihovih derivata. Isto tako, velika primena funkcionalnih oligosaharida u prehrambenoj, farmaceutskoj, kozmetičkoj i agrohemijskoj industriji predstavlja imperativ za razvoj sintetskih metoda koje mogu da se primene u industrijskim razmerama. Za sintezu kompleksnih i visoko prečišćenih oligosaharida, primenjuje se ili hemijska ili enzimska metoda. Efikasnost proizvodnje hemijskom sintezom je veoma mala u poređenju sa enzimskim postupkom koji je selektivniji. Iz tih razloga, primena mikrobnih enzima glukoziltransferaza, koji na saharozi kao supstratu, sintetišu glukooligosaharide, danas se smatra najefikasnijom metodom za proizvodnju ovih oligosaharida.

U prvom delu doktorske disertacije biće prikazan postupak izolovanja i identifikacije novog bakterijskog soja *L. mesenteroides* T3 pomoću 16S rRNA sekvence gena. *L. mesenteroides* T3 je nov prirodni izolat iz zrna vodenog kefiru čiji enzimski potencijal ukazuje na mogućnost korišćenja u proizvodnji DS.

U ovom doktorskom radu će se, nakon skrininga i utvrđivanja sposobnosti proizvodnje navedenog enzima, izvršiti optimizacija sastava hranljivih podloga i uslova gajenja soja T3 u cilju poboljšanja produkcije enzima DS. Posebna grupa ispitivanja će se baviti prečišćavanjem i karakterizacijom enzima, ispitivanjem njegovog temperaturnog i pH opsega aktivnosti, ispitivanjem stabilnosti, kao i uticajem metalnih jona na aktivnost enzima.

U drugom delu disertacije će biti optimizovana imobilizacija delimično prečišćene DS kako na modifikovane tako i na nemodifikovane nanočestice TiO_2 kao i unutar agaroznih filmova. Za imobilizaciju na nemodifikovanim i modifikovanim česticama TiO_2 pratiće se kinetika imobilizacije (određivanje mase vezanih proteina i aktivnosti u toku vremena) i biće posmatrana operativna (mogućnost upotrebe u više reakcionih ciklusa) i termička stabilnost imobilisanih sistema u poredjenju sa slobodnim enzimom.

Radi bolje preglednosti doktorske disertacije treći deo disertacije će obuhvatiti optimizaciju proizvodnje DS na otpadnom supstratu koji čini melasa šećerne repe i repin rezanac kao nosač za imobilizaciju bakterije *L.mesenteroides* T3.

Poslednjih godina objavljeni su rezultati brojnih istraživanja koji se sa različitih aspekata bave iskorišćenja otpadnih sirovina iz različitih grana industrije u cilju proizvodnje vrednih biotehnoloških proizvoda kao i problematikom imobilizacije enzima na nanočestice. U daljem tekstu navedeni su samo najvažniji od njih, koji su predstavljali osnovu na istraživanja i eksperimente izvedene u okviru izrade ove disertacije:

1. Nigam, P. (1994). Process selection for protein-enrichment: Fermentation of the sugar industry by-products molasses and sugar beet pulp. *Process Biochemistry*, 29, 337–342.
2. Santos M., Teixeira J., Rodrigues A. (2000) Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B 5125(F). *Biochemical Engineering*, 4, 177-188.
3. Vettori M.H., Blanco K., Cortezia M., de Lima C. and Contieroa J. (2012) Dextran: effect of process parameters on production, purification and molecular weight and recent applications. *Diálogos & Ciência*. 31, 171-186.
4. Patel S. and Goyal A. (2011) Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1119-1128.
5. Kothari D., Baruah R., Goyal A. (2012) Immobilization of glucansucrase for the production of gluco-oligosaccharides from *Leuconostoc mesenteroides*. *Biotechnol Lett*, 34, 2101-2106.
6. Miller G. L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
7. Lopretti M. and Martinez L. (1999) Influence of nitrogen/carbon ratio and complementary sugars on dextransucrase production by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512F. *Process Biochemistry*, 34, 879-884.
8. Gómez de Segura A., Alcalde M., Yates M., Rojas-Cervantes M.L., López-Cortés N., Ballesteros A., Plou F.J. (2004) Immobilization of dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F on Eupergit C supports. *Biotechnol Prog.*, 20, 1414-20.

9. Tanriseven A., Dogan S. (2002) Production of isomalto-oligosaccharides using dextransucrase immobilized in alginate fibres. *Process Biochemistry*, 37, 1111 – 1115.
10. Hashem A., El-Refaei M., Gebril H., Abdel-Fattah A. (2012) Immobilization of *Leuconostoc-paramesenteroides* Dextransucrase Enzyme and Characterization of its Enzyme Properties. *Journal of Basic and Applied Science*, 8, 344-352.
11. Reischwitz A., Reh K-D., Buchholz K. (1995) Unconventional immobilization of dextransucrase with alginate. *Enzyme Microbial Technol*, 17, 457-61.
12. Ölçer Z., Tanriseven A. (2010) Co-immobilization of dextransucrase and dextranase in alginate. *Process Biochemistry*, 45, 1645-1651.

3. Polazne hipoteze:

Osnovne hipoteze koje se mogu izdvojiti kao polazna osnova za započinjanje naučno-istraživačkog rada u okviru ove disertacije su sledeće:

- Prva polazna hipoteza ove doktorske disertacije bazira se na pretpostavci da novi prirodni bakterijski izolat iz zrna vodenog kefir *Leuconostoc mesenteroides* T3 poseduje potencijal za produkciju enzima DS.
- Kako su DS-e poreklom iz *Leuconostoc* spp. inducibilni enzimi pretpostavka je da se pravilnom selekcijom, kombinovanjem i optimizacijom sastava hranljive podloge kao i uslova gajenja, mogu postići veći prinosi sintetisanog enzima.
- Treća polazna hipoteza se zasniva na činjenici da dekstran i oligosaharidi, koji nastaju kao proizvod aktivnosti DS, imaju širok spektar primene u različitim industrijama. Da bi se sagledao potencijal primene enzima dobijenog u okviru ove doktorske teze, potrebno je izvršiti njegovu izolaciju i karakterizaciju iz fermentacionog medijuma kao i prečišćavanje. U okviru karakterizacije, standardni postupci obuhvataju određivanje opsega i/ili optimalnih vrednosti temperature i pH za ispoljavanje aktivnosti. Pored toga, poželjno je ispitati njihovu stabilnost u širem temperaturnom i pH opsegu kao i uticaj različitih jona na istu.
- Osnovni preduslov za intenzivniju industrijski primenu bilo kog enzima, a samim tim i DS, predstavlja mogućnost imobilizacije. Imobilizacija se smatra uspešnom ukoliko se tokom imobilizacije delimično ili u potpunosti sačuva i/ili poveća katalitička funkcija enzima. Do sada su za imobilizaciju DS korišćeni različiti sistemi, prednost korišćenja nanočestica TiO₂ kao nosača za imobilizaciju DS ogleda se u velikoj kontaknoj površini, mogućnosti vezivanja velike količine enzima i odsustva difuzionih ograničenja. Sa druge strane, prednost imobilizacije "zarobljavanjem" unutar agarnih filmova predstavlja potpuno nov i ekološki prihvatljiv pristup za imobilizaciju DS u cilju proizvodnje oligosaharida.

- Mogućnost imobilizacije DS iz *L.mesenteroides* T3 na nemodifikovane i modifikovane nanočestice TiO_2 biće ispitivana. Poređenjem aktivnosti i stabilnosti imobilisanog enzima na nemodifikovane i modifikovane TiO_2 čestice može se steći uvid u najbolji nosač nanočestica za imobilizaciju konkretnog enzima. Pored aktivnosti, neophodno je odrediti i masu vezanih proteina, odnosno imobilizacioni kapacitet nosača, sa krajnim ciljem selekcije najboljeg nosača za imobilizaciju DS i potencijalnu primenu ovakvog sistema.
- Kombinovani supstrat na bazi otpadne melase šećerne repe i repinog rezanca kao nosača za imobilizaciju BMK, preciznije bakterije *Leuconostoc mesenteroides* T3, može biti potencijalno dobar supstrat za rast bakterije i efikasnu proizvodnju DS.

4. Naučne metode istraživanja

Proizvodni mikroorganizam je izolovan, prečišćen i identifikovan kao *Leuconostoc mesenteroides* T3 na osnovu skoro potpune dužine 16S rRNA sekvence gena. Prvi skrining na produkciju DS će biti izvršen uzgajanjem mikroorganizma na selektivnom medijumu koji sadrži saharozu.

Proizvodnja enzima, pomoću soja T3 će se vršiti postupkom submerznog gajenja i korišćiće se komercijalne podloge za gajenje kao i podloge sa otpadnim nus-proizvodima koji sadrže saharozu ili mogu služiti kao matriks za imobilizaciju bakterijskih ćelija.

Hemijsku karakterizaciju melase će biti izvršena primenom standardnih procedura za određivanje sadržaja suve materije, azota, masti, pepela i jona u uzorku.

Za praćenje procesa fermentacije korišćiće se standardne mikrobiološke i analitičke metode. Enzimska aktivnost će se ispitivati standardnom spektrofotometrijskom metodom sa di-nitrosalicilnom kiselinom (DNS metoda) a protein će se određivati takodje standardnom spektrofotometrijskom metodom sa Folinovim reagensom (metoda po Loriju).

Za karakterizaciju enzima, pored standardnih metoda određivanja temperaturnih i pH opsega, određivaće se temperaturna i pH stabilnosti enzima i uticaj pojedinih jona na aktivnost. Veličina, odnosno molekulska masa enzima, će biti određena metodom native i SDS-PAGE elektroforeze, korišćenjem komercijalnih standarda.

Za prećenje parametra i efikasnosti imobilicije na nemodifikovane i modifikovane čestice TiO_2 (degusa) biće korišćene standardne spektrofotometrijske metode, za određivanje aktivnosti DS (DNS metoda) i za određivanje proteina (metoda po Loriju).

U cilju određivanja produkata DS imobilisane u agarne filmove, korišćiće se tečna hromatografija visokih performansi korišćenjem C18 reversnofazne kolone u odgovarajućim uslovima.

Skenirajuća elektronska mikroskopija će se koristiti za pružanje informacija o morfologiji i strukturi nosača i kao potvrda imobilizacije ćelija *L. mesenteroides* T3 na supstratu koji se koristi u podlozi za proizvodnju enzima.

5. Očekivani naučni doprinos

Rezultati koji proisteknu iz rada na ovoj doktorskoj disertaciji mogu predstavljati značajan doprinos iskorišćenja otpadnih sirovina za proizvodnju enzima. Dobijeni enzimi mogu imati potencijalnu industrijsku primenu u postupcima dobijanja vrednih biotehnoloških proizvoda. Uzimajući u obzir da je proizvodnja enzima veoma skupa, uglavnom zbog skupih podloga za mikrobne fermentacije, korišćenje jeftinih, otpadnih sirovina se svakako preporučuje. Takođe, efikasna imobilizacija enzima na modifikovane nanočestice i unutar agarnih filmova, sa ciljem dobijanja maksimalne aktivnosti i stabilnosti, povećava njegovu mogućnost primene. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji mogu biti od velikog značaja kod primene DS u industrijske svrhe, posebno kod proizvodnje oligosaharida.

Po završetku predloženih ispitivanja očekuju se sledeći pojedinačni naučni doprinosi:

- izolacija novog bakterijskog soja pogodnog za produkciju enzima DS;
- optimizacija parametara procesa fermentacije i sastava hranljive podloge pri mikrobiološkoj produkciji enzima DS;
- karakterizacija proizvedene DS uz sagledavanje mogućnosti njene industrijske primene;
- imobilizacija DS na nemodifikovane i modifikovane čestice TiO_2 u cilju produkcije dekstrana;
- imobilizacija DS u agarozne filmove u cilju proizvodnje oligosaharida;
- razvoj mikrobiološke proizvodnje enzima DS na melasi i repinom rezancu.

6. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije biće testiranje nemodifikovanih i modifikovanih nanočestica TiO_2 i agarnih filmova kao materijala koji se mogu koristiti kao nosači za imobilizaciju DS. Takođe, kao deo doktorske disertacije je i ispitivanje mogućnosti iskorišćenja otpadnih sirovina, poljoprivrednog porekla, za produkciju enzima DS uz pomoć novog bakterijskog izolata *L. mesenteroides* T3. Osnovni cilj ovog istraživanja jeste proizvesti enzim, pomoću mikroorganizma, na otpadnoj sirovini i dobiti biotehnološki vredan proizvod iz istih kao i efikasna imobilizacija delimično prečišćenog enzima u cilju efikasnije produkcije dekstrana i oligosaharida. U toku rada na disertacije predviđene su sledeće faze i aktivnosti u istraživanju:

1. Izvršiće se izolovanje, prečišćavanje i identifikacija novog bakterijskog soja, prirodnog izolata iz zrna vodenog kefir, *L. mesenteroides* T3 sa ciljem da poseduje sposobnost proizvodnje enzima DS.
2. Ispitaće se uticaj osnovnih parametara na biosintezu enzima, vreme inkubacije, temperatura, uticaj saharoze, uticaj različitih izvora azota i uticaj i brzine mešanja.

3. U cilju određivanja potencijalne primene proizvedenih enzima, ispitaće se i uticaj temperature, pH i različitih jona na aktivnost i stabilnost proizvedenih enzima.
4. Ispitaće se efikasnost imobilizacije DS na različitim nosačima. Pratiće se prinos imobilizacije, temperaturna stabilnost u odnosu na slobodan enzim i mogućnost višestruke upotrebe imobilisanog sistema.

Predviđa se da će u doktorskoj disertaciji biti obrađena sledeća poglavlja: *Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura*.

U poglavlju *Uvod* biće prikazan kratak osvrt na područije ispitivanja, definisani glavni ciljevi disertacije i predmet istraživanja.

Teorijski deo doktorske disertacije obuhvatiće pregled i analizu dostupne literature koja se odnosi na:

- Svojstva DS koja su značajna za imobilizaciju
- Primena dekstrana i oligosaharida
- Pregled najčešće korišćenih matriksa za imobilizaciju DS
- Pregled najčešće korišćenih vrsta nanomaterijala za imobilizaciju
- Agroindustrijski i industrijski otpad.

U *Eksperimentalnom delu* biće navedeni materijali i metode primenjene u eksperimentalnom radu:

- Materijali i hemikalije upotrebljeni u radu,
- Detaljni opis metoda i eksperimentalnih tehnika upotrebljenih u radu.

U okviru *Rezultata i diskusije* biće predstavljeni i diskutovani rezultati istraživanja:

- Detaljno će biti prodiskutovani rezultati vezani za proizvodnju DS kako na komercijalnim tako i na otpadnim sirovinama,
- Kvantitativno će se razmatrati karakterizacija DS i njeno poređenje sa drugim DS-ma poreklom iz BMK,
- Optimizacija parametara imobilizacije DS na nemodifikovane i modifikovane nanočestice TiO_2 ,
- Ispitivanje operativne stabilnosti tj. mogućnosti upotrebe u više uzastopnih ciklusa,
- Poređenje produkata DS imobilisane u agarne filmove sa dostupnim literaturnim podacima.

U *Zaključku* će biti sumirani dobijeni rezultati, izvedeni na osnovu izvršenih ispitivanja. *Literatura* će sadržati navode citirane u disertaciji, kao i radove proistekle istraživanjem u okviru ovedoktorske disertacije.

7. Zaključak i predlog

Na osnovu iznetih podataka o dosadašnjem radu i postignutim rezultatima Komisija smatra da kandidat **Miona G. Miljković**, diplomirani biohemičar, ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije koja pripada naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, odnosno užoj naučnoj oblasti Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova. Komisija takođe smatra da je predložena tema doktorske disertacije „**Primena agro-industrijskog otpada za dobijanje enzima dekstransaharaze i proizvodnja dekstrana i oligosaharida pomoću imobilisanih sistema**”, naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, da je prihvati i odobri izradu ove disertacije. Za mentora se predlaže prof. Suzana Dimitrijević, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 06.07.2017. godine

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Suzana Dimitrijević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Dejan Bezbradica, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Mirjana Rajilić-Stojanović, docent
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Vesna Lazić, naučni sardnik
Univerziteta u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“

dr Mila Ilić, naučni sardnik
Univerziteta u Beogradu, IHTM