

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

Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 20.10.2011. godine određeni smo za članove Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije mr Tanje J. Nikolić, dipl. inž., pod naslovom: „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“.

Posle pregleda doktorske disertacije kandidata mr Tanje J. Nikolić, Komisija podnosi Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta sledeći

**I Z V E Š T A J
o urađenoj doktorskoj disertaciji**

1. UVOD

Naslov i obim disertacije

Doktorska disertacija mr Tanje J. Nikolić, dipl. inž., pod naslovom: „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“ napisana je na 152 strane, sadrži 80 slika, 21 tabelu i 305 literaturnih navoda. Sadržaj teze je izražen kroz uobičajenu strukturu: Izvod (na srpskom i engleskom jeziku), Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Zaključak i Literatura.

Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- **21.05.2009. godine** - sednica Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta na kojoj je doneta Odluka o odobravanju predloga teme doktorske disertacije mr Tanje J. Nikolić, dipl. inž., pod nazivom „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“; za mentora ove doktorske disertacije imenovana je dr Mirjana Kostić, vanredni profesor.
- **03.07.2009. godine** - sednica Veća naučnih oblasti tehničkih nauka (Univerzitet u Beogradu), na kojoj je data saglasnost na predlog teme doktorske disertacije mr Tanje J. Nikolić, pod nazivom: „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“.
- **20.10.2011. godine** - sednica Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta na kojoj je doneta Odluka o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije mr Tanje J. Nikolić, dipl. inž., pod nazivom „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“.

Mesto disertacije u naučnoj oblasti

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju oblasti hemije i tehnologije vlakana, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu.

Biografski podaci o kandidatu

Kandidat mr Tanja J. Nikolić, dipl. inž., rođena je 21.02.1970. godine u Nišu, gde je završila osnovnu i srednju školu sa odličnim uspehom. Školske 1990/91. godine upisala se na Višu tehničku

tekstilnu školu u Leskovcu i diplomirala na smeru konfekcija, oktobra 1993. godine, sa prosečnom ocenom 8,27 i ocenom 10 na diplomskom radu. Tehnološki fakultet Univerziteta u Nišu upisala je školske 1994/95. godine. Oktobra 2001. godine diplomirala je na smeru hemijsko i biohemijsko inženjerstvo sa prosečnom ocenom 9,30 i ocenom 10 na diplomskom radu.

Postdiplomske studije na Tehnološkom fakultetu Univerziteta u Nišu upisala je 2001. godine i položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 10,00. Magistarsku tezu pod nazivom „**Dobijanje antimikrobnih medicinskih materijala na bazi celuloze**“ odbranila je u septembru 2008. godine.

Za stručno usavršavanje na postdiplomskim studijama dobila je stipendiju Republičkog zavoda za Tržište rada, za 2003. godinu. U školskoj 2003/04. godini angažovana je kao saradnik u nastavi - izvođenje vežbi iz predmeta Enzimologija na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu.

U martu 2009. godine, mr Tanja J. Nikolić prijavila je izradu doktorske disertacije pod naslovom „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“ na Tehnološko-metalurškom fakultetu, na Katedri za Tekstilno inženjerstvo, pod mentorstvom dr Mirjane Kostić.

Od 2006. godine Tanja J. Nikolić je stalno zaposlena na Visokoj strukovnoj školi za tekstil u Leskovcu, najpre kao stručni saradnik za predmete Hemija I i Hemija II, a od školske 2006/07. godine i za predmet Tekstilna vlakna. U školskoj 2007/08. godini povereno joj je izvođenje nastave i vežbi iz predmeta Vlakna visokih performansi. Januara 2009. godine izabrana je u zvanje Predavača za užu oblast Mehanička, konfekcijska i hemijska tekstilna tehnologija i hemijsko inženjerstvo i predmet Vlakna visokih performansi, a 2010. godine i za predmet Tekstilna vlakna. Angažovana je na projektu Ledib koji finansira Vlada Kraljevine Danske.

Mr Tanja J. Nikolić je koautor jednog udžbenika iz oblasti Tekstilnih vlakana i autor ili koautor ukupno 13 radova, koji su objavljeni u međunarodnim i domaćim časopisima, ili saopšteni na međunarodnim i domaćim naučnim skupovima. Objavila je jedan rad u vrhunskom časopisu međunarodnog značaja (M21), jedan rad u časopisu međunarodnog značaja (M23), dva rada štampana u celini na naučnim skupovima međunarodnog značaja (M33), jedan rad u časopisu nacionalnog značaja (M52), tri rada u naučnom časopisu (M53), dva rada štampana u celini na skupu nacionalnog značaja (M63), jedan rad štampan u izvodu na skupu nacionalnog značaja (M64) i dva rada u stručnom časopisu.

2. OPIS DISERTACIJE

Struktura i sadržaj disertacije

Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

Doktorska disertacija mr Tanje J. Nikolić pisana je u skladu sa standardnom metodologijom pisanja naučnih radova. Sadržaj disertacije prikazan je kroz pet celina: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Zaključak i Literatura. Na početku disertacije dat je kratak izvod na srpskom i engleskom jeziku, kao i spisak karakterističnih skraćenica i korišćenih simbola.

U *Izvodu* disertacije navedeni su predmet i ciljevi istraživanja, kao i osnovni rezultati istraživanja koji se odnose na analizu uticaja parametara perjodatne oksidacije na hemijska, fizička i sorpciona svojstva prirodnih i regenerisanih celuloznih vlakana, kao i količinu, aktivnost i stabilnost biološki aktivnog sredstva tripsina imobilisanog na oksidisanim celuloznim vlaknima.

U *Uvodu* je istaknut značaj celuloze, kao najrasprostranjenijeg bioobnovljivog prirodnog polimera, kao i značaj istraživanja u oblasti modifikovanja celuloze, sa posebnim naglaskom na hemijsko modifikovanje upotrebom oksidacionih agenasa, u cilju dobijanja oksidisane celuloze, oksiceluloze, koja predstavlja značajnu klasu biokompatibilnih i bioresorptivnih polimera. Naglašena je mogućnost dobijanja dialdehid celuloze različitog stepena oksidacije primenom visoko

selektivne perijodatne oksidacije i predočena potreba da se ispita uticaj uslova oksidacije na strukturu i svojstva prirodnih (pamuk) i hemijskih (viskoza) celuloznih vlakana, kao i mogućnost upotrebe dialdehid celuloze kao polazne osnove za dobijanje biološki aktivnih vlakana postupkom imobilizacije tripsina, enzima koji nalazi primenu u tretmanima rana, što predstavlja osnovni motiv i predmet istraživanja u okviru ove disertacije.

U *Teorijskom delu* disertacije izvršen je literaturni pregled predmetne oblasti, izložen kroz četiri poglavlja: Struktura i svojstva celuloze, Struktura i svojstva prirodnih i hemijskih celuloznih vlakana, Reaktivnost celuloze i Imobilizacija enzima na tekstilnim materijalima.

U prvom poglavlju sistematizovani su najznačajniji literaturni podaci o hemijskom sastavu, strukturi i svojstvima celuloze, kao osnovne gradivne supstance ćelijskih zidova biljnog sveta i važne obnovljive sirovine za dobijanje niza proizvoda različite namene. Istaknuta je jedinstvena hemijska struktura celuloze, kao i njena svojstva, kao što su: hidrofilnost, biokompatibilnost, biodegradabilnost, netoksičnost, stereoregularnost, polifunkcionalnost (reaktivnost hidroksilnih grupa), sposobnost obrazovanja superstruktura, sorpcije i sl., što je veoma značajno za primenu celuloze kao bazičnog materijala. Poznavanje strukturne organizovanosti celuloze, koja je u okviru ovog poglavlja predstavljena na molekulskom, nadmolekulskom i morfološkom nivou, predstavlja osnovu za razumevanje hemijskog i fizičkog ponašanja celuloznih vlakana.

U drugom poglavlju prikazane su osnovne karakteristike prirodnih i hemijskih celuloznih vlakana, pri čemu je posebna pažnja posvećena pamučnim i viskozim vlaknima. Celulozna vlakna spadaju po utrošenim količinama u najznačajnije tekstilne sirovine u svetu, a po svojstvima u najplemenitije i najpoželjnije tekstilne materijale u veoma širokom dijapazonu njihove primene. Pamučna i viskozna vlakna predstavljaju najznačajnija celulozna vlakna za primenu u medicini, zahvaljujući izuzetnim karakteristikama koje ih odlikuju: sorpcija vlage i tečnosti, mekoća, afinitet prema koži, antistatičko ponašanje, visoka mehanička stabilnost i lako pranje i/ili sterilizacija, zbog čega su odabrana za modifikovanje natrijum-perijodatom i dobijanje biološki aktivnih vlakana.

U trećem poglavlju dat je osvrt na reaktivnost celuloze izložen kroz celine: dejstvo vode, alkalija, kiselina i oksidacionih sredstava na celulozu. Kao posebna celina u okviru ovog poglavlja dat je temeljan pregled dosadašnjih dostignuća i objavljenih radova iz oblasti oksidacije celuloze perijodatima, što predstavlja osnovu za eksperimentalni deo ove doktorske disertacije. Na osnovu detaljnog pregleda literaturnih podataka utvrđeno je da su dosadašnja istraživanja uticaja perijodatne oksidacije na svojstva celuloznih materijala uglavnom fokusirana na različite vrste tehničke celuloze.

U četvrtom poglavlju prikazani su tekstilni materijali sa imobilisanim enzimima uz pregled metoda za njihovo dobijanje, kao i postignutih bioloških aktivnosti. Pregled dosadašnjih istraživanja na polju dobijanja heterogenih biokatalizatora na bazi celuloznih vlaknastih materijala i tripsina čini posebnu celinu u ovom poglavlju, zajedno sa sistematizovanim najznačajnijim literaturnim podacima o strukturi i svojstvima tripsina i njegovoj ulozi u terapijama, posebno u lečenju rana. U istom poglavlju opisane su najaktuelnije metode za određivanje sadržaja proteina i aktivnosti enzima.

Eksperimentalni deo disertacije organizovan je u dva poglavlja: Materijal i metode i Rezultati i diskusija.

U petom poglavlju opisana je metodologija rada. Pored pregleda i karakteristika materijala koji su korišćeni za dobijanje biološki aktivnih celuloznih vlakana, dati su detalji o pripremi rastvora, primenjenim metodama i aparaturi. Detaljno su opisani postupci hemijskog modifikovanja celuloznih vlaknastih materijala i dobijanja bioaktivnih celuloznih vlakana sa imobilisanim tripsinom.

Šesto poglavlje, Rezultati i diskusija, podeljeno je na tri dela.

U prvom delu ovog poglavlja prikazane su karakteristike polazne, nemodifikovane pamučne i viskozne pređe koje su korišćene kao podloga za dobijanje biološki aktivnih celuloznih vlakana.

U drugom delu poglavlja, Karakteristike oksidisane pamučne i viskozne prede, dat je prikaz rezultata ispitivanja uticaja vremena oksidacije i koncentracije oksidacionog sredstva natrijum-perjodata na svojstva ispitivanih celuloznih vlakana sa diskusijom rezultata. Tok reakcije oksidacije uzoraka prede praćen je merenjem utroška perjodata. Ispitivanje dejstva perjodatne oksidacije na hemijska i fizička svojstva pamučne i viskozne prede izvršeno je određivanjem sadržaja aldehidnih grupa, finoće i prekidne jačine preda. Pokazano je da perjodatna oksidacija omogućava uvođenje značajnih količina aldehidnih grupa u celulozna vlakna (maksimalne količine aldehidnih grupa iznose 99,2 $\mu\text{mol/g}$ i 1284,0 $\mu\text{mol/g}$ za oksidisana vlakna pamuka i viskoze, respektivno), pri čemu se količina uvedenih funkcionalnih grupa može kontrolisati izborom uslova modifikovanja. Perjodatna oksidacija nema značajan uticaj na gubitak mase modifikovane celulozne prede i izaziva minimalno povećanje finoće oksidisane prede. Prekidna jačina oksidisane pamučne i viskozne prede se ne menja značajno za vreme oksidacije u periodu 0-180 minuta. Međutim, sa produženjem vremena reakcije iznad 180 minuta, prekidna jačina se značajno smanjuje. Utvrđeno je da perjodatna oksidacija dovodi do promena u strukturi i kristalnosti celuloze i utiče na njena sorpciona svojstva. U poređenju sa nemodifikovanim vlaknima, oksidisana pamučna i viskozna vlakna pokazuju povećanje sorpcije vlage i smanjenje vrednosti sposobnosti zadržavanja vode i sorpcije joda. Radi boljeg razumevanja ponašanja ispitivanih pamučnih i viskoznih vlakana tokom mokrih obrada, proučena je korelacija između njihove strukture i njihovih sorpcionih svojstava. Primenom SEM tehnike analizirane su promene u reljefu površine oksidisanih pamučnih i viskoznih vlakana i utvrđena je saglasnost sa njihovim gubitkom mase, promenom finoće, sorpcionih svojstava i promenom njihovih prekidnih karakteristika.

U trećem delu poglavlja, koji je naslovljen kao Karakteristike pamučne i viskozne prede sa imobilisanim tripsinom, detaljno je opisano dobijanje biološki aktivnih vlakana. Oksidisana celulozna vlakna sa različitim sadržajem aldehidnih grupa korišćena su kao nosači za imobilizaciju tripsina. U ovom procesu amino grupe tripsina reaguju sa aldehidnim grupama oksidisanih celuloznih vlakana uz obrazovanje odgovarajućih Schiff-ovih baza. Za imobilizaciju tripsina na oksidisanim vlaknima primenjene su dve procedure: direktna na pamuku i indirektna na viskozi, uvođenjem proteina BSA i glutaraldehida. Dobijena celulozna vlakna sa imobilisanim tripsinom okarakterisana su sa aspekta sadržaja proteina, aktivnosti enzima i njegove stabilnosti pri lagerovanju. Ispitivanja su pokazala da oksidisana viskozna vlakna vezuju veće količine proteina u odnosu na oksidisana pamučna vlakna (maksimalna količina imobilisanog tripsina iznosi 8,35 mg/g viskozne prede i 6,1 mg/g pamučne prede), kao i da oksidisana viskozna vlakna ispoljavaju niže vrednosti imobilisane aktivnosti (do 0,78 U/g) u poređenju sa oksidisanim pamučnim vlaknima (do 1,22 U/g). Ispitivanjem stabilnosti tripsina imobilisanog na oksidisanjoj pamučnoj i viskoznoj predi tokom 60 dana skladištenja na 4 °C i sobnoj temperaturi dokazano je da je stabilnost imobilisanog tripsina značajno poboljšana u poređenju sa slobodnim enzimom, kao i da je stabilnost veća na 4 °C. Takođe je dokazano da tripsin ostaje čvrsto vezan na oksidisanim vlaknima, čime je potvrđeno da je stabilnost veze tripsin-oksidisano celuložno vlakno veoma dobra. Na osnovu rezultata sprovedenih ispitivanja definisani su optimalni uslovi modifikovanja u zavisnosti od željenih svojstava i primene bioaktivnih celuloznih vlakana.

U sedmom poglavlju, *Zaključak*, istaknuti su najvažniji rezultati ispitivanja i najvažniji doprinosi disertacije.

Na kraju disertacije navedena je *Literatura*, osmo poglavlje, koje sadrži sve reference korišćene u radu.

3. OCENA DISERTACIJE

Savremenost, originalnost i značaj

Usled orijentacije sveta ka ekološkim i održivim hemijskim tehnologijama, značaj resursa kao što su celuloza i celulozna vlakna, odnosno derivati celuloze, postaje sve značajniji, što je dovelo do renesanse u istraživanjima u oblasti celuloze. Izuzetan potencijal celuloze leži u njenoj molekulskoj strukturi, koja daje odlične mogućnosti kao matriks za dizajniranje bioaktivnih, biokompatibilnih i inteligentnih materijala. Značajnu klasu biokompatibilnih i bioresorptivnih polimera predstavlja oksidisana celuloza, oksiceluloza, koja, uprkos tome što je dokazana kao hemostatički agens i široko se koristi u kliničkoj praksi, i dalje privlači veliku pažnju i ispituju se njene potencijalno nove primene.

Istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji pružaju nova saznanja o uticaja visoko selektivnog oksidacionog sredstva natrijum-perjodata na svojstva prirodnih (pamuk) i hemijskih (viskoza) celuloznih vlakana, kao i o postupku dobijanja i svojstvima biološki aktivnih vlakana dobijenih imobilizacijom tripsina na oksidisanim celuloznim vlaknima. U radu su istraženi uzajamni odnosi i uticaji strukture i svojstava različitih celuloznih vlakana, uslova oksidacije i parametara imobilizacije tripsina i postignutih efekata bioaktivnog dejstva celuloznih vlakana sa imobilisanim tripsinom. Takođe, određeni su optimalni uslovi modifikovanja u zavisnosti od moguće dalje upotrebe bioaktivnih celuloznih vlakana.

Utvrđena je korelacija između uslova oksidacije, količine uvedenih aldehidnih grupa i svojstava modifikovanih pamučnih i viskoznih vlakana i prvi put su kroz ovu disertaciju objavljeni podaci o uticaju perjodatne oksidacije na sorpciona svojstva pamučnih i viskoznih vlakana, što je omogućilo bolje razumevanje promena u strukturi ovih vlakana do kojih dolazi tokom perjodatne oksidacije. Pored toga, utvrđena je korelacija između uslova oksidacije, sadržaja uvedenih aldehidnih grupa i količine i aktivnosti tripsina imobilisanog na oksidisanim celuloznim vlaknima, i ovakva zavisnost do sada nije zabeležena u literaturi. Od posebnog značaja je mogućnost da se izborom uslova oksidacije mogu dobiti pamučna i viskozna vlakna sa određenim sadržajem aldehidnih grupa, a time i konkretnim vrednostima količine i aktivnosti imobilisanog tripsina, mehaničkim i sorpcionim svojstvima, čime je omogućeno njihovo prilagođavanje željenoj nameni finalnog proizvoda.

S obzirom da tripsin poseduje anti-inflamatorna, anti-toksična, nekrolitička i drenažna svojstva, kao i da se pamuk i viskoza tradicionalno koriste kao sredstva za previjanje, dobijena celulozna vlakna sa vezanim tripsinom imaju potencijal za primenu u medicini. Vlakna sa imobilisanim enzimima za biomedicinske primene omogućavaju da se reše neka ograničenja u vezi sa primenom enzima u kliničkoj praksi, da se učine stabilnijim, manje imunogenim i toksikogenim, da se koriste više puta i u dužim vremenskim periodima. Proizvodnja vlakana sa imobilisanim enzimima predstavlja obećavajući pravac razvoja u oblasti biološki aktivnih vlakana i budući rad na ovom polju bi bio od izuzetnog praktičnog značaja.

Rezultati doktorske disertacije mr Tanje J. Nikolić predstavljaju značajan doprinos razvoju biološki aktivnih vlakana, koja su dobijena imobilizacijom tripsina na selektivno oksidisanim celuloznim vlaknima. Na osnovu opsežnog pregleda svetske literature, može se zaključiti da se istraživanja vezana za predmet ovog rada uklapaju u svetske trendove i ukazuju na značaj i aktuelnost proučavane problematike.

Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U literaturnom pregledu doktorske disertacije dato je 305 literaturnih navoda, korišćenih prilikom izrade ove disertacije. Najveći broj navedenih izvora čine najnoviji objavljeni radovi sa tematikom od suštinskog značaja za izradu doktorske disertacije. Navedene reference sadrže eksperimentalne rezultate istraživanja mnogih istraživača, analizu i diskusiju dobijenih rezultata i izvedene zaključke, kao i teorijske osnove primenjenih metoda ispitivanja, njihove mogućnosti i ograničenja.

U naučnoj literaturi danas se može naći dosta podataka o perjodatoj oksidaciji tehničke celuloze različitog porekla. S druge strane, postoji malo podataka o uticaju perjodatne oksidacije na

svojstva tekstilnih celuloznih (pamučnih i viskoznih) vlakana, dok o uticaju perjodatne oksidacije na sorpciona svojstva ovih vlakana nije bilo dostupnih podataka u literaturi. Takođe, u stručnoj literaturi postoji izuzetno malo podataka o pripremi heterogenih biokatalizatora na bazi celuloznih vlaknastih materijala i tripsina, posebno na bazi perjodatom oksidisanih celuloznih vlakana. U dostupnoj literaturi nema podataka o uticaju uslova perjodatne oksidacije na količinu i aktivnost tripsina imobilisanog na oksidisanim celuloznim vlaknima.

Iz obrazloženja predložene teme doktorske disertacije i objavljenih radova, kao i iz popisa literature koja je korišćena u istraživanju, uočava se adekvatno poznavanje predmetne oblasti istraživanja, kao i poznavanje aktuelnog stanja istraživanja u ovoj oblasti u svetu.

Analiza primenjenih naučnih metoda i njihova adekvatnost za sprovedeno istraživanje

Naučne metode korišćene u istraživanju i opisane u ovoj doktorskoj disertaciji primenjene su za ispitivanje svojstava i strukture pamučnih i viskoznih vlakana modifikovanih perjodatom, kao i karakterisanje dobijenih celuloznih vlakana sa imobilisanim tripsinom.

Uticaj promene parametara oksidacije na strukturu i svojstva celuloznih vlakana praćen je standardnim metodama za karakterisanje i ispitivanje vlakana, uključujući i instrumentalne metode analize. Sadržaj aldehidnih grupa u celuloznim vlaknima određen je primenom kalcijum-acetatne metode (volumetrijska metoda). Prema rezultatima objavljenim u literaturi (Praskalo-Milanovic et al., J. Appl. Polym. Sci., 117, 1772-1779, 2010), Ca-acetatna metoda je uporediva sa potencijometrijskom titracijom. Gubici mase, koji nastaju kao posledica modifikovanja pređe natrijum-perjodatom, određeni su na osnovu razlike u masi apsolutno suvog uzorka pre i posle modifikovanja. Određivanje finoće pamučne i viskozne pređe izvršeno je po metodi definisanoj standardom SRPS ISO 2060. Merenje prekidne jačine pređe izvršeno je na uređaju Tex Test (Švajcarska), sa klemama na rastojanju od 100 mm i brzinom donje kleme od 150 mm/min. Promene u sorpcionim svojstvima pamučne i viskozne pređe okarakterisane su određivanjem sorpcije vlage, sposobnosti zadržavanja vode i sorpcije joda. Sadržaj vlage u polaznim i perjodatom modifikovanim uzorcima pamučne i viskozne pređe određen je gravimetrijskom metodom definisanom standardom SRPS F.S3.101. Sposobnost zadržavanja vode pređe određivana je standardnom metodom, koja se bazira na određivanju količine vode koju ispitivani uzorci mogu da apsorbuju i zadrže nakon potapanja u destilovanu vodu i centrifugiranja. Za određivanje sorpcije joda korišćena je metoda Schwertassek-a (volumetrijska metoda). Promene u izgledu površine oksidisanih pamučnih i viskoznih vlakana i obrazovanih enzim-aktivnih vlakana vezivanjem tripsina za oksidisana vlakna proučene su SEM tehnikom. Navedena ispitivanja rađena su u cilju što preciznijeg definisanja veza između uslova oksidacije i svojstava modifikovanih vlakana.

Dobijena celulozna vlakna sa imobilisanim tripsinom okarakterisana su određivanjem količine vezanih proteina, katalitičke aktivnosti i stabilnosti enzima pri lagerovanju (spektrofotometrijske metode). Količina tripsina imobilisanog na pređi određivana je iz bilansa mase, kao razlika između količine proteina u rastvoru pre imobilizacije i sume proteina u rastvoru posle imobilizacije i u svim vodama od ispiranja. Ispitivanje sadržaja proteina vršeno je po metodi Bradford-a. Za merenje količine proteina između 10 i 100 µg proteina korišćeno je standardno ispitivanje, dok je za detektovanje manjih količina proteina, između 1 i 10 µg, korišćeno mikroispitivanje. Ispitivanje i praćenje aktivnosti tripsina u rastvoru i u imobilisanom stanju vršeno je na osnovu početne brzine hidrolize supstrata *N*- α -benzoi-DL-arginin-*p*-nitroanilid hidrohlorid. Enzimskom hidrolizom ovog supstrata, koji je bezbojan, oslobađa se žuto obojeni *p*-nitroanilin. Količina obrazovanog proizvoda srazmerna je povećanju intenziteta žute boje, koji je na spektrofotometru (UV-VIS spektrofotometar SP6-550 Pye Unicam) meren kao apsorbcija na 410 nm, u jednakim vremenskim intervalima.

Ocena primenljivosti i verifikacije ostvarenih rezultata

Na osnovu sinteze do sada objavljenih literaturnih podataka, eksperimentalnih ispitivanja i dobijenih rezultata u okviru ove doktorske disertacije, ostvaren je značajan doprinos razvoju biološki aktivnih vlakana. Od posebnog je značaja mogućnost da se na osnovu izvršenog ispitivanja efikasnosti dobijenih celuloznih materijala sa imobilisanim tripsinom mogu izraditi biomedicinski tekstilni materijali, u obliku npr. gaze i zavoja, koji se mogu koristiti za lečenje rana. Dobra biokompatibilnost celuloznih materijala, nekrolitička, anti-inflamatorna, anti-toksična i drenažna svojstva tripsina kao i ostvarena visoka stabilnost formiranih biološki aktivnih vlakana kvalifikuju ove enzim-aktivne materijale za kliničku upotrebu.

Ocena sposobnosti kandidata za samostalan naučni rad

Dosadašnja istraživačka i stručna delatnost kandidata ogleda se u iskustvu u radu u oblasti tekstilnog inženjerstva. U svom radu posebnu pažnju posvetila je razvoju biološki aktivnih vlakana. Kandidat je tokom izrade doktorske disertacije pokazao izuzetnu naučno-istraživačku sposobnost za samostalan naučni rad. Sistematičnost u koncipiranju rada, pripremi i vođenju eksperimenata, kao i u analizi rezultata, ukazuju na to da kandidat Tanja J. Nikolić poseduje sposobnost i kvalitet koji su potrebni za samostalan rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Kandidat je svojim rezultatima dao doprinos nauci u oblasti razvoja i karakterizacije biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisanih prirodnih i hemijskih celuloznih vlakana. Razvijen je postupak za dobijanje enzim-aktivnih vlakana sa anti-inflamatornim svojstvom imobilizacijom molekula tripsina na oksidisanim celuloznim vlaknima.

U radu su proučeni uzajamni odnosi i uticaji strukture i svojstava različitih celuloznih vlakana, uslova oksidacije i parametara imobilizacije tripsina i postignutih efekata bioaktivnog dejstva celuloznih vlakana sa imobilisanim tripsinom. Takođe, određeni su optimalni uslovi modifikovanja u zavisnosti od moguće dalje upotrebe biološki aktivnih celuloznih vlakana.

Utvrđena je korelacija između uslova oksidacije, sadržaja uvedenih aldehidnih grupa i svojstava modifikovanih pamučnih i viskoznih vlakana, što omogućava optimizovanje procesa oksidacije natrijum-perjodatom u zavisnosti od željene primene dobijene dialdehid celuloze. Izvršeno je detaljno karakterisanje modifikovanih celuloznih vlakana što je omogućilo bolje razumevanje procesa perjodatne oksidacije i veze između strukture i svojstava oksidisane celuloze. Primenom skenirajuće elektronske mikroskopije izvršena je analiza mikrostrukture dobijenih modifikovanih vlakana, što je značajno ne samo za njihovu karakterizaciju, već ukazuje i na valjanost parametara oksidacije koji su primenjeni u postupku njihovog dobijanja.

Osim toga, razjašnjeni su fenomeni procesa dobijanja biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisanih celuloznih vlakana imobilizacijom tripsina. Utvrđena je korelacija između uslova oksidacije, sadržaja uvedenih aldehidnih grupa i količine i aktivnosti tripsina imobilisanog na oksidisanim celuloznim vlaknima. Takođe, proučena je stabilnost formiranih biološki aktivnih vlakana. Dobijena bioaktivna celulozna vlakna sa imobilisanim tripsinom pokazala su visoku stabilnost, u poređenju sa slobodnim enzimom, pri skladištenju tokom dužeg vremenskog perioda što ukazuje na potencijal sistema tripsin-selektivno oksidisana celuloza za primenu u medicini.

Na osnovu izloženog može se zaključiti da doktorska disertacija ima i naučni i praktični značaj.

Kritička analiza rezultata istraživanja

Na osnovu definisanih ciljeva istraživanja određena je metodologija istraživanja koja je primenjena u doktorskoj disertaciji. S obzirom na složenost problematike, primenjeno je više metoda istraživanja. Za proučavanje uzajamnih odnosa i uticaja strukture i svojstava pamučnih i viskoznih vlakana i uslova oksidacije primenjene su metode kojima su polazna i oksidisana vlakna okarakterisana sa aspekta sadržaja aldehidnih grupa, fizičko-mehaničkih i sorpcionih svojstava, indeksa i stepena kristalnosti i mikromorfoloških karakteristika. Utvrđena je korelacija između uslova oksidacije, uvedenih aldehidnih grupa i ispitivanih svojstava modifikovanih celuloznih vlakana. Ispitivanje morfoloških karakteristika modifikovanih vlakana izvršeno je pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije. Analiza je pokazala da je došlo do promena u reljefu površine oksidisanih pamučnih i viskoznih vlakana i ove promene su u saglasnosti sa njihovim gubitkom mase, promenom finoće, sorpcionih svojstava i promenom njihovih prekidnih karakteristika.

Utvrđena je korelacija između uslova perijodne oksidacije, sadržaja uvedenih aldehidnih grupa i količine i aktivnosti tripsina imobilisanog na oksidisanim celuloznim vlaknima. Generalno, veće vrednosti sadržaja proteina i aktivnosti enzima zabeležene su kod vlakana koja su oksidisana većom koncentracijom natrijum-perijodata i ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima određivanja sadržaja aldehidnih grupa. Rezultati dobijeni za specifičnu aktivnost i količinu kovalentno vezanog tripsina su u skladu sa rezultatima koje su objavili drugi autori. Ispitivanja stabilnosti tripsina u slobodnom i u imobilisanom obliku tokom 60 dana skladištenja pokazala su da je stabilnost tripsina koji je imobilisan na oksidisanim celuloznim vlaknima značajno poboljšana u poređenju sa slobodnim enzimom, kao i da je stabilnost veća na 4 °C u odnosu na 25 °C, što je takođe u skladu sa rezultatima drugih istraživača. Pored toga, ispitivanja stabilnosti imobilisanog tripsina su pokazala da je katalitička aktivnost enzima sačuvana u visokom stepenu (85 %) i nakon godinu dana lagerovanja na 4 °C, čime je potvrđeno da je stabilnost veze tripsin – oksidisano celulozno vlakno veoma dobra, što može biti korisno u predviđanju trajnosti enzim-aktivnog dejstva ovih materijala i proizvoda na njihovoj osnovi.

Dobijeni rezultati ukazuju na efikasnu mogućnost primene perijodne oksidacije na prirodna i hemijska celulozna vlakna u cilju dobijanja dialdehid celuloze različitog stepena oksidacije, kao i mogućnost dobijanja biološki aktivnih pamučnih i viskoznih vlakana sa imobilisanim tripsinom na bazi dialdehid celuloze kao polazne osnove.

Može se uočiti da su rezultati dobijeni primenom različitih metoda u saglasnosti, kao i da se međusobno dopunjavaju, što ukazuje na adekvatan izbor metodologije ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije.

Očekivana primena rezultata u praksi

Na osnovu rezultata ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije može se očekivati široka primena dobijenih biološki aktivnih vlakana u hirurgiji, posebno za lečenje rana. Dobijena pamučna i viskozna vlakna sa imobilisanim tripsinom mogla bi da posluže kao biomedicinski tekstilni materijali, u obliku npr. gaze i zavoja, namenjeni prvenstveno za tretman rana, s obzirom da poseduju nekrolitička, anti-inflamatorna, anti-toksična i drenažna svojstva. U poređenju sa primenom nativnog tripsina u terapijske svrhe, prednost upotrebe dobijenih celuloznih vlakana sa imobilisanim tripsinom ogledala bi se u značajnom povećanju efikasnosti terapije, smanjenju alergijskih reakcija i smanjenju utroška enzima (zbog produženog dejstva).

Praktičan značaj dobijenih rezultata ogleda se i u mogućnosti prilagođavanja sadržaja i aktivnosti imobilisanog tripsina, kao i mehaničkih i sorpcionih svojstava, željenoj nameni finalnog proizvoda jednostavnim izborom uslova perijodne oksidacije pamučnih i viskoznih vlakana. Pored toga, ostvaren visok stepen stabilnosti imobilisanog tripsina i njegove veze sa oksidisanim vlaknima omogućava predviđanje trajnosti enzim-aktivnog dejstva ovih materijala i proizvoda na njihovoj osnovi.

Dobijena selektivno oksidisana pamučna i viskozna vlakna su pokazala značajan stepen smanjenja sposobnosti zadržavanja vode, pa se kao takva mogu koristiti za proizvodnju kompozitnih higijenskih materijala, kod kojih je poželjno da se sastoje od slojeva koji ispoljavaju specifični hidrofilni/hidrofobni gradijent kroz debljinu, a koji se tradicionalno proizvode od sintetičkih materijala.

Verifikacija rezultata u časopisima i saopštenjima na konferencijama

Objavljeni naučni radovi i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije

Deo rezultata iz doktorske disertacije kandidat je prezentovao naučnoj javnosti u zemlji i inostranstvu publikovanjem: jednog rada u vrhunskom časopisu međunarodnog značaja (M21), jednog rada u časopisu međunarodnog značaja (M23), jednog rada štampanog u celini na naučnom skupu međunarodnog značaja (M33), jednog rada štampanog u celini na skupu nacionalnog značaja (M63) i jednog rada štampanog u izvodu na skupu nacionalnog značaja (M64).

M21 Rad u vrhunskom časopisu međunarodnog značaja

1. **Tanja Nikolic**, Mirjana Kostic, Jovana Praskalo, Biljana Pejic, Živomir Petronijević, Petar Skundric, Sodium periodate oxidized cotton yarn as carrier for immobilization of trypsin, Carbohydrate Polymers, 82 (2010) 976-981; ISSN 0144-8617 (IF=3,167)

M23 - Rad u časopisu međunarodnog značaja

1. **Tanja Nikolić**, Mirjana Kostić, Jovana Praskalo, Živomir Petronijević, Petar Škundrić, Sorption properties of periodate oxidized cotton, Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 17 (3) (2011) 367-374; ISSN 1451-9372 (IF=0.580)

M33 Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini

1. M. Kostic, **T. Nikolic**, J. Milanovic, B. Pejic, A. Kramar, Studies on oxidative modifications of natural and man-made cellulose fibers by periodate oxidation sistem, Proc. Book of Italic 6 (Italian meeting on lignocellulosic chemistry), Tuscia University, Viterbo, Italy, 5-8 September 2011, 31-34; ISBN 978-88-95688-65-7

M63 Saopštenje sa nacionalnog skupa štampano u celini

1. B. M. Pejić, M. Kostić, J. Praskalo-Milanović, **T. Nikolić**, P. Škundrić, Uticaj perjodatne oksidacije na sorpciona svojstva vlakana pamuka, Zbornik radova, 48. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Novi Sad, 17-18 april 2010, T04, 279-282; ISBN 978-86-7132-042-9

M64 Saopštenje sa nacionalnog skupa štampano u izvodu

1. **Tanja Nikolić**, Mirjana Kostić, Jovana Praskalo, Živomir Petronijević, Petar Škundrić, Sorpciona svojstva pamuka oksidovanog perjodatom, IX Simpozijum sa međunarodnim učešćem "Savremene tehnologije i privredni razvoj", Leskovac, 21-22 oktobar 2011, Zbornik izvoda radova, 205; ISBN 978-86-82367-92-5

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Imajući u vidu dobijene rezultate i na osnovu svega izloženog, Komisija smatra da doktorska disertacija mr Tanje J. Nikolić pod naslovom: „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“ predstavlja originalan naučni doprinos proučavanju i osvajanju postupaka dobijanja biološki aktivnih vlakana. Ovom doktorskom disertacijom kandidat je dao značajan doprinos u oblasti hemije i tehnologije vlakana, što je potvrđeno objavljivanjem

radova u časopisima međunarodnog značaja i saopštenjima na međunarodnim i nacionalnim skupovima.

Komisija smatra da doktorska disertacija kandidata mr Tanje J. Nikolić pod naslovom: „**Dobijanje biološki aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze**“ u potpunosti ispunjava sve zahtevane kriterijume i da je kandidat ispoljio izuzetnu naučno-istraživačku sposobnost u svim fazama izrade ove disertacije.

Imajući u vidu kvalitet i originalnost dobijenih rezultata kao i naučni doprinos, Komisija pozitivno ocenjuje doktorsku disertaciju i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati ovaj Izveštaj i da ga zajedno sa urađenom doktorskom disertacijom učini dostupnim na uvid javnosti u zakonski predviđenom roku, kao i da nakon završetka ove procedure pozove kandidata mr Tanju J. Nikolić na usmenu odbranu disertacije pred Komisijom u istom sastavu.

Beograd, 02.11.2011. god.

Članovi Komisije:

1. Dr Mirjana Kostić, vanredni profesor,
Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
2. Dr Petar Škundrić, redovni profesor,
Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
3. Dr Živomir Petronijević, redovni profesor,
Tehnološki fakultet, Leskovac