

Образац 3.

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/80

Веће научних области техничких наука

(Број захтева)

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

14.03.2019

(Датум)

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације
и о одређивању ментора**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

Лигноцелулолитичка активност одабраних изолата аутохтоних гљива Србије

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ

Технолошко инжењерство

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Јелена (Мирослав) Јовић, дипломирани биолог-еколог

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Нишу,

Природно-математички факултет у Нишу, Одсек за биологију и екологију

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2009.
-

4. Година уписа на докторске студије: 2016. (поновни упис на ДАС након истека рока за завршетак студија, уписом на трећу годину студија)
-

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Биохемијско инжењерство и биотехнологија

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

Име и презиме ментора: **Љиљана Мојовић**

Звање: **Редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Đukić-Vuković, B. Jokić, S. Kocić-Tanackov, J. Pejin, **L. Mojović** (2016). Mg-modified zeolite as a carrier for *Lactobacillus rhamnosus* in L (+) lactic acid production on distillery wastewater. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 59, 262–266. (ISSN 1876-1070) IF(2016)=4,217 (Engineering, Chemical: 16/135)
2. **L. Mojović**, S. Nikolić., M. Rakin, M. Vukašinović, Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates, *Fuel*, **85** (12-13), 2006, 1750-1755. ISSN: 0016-2361; IF(2006)=1.358.
3. S. Nikolić, **L. Mojović**, M. Rakin, D. Pejin, J. Pejin, Ultrasound-assisted production by simultaneous saccharification and fermentation of corn meal. *Food Chemistry*, **122** (1) (2010) 216-222. ISSN: 0308-8146; IF(2010)=3.458.
4. **L. Mojović**, D. Pejin, M. Rakin, J. Pejin, S. Nikolić, A. Djukić-Vuković, (2012) How to improve the economy of bioethanol production in Serbia, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **16** (8) 6040-6047, ISSN 1364-0321; IF(2012)=5.627
5. J. Jović , A. Buntić, N. Radovanović, B. Petrović, **L. Mojović**, Lignin-Degrading Abilities of Novel Autochthonous Fungal Isolates *Trametes hirsuta* F13 and *Stereum gausapatum* F28, (2018), *Food Technology and Biotechnology* 56 (3), 354-365 doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5348. ISSN 1330-9862; IF(2017)=1.168
6. A. Đukić-Vuković, **L. Mojović**, B. Jokić, S. Nikolić, J. Pejin, (2013). Lactic acid production on liquid distillery stillage by *Lactobacillus rhamnosus* immobilized onto zeolite, *Bioresource technology*, 135 (May 2013) 454-458. (ISSN 0960-8524) IF(2013)=5,039 (Agricultural Engineering: 1/12)

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће

(назив надлежног тела факултета)

на седници одржаној 07.03.2019. године размотрило предложену тему и закључило да је

тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

Додатак уз образац 1.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата: **Јелена Јовић**

Име и презиме ментора: **Љиљана Мојовић**

Звање: **Редовни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Đukić-Vuković, B. Jokić, S. Kocić-Tanackov, J. Pejin, **L. Moјović** (2016). Mg-modified zeolite as a carrier for *Lactobacillus rhamnosus* in L (+) lactic acid production on distillery wastewater. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 59, 262–266. (ISSN 1876-1070) IF(2016)=4,217 (Engineering, Chemical: 16/135)
2. **L. Moјović**, S. Nikolić., M. Rakin, M. Vukašinović, Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates, *Fuel*, **85** (12-13), 2006, 1750-1755. ISSN: 0016-2361; IF(2006)=1.358.
3. S. Nikolić, **L. Moјović**, M. Rakin, D. Pejin, J. Pejin, Ultrasound-assisted production by simultaneous saccharification and fermentation of corn meal. *Food Chemistry*, **122** (1) (2010) 216-222. ISSN: 0308-8146; IF(2010)=3.458.
4. **L. Moјović**, D. Pejin, M. Rakin, J. Pejin, S. Nikolić, A. Djukić-Vuković, (2012) How to improve the economy of bioethanol production in Serbia, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **16** (8) 6040-6047, ISSN 1364-0321; IF(2012)=5.627
5. J. Jović , A. Buntić, N. Radovanović, B. Petrović, **L. Moјović**, Lignin-Degrading Abilities of Novel Autochthonous Fungal Isolates *Trametes hirsuta* F13 and *Stereum gausapatum* F28, (2018), *Food Technology and Biotechnology* 56 (3), 354-365 doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5348. ISSN 1330-9862; IF(2017)=1.168
6. A. Đukić-Vuković, **L. Moјović**, B. Jokić, S. Nikolić, J. Pejin, (2013). Lactic acid production on liquid distillery stillage by *Lactobacillus rhamnosus* immobilized onto zeolite, *Bioresource technology*, 135 (May 2013) 454-458. (ISSN 0960-8524) IF(2013)=5,039 (Agricultural Engineering: 1/12)

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

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко технолошких, 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 односне 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: 21.02.2019.

М.П.

Проф. др Петар Ускоковић

На основу чл. 40. став 3. Закона о високом образовању, чл. 112. став 3. Статута Универзитета у Београду, чл. 88. став 3. Статута ТМФ-а и чл. 43. Правилника о докторским студијама ТМФ-а, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 07.03.2019. 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 **Јелени Јовић**, дипломираном биологу-екологу, под називом: „**Лигноцелулолитичка активност одабраних изолата аутохтоних гљива Србије**“.

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

За ментора се одређује др Љиљана Мојовић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

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

Д Е К А Н

Проф. др Петар Ускоковић

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

Predmet: Podobnost teme i kandidata **Jelene Jović, diplomiranog biologa-ekologa**, za izradu doktorske disertacije.

Odlukom br. 35/38 od 31.01. 2019. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Jelene Jović, diplomiranog biologa-ekologa, za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom: „**Lignocelulolitička aktivnost odabranih izolata autohtonih gljiva Srbije**“.

Na osnovu pregleda dokumentacije koju je dostavio kandidat, Komisija podnosi sledeći

REFERAT

1. Podaci o kandidatu

1.1. Biografski podaci

Kandidat Jelena Jović rođena je 08.07.1981. godine u Leskovcu. Nakon završene osnovne škole „Vuk Kradžić“ u Leskovcu, upisala je i završila gimnaziju „Stanimir Veljković – Zele“ (danas samo Gimnazija) takođe u Leskovcu, smer Prirodno-matematički. Po završetku gimnazije upisala je Prirodno-matematički fakultet u Nišu, Odsek za biologiju i ekologiju, smer Diplomirani biolog-ekolog. Diplomirala je februara 2009. godine sa prosečnom ocenom 8.24 odbranivši rad na temu „Kvalitativno-kvantitativni sastav makrozoobentosa reke Veternice“ sa ocenom 10 i stekla zvanje diplomirani biolog-ekolog. Doktorske studije na Katedri za biohemijско inženjerstvo i biotehnologiju, Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, je upisala školske 2010/11 godine. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija sa prosečnom ocenom 9,5 i odbranila završni ispit na temu „Ispitivanja predtretmana lignocelulozne biomase za tehnološke procese proizvodnje bioetanola ili mlečne kiseline“ sa ocenom 10. Školske 2017/18. godine je izvršila ponovni upis doktorskih studija, upisavši se direktno na treću godinu, uz priznavanje svih prethodno položenih ispita.

1.2. Stečeno naučnoistraživačko iskustvo

Od septembra 2013. godine Jelena Jović se aktivno bavi naučnoistraživačkim i eksperimentalnim radom u oblasti primene gljiva i njihovih enzima za konverziju lignocelulozne biomase u okviru doktorskih studija. Od 2018. godine učestvuje u radu na projektu sa NR Kinom „Razvoj novih bioloških postupaka za dobijanje proizvoda sa dodatnom vrednošću na agro-industrijskom otpadu“, koji je finansiran od MPNTR Srbije. U zvanje istraživač pripravnik izabrana je u oktobru 2018. godine. U produžetku je priložen spisak položenih predmeta i ostvarenih ESPB bodova na doktorskim studijama:

Predmet	ESPB	Ocena
1. Inženjerstvo ćelije	5	10
2. Odabrana poglavlje biohemije - vitamini	5	10
3. Sanitarna mikrobiologija	4	10
4. Analiza tragova specifičnih zagađujućih materija	4	10
5. Odabrana poglavlja matematičke analize	5	6

6. Engleski jezik	/	10
7. Biomasa kao izvor energije	4	10
8. Hemijska kinetika	5	10
9. Odabrana poglavlja hemije prirodnih organskih jedinjenja	4	10
10. Fenomeni prenosa u biološkim sistemima	5	8
11. Odabrana poglavlja biofizike	4	10
12. Imobilisani biokatalizatori: tehnike imobilizacije, bioreaktori i primena	6	10
13. Završni ispit	30	10
Ukupno bodova	81	

Kandidat Jelena Jović ima objavljen jedan rad u istaknutom međunarodnom časopisu (kategorije M22), dva rada u međunarodnom časopisu (kategorije M23) i jedan rad predstavljen na skupu međunarodnog značaja (rad štampan u izvodu - kategorija M34). Iz oblasti istraživanja kojoj pripada tema doktorske disertacije, Jelena Jović je objavila dva rada u međunarodnim časopisima (M23 kategorije), na kojima je prvi autor, i predstavila rad na skupu međunarodnog značaja (rad štampan u izvodu M34) na kom je takođe prvi autor.

Spisak objavljenih naučnih radova i saopštenja:

1. Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja – M20

Rad u istaknutim međunarodnim časopisima (M22)

1. Neda Radovanović, Milica Milutinović, Katarina Mihajlovski, **Jelena Jović**, Branislav Nastasijević, Mirjana Rajilić-Stojanović, Suzana Dimitrijević-Branković, Biocontrol and plant stimulating potential of novel strain *Bacillus* sp. PPM3 isolated from marine sediment, *Microbial Pathogenesis*, Vol. 120 (2018) pp. 71-78, ISSN: 0882-4010, IF(2017)=2.332, DOI: 10.1016/j.micpath.2018.04.056.

Rad u međunarodnim časopisima (M23)

1. **Jelena Jović**, Aneta Buntić, Neda Radovanović, Bojan Petrović and Ljiljana Mojović, Lignin-Degrading Abilities of Novel Autochthonous Fungal Isolates *Trametes hirsuta* F13 and *Stereum gausapatum* F28, *Food Technology and Biotechnology*, Vol. 56/3 (2018), ISSN:1330-9862, IF(2017) = 1.168, DOI:10.17113/ftb.56.03.18.5348
2. **Jelena Jović**, Jelena Pejin, Sunčica Kocić-Tanackov, Ljiljana Mojović, Primena gljiva koje razgrađuju lignocelulozu za proizvodnju bioetanola iz obnovljive biomase, *Hemijska Industrija*, Vol. 69/6 (2015) pp. 627-641, ISSN: 2217-7426, IF(2015) = 0.437, DOI:10.2298/HEMIND140916086J

2. Zbornici međunarodnih naučnih skupova – M30

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34)

1. **Jelena Jović**, Ljiljana Mojović, Indigenous lignocellulose degrading fungi: new isolates for technological and environmental use, *The 6th International Scientific Meeting: Mycology, Mycotoxicology, and Mycoses*, Matica Srpska, Novi Sad, September 27–29, 2017, ISBN 978-86-7946-194-0

1.3. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i ostvarenih rezultata tokom doktorskih studija i u okviru naučno-istraživačkog rada na doktorskoj disertaciji i na strateškom projektu sa NR Kinom koji je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Jelena Jović, diplomirani biolog-ekolog, pokazala je izuzetnu sklonost i sposobnost za bavljenje naučno-

istraživačkim radom. Objavila je 1 rad kategorije M22, 2 rada kategorije M23 i jedan rad saopštila na međunarodnom skupu. Takođe, iz predložene teme doktorske disertacije, kandidat je do sada kao prvi autor objavio 2 rada u međunarodnom časopisu (M23), i jedan rad prezentovao na međunarodnom skupu (M34). Na osnovu izloženog kandidat ispunjava potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

2. Predmet i cilj istraživanja

Predmet istraživanja ove disertacije biće izolacija, selekcija i identifikacija autohtonih gljiva Srbije sa izraženom lignocelulolitičkom aktivnošću. Glavni fokus će biti na ligninolitičkim aktivnostima odabranih izolata, ali će biti praćena i hidrolitička aktivnost. Izvršiće se optimizacija parametara odgovarajućih faktora radi unapređenja ligninolitičke aktivnosti, odnosno definisati uslovi pod kojima se može unaprediti ligninoliza odabranim izolatima. Optimalni parametri će, zatim, biti primenjeni na lignoceluloznom otpadu - piljevini bukve koja se odlikuje velikim udelom lignina - radi potvrde efikasnosti postupka. Takođe će se ispitati mogućnost primene određenih dodataka kao induktora enzimske aktivnosti, odnosno suplemenata radi unapređenja ligninolize, kao na primer melasne džibre, otpada iz industrije alkohola. Glavni cilj istraživanja je definisanje uslova za unapređenje lignocelulolitičke aktivnosti odabranih izolata, koji bi bili primenljivi u predtretmanu lignoceluloznog otpada radi postizanja efikasne hidrolize u cilju daljeg korišćenja u različitim biotehnološkim postupcima.

Zbog problema sa kojima se danas suočava čovečanstvo kao što su sve veća potražnja za hranom i energijom i globalni klimatski poremećaji, velikim delom izazvani intenzivnim iskorišćenjem i iscrpljivanjem rezervi fosilnih sirovina, javila se potreba za razvojem ekološki i ekonomski povoljnih metoda koje bi pomogle u njihovom rešavanju. S tim u vezi, danas se poklanja velika pažnja dobijanju značajnih bioloških proizvoda, hemikalija i energenata (bioetanol, mlečne kiseline, biobutanola, enzima, itd.) iz obnovljive biomase postupkom fermentacije [1]. Sirovine koje se u ovim situacijama koriste mogu se podeliti u tri kategorije:

- sirovine prve generacije kojim pripadaju skrobni, šećerni i uljani usevi - koriste se i u ishrani;
- sirovine druge generacije kojim pripadaju lignocelulozni otpad, industrijske biljke i otpad iz industrije hrane;
- sirovine treće generacije kojim pripadaju fotosintetičke bakterije i alge [2].

Lignocelulozna biomasa, tačnije lignocelulozni otpad kome pripada agroidustrijski otpad, kao i otpad iz šumarstva i iz drvoprerađivačke industrije, postao je atraktivan poslednjih par decenija kada se krenulo sa intenzivnim izučavanjem načina tretmana ovog supstrata kako bi se omogućilo njegovo efikasno iskorišćenje. Osim što pripada obnovljivim sirovinama, lignoceluloza je široko rasprostranjena i ne koristi se u ishrani.

Lignoceluloznu biomasu čine suvi ostaci biljaka. Veoma je važan obnovljivi izvor energije i jedini je obnovljivi izvor ugljenika u prirodi. Hemijske karakteristike njenih strukturnih komponenata – aromatičnog polimera lignina i polisaharida hemiceluloze i celuloze – čine je supstratom velike biotehnološke vrednosti [3]. Lignoceluloza može da sadrži i nestrukturne komponente poput vode, proteina, minerala, nestrukturnih saharida i drugih komponenata koje se mogu izdvojiti ekstrakcijom. Udeo strukturnih komponenti i vrsta nestrukturnih komponenti zavise od porekla lignoceluloznog materijala [4-6]. Međutim, lignoceluloza je izuzetno otporna prema dejstvu enzima i mikroorganizama zbog kompleksne strukture i prisustva lignina; acetilovane hemiceluloze; formiranja lignin-ugljenohidratnog kompleksa; kristaliničnosti celuloze i stepena polimerizacije; zapremine pora i specifične površine celuloze [7-8]. Sve ovo onemogućava efektivno iskorišćenje lignoceluloznog materijala u tehnološkim procesima. Danas se ispituju različite metode predtretmana koje bi olakšale oslobađanje fermentabilnih šećera za proizvodnju željenih hemikalija i bioloških proizvoda. Jedna od metoda je biološki predtretman koji podrazumeva upotrebu gljiva, bakterija i/ili enzima sposobnih da razgrađuju lignocelulozni supstrat. Ova disertacija će se prevashodno baviti ligninolitičkom aktivnošću gljiva.

Gljive su tokom evolucije razvile mehanizme koji im omogućavaju da pristupe energiji inkorporiranoj u biomasi u formi polisaharida. Ovi mehanizmi su bazirani na aktivnosti enzima koji mogu da raskidaju inter- i intrapolimerne veze lignoceluloznog supstrata čime im je omogućeno uklanjanje lignina i oslobađanje fermentabilnih šećera. Obuhvataju oksidativne mehanizme (pomoću enzima mangan zavisne peroksidaze, lignin peroksidaze, verzatil peroksidaze i lakaze) i hidrolitičke mehanizme (pomoću enzima celulaze i hemicelulaze) [9].

Na osnovu iskorišćenosti materijala i karakteristika trulog drveta, razlikuju se tri tipa lignocelulolitičkih gljiva: gljive izazivači belog, braon i mekog truljenja. Sposobnost iskorišćenja celuloze rasprostranjena je u čitavom carstvu Fungi od protista, poput Chytridiomycetes, do naprednih Basidiomycetes, dok razgradnja lignina pripada bazidiomicetama koje izazivaju belo i braon truljenje [10]. Gljive izazivači belog truljenja razgrađuju sve frakcije drveta. Najefikasniji su razgrađivači lignina u prirodi, zbog čega imaju veoma važnu ulogu u reciklaži ugljenika iz lignifikovanog tkiva i najinteresantnija su grupa gljiva za primenu u tehnološkim procesima. Sposobne su za selektivnu (*Ceriporiopsis subvermispora*, *Dichomitus squalens*, *Phlebia radiata* i dr.) [11] i neselektivnu razgradnju lignina (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* i *Fomes fomentarius*) [10]. Selektivnom razgradnjom uklanjaju lignin i hemicelulozu dok celuloza većim delom ostaje intaktna [11]; neselektivnom uklanjaju podjednako sve komponente lignoceluloze [10-12]. Gljive izazivači braon truljenja razgrađuju hemicelulozu i celulozu, dok lignin u izvesnoj meri modifikuju. Meko truljenje je posledica delovanja askomiceta i deuteromiceta [10]. Mehanizmi razgradnje kod gljiva izazivača mekog truljenja još uvek nisu sasvim jasni, ali se zna da i one prevashodno razgrađuju celulozu i hemicelulozu [13]. Poslednjih decenija je interesovanje za ligninolitičke gljive sve veće, jer osim u tretmanu lignoceluloznog otpada, mogu se koristiti i za uklanjanje teških metala i toksičnih supstanci iz kontaminirane vode i zemljišta. Ligninolitičkim mehanizmima mogu da transformišu toksične organske hemikalije (PCDDs, PAHs, PCBs) do bezopasnih formi, razgrađuju azotne boje i pesticide [14-24].

Za razliku od drugih metoda, primena gljiva u tretmanu lignoceluloznog materijala ne zahteva upotrebu skupih hemikalija niti ulaganje energije. Ova metoda je ekološki i ekonomski povoljna – nema formiranja toksičnih supstanci kao sporednih produkata i može se kombinovati sa fizičkim, hemijskim ili fizičko-hemijskim metodama predtretmana lignoceluloze čime se obezbeđuje veći prinos, smanjuju potrebe za energijom i ublažavaju oštri uslovi metoda sa kojim se kombinuje [25-26]. Tretman lignoceluloze gljivama se izvodi kultivacijom na čvrstom supstratu ili submerznom kultivacijom. Primenom domaćih izolata obezbeđuje se očuvanje autohtone flore gljiva. Od domaćih izolata se očekuje mnogo efikasnija razgradnja autohtonog lignoceluloznog otpada nego kada se koriste strani izolati. Kao sporedni proizvodi ove metode predtretmana nastaju industrijski važni enzimi celulaze, hemicelulaze i ligninaze [27-30]. Nedostatak ove metode je dugo vreme trajanja predtretmana i to što gljive iskoriste deo šećera iz polisaharida u svojoj ishrani, zbog čega se preporučuje primena selektivnih razgrađivača. Dosadašnja istraživanja su pokazala da se dodavanjem CuSO_4 , FeSO_4 , nekih boja i drugih odgovarajućih agenasa u lignocelulozni supstrat može značajno uticati na proizvodnju enzima (vrstu i prinos enzima) zaduženih za razgradnju lignoceluloze, a time i na predtretman ovog supstrata [31-33]. Jedan od potencijalnih agenasa, čiji će se uticaj na ligninolitičku aktivnost izolata ispitati je melasna džibra.

Melasna džibra je otpad iz industrije alkohola. Karakteriše je visoka vrednost hemijske potrošnje kiseonika (COD, od 80,000 do 100,000 mg/L) i biološke potrošnje kiseonika (BOD, od 40,000– 50,000 mg/L) zbog prisustva polisaharida, redukujućih šećera, lignina, proteina, voskova i melanoidina; tamnobraon boja, niska pH vrednost, kao i u većim količinama prisustvo neorganskih supstanci azota, kalijuma, fosfata i sulfata. [34] Mangan, magnezijum, cink i bakar su takođe prisutni [35-36]. Melasna džibra je toksična za mikroorganizme zbog prisustva melanoidina (oko 2%) zbog čega se u konverziji najčešće koristi razblažena džibra od 6.5% - 20% [36]. Dosadašnja istraživanja su pokazala da se gljive proizvođači ligninolitičkih enzima mogu koristiti u tretmanu ovog otpada, kao i da bi ovaj otpad mogao da predstavlja kvalitetan suplement za unaprđenje ligninolitičke aktivnosti.

Literatura:

- [1] Srirangan K., Akawi L., Moo-Young M., Chou C.P., *Towards sustainable production of clean energy carriers from biomass resources*, Appl. Energy 100 (2012) 172–186.
- [2] Semenčenko V., Mojović L., Petrović S., Očić O., *Novi trendovi u proizvodnji bioetanola*, Hem. Ind. 65 (2011) 103–114.
- [3] Malherbe S., Cloete T. E., *Lignocellulose biodegradation: Fundamentals and applications*, Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 1 (2002) 105 – 114
- [4] Harmsen P.F.H., Huijgen W.J.J., Bermudez Lopez L.M., Bakker R.R.C., *Literature review of physical and chemical pretreatment process for lignocellulosic biomass*. Wageningen UR, Food Biobased Res. (ECN-E-10-013), (2010).
- [5] Mussatto S.I., Ballesteros L.F., Martins S., Teixeira J.A., *Use of agro-industrial wastes in solid-state fermentation processes*, in: Show K.-Y., Guo X. (Eds.), *Industrial Waste*, (2012), pp. 121–140.
- [6] Lee D.K., Owens V.N., Boe A., Jeranyama P., *Composition of Herbaceous Biomass Feedstocks*, South Dakota State University, (2007).
- [7] Chundawat S.P.S., Beckham G.T., Himmel M., Dale B.E., *Deconstruction of Lignocellulosic Biomass to Fuels and Chemicals*, Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 2 (2011) 121–145.
- [8] Chang V.S., Holtzapple M.T., *Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity*, Appl. Biochem. Biotechnol. 84–86 (2000) 5–37.
- [9] Jönsson L.J., Martín C., *Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects*. Bioresour Technol. 199 (2016) 103–12.
- [10] Isroi I., Millati R., Syamsiah S., Niklasson C., Cahyanto M.N., Lundquist K., Taherzadeh M.J., *Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review*, BioResources 6 (2011) 5224–5259.
- [11] Gore A.B., *Environmental research at the leading edge*, Nova Science Publishers, New York, (2006).
- [12] Hatakka A., *Biodegradation of Lignin*, in: A. Steinbüchel (Ed.), *Biopolymers Online*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (2005), pp. 129–145.
- [13] Mäkelä M.R., Marinović M., Nousiainen P., Liwanag A.J., Benoit I., Sipilä J., Hatakka A., de Vries R.P., Hildén K.S., *Aromatic metabolism of filamentous fungi in relation to the presence of aromatic compounds in plant biomass*. Adv. Appl. Microbiol. 91 (2015) 63–137.
- [14] Kapoor A., Viraraghavan T., Cullimore D.R., *Removal of heavy metals using the fungus Aspergillus niger*. Bioresour Technol. 70 (1999) 95–104.
- [15] Yan G., Viraraghavan T., *Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus Mucor rouxii*. Water Res. 37 (2003) 4486–96.
- [16] D’Annibale A., Rosetto F., Leonardi V., Federici F., Petruccioli M., *Role of autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons*. Appl Environ Microbiol. 72 (2006) 28–36.
- [17] Field J.A., de Jong E., Feijoo Costa G., de Bont J.A., *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi*. Appl Environ Microbiol. 58 (1992) 2219–26.
- [18] Takada S., Nakamura M., Matsueda T., Kondo R., Sakai K., *Degradation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by the white rot fungus Phanerochaete sordida YK-624*. Appl Environ Microbiol. 62 (1996) 4323–8.
- [19] Tigini V., Prigione V., Di Toro S., Fava F., Varese G.C., *Isolation and characterisation of polychlorinated biphenyl (PCB) degrading fungi from a historically contaminated soil*. Microb Cell Factories. (2009) 8:5.
- [20] Cerniglia C.E., Sutherland J.B., *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi*. In: Timmis KN, (eds) *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Berlin, Germany: Springer; (2010) pp. 2079–110.

- [21] Čvančarová M., Křesinová Z., Filipová A., Covino S., Cajthaml T., *Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products*. Chemosphere. 88 (2012) 1317–23.
- [22] Pizzul L., Castillo M.P., Stenström J., *Degradation of glyphosate and other pesticides by ligninolytic enzymes*. Biodegradation. 20 (2009) 751–9.
- [23] Purnomo A.S., Mori T., Kondo R., *Involvement of Fenton reaction in DDT degradation by brown-rot fungi*. Int Biodeterior Biodegrad. 64 (2010) 560–5.
- [24] Ulčnik A., Kralj Cigić I., Pohleven F., *Degradation of lindane and endosulfan by fungi, fungal and bacterial laccases*. World J Microbiol Biotechnol. 29 (2013) 2239–47.
- [25] Itoh H., Wada M., Honda Y., Kuwahara M., Watanabe T., *Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi*. J. Biotechnol. 103 (2003) 273–280.
- [26] Balan V., da Costa Sousa L., Chundawat S.P., Vismeh R., Jones A.D., Dale B.E., *Mushroom spent straw: a potential substrate for an ethanol-based biorefinery*, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 35 (2008) 293–301.
- [27] Couto, S.R., Toca-Herrera, J.L., *Industrial and biotechnological applications of laccase: A review*. Biotechnol. Adv. 24 (2006) 500–513.
- [28] Osma, J. F., Toca-Herrera, J. L., Rodríguez-Couto, S., *Uses of laccases in the food industry*. Enzyme research, (2010), 918761
- [29] Kuhad Chander R., Gupta R., Singh, A., *Microbial Cellulases and Their Industrial Applications*, Enzyme Research, 2011 (2011) 1:10.
- [30] Mendonça Maciel M., Castro e Silva A., Camarão Telles Ribeiro H. *Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review*. Electronic Journal Of Biotechnology, 13 (2010) Available from: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v13n6-2/1281>
- [31] Plácido J., Capareda S., *Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production*, Bioresour. Bioprocess. 2 (2015)
- [32] Shah V., Dobiasova P., Baldrian P., Nerud F., Kumar A., Seal S., *Influence of iron and copper nanoparticle powder on the production of lignocellulose degrading enzymes in the fungus Trametes versicolor*. J Hazard Mater 178 (2010) 1141-1145.
- [33] Vrsanska M., Voberkova S., Langer V., Palovcikova D., Moulick A., Adam V., Kopel P., *Induction of Laccase, Lignin Peroxidase and Manganese Peroxidase Activities in White-Rot Fungi Using Copper Complexes*, Molecules, 21 (2016) 1553;
- [34] Kharayat Y., *Distillery wastewater: bioremediation approaches*, Journal of Integrative Environmental Sciences, 9 (2012) 69-91
- [35] Wilkie A.C., Riedesel K.J., Owens J.M., *Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks*, Biomass and Bioenergy, 19 (2000) 63-102.
- [36] Pant D., Adholeya A., *Enhanced production of ligninolytic enzymes and decolorization of molasses distillery wastewater by fungi under solid state fermentation*, Biodegradation 18 (2007) 647-659

3. Polazne hipoteze

Osnovna hipoteza na kojoj se bazira ova disertacija je mogućnost gljiva koje rastu na lignoceluloznom supstratu da proizvode određene vrste enzima (lakaze, mangan peroksidaze, lignin peroksidaze, celulaze i/ili hemicelulaze) koje im omogućavaju razgradnju ovog supstrata, kao i mogućnost manipulacije ligninolitičkom i hidrolitičkom aktivnošću gljiva variranjem odgovarajućih faktora (poput pH, temperature, vlažnosti supstrata, koncentracije određenih agenasa Cu, Fe, itd.). Zbog svega navedenog, ove gljive se mogu koristiti u tretmanu lignoceluloznog otpada, čime bi se omogućila olakšana hidroliza, a samim tim i efikasnije iskorišćenje ovog otpada u biotehnološkim procesima:

- Lignocelulozni otpad je supstrat bogat energijom ali je za njegovo potpuno iskorišćenje kao proizvodnog supstrata neophodan predtretman, koji podrazumeva uklanjanje lignina što omogućava olakšanu hidrolizu; ovo se može postići primenom gljiva (biološki predtretman) što je energetski i ekološki povoljniji postupak nego hemijski, fizički ili fizičko-hemijski predtretmani.
- Lignocelulolitičke gljive ispoljavaju ligninolitičku aktivnost (lakaznu, mangan peroksidaznu i/ili lignin peroksidaznu), kao i hidrolitičku aktivnost (celulaznu i hemicelulaznu) zbog čega je moguće primeniti ih u tretmanu lignoceluloznog materijala.
- Lignocelulolitičke gljive su rasprostranjene na supstratu poput panjeva, oborenih grana, opalog lišća, stabala i drugog biljnog materijala, sa kog je moguće izolovati ih.
- Ligninolitičke gljive Srbije su nedovoljno istraživane, što otvara prostor za izolaciju i selekciju novih autohtonih sojeva sa značajnim potencijalom za primenu u tehnološkim procesima na lignoceluloznom otpadu.
- Variranjem parametara faktora kao što su vlažnost supstrata, koncentracija različitih agenasa (poput CuSO_4 , FeSO_4 ili boja) koji se mogu koristiti kao suplementi, temperatura, pH, itd., može se uticati na enzimsku aktivnost, a na taj način i na efikasnost predtretmana.
- Melasna džibra je otpad iz industrije alkohola koji se, zbog svoje hemijske strukture, može koristiti kao suplement za unapređenje ligninolitičkih sposobnosti gljiva, uz podešavanje odgovarajuće koncentracije (razblaženja) ovog materijala, što dalje može unaprediti proces predtretmana.

4. Naučne metode istraživanja

Gljive će biti izolovane na agar iz plodonosnog tela; primeniće se površinska sterilizacija u procesu izolacije. Selekcija izolata sa potencijalom za primenu u predtretmanu će biti izvršena na osnovu kvalitativne analize detektovanjem ligninolitičke aktivnosti na petri šolji pomoću različitih indikatora (gvajakola, α -napftola, boje azure B), kao i spektrofotometrijski odgovarajućim enzimskim esejima.

Identifikacija odabranih izolata će biti izvedena molekulski na osnovu odgovarajuće DNK sekvence. Izolacija DNK će biti izvršena malo izmenjenom metodom koju su predložili Gardes i Bruns. Za identifikaciju će se koristiti ITS sekvence. Za kopiranje ITS sekvenci koristiće se PCR metoda i prajmeri ITS1 i ITS4. Provera kopiranih sekvenci će se vršiti agaroz gel elektroforezom, a sekvenciranje Sanger metodom. Dobijene sekvence će biti upoređene sa NCBI (National Center for Biotechnology Information) GenBank bazom i deponovane u GenBank bazu.

Redukcija lignina i biomase, kao i ispitivanje strukture supstrata obuhvatiće određivanje ukupne suve mase primenom protokola NREL/TP-510-42621, lignina rastvornog u kiselinama i lignina nerastvornog u kiselinama primenom laboratorijskih procedura LAP-004 i LAP-003, azota metodom po Kjeldalu, ekstrakata metodom po Soxhlet-u. U analizi vlakana biće korišćen analizator vlakana (Fiber Analyzer). Efikasnost predtretmana će biti ispitivana enzimskom hidrolizom.

Optimizacija ligninolitičke aktivnosti će biti izvedena primenom eksperimentalnog dizajna. Za bolje upoznavanje kompletnog sistema i selekciju faktora koji imaju značajan uticaj na ligninolitičku aktivnost koristiće se frakcioni faktorijski dizajn. Polazni parametri, čiji uticaj će biti ispitan, su pH, temperatura, vlažnost supstrata, veličina inokuluma, koncentracija džibre. Za optimizaciju odabranih parametara će se primenjivati metodologija odgovora površine (response surface methodology - RSM).

5. Očekivani naučni doprinos

Zbog problema sa nedostatkom energije i sve većim zagađenjem danas se teži razvoju metoda koje bi mogle doprineti rešavanju ili ublažavanju ovih problema. Lignoceluloza je supstrat bogat energijom, ali zbog svoje strukture veoma je otporna na dejstvo mikroorganizama i njihovih enzima zbog čega se ne može dovoljno efikasno iskoristiti u tehnološkoj proizvodnji postupkom fermentacije. Primenom gljiva sposobnih da razgrađuju lignocelulozu i optimizacijom faktora koji

utiču na ligninolitičku i hidrolitičku aktivnost ovih gljiva, može se unaprediti iskorišćenje lignoceluloznog supstrata. Džibra je otpad koji se dobija iz industrije alkohola, ali je u koncentrovanom obliku toksična za mikroorganizme i jedan je od najvećih zagađivača vodotokova. Međutim džibra se može koristiti kao suplement lignoceluloznom supstratu kojim bi se uticalo na ligninolitičku aktivnost gljiva. Uzimajući sve navedeno u obzir, od ove disertacije se očekuje sledeći doprinos:

- Biće izolovani novi sojevi gljiva sa potencijalom za primenu u tehnološkim procesima na lignoceluloznom otpadu.
- Sa primenom melasne džibre očekuje se povećana ligninolitička aktivnost i sa njom efikasnost predtretmana.
- Biće predložen jedan od načina primene melasne džibre, što bi trebalo da vodi rešenju problema odlaganja ovog otpada koji predstavlja jednog od najvećih zagađivača vodotokova.
- Optimizacijom parametara postići će se uslovi za bolje iskorišćenje lignoceluloznog materijala u biotehnološkim procesima, što će biti pokazano kroz olakšanu enzimsku hidrolizu predtretiranog supstrata.
- Kao finalni rezultat biće razvijena ekološki i energetski povoljna metoda za bolje iskorišćenje lignoceluloznog otpada.

6. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet istraživanja ove disertacije je lignocelulolitička aktivnost autohtonih gljiva Srbije, kao i mogućnost unapređenja ligninolitičke aktivnosti primenom melasne džibre kao suplementa i optimizacijom parametara primenom dizajna eksperimenta. Izrada disertacije će obuhvatati sledeće faze:

1. Izolaciju gljiva koje rastu na lignoceluloznom supstratu (panjevi, grane, oborena stabla, živa stabla biljaka, opalo lišće) i selekciju onih izolata koji budu pokazali najbolju ligninolitičku aktivnost;
2. Molekulsku identifikaciju odabranih izolata;
3. Ispitivanje kultivacionih uslova (submerzno ili na čvrstoj podlozi) kako bi se izabrali povoljniji kultivacioni uslovi za dalji rad;
4. Ispitivanje ligninolitičkih aktivnosti u supstratu sa dodatim mineralima ili bez dodavanja minerala;
5. Ispitivanje procesnih parametara, sa dodatkom i bez dodatka džibre, i odabir faktora koji imaju najveći uticaj na proces predtretmana primenom frakcionog faktorijskog dizajna;
6. Optimizacija odabranih parametara primenom metodologije odgovora površine;
7. Predtretman primenom optimalnih uslova, kao i ispitivanje efikasnosti predtretmana primenom enzimске hidrolize i karakterizacijom predtretiranog supstrata.

Disertacija će sadržati sledeća poglavlja:

- *Uvod* – u kom će biti kratak osvrt na oblast istraživanja ove disertacije, kao i predmet i ciljeve istraživanja.
- *Teorijski deo* – sadržaćе pregled dosadašnjih istraživanja koja se bave problematikom iskorišćenja lignoceluloznog materijala, biće pomenute i ukratko predstavljene različite metode predtretmana. Dosadašnja saznanja stečena o lignocelulolitičkim gljivama i njihovim enzimima, kao i mogućnosti njihove primene, biće detaljno predstavljena. Problematika zagađenja džibrom, kao i način na koji bi taj problem mogao da se reši primenom gljiva, biće pomenut. Biće i obrazložen potencijal koji bi melasna džibra kao suplement u predtretmanu lignoceluloznog materijala mogla da ima.
- *Eksperimentalni deo* – sadržaćе materijale i metode koji će biti korišćeni u istraživanju.
- *Rezultati i diskusija* – ovo poglavlje će sadržati pregled i diskusiju postignutih rezultata istraživanja.
- *Zaključak* – ovo poglavlje će sadržati zaključke izvedene na osnovu postignutih rezultata, mogućnosti primene, doprinos i potencijalna buduća istraživanja.

7. Zaključak i predlog

Na osnovu iznetih podataka o dosadašnjem radu i postignutim rezultatima Komisija smatra da kandidat Jelena M. Jović, diplomirani biolog-ekolog, 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 matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Komisija takođe smatra da je tema „**Lignocelulolitička aktivnost odabranih izolata autohtonih gljiva Srbije**“ naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da je prihvati. Za mentora se predlaže prof. dr Ljiljana Mojović, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 25.02. 2019. godine

ČLANOVI KOMISIJE

dr Ljiljana Mojović, redovni profesor
Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

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

dr Sunčica Kocić-Tanackov, docent
Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu