

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/191
(Број захтева)

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

15.06.2019.
(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:

„Изоловање и карактеризација хитина из отпадне биомасе морских рачића (*Pandalus borealis*)“

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

МИЛКА (Мићо) БОРИЋ, мастер инжењер технологије

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао основно образовање: Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

3. Година дипломирања: 2012.

4. Назив и седиште факултета на коме је стекао мастер образовање: Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

5. Година дипломирања: 2013.

Студент је уписан на докторске академске студије школске 2014/2015. године.

Обавештавамо Вас да је Наставно-научно веће, на седници одржаној 30.05.2019. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

Прилог:

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

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата Милку М. Борић, мастер инжењера технологије

Име и презиме ментора: Др Марица Ракин

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. M. Lj. Bulatović, **Marica B. Rakin**, Maja S. Vukašinović-Sekulić, Ljiljana V. Mojović, Tanja Ž. Krunić, Effect of nutrient supplements on growth and viability of *Lactobacillus johnsonii* NRRL B-2178 in whey, *International Dairy Journal*, 34 (1), 2014, pp. 109-115. ISSN: 0958-6946; IF (2014) = 2.433.
2. Maja Lj. Bulatović, Tanja Ž. Krunić, Maja S. Vukašinović-Sekulić, Danica B. Zarić, **Marica B. Rakin**, Quality attributes of a fermented whey-based beverage enriched with milk and a probiotic strain, *RSC Advances*, 4 (98), 2014, 55503–55510. (ISSN 2046-2069) (IF (2014) = 3.840.
3. Tanja Ž. Krunić, Nataša S. Obradović and **Marica B. Rakin**, Application of whey protein and whey protein hydrolysate as protein based carrier for probiotic starter culture, *Food Chemistry*, vol 293, 2019, 74-82. ISSN: 0308-8146 IF(2017)=4.946.
4. Nataša S. Obradović, Tanja Ž. Krunić, Kata T. Trifković, Maja Lj. Bulatović, Marko P. Rakin, **Marica B. Rakin**, Branko M. Bugarski, Influence of chitosan coating on mechanical stability of biopolymer carriers with probiotic starter culture in fermented whey beverages, *International Journal of Polymer Science*, 2015. (ISSN 1687-9422) (IF (2015) = 1.746.
5. Danica B. Zarić, Maja Lj. Bulatović, **Marica B. Rakin**, Tanja Ž. Krunić, Ivana S. Lončarević, Biljana S. Pajin, Functional, rheological and sensory properties of probiotic milk chocolate produced in a ball mill. *RSC Advances*, 6 (17), 2016, 13934 - 13941. (ISSN 2046-2069) (IF (2015) = 3.485.

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

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техникотехнолошких, 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: 20.05.2019.

М.П.

Проф. др Петар Ускоковић

ДП

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. 31. и 32. Правилника о докторским студијама ТМФ-а, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 30.05.2019. 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 **Милки Борић**, мастер инжењеру технологије, под називом: **„Изоловање и карактеризација хитина из отпадне биомасе морских рачића (*Pandalus borealis*)“**.

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

За ментора се одређује др Марица Ракин, 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

Predmet: Podobnost teme i kandidata Milke M. Borić, master inž. tehnologije, za izradu doktorske disertacije

Odlukom nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu br. 35/139 od 11.04.2019. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Milke M. Borić, master inž. tehnologije za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme „Izolovanje i karakterizacija hitina iz otpadne biomase morskih račića (*Pandalus borealis*)“

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

R E F E R A T

1. Podaci o kandidatu

1.1. Biografski podaci

Milka M. Borić je rođena 08.03.1986. godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i Zemunsku gimnaziju. Osnovne akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, završila je 09.07.2012. godine na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju sa prosečnom ocenom 7.94. Diplomski rad pod nazivom „Uticaj dodatih prebiotika na mlečno-kiselu fermentaciju sa *Lb. Johnsonii* NRRL B-2178“, pod mentorstvom dr Marice Rakin, odbranila je sa ocenom 10.0 (deset). Master akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, završila je 27.09.2013. godine na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, modul Prehrambena tehnologija, sa prosečnom ocenom 8.38. Master rad pod nazivom „Funkcionalne i reološke karakteristike fermentisanog napitka od surutke i mleka“, pod mentorstvom dr Marice Rakin, odbranila je sa ocenom 10.0 (deset).

Školske 2014/2015. god je upisala doktorske studije na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija, uključujući i završni ispit, položila je sa prosečnom ocenom 9.58.

1.2. Stečeno naučno-istraživačko iskustvo

U periodu 2017-2018 je boravila na Nacionalnom hemijskom institutu u Ljubljani kao stipendista međunarodnog projekta NATO-SPS, a u periodu od aprila do decembra 2018. godine je bila zaposlena na istoj instituciji kao stručni saradnik gde se bavila razvojem novih tehnologija za izolaciju hitina iz morske biomase.

Milka Borić je u periodu 2014-2015 učestvovala u realizaciji Inovacionog projekta pod nazivom „Proizvodnja i primena bioaktivnih proteina i peptida surutke i mleka“ ev. broj 451-03-2802/2013-16/176 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, iz koga je realizovano Tehničko rešenje pod nazivom „Unapređenje funkcionalnih karakteristika fermentisanog napitka od surutke i mleka dodatkom bioaktivnih peptida“ prihvaćeno od strane AD Bimlek-Makedonija kao krajnjeg korisnika.

Od 1.06.2014. do 31.12.2014. učestvovala je u stručnom usavršavanju pripreme EU projekata i razvoja malih i srednjih preduzeća, organizovanom od strane Poslovno-tehnološkog inkubatora tehničkih fakulteta Beograda.

Milka M. Borić je dobitnik nagrade za kreiranje novog ekoinovativnog fermentisanog napitka pod nazivom „Active drink“ na prvom takmičenju studentskih timova u kreiranju ekoinovativnih prehrambenih proizvoda ECOTROPHELIA EUROPE – SERBIA, organizovanog od strane Udruženja prehrambenih tehnologa Srbije, održanog 19. jula 2013. godine.

Pregled položenih ispita na doktorskim studijama:

Predmet	ESPB	Ocena
Odabrana poglavlja numeričke analize	5	9
Hemijska kinetika	5	8
Odabrani mikrobiološki procesi u zaštiti životne sredine	4	10
Sanitarna mikrobiologija	4	10
Metoda konačnih elemenata u inženjerstvu materijala	4	10
Biohemijska kinetika	5	10
Odabrana poglavlja biohemije-vitamini	5	10
Odabrana poglavlja tehnologije mikrobne biomase	5	10
Engleski jezik	/	10
Strukturna analiza ogranskih molekula	6	10
Odabrana poglavlja projektovanja procesa u biohemijskom inženjerstvu	5	10
Industrijska mikrobiologija	5	8
Završni ispit	30	10
Ukupno ESPB	83	
Prosečna ocena		9.58

Iz rezultata dosadašnjeg naučno-istraživačkog rada kandidata na predloženoj temi doktorske disertacije proizašao je 1 (jedan) rad objavljen u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a). Kandidat je autor i 2 (dva) rada objavljena u zbornicima skupova međunarodnog značaja štampana u celini (M33) i 2 (dva) rada objavljena u zbornicima skupova međunarodnog značaja štampana u izvodu (M34). Koautor je i 1 (jednog) tehničkog rešenja (M81), 2 (dva) naučna rada štampana u međunarodnim časopisima, 4 (četiri) rada objavljena u zbornicima radova sa međunarodnih skupova i jednog poglavlja u knjizi vodećeg međunarodnog značaja.

BIBLIOGRAFIJA NAUČNIH I STRUČNIH RADOVA

Monografije, monografske studije, tematski zbornici, leksikografske i kartografske publikacije međunarodnog značaja (M10)

Poglavlja u knjizi vodećeg međunarodnog značaja (M13)

1. Embiriekah S., Bulatović M., Zarić D., **Borić M.**, Rakin M., Bioactive Potential of Whey Protein Hydrolysates, Protein Hydrolysates: Uses, Properties and Health Effects, Nova Science Publishers, pp. 85 - 105, 2018 (ISBN 978-1-53614-898-5)

Radovi objavljeni u naučnim časopisima međunarodnog značaja (M20)

Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a)

1. **Borić M.**, Puliyalil H., Novak U., Likozar B., An intensified atmospheric plasma-based process for isolation of chitin biopolymer from waste crustacean biomass, Green Chemistry, (2018) 20, 1199-1204, doi: 10.1039/C7GC03735J, ISSN: 1463-9262 (print); 1463-9270 (web), (IF 8.586)

Radovi objavljeni u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. Embiriekah, S., Bulatović, M., **Borić M.**, Zarić, D., Rakin, M., Antioxidant activity, functional properties and bioaccessibility of whey protein hydrolysates, International Journal of Dairy Technology, (2018) 71, 1, 243-252, doi: 10.1111/1471-0307.12428, ISSN: 1471-0307, (IF 1.225)

Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu (M23)

1. Rakin, M., Bulatović, M., Stamenković-Đoković, M., Krunić, T., **Borić M.**, Vukašinović-Sekulić, M., Quality of fermented whey beverage with milk, Hemijska industrija (2016) 70, 1, 91-98, doi: 10.2298/HEMIND141106016R, ISSN: 0350249X 0367598X, (IF 0.591)

Radovi objavljeni u zbornicima međunarodnih naučnih skupova (M30)

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33)

1. Embiriekah S., Bulatović M., **Borić M.**, Zarić D., Arsić S., Rakin M., Selection of Lactobacillus strains for improvement of antioxidant activity of different soy, whey and milk protein substrates, Journal of Hygienic Engineering and Design, vol 16, pp 64-69, 2016, Ohrid, Macedonia, (ISSN 1857-8489)

2. **Borić M.**, Cajnko M. M., Novak U., Likozar B., Ultrasound and microwave assisted chitin isolation from shrimp shell waste, Slovenian Chemical days, Portorož, Slovenia, 2017, p 1-6 (ISBN 978-961-93849-3-0)

3. **Borić M.**, Bulatović, M., Zarić, D., Krunić, T., Rakin, M., The potential use of ABY-6 starter culture in fermentation of soy based substrates, III International Congress FoodTech 2016 "Food Technology, Quality and Safety", Novi Sad, Serbia, 2016 (ISBN 978-86-7994-049-0)

4. Krunić, T., Bulatović, M., **Borić M.**, Rakin, M., Improvement of bioactivity and technological properties of whey protein, III International Congress FoodTech 2016 "Food Technology, Quality and Safety", Novi Sad, Serbia, 2016 (ISBN 978-86-7994-049-0)

5. Embiriekah, S., Bulatović, M., **Borić M.**, Zarić, D., Arsić, S., Rakin, M., Selection of Lactobacillus strains for improvement of antioxidant activity of different soy, whey and milk protein substrates, 1st Black Sea Association of Food science and Technology, B-FoST Congress, Ohrid, Republic of Macedonia, 2016. (ISBN 978-608-4565-09-3)

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34)

1. **Borić M.**, Novak U., Lašić Jurković D., Likozar B., Intensified isolation of the chitin biopolymer from waste crustacean biomass using demineralization and DBD plasma hybrid process, Slovenian Chemical days, Portorož, Slovenia, 2018 (ISBN 978-961-93849-4-7)

2. Cajnko M. M, **Borić M.**, Novak U., Likozar B., Novel and more sustainable approaches for extraction of polysaccharides from marine biomasses, Slovenian Chemical days, Portorož, Slovenia, 2018 (ISBN 978-961-93849-4-7)
3. Cajnko M. M, **Borić M.**, Novak U., Likozar B., Optimisation of deproteinization and demineralization step for chitin isolation from shrimp shell waste, Slovenian Chemical days, Portorož, Slovenia, 2017, p 1 (ISBN 978-961-93849-3-0)
4. **Borić M.**, Puliyalil H., Novak U., Likozar B., Non-thermal Plasma Assisted Removal of Proteins from Shrimp Shell Waste Material, Scientific Conference for Young Researchers, Ljubljana, Slovenia, 2017, p 67 (ISBN 978-961-6756-83-9)

Tehnička i razvojna rešenja (M80)

Novi proizvod ili tehnologija (M81)

1. Marica Rakin, Maja Vukašinović-Sekulić, Danica Zarić, Jagoda Jorga, Zorica Radulović, Maja Bulatović, Tanja Krunić, Marija Gnjatović, **Milka Borić**, Radmila Vasilevska, Biljana Janačković i Marijana Stamenković (2015). "Unapređenje funkcionalnih karakteristika fermentisanog napitka od surutke i mleka dodatkom bioaktivnih peptida", Tehničko rešenje realizovano u okviru Inovacionog projekta pod nazivom "Proizvodnja i primena bioaktivnih proteina i peptida surutke i mleka", ev. broj 451/03/2802/2013-16/176 finansiranog od strane Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije i prihvaćeno od strane AD Bimlek, Makedonija kao krajnjeg korisnika. Tehničko rešenje je odobreno na NN veću Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu, na 29. sednici održanoj 09.07.2015.

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 nacionalnim i međunarodnim projektima, Milka Borić je pokazala sklonost za samostalan i timski naučno-istraživački rad. Do sada je objavila jedan naučni rad sa prvim autorstvom u međunarodnom časopisu izuzetne vrednosti. Shodno navedenom, Komisija smatra da Milka M. Borić, master inž. tehnologije, kvalitetom ostvarenih rezultata, kao i svojim angažovanjem u naučno-istraživačkom radu, ispunjava sve potrebne uslove za prijavu teme doktorske disertacije.

2. Predmet i cilj istraživanja

Predmet istraživanja predviđen ovom doktorskom disertacijom odnosiće se na izolaciju polisaharida hitina iz oklopa morskih račića upotrebom nekonvencionalnih metoda.

Prehrambena industrija proizvodi velike količine otpada i nusproizvoda. Odlaganje otpada može dovesti do ekoloških i zdravstvenih problema, ali je tendencija moderne tehnologije pretvoriti ih u korisne proizvode visoke vrednosti. Generisanje otpada tokom prerade hrane je neizbežno i njegovo odlaganje može biti jedan od glavnih problema industrije i društva. [1-5]

Na primer, industrija za preradu morskih plodova proizvodi veliku količinu otpada (glava, rep, koža, utroba, kičma i oklop). Ovi rezidualni materijali mogu biti odličan izvor proteina, lipida, pigmenata, malih molekula, kao i hitinoznih materijala. Otpad od ljuske račića sadrži proteine (30-40%), kalcijum karbonat (30-50%) i polisaharid hitin (20-30%) koji se može izolovati nakon deproteinizacije i demineralizacije egzoskeleta. [6]

Hitin je, posle celuloze, drugi najrasprostranjeniji polisaharid na svetu i proizvode ga mnogi organizmi. Nalazi se u ćelijskom zidu gljiva i algi, egzoskeletu insekata, u mekušcima i školjkama ljuskara. Hitin je linearni polisaharid sastavljen od monomera N-acetilacetamida i acetilacetamida, čiji odnos zavisi od stepena N-acetilacije samog polisaharida. Poznato je i da je molekul hitina inkorporiran u proteinski materijal oklopa račića u obliku helikoidnih mikrofibrilarnih struktura.

Konvencionalan način izolacije hitina iz oklopa morskih račića podrazumeva deproteinizaciju-odstranjivanje proteina pomoću baza i demineralizaciju-odstranjivanje minerala pomoću kiselina. Pored toga što se podrazumeva upotreba korozivnih hemikalija, neophodna je upotreba visokih temperatura (oko 100 °C) i vreme trajanja svakog koraka je oko 1 sat. [3-5] U poslednjih nekoliko godina se razvijaju nove metode koje bi isključile upotrebu većih koncentracija kiselina i baza, uvođenje predtretmana i metoda kao što je enzimska hidroliza, fermentacija, upotreba jonskih tečnosti i eutektičkih smeša. Pored pomenutih načina izolacije hitina iz otpadne biomase morskih račića, u ovoj disertaciji istražiće se uticaj hladne atmosferske plazme na površinu otpadnog materijala u cilju odstranjivanja proteina. [6-8]

Plazma je jonizovan gas koji se zbog jedinstvenih osobina smatra posebnim agregatnim stanjem materije uz čvrsto, tečno i gasovito stanje. Nastaje zagrevanjem i jonizacijom gasa, pri čemu dolazi do odvajanja elektrona od atoma, a nastala naelektrisanja se slobodno kreću. Slobodna naelektrisanja čine plazmu električno provodljivom i prisutan je snažan uticaj elektromagnetnog polja. Niskotemperaturske plazme su neravnotežne, netermičke, hladne i karakterišu se odsustvom termodinamičke ravnoteže, odnosno temperatura elektrona je znatno viša od temperature težih čestica i jona, pa ne postoji jedinstvena temperatura plazme. Aktiviranje reaktanata u hemijskim reakcijama vrše elektroni koji imaju visoke energije i u neelastičnim sudarima sa česticama gasa grade jone, atome i druge produkte disocijacije i jonizacije. Ovi produkti su veoma reaktivni i mogu reagovati na različite načine dajući raznovrsne produkte. Niskotemperaturske plazme različitih vrsta električnih pražnjenja razlikuju se u vrednostima energija elektrona, pritiscima gasa i u veličini električnog polja, tako da izbor pražnjenja određuje hemijsku promenu koju želimo da postignemo. [9-10] [15]

Hladna plazma se pokreće električnom strujom, a neki od mogućih proizvoda su fluorescentne cevi, cevi za fotografske bliceve, plazma televizori, sijalice za napajanje projektor ili uličnog osvetljenja. Industrijska primena podrazumeva upotrebu plazme za čišćenje, površinsku modifikaciju (nagrizanje), aktiviranje i premazivanje površina stvarajući pogodne uslove za lepljenje i vezivanje boje. Pored toga, hladna plazma ima važnu i inovativnu primenu u industriji za uklanjanje zagađivača iz vazduha i vode pri čemu se proces odigrava mnogo brže i deluje po istom principu kao i druge tehnologije za čišćenje atmosfere. Hladna plazma može ukloniti neugodne mirise i čestice nastale obilnim ljudskim aktivnostima, kao što je industrija prerade ribe, proizvodnja jestivog ulja, proizvodnja hrane za kućne ljubimce, preradi duvana, sušenju uglja itd. [16]

Na osnovu pomenutih karakteristika i benefita plazme, u ovoj doktorskoj disertaciji biće primenjena mogućnost modifikacije površine materijala i razgradnja organske materije u cilju odstranjivanja proteina iz otpadne biomase morskih račića. Egzoskelet morskih račića se formira tako da se proteini vezuju za hitin u procesu sklerotizacije, čime on postaje znatno otporniji na spoljne uticaje. Nakon toga dolazi do kalcifikacije i u konačnom materijalu se nalazi mreža hitina, proteina i kalcijum-karbonata, s tim da je na samoj površini prisutno više proteina i lipoproteina nego ostalih komponenata. [17-18] Plazma je inertna prema neorganskoj materiji (CaCO_3) i nema uticaja na demineralizaciju egzoskeleta. Sa druge strane, može uticati na proteine i hitin, u zavisnosti od sastava gasa kojim se deluje na materijal.

Kvalitet hitina u velikoj meri zavisi od načina izolacije, što je pored ekološkog načina proizvodnje i ekonomske isplativosti, još jedan aspekt na koji se mora obratiti posebna pažnja. Ukoliko se egzoskelet morskih račića tretira kiselinama i bazama, vreme trajanja procesa i temperatura na kojoj se izvodi izolacija, mora biti što kraće/niša da bi se očuvala struktura polisaharida, kao i da bi se dobio proizvod visoke molekulske mase i odgovarajućeg stepena acetilacije i kristalnosti. Agresivne metode i hemikalije narušavaju polisaharidni lanac i smanjuju molekulsku masu konačnog proizvoda. [8] Glavni cilj ove doktorske disertacije biće očuvanje životne sredine upotrebom hemikalija niskih koncentracija, kao i primena različitih postupaka tj. pristupa za proizvodnju hitina iz otpadne biomase morskih račića. Pored hemijskih metoda, u poslednjih nekoliko godina se razvijaju i metode poput fermentacije i enzimске hidrolize koje omogućavaju iskorišćavanje

benefita proteina prisutnih u egzoskeletu morskih račića. Tretiranje početnog materijala enzimima ili mikroorganizmima, stvara mogućnost da se ekstrahovani proteini upotrebe kao biološki aktivne supstance koje pored antioksidativne aktivnosti, poseduju i antimikrobna svojstva. Sa druge strane, ukoliko se proteini ekstrahuju pomoću baza, zbog denaturacije proteina nije moguće iskoristiti ih na ovaj način. Biotehnološki procesi su usredsređeni na proizvodnju nusproizvoda visoke vrednosti koji mogu biti komercijalizovani (hitoooligosaharidi, hitinaze, mlečna kiselina, antioksidanti, proteinski hidrolizati). [2] Neka od ovih jedinjenja su identifikovana da imaju nutritivni potencijal koji je profitabilan za ljudsko zdravlje.

Izolovani hitin, u zavisnosti od parametara kvaliteta koje poseduje, može se primeniti u različitim industrijama i na različite načine. Upotreba hitina i njegovih derivata kreće se od biomedicinske, farmaceutske (kao nosač leka ili u kozmetici dodatak losionima i kremama), prehrambene (kao materijal za oblaganje namirnica, za filtraciju i prečišćavanje voća, kao hrana visoke nutritivne vrednosti), ekološke industrije (prečišćavanje otpadnih voda) i poljoprivredne proizvodnje (kao biopesticid i đubrivo) zbog svojih fizičko-hemijskih i bioloških svojstava. U biotehnologiji se hitin i njegovi derivati mogu koristiti za imobilizaciju enzima i ćelija, kao biosenzori i bioseparatori. Trenutno ima preko 2000 konkretnih primena ovih biopolimera. [7]

Najvažniji literaturni podaci koji podržavaju temu:

- [1] M. J. Hülsey, Shell biorefinery: A comprehensive introduction, *Green Energy Environ.*, vol. 3, no. 4, 2018, pp. 318–327.
- [2] V. L. Pachapur, K. Guemiza, T. Rouissi, S. J. Sarma, and S. K. Brar, Novel biological and chemical methods of chitin extraction from crustacean waste using saline water, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 91, no. 8, 2019, pp. 2331–2339.
- [3] S. A. Radzali, B. S. Baharin, R. Othman, M. Markom, and R. A. Rahman, Co-solvent Selection for Supercritical Fluid Extraction of Astaxanthin and Other Carotenoids from *Penaeus monodon* Waste, *J. Oleo Sci.*, vol. 63, no. 8, 2014, pp. 769–777.
- [4] X. Shen, J. L. Shamshina, P. Berton, G. Gurau, and R. D. Rogers, Hydrogels based on cellulose and chitin: fabrication, properties, and applications, *Green Chem.*, vol. 18, no. 1, 2019, pp. 53–75.
- [5] P. Sacco, A. Travan, M. Borgogna, S. Paoletti, and E. Marsich, Silver-containing antimicrobial membrane based on chitosan-TPP hydrogel for the treatment of wounds, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 26, no. 3, 2015, pp. 1–12.
- [6] S. Babel and T. A. Kurniawan, Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review., *J. Hazard. Mater.*, vol. 97, no. 1–3, 2003, pp. 219–243.
- [7] V. Zargar, M. Asghari, and A. Dashti, A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications, *ChemBioEng Rev.*, vol. 2, no. 3, 2015, pp. 204–226.
- [8] J. Kumirska et al., Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan, *Mar. Drugs*, vol. 8, no. 5, 2010, pp. 1567–1636.
- [9] T. M. Vasilieva, S. A. Lopatin, and V. P. Varlamov, Production of the low-molecular-weight chitin and chitosan forms in electron-beam plasma, *High Energy Chem.*, vol. 50, no. 2, 2016, pp. 150–154.
- [10] T. Vasilieva et al., Formation of low molecular weight oligomers from chitin and chitosan stimulated by plasma-assisted processes, *Carbohydr. Polym.*, vol. 163, 2017, pp. 54–61.
- [11] B. Duan, Y. Huang, A. Lu, and L. Zhang, Recent advances in chitin based materials constructed via physical methods, *Prog. Polym. Sci.*, vol. 82, 2018, pp. 1–33.
- [12] J. Zhang and N. Yan, Formic acid-mediated liquefaction of chitin, *Green Chem.*, vol. 18, 2016, pp. 5050–5058.
- [13] F. Shahidi, J. K. V. Arachchi, and Y. J. Jeon, Food applications of chitin and chitosans, *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 10, no. 2, 1999, pp. 37–51.

- [14] Y. Lu et al., Fabrication and characterisation of α -chitin nanofibers and highly transparent chitin films by pulsed ultrasonication, *Carbohydr. Polym.*, vol. 98, no. 2, 2013, pp. 1497–1504.
- [15] H. Puliyalil, G. Filipic, J. Kovac, M. Mozetic, S. Thomas, and U. Cvelbar, Tackling chemical etching and its mechanisms of polyphenolic composites in various reactive low temperature plasmas, *RSC Adv.*, vol. 6, no. 97, 2016, pp. 95120–95128.
- [16] J. Delaux et al., Fast and solvent free polymerization of carbohydrates induced by non-thermal atmospheric plasma, *Green Chem.*, vol. 18, no. 10, 2016, pp. 3013–3019.
- [17] R. Roer and R. Dillaman, The structure and clarification of the crustacean cuticle, *Am. Zool.*, vol. 24, no. 4, 1984, pp. 893–909.
- [18] F. Gagne and C. Blaise, Shell protein characteristics and vitellogenin-like proteins in brine shrimp *Artemia franciscana* exposed to municipal effluent and 20-hydroxyecdysone, *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.*, vol. 138, no. 4, 2004, pp. 515–522.

3. Polazne hipoteze

Pregledom dosadašnje naučne literature, ustanovljeno je da se svake godine iz mora i okeana izvadi preko 10 miliona tona morskih račića, a preko 50% njihove telesne mase predstavlja otpad koji ostaje nakon upotrebe mesa u prehrambenoj industriji. Skelet morskih račića se sastoji od proteina (30-40%), kalcijum karbonata (30-50%), hitina (20-30%) i pigmenata karotenoida.

Hitin je beli, neelastični, kruti, azotni polisaharid koji je prisutan u egzoskeletu i unutrašnjoj strukturi beskičmenjaka. Otpad ovih prirodnih polimera uzrokuje površinsko zagađenje u priobalnim područjima. Otpad iz prehrambene industrije, pogodan je izvor za proizvodnju hitina iz školjki rakova i ekonomski je izvodljiv. Hitin je linearni polisaharid sastavljen od monomernih jedinica acetil-glukozamina i N-acetil-glukozamina i predstavlja drugi preovlađujući oblik polimerizovanog ugljenika u prirodi. Kategorizovan je kao derivat celuloze, uprkos činjenici da se ne pojavljuje u organizmima koji proizvode celulozu. Njegova struktura je slična celulozi, ali na položaju C2 ima acetamidnu grupu što omogućava intenzivno vezivanje vodonika između susednih polimera, čime se povećava čvrstoća matriksa polimera hitina. Hitin je biološki obnovljiv, ekološki prihvatljiv, biokompatibilan, biorazgradiv i biofunkcionalan, i koristan je kao helatni agens, aditiv za tretman vode, nosač leka, biorazgradiva adhezivna traka osetljiva na pritisak, sredstva za zarastanje rana, u membranama i ima druge prednosti za nekoliko važnih aplikacija. Zbog ovih prednosti, velika pažnja se posvećuje ovom karakterističnom biomaterijalu.

S obzirom na sve veću svest o očuvanju životne sredine i ekološkom načinu proizvodnje, neophodno je smanjiti upotrebu korozivnih hemikalija u industriji. Zbog toga se intenzivno razvijaju nove metode u cilju izolacije hitina iz otpadne biomase morskih račića. Nove metode uključuju upotrebu predtretmana ultrazvuka i mikrotalasa, fermentaciju, enzimsku hidrolizu, upotrebu hladne atmosferske plazme itd. Upotreba ultrazvuka i mikrotalasa kao predtretman konvencionalnom načinu proizvodnje se koristi u cilju smanjenja koncentracije kiselina i baza neophodnih za izolaciju, snižavanja temperature i skraćivanja vremena trajanja procesa. Biće ispitan uticaj različitih vremenskih intervala ultrazvučnog i mikrotalasnog predtretmana na koncentraciju konačnog proizvoda hitina. Biološke metode, kao što je fermentacija različitim mikroorganizmima predstavlja jedan od pogodnih načina za izolaciju polisaharida hitina, gde se istovremeno vrši i demineralizacija i deproteinizacija otpadne biomase. Prednost fermentacije u odnosu na konvencionalan način proizvodnje je u tome što se pored glavnog proizvoda, može iskoristiti i sporedni supernatant kao izvor bioaktivnih supstanci. Enzimaska hidroliza pepsinom omogućava takođe istovremenu demineralizaciju i deproteinizaciju otpadne biomase.

Upotreba hladne atmosferske plazme je jedan od inovativnih načina za deproteinizaciju pomenute biomase. Hladna atmosferska plazma se koristi za modifikaciju površine polimernih materijala pri čemu se menjaju njegove karakteristike i poboljšavaju svojstva. Zbog specifičnosti strukture skeleta morskih račića, moguće je odstraniti površinske slojeve gde se nalaze proteini, pritom plazma ostaje inertna prema mineralima i njih je neophodno odstraniti na drugi način.

4. Naučne metode istraživanja

Za određivanje hemijskog sastava polaznog materijala otpadne biomase morskih račića, kao i tretiranog materijala koristiće se osnovne gravimetrijske metode za određivanje minerala i hitina, a za određivanje proteina koristiće se Kjeldahlova metoda ili CHNS analiza.

Infracrvena spektroskopija (FT-IR) biće korišćena za razumevanje strukture i ocenu kvaliteta izolovanog hitina. Takođe, biće razvijena kvantitativna metoda za određivanje koncentracije hitina, proteina i minerala pomoću softvera Spectrum Quant.

Vodeni ostatak nakon fermentacije i enzimске hidrolize će se analizirati UV/Vis spektroskopskim metodama u cilju određivanja proteina i antioksidativne aktivnosti.

Rendgenska difrakciona analiza (XRD) će se upotrebiti za identifikaciju sastava materijala kao i za određivanje stepena kristalnosti materijala.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) će omogućiti uvid u mikrostrukturu materijala i pratiće se stepen uspešnosti tretmana izolacije hitina.

Fotoelektronska spektroskopija (XPS) će se koristiti na uzorcima tretiranim hladnom atmosferskom plazmom u cilju određivanja sastava C, O i N na površini materijala, čime će se utvrditi efikasnost metode u cilju odstranjivanja proteina.

5. Očekivani naučni doprinos

Očekuje se da će rezultati do kojih se dođe u okviru ove disertacije dati značajan doprinos na polju proizvodnje polisaharida hitina iz otpadne biomase morskih račića. U okviru istraživanja može se očekivati nekoliko osnovnih doprinosa:

- Razvoj postupaka za izolaciju hitina iz otpadne biomase morskih račića koji će podrazumevati uvođenje predtretmana ultrazvuka i mikrotalasa, kao i autolize u cilju skraćivanja vremena trajanja procesa i snižavanja temperature neophodne za deproteinizaciju i demineralizaciju početnog materijala.
- Istovremena deproteinizacija i demineralizacija pomoću enzimске hidrolize i fermentacije, kao i proizvodnja bioaktivnih komponenti kao nus proizvoda procesa.
- U okviru ovog dela istraživanja biće ispitan uticaj predtretmana na upotrebu manjih koncentracija kiselina i baza koje se koriste u cilju demineralizacije i deproteinizacije materijala.
- Posle svakog tretmana, biće praćena koncentracija hitina, proteina i minerala i efikasnost će se porediti sa konvencionalnim načinom proizvodnje.
- Primena hladne atmosferske plazme u cilju deproteinizacije otpadne biomase morskih račića i skraćivanje vremena trajanja deproteinizacije, bez generisanog otpada.
- Optimizacija plazma tretmana (koncentracija gasova kiseonika i azota, vreme trajanja tretmana)
- Hitin dobijen najefikasnijim načinom iz svake grupe metoda biće analiziran rendgenskom i fotoelektronskom spektroskopijom

6. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet rada ove doktorske disertacije je izolacija i karakterizacija hitina iz otpadne biomase morskih račića (*Pandalus borealis*) i primena novih ekoinovativnih metoda za izolaciju. Predložena disertacija će biti sačinjena iz četiri celine: prva celina obuhvata izolaciju hitina konvencionalnim metodama i uvođenje predtretmana (ultrazvuka, mikrotalasa i autolize) u cilju snižavanja temperature procesa izolacije i smanjenje koncentracije kiselina i baza neophodnih za demineralizaciju i deproteinizaciju materijala. Druga celina obuhvatiće biološke i enzimске metode

za izolaciju hitina iz otpadne biomase. Treća celina će se bazirati na upotrebi hladne atmosferske plazme u cilju odstranjivanja proteina iz polaznog materijala i četvrta celina će predstaviti razvoj hibridnog procesa koji će obuhvatiti deproteinizaciju hladnom atmosferskom plazmom i demineralizaciju upotrebom organskih kiselina.

Predviđeno je da doktorska disertacija ima sledeća poglavlja: *Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura.*

Poglavljje *Uvod* obuhvatiće aktuelnu problematiku, predmet istraživanja i očekivani doprinos. *Teorijski deo* obuhvatiće pregled literature u okviru dosadašnjih istraživanja na temu izolacije hitina iz otpadne biomase morskih račića, kao i na istraživanja koja se odnose na izolaciju hitina iz drugih materijala. Takođe, biće opisan način delovanja i mehanizam korišćenih metoda za izolaciju hitina sa akcentom na hladnu atmosfersku plazmu.

Eksperimentalni deo obuhvatiće:

- Materijal i opremu korišćenu tokom rada.
- Detaljan prikaz metoda korišćenih za izolaciju hitina.
- Opis metoda za određivanje osnovnog sastava materijala (koncentracija hitina, proteina i minerala).
- Opis metoda za karakterizaciju hitina i određivanje parametara kvaliteta (viskoznost, molekulska masa, stepen acetilacije i indeks kristalnosti).
- Opis metoda korišćenih za detekciju bioaktivnih komponenti nastalih nakon fermentacije i enzimske hidrolize.
- Opis metoda rendgenska difrakciona spektroskopija, fotoelektronska spektroskopija i skenirajuća elektronska mikroskopija.

U poglavlju *Rezultati i diskusija* biće prikazana analiza rezultata dobijenih sprovedenim eksperimentima, kao i diskusija dobijenih rezultata. Detaljno će biti analizirani i prodiskutovani rezultati dobijeni konvencionalnim načinom izolacije i novim metodama izolacije hitina iz otpadne biomase morskih račića.

U poglavlju *Zaključak*, na osnovu izvršenih eksperimenata biće sumirani svi dobijeni rezultati.

Poglavljje *Literatura* će obuhvatiti navode citirane u disertaciji obuhvatajući i radove nastale u toku rada na doktorskoj disertaciji.

7. Zaključak i predlog

Na osnovu iznetih podataka o dosadašnjem radu i postignutim rezultatima, Komisija smatra da kandidat Milka Borić, master inženjer tehnologije, ispunjava sve uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije. Takođe, na osnovu izloženog, Komisija smatra da je tema predložene doktorske disertacije pod nazivom **„Izolovanje i karakterizacija hitina iz otpadne biomase morskih račića (*Pandalus borealis*)“**, naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko- metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da je prihvati. Za mentora predlaže dr Maricu Rakin, redovnog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Istraživanja u okviru ove disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna

oblast Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova.

U Beogradu, 20.05.2019.

ČLANOVI KOMISIJE

.....
Dr Marica Rakin, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Dr Maja Bulatović, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Dr Maja Vukašinović Sekulić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Dr Blaž Likozar, docent
Nacionalni hemijski institut, Ljubljana, Slovenija